

ECO-ENZYME DARI LIMBAH TANAMAN MALUKU

MUHAMMAD RIJAL
SURATI
ISRAWATI AMIR
AZWAR ABDOLLAH
ABU BAKAR LESSY
ABD SOFYAN YTATROMAN
NAFSIA TANAMA

LP2M IAIN AMBON 2021

ECO-ENZYME DARI LIMBAH TANAMAN MALUKU

Penulis :

MUHAMMAD RIJAL
SURATI
ISRAWATI AMIR
AZWAR ABDOLLAH
ABU BAKAR LESSY
ABD SOFYAN YTATROMAN
NAFSIA TANAMA

ISBN: 978-623-6830-51-2

Editor:

PRAMITHA WALLY
ANDI SITTI MARWAH
INTAN RABIYANTI
NURAINY KALIKY

Penyunting: Tim LP2M IAIN Ambon
Desain Sampul dan Tata Letak: Sdesign

Diterbitkan oleh:

LP2M IAIN Ambon

Jl. H. Tarmidzi Taher Kebun Cengkeh Batumerah Atas Ambon 97128

Telp. (0911) 344816

Handpone 081311111529

Faks. (0911) 344315

e-mail: lp2m@iainambon.ac.id

www.lp2m.iainambon.id

Cetakan Pertama, Desember, 2021

Hak cipta yang dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun
tanpa ijin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Penelitian *Eco Enzyme* pertama kali dilakukan oleh Dr. Rosukon Poompanvong pendiri Asosiasi Pertanian Organik di Thailand. Pengolahan limbah organik menjadi enzim merupakan proyek besar di beberapa Negara di Asia, seperti: Malaysia, Thailand, Singapura, dan Filipina. Di Indonesia, istilah *Eco-Enzyme* baru berkembang akhir Tahun 2019 dan awal Tahun 2020 mulai diperkenalkan secara luas oleh beberapa kampus melalui program *Eco-Enzyme* Nusantara. Awal Tahun 2021, UI Greenmetrik melakukan workshop ke Kampus-Kampus di Indonesia untuk mengolah limbah organik non lemak sebagai bahan baku dalam pembuatan *Eco-Enzyme* yang multifungsi dan ramah lingkungan. Seiring berkembangnya informasi tentang manfaat besar dari *Eco-Enzyme*, membuat peneliti untuk melakukan kajian riset pengembangan *Eco-Enzyme* dengan menggunakan berbagi jenis limbah organik sayur ataupun buah, bahkan melakukan alih fungsi *Eco-Enzyme* sebagai hand sanitizer dan desinfektan yang ramah lingkungan (Alkadri A. P. S. dan Asmara D. K., 2020).

Pandemi Covid-19 mengharuskan setiap orang harus menjaga kebersihan diri dan lingkungannya dari mikroorganisme yang tak kasat mata. Salah satu cara yang dilakukan oleh masyarakat adalah dengan menggunakan

antiseptik atau handsanitizer berbahan dasar alkohol atau senyawa antiseptik sintetis lainnya. Penggunaan alkohol atau bahan kimia yang bersifat antiseptik, tentunya tidak ramah bagi kulit manusia maupun lingkungan, bahkan dapat meninggalkan residu yang berbahaya bagi lingkungan. Oleh karena itu, *Eco-Enzyme* merupakan salah satu solusi terbaik untuk menjaga kebersihan diri dan lingkungan. *Eco-Enzyme* merupakan cairan yang dihasilkan dari hasil fermentasi bahan organik nol lemak yang berfungsi sebagai antiseptik ramah lingkungan karena dibuat dari limbah organik dan tidak meninggalkan residu yang membahayakan lingkungan. Bahan organik yang umum digunakan dalam pembuatan *Eco-Enzyme* adalah limbah sayur dan limbah buah. Sedangkan untuk penelitian ini, peneliti memiliki limbah organik lokal yang sepanjang pencarian data belum dilakukan oleh peneliti lain. Limbah organik lokal yang dimaksud adalah limbah buah pala, daun pala, dan daun cengkeh yang banyak ditemukan di Propinsi Maluku.

Penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada

1. Rektor IAIN Ambon yang telah memberikan kesempatan kepada penulis dalam melakukan aktivitas penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah
2. LP2M IAIN Ambon yang memberikan bantuan materi demi kelancaran penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah

3. Para Reviewer yang telah banyak memberikan masukan demi kelancaran kegiatan penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah
4. Teman-teman Dosen Pendidikan Biologi IAIN Ambon (Idrus Sere, Nur Alim Natsir, M. Si, Rosmawati T, M, Asyik Nur Aliffah, M. Si., Nina Mulyana Mulyawati, M. Pd., Rati tarpono, Sofia Latifa, Sri Salmawati) yang turut memberikan sumbangan pemikiran demi kesempurnaan buku ini
5. Laboran Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, Laboran Biologi Dasar Universitas Pattimura Ambon, dan Laboran MIPA IAIN Ambon
6. Mahasiswa Pendidikan Biologi yang turut menyumbang pemikiran dalam kegiatan penelitian maupun selama penyusunan karya tulis ilmiah
7. Semua pihak yang tidak dapat saya ungkapkan satu persatu yang telah membantu dalam selama penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah

Penulis menyadari bahwa buku ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik yang bersifat membangun dari berbagai pihak sangat diharapkan guna penyempurnaan di masa yang akan datang. Akhir kata, penyusun menghaturkan banyak terima dan semoga karya ini dapat bermanfaat sebagaimana yang diharapkan.

Muhammad Rijal

DAFTAR ISI

Sampul (i)
Kata Pengantar (ii)
Daftar Isi (iv)
Daftar Tabel (vi)
Daftar Gambar (vii)
Bab I Pendahuluan (9)
Bab II Eco-Enzyme (20)
Bab III Tanaman Lokal Maluku (24)
Bab IV Limbah (30)
Bab V Fermentasi (37)
Bab VI Mikroorganisme Patogen (48)
Bab VII Alur Berfikir Peneliti (60)
Bab VIII Metode Penelitian (62)
Bab IX Hasil Penelitian (79)
Bab X Pembuatan Eco-Enzyme (86)
Bab XI Kualitas Eco-Enzyme (120)
Ba XII Penutup (136)
Daftar Pustaka (139)

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Hal
2.1	Berbagai Jenis Inokulum dan Produknya	32
4.1	Kualitas Fisik Eco-Enzyme	64
2.3	Berbagai Jenis Inokulum dan Produknya	29
4.1	Kualitas Fisik (Warna Eco-Enzyme)	64
4.2	Kualitas Fisik (Aroma Eco-Enzyme)	65
4.3	Kandungan Alkohol pada Eco-Enzyme	66
4.4	Kandungan Asam asetat pada Eco-Enzyme	66
4.5	Zona Hambat Pertumbuhan <i>E. coli</i> (1 x 24 jam)	72
4.6	Zona Hambat Pertumbuhan <i>E. coli</i> (2 x 24 jam)	74
4.7	Zona Hambat Pertumbuhan <i>S. aureus</i> (1 x 24 jam)	75
4.8	Zona Hambat Pertumbuhan <i>S. aureus</i> (2 x 24 jam)	77
4.9	Zona Hambat Pertumbuhan <i>C. albicans</i> (1 x 24 jam)	78
4.10	Zona Hambat Pertumbuhan <i>C. albicans</i> (2 x 24 jam)	80
4.11	Rerata Zona Hambat Mikroba (1 x 24 jam)	81

4.12	Rerata zona hambat Mikroba (2 x 24 jam)	82
5.1	Kompoisis Bahan dari Setiap Perlakuan	88
5.2	Kegunaan dan Cara Penggunaan Eco-Enzyme	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Hal
2.1	Limbah Basah	21
2.2	Limbah Organik Kering	22
2.3	Proses Fermentasi	29
2.4	Lintasan Glikolisis	33
3.1	Morfologi Kromatografi Gas	50
3.2	Mekanisme Injeksi Sampel	53
3.3	Jenis Kolom	53
3.4	Bentuk FID	55
4.1	Grafik Eugenol Daun Cengkeh	67
4.2	Grafik Myristisin Daun dan Buah Pala	69
4.3	Grafik Sineol aun Kayu Putih	70
4.4	Zona hambat pertumbuhan <i>E.</i> <i>coli</i> (1 x 24 jam)	73
4.5	Zona hambat pertumbuhan <i>E.</i> <i>coli</i> (2 x 24 jam)	74
4.6	Zona hambat pertumbuhan <i>S.</i> <i>aureus</i> (1 x 24 jam)	76
4.7	Zona hambat pertumbuhan <i>S.</i> <i>aureus</i> (2 x 24 jam)	77
4.8	Zona hambat pertumbuhan <i>C.</i> <i>albicans</i> (1 x 24 jam)	79
4.9	Zona hambat pertumbuhan <i>C.</i> <i>albicans</i> (2 x 24 jam)	80
5.1	Komposisi Bahan Eco- Enzyme	87

BAB I PENDAHULUAN

Dunia sekarang dilanda masalah yang sangat besar berupa munculnya wabah virus corona. Virus corona ditetapkan sebagai pandemi oleh WHO dan telah banyak memakan korban jiwa, bahkan melumpuhkan perekonomian dunia. Dunia melakukan banyak hal untuk memutuskan mata rantai penularan virus tersebut, mulai dari melakukan *social distancing*, menggunakan masker, dan menjaga pola hidup bersih (Susilo A., dkk, 2020). Hal yang terbaru dilakukan oleh dunia adalah dengan membuat vaksin yang bertujuan untuk membentuk antibodi sebagai pertahanan tubuh dari serangan virus corona. Hakekatnya, tubuh memiliki kemampuan secara alami untuk membentuk antibodi. Namun hal tersebut tergantung dari kondisi fisik setiap manusia. Terkadang terdapat manusia yang memiliki kondisi fisik yang lemah sehingga untuk membentuk antibodi secara alami sangat lambat. Olehnya itu, dibuatlah vaksin untuk membantu tubuh manusia membentuk antibodi (Handayani D., dkk, 2020).

Pembentukan antibodi melalui vaksinasi tidak akan menghilangkan virus corona yang ada di sekitar manusia, karena virus tersebut sudah menjadi pandemi dan akan ada selamanya seperti halnya virus influenza. Virus merupakan jasad renik yang hidup pada inang dan

merupakan partikel benda mati jika berada diudara, air, makanan, ataupun benda padat lainnya. Virus akan melakukan replikasi pada inang yang hidup dalam interval yang sangat cepat. Virus dapat melakukan replikasi hanya dalam hitungan jam, bahkan ada jenis virus yang mampu melakukan replikasi dalam hitungan menit (Yuliana, 2020; Burke R. M., et al, 2020; Hammer L., et al, 2020). Virus akan mudah menginfeksi manusia jika dalam kondisi yang tidak fit. Kondisi yang tidak fit dapat dipicu oleh kekurangan nutrisi, kelelahan yang berkepanjangan, dan infeksi mikroorganisme (bakteri dan jamur). Ketiga faktor tersebut saling berkaitan, dan faktor infeksi bakteri atau jamur paling banyak menyebabkan turunnya kualitas kesehatan manusia. Saat kualitas kesehatan menurun, maka virus dengan mudah dapat menginfeksi tubuh manusia (Liu J., et al, 2020; Ghinai I., et al, 2020; Pung R., et al, 2020).

Bakteri atau jamur termasuk mikroorganisme mikroskopis yang memiliki zona kehidupan yang sangat luas. Bakteri dan jamur berbeda dengan virus, bedanya adalah bahwa virus dapat berupa benda mati jika berada diluar inang hidup. Luasnya zona kehidupan bakteri dan jamur merupakan masalah besar bagi manusia karena setiap waktu dan setiap tempat pasti akan bersentuhan dengan mikroorganism tersebut. Bersentuhan dengan bakteri atau jamur yang bersifat patogen akan menurunkan kualitas kesehatan, dan jika kualitas kesehatan menurun maka tubuh akan mudah terinfeksi virus (Chan J.

F. W., et al, 2020; Luo L., et al, 2020). Upaya yang dapat dilakukan untuk menjaga diri dan lingkungan dari kontaminasi bakteri, jamur, dan virus adalah dengan menggunakan antiseptik baik untuk tangan, tubuh, perabot, sayur, buah, lantai, jendela, atau bagian rumah lainnya. Penggunaan antiseptik haruslah bijaksana karena bahan dasar antiseptik yang banyak beredar adalah alkohol atau senyawa kimia sintetik yang menimbulkan efek jika digunakan dalam jangka waktu yang lama (Huang C, et al, 2020). Efek yang dapat muncul adalah kulit menjadi kering, kaku, dan jika terhirup dapat menyebabkan gangguan saraf. Selain itu, tidak ramah terhadap lingkungan karena berasal dari bahan kimia sintetik.

Antiseptik dari bahan kimia sintetik yang tidak aman bagi lingkungan adalah pembersih lantai, pembersih kaca, dan pembersih toilet. Bahan pembersih tersebut dapat diganti dengan bahan alami yang lebih ramah terhadap lingkungan dan residu yang dihasilkan bahkan bermanfaat untuk menyuburkan tanah pertanian. Bahan alam yang dapat digunakan untuk menghasilkan antiseptik serbaguna adalah limbah buah, limbah sayur, dan daun tumbuhan. Antiseptik yang dihasilkan dikenal dengan istilah *Eco-Enzyme*, yaitu sediaan cairan antiseptik berwarna coklat yang berasal dari hasil fermentasi bahan organik non lemak dan ramah lingkungan. Istilah *Eco-Enzyme* pertama kali diperkenalkan oleh ahli kimia dari Thailand yang melakukan penelitian selama 30 tahun dan berhasil mendapatkan cairan

serbaguna dari fermentasi limbah organik non lemak selama 3 bulan dalam kondisi anaerob fakultatif dan aerobik (Penmatsa B., et al, 2019).

Selama fermentasi anaerobik fakultatif, bahan organik akan diubah menjadi ethanol dan setelahnya akan dilakukan proses aerobik untuk mengubah senyawa alkohol menjadi senyawa asam. Selama proses fermentasi, dihasilkan O_3 yang akan menguap ke atmosfer dan membentuk lapisan ozon. Ampas hasil fermentasi berfungsi sebagai kompos yang dapat diaplikasikan pada tanah dan cairan coklat yang dihasilkan adalah sediaan *Eco-Enzyme* yang merupakan antiseptik multifungsi. Bahan organik yang umum digunakan dalam pembuatan *Eco-Enzyme* adalah limbah sayur dan limbah buah (Rochyani N., et al, 2020). Sepanjang penelusuran data artikel ataupun media baca on-line, peneliti belum menemukan informasi pembuatan *Eco-Enzyme* dari limbah buah pala, daun pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih.

Ketiga jenis limbah tersebut memiliki kelebihan karena mengandung senyawa yang bersifat antiseptik, yaitu myristisin, eugenol, dan sineol. Myristisin selain bersifat antimikroba, senyawa ini dapat memberikan relaksasi sehingga baik untuk menstimulasi saraf otak, eugenol yang bersumber dari tanaman cengkeh memiliki fungsi sebagai antiseptik sekaligus sebagai antioksidan, sedangkan sineol yang terkandung dalam daun kayu putih dipercaya dapat menghambat replikasi virus. Ketiga limbah tersebut merupakan hasil samping dari tumbuhan yang semuanya ditemukan

di wilayah Maluku, sehingga tubuhan tersebut dikenal sebagai tumbuhan lokal. Pemilihan ketiga limbah tersebut sangat tepat untuk dijadikan sebagai bahan baku pembuatan *Eco-Enzyme* karena tersedia melimpah dan berbeda dengan bahan baku yang sebelumnya pernah diteliti, sehingga terdapat kebaharuan dan eksplorasi yang besar untuk dikembangkan sebagai produk unggulan perguruan tinggi dalam peranannya dalam menciptakan masyarakat dan lingkungan yang sehat.

Eco-enzyme merupakan cairan hasil fermentasi bahan organik non lemak dengan manfaat yang sangat besar, khususnya dalam menjaga kesehatan manusia dan lingkungan. Eco-enzyme selama ini dibuat dari limbah buah dan sayur dengan menggunakan larutan gula merah sebagai mol. Dalam penelitian ini digunakan daun pala, daging buah pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih sebagai bahan pokok dalam pembuatan *eco-enzyme*. Olehnya, itu masalah dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana kualitas *eco-enzyme* berbahan limbah tanaman lokal Maluku ?
2. Apakah ada pengaruh jenis *eco-enzyme* terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*?
3. Apakah ada perbedaan penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* setelah pemberian *eco-enzyme* dan antiseptik komersil ?

Pandemi Covid-19 mengharuskan setiap orang harus menjaga kebersihan diri dan lingkungannya dari mikroorganisme yang tak kasat mata. Salah satu cara yang dilakukan oleh masyarakat adalah dengan menggunakan antiseptik atau handsanitizer berbahan dasar alkohol atau senyawa antiseptik sintetik lainnya. Penggunaan alkohol atau bahan kimia yang bersifat antiseptik, tentunya tidak ramah bagi kulit manusia maupun lingkungan, bahkan dapat meninggalkan residu yang berbahaya bagi lingkungan. Oleh itu, *Eco-Enzyme* merupakan salah satu solusi terbaik untuk menjaga kebersihan diri dan lingkungan. *Eco-Enzyme* merupakan cairan yang dihasilkan dari hasil fermentasi bahan organik nol lemak yang berfungsi sebagai antiseptik ramah lingkungan karena dibuat dari limbah organik dan tidak meninggalkan residu yang membahayakan lingkungan.

Bahan organik yang umum digunakan dalam pembuatan *Eco-Enzyme* adalah limbah sayur dan limbah buah. Sedangkan untuk penelitian ini, peneliti memiliki limbah organik lokal yang sepanjang pencarian data belum dilakukan oleh peneliti lain. Limbah organik lokal yang dimaksud adalah limbah buah pala, daun pala, dan daun cengkeh yang banyak ditemukan di Propinsi Maluku. Adanya perbedaan bahan baku yang digunakan dalam pembuatan *Eco-Enzyme*, maka tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Mengidentifikasi dan menganalisis kualitas *Eco-Enzyme* berbahan limbah organik lokal Maluku
2. Menganalisis pengaruh jenis *Eco-Enzyme* terhadap terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*
3. Menganalisis perbedaan penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* setelah pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil

Penelitian *Eco Enzyme* pertama kali dilakukan oleh Dr. Rosukon Poompanvong pendiri Asosiasi Pertanian Organik di Thailand. Pengolahan limbah organik menjadi enzim merupakan proyek besar di beberapa Negara di Asia, seperti: Malaysia, Thailand, Singapura, dan Filipina. Di Indonesia, istilah *Eco-Enzyme* baru berkembang akhir Tahun 2019 dan awal Tahun 2020 mulai diperkenalkan secara luas oleh beberapa kampus melalui program *Eco-Enzyme* Nusantara. Awal Tahun 2021, UI Greenmetrik melakukan workshop ke Kampus-Kampus di Indonesia untuk mengolah limbah organik non lemak sebagai bahan baku dalam pembuatan *Eco-Enzyme* yang multifungsi dan ramah lingkungan. Seiring berkembangnya informasi tentang manfaat besar dari *Eco-Enzyme*, membuat peneliti untuk melakukan kajian riset pengembangan *Eco-Enzyme* dengan menggunakan berbagai jenis limbah organik sayur ataupun buah, bahkan melakukan alih fungsi *Eco-Enzyme* sebagai hand

sanitizer dan desinfektan yang ramah lingkungan (Alkadri A. P. S. dan Asmara D. K., 2020).

Penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pembuatan *Eco-Enzyme* adalah yang dilakukan oleh Arifin W. L., dkk (2019) yang memproduksi *Eco-Enzyme* dari limbah organik rumah tangga. Sejalan dengan itu, Fitriani S. D. dan Gatot M (2020) melakukan penelitian tentang pengolahan sampah organik dalam pembuatan *Eco-Enzyme* sebagai solusi antiseptik di masa pandemi. Ramadani H. A., dkk (2019) melalui program pelatihan kelompok tani di Dusun Puhrejo, berhasil membuat pupuk organik dari ampas fermentasi *Eco-Enzyme*. Selain itu,

Rasit N. (2019) membuat dan melakukan karakteristik *Eco-Enzyme* yang berasal dari limbah buah tomat dan jeruk. Selain limbah buah tomat dan buah jeruk, limbah buah pepaya dan buah nenas dapat digunakan dalam membuat *Eco-Enzyme* (Rochyani N., dkk 2020). Untuk membuat *Eco-Enzyme*, Gerakan Nusantara telah menyiapkan modul belajar pembuatan *Eco-Enzyme* dan disampaikan dalam webinar nasional (Tim Eco Enzim Nusantara. 2020). Vama L. and Cherekar N. M (2020) melakukan produksi, ekstraksi, dan menggunakan *Eco-Enzyme* dari bahan baku limbah buah jeruk. Produksi *Eco-Enzyme* yang telah dibuat oleh peneliti tersebut masih menggunakan limbah sayur dan limbah buah, seperti: limbah buah tomat, limbah buah jeruk, limbah buah pepaya, dan limbah buah nanas. Belum ditemukan hasil penelitian tentang

penggunaan limbah buah pala, limbah daun pala, limbah daun kayu putih, dan limbah daun cengkeh dalam pembuatan *Eco-Enzyme*. Ketiga jenis limbah tersebut sangat potensial untuk dikembangkan menjadi *Eco-Enzyme* karena merupakan limbah lokal yang banyak terdapat di wilayah Maluku dan memiliki keunggulan karena mengandung senyawa myristisin, sineol, dan eugenol yang bersifat antimikroba.

Eco-Enzyme merupakan sediaan cair berwarna coklat yang berasal dari hasil fermentasi limbah organik buah atau sayur non lemak. Sediaan cair yang dihasilkan tersebut memiliki kegunaan yang besar, khususnya dalam bidang kesehatan. *Eco-Enzyme* dapat digunakan sebagai pembersih lantai, pembersih kaca, pembersih toilet, penyumbang ozon ke atmosfer, pembersih air yang tercemar, pembersih buah, insektisida, pembersih pakaian, pembersih tangan, dan lain sebagainya. Dhiman S. (2020) menemukan bahwa *Eco-Enzymes* dapat mereduksi cemaran pada air dan mampu menyumbang O_3 ke atmosfer.

Hal serupa dikemukakan oleh Janarthanan M., et al (2020) bahwa *Eco-Enzyme* dapat digunakan untuk membersihkan air yang tercemar dengan indikator kandungan kadar oksigen terlarut air. Kumar N., et al (2019) melakukan validasi penggunaan *Eco-Enzyme* untuk membersihkan sungai yang tercemar dan hasilnya menunjukkan bahwa ada peningkatan kadar oksigen terlarut pada air sungai setelah diaplikasikan *Eco-Enzyme*

Penelitian lain tentang uji kualitas *Eco-Enzyme* dilakukan oleh Larasati D., dkk (2020) yang melakukan uji organoleptik pada *Eco-Enzyme* dari limbah kulit buah yang meliputi uji aroma, dan uji warna. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa aroma *Eco-Enzyme* berkorelasi dengan bahan baku yang digunakan, sedangkan warnanya adalah tetap, yaitu coklat. Mavani K. A. H., et al (2020) menjelaskan bahwa *Eco-Enzyme* dari kulit buah bersifat antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Penelitian lain tentang penggunaan *Eco-Enzyme* adalah mempertahankan keawetan buah anggur merah dan hitam.

Aplikasi pencucian buah anggur merah dan hitam dengan menggunakan cairan *Eco-Enzyme* memberikan daya tahan atau lama penyimpanan dengan masa penyimpanan 2 minggu di luar lemari pendingin atau pada suhu kamar. Pengujian *Eco-Enzyme* telah dilakukan oleh beberapa peneliti, seperti: uji organoleptik (warna dan aroma), uji daya hambat bakteri *Enterococcus faecalis*, dan uji kualitas air (peningkatan kadar oksigen air). Belum ditemukan penelitian tentang uji antibiotik untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, serta uji daya hambat kapang patogen. Olehnya itu, peneliti akan melakukan uji *Eco-Enzyme* untuk parameter yang belum diteliti oleh peneliti lainnya sehingga hasil penelitian ini memperkaya informasi ilmiah tentang manfaat *Eco-Enzyme*, khususnya yang diproduksi dari limbah tanaman lokal Maluku

(limbah buah pala, daun pala, daun kayu putih, dan daun cengkeh).

BAB II

ECO-ENZYME

Sampah merupakan masalah penting yang dapat merusak keseimbangan ekosistem lingkungan. Sampah merupakan material sisa yang tidak diinginkan setelah berakhirnya suatu proses, berdasarkan sumbernya sampah dibagi menjadi beberapa bagian yaitu: sampah alam, sampah manusia, sampah konsumsi, sampah nuklir, sampah industri, dan sampah pertambangan sedangkan berdasarkan sifatnya terbagi menjadi 3 yaitu: beracun (B3), sampah anorganik dan sampah organik. Sampah organik adalah barang atau bahan yang dianggap sudah tidak terpakai dan dibuang oleh pemilik/ pemakai sebelumnya, tetapi masih bisa dipakai kalau dikelola dengan prosedur yang benar (Chandra, 2006).

Sampah organik dapat juga dikatakan sebagai sampah yang bisa mengalami pelapukan (dekomposisi) dan terurai menjadi bahan yang lebih kecil dan tidak berbau (sering disebut sebagai kompos) (Slamet, 2002). Sampah sering dijumpai dilingkungan sekitar kita, seperti sisa-sisa makanan, kulit biji dari buah sayur, sampah buah-buahan, tulang ikan, serta dedaunan yang rontok dari pohon. kelompok ini termasuk golongan sampah organik karena sifatnya dapat didaur ulang (Rochyani dkk, 2020).

Salah satu langkah untuk memanfaatkan dan mengolah sampah organik adalah dengan

mengkonversinya menjadi eco-enzyme yang 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 kuat (Larasati dkk, 2020). Eco-enzym atau dalam Bahasa Indonesia disebut eco-enzym merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sisa organik, gula dan air. cairan Eco-enzym ini berwarna coklat gelap dan memiliki aroma yang asam/segar yang kuat (Rochyani dkk, 2020).

Bermula dari penemu Dr. Rosukon Poompanvang, seorang peneliti dan pemerhati lingkungan dari Thailand. Inovasi ini memberikan distribusi yang cukup besar bagi lingkungan. Dr. Rosukon juga merupakan seorang pendiri Asosiasi Pertanian Organik Thailand (*Organik Agricultur Assocation of Thainlad*) yang bekerjasama dengan petani di Thailand bahkan Eropa dan berhasil menghasilkan produk pertanian yang bermutu tetapi ramah lingkungan .dari usaha dan inovasi yang dilakukan ini, ia dianugrahi penghargaan oleh FAO Regional Thailand pada tahun 2003 (Anonim, 2020).

Eco-enzyme adalah cairan hasil fermentasi dari sampah organik yang berfungsi sebagai antiseptik, insektisida, fungisida, penyubur tanah, dan lainnya. Kandungan asam asetat dan etanol menyebabkan *eco-enzyme* dapat dijadikan sebagai antiseptik atau desinfektan. Alkohol atau asam asetat dihasilkan selama proses katabolisme yang

dilakukan oleh bakteri atau kapang/khamir yang secara alami terdapat dalam sisa limbah organik (Ariandi dan Khaerati, 2017; Dhiman S., 2020; Kumar N., et al, 2019). Katabolisme secara anaerobik merupakan aktivitas mikroorganisme untuk menghasilkan energi tanpa oksigen dan menghasilkan produk sampingan (*byproduct*) berupa alkohol atau asam asetat, tergantung jenis mikroorganisme.

Jamur mikroskopis atau jenis bakteri tertentu akan menghasilkan alkohol selama fermentasi, sedangkan umumnya bakteri menghasilkan asam asetat. Proses fermentasi merupakan hasil dari aktivitas enzim yang terkandung dalam bakteri atau jamur mikroskopis. Selama pembuatan *Eco-Enzyme*, antara alkohol, asam asetat, atau keduanya dapat dihasilkan, tergantung jenis mikroorganisme yang terdapat pada sampah organik tersebut dan zat tersebut memiliki potensi sebagai antiseptik atau disinfektan yang ramah lingkungan (Sari P. R., dkk, 2020; Sayali D. J., et al, 2019; Winata A., dkk, 2017; Yulian Dewi W. N., et al, 2016). Adapun manfaat dari eco-enzyme sendiri adalah sebagai berikut (Tim Eko Enzim Nusantara, 2020):

1. **Cairan pembersih**, Yang digunakan untuk pembersih lantai, kaca, atau permukaan perabot plastik.
2. **Pupuk tanaman**, Eco-enzyme berguna untuk menyuburkan tanah dan tanaman, menghilangkan hama, dan meningkatkan

kualitas dan rasa buah dan sayuran yang ditanam

- 3. Pengusir hama,** Eco-Enzyme sangat efektif untuk mengusir hama tanaman seperti anggrek dan sayur-sayuran bahkan hama atau hewan yang mengganggu di sekitar rumah, seperti kecoa, semut, lalat, nyamuk, dan serangga.

Kelebihan lain yang dihasilkan dari eco enzyme adalah membantu siklus alam seperti memudahkan pertumbuhan tanaman (sebagai fertiliser), mengobati tanah, dan juga membersihkan air yang tercemar (Kumar et al, 2019). Karena natural dan bebas dari bahan kimia, eco enzyme mudah terurai, serta tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan dan yang paling utama keistimewaan dari eco enzyme ini adalah tidak memerlukan lahan yang luas untuk proses fermentasinya, serta bahan bahan yang digunakan bisa didapatkan dengan sangat mudah.

BAB III

TANAMAN LOKAL MALUKU

1. Pala

Pala dengan nama latin *Myristica fragrans* Hott, merupakan tanaman khas Indonesia yang terletak bagian timur di kepulauan Banda Maluku. Tanaman ini merupakan tanaman keras yang dapat berumur Panjang hingga lebih dari 100 tahun. Tanaman pala tumbuh dengan baik di daerah tropis dan pala termaksud dalam keluarga *Myritiaceae*. Berikut klasifikasi tanaman pala (Arijani, 2005).

Kerajaan : Plantea
Devisi : Magnoliophyte
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Magnoliales
Famili : Myristicaceae
Genus : *Myristica*
Spesies : *M. fragrans*

Buah pala tersebar luas di seluruh nusantara Indonesia dengan memiliki nama yang berbeda-beda dari setiap daerah, di antaranya ialah: Pala (Melayu), Pala (Jawa), Pala (Maluku), Pala (Lampung), Pala (Timor), dan lain-lain. Buah pala selain di kenal di Indonesia, juga di kenal di negara asing sala satunya adalah Negara Cina. Pala (*Myristica fragrus*) merupakan tumbuhan berumah dua (dioecious) sehingga dikenal pohon jantan dan pohon betina. Pala dipanen bijinya, salut bijinya (*arillus*) dan daging buahnya. Batang pohon menjulang tinggi 10-20 m

keatas dan kesamping, mahkota meruncing. Daun berwarna hijau mengkilap dan gelap, Panjang 4-5 cm, lebar 3-7 cm Panjang tangkai daun 0,4-1,5 cm bentuk helain daun ini juga dapat mendeteksi kelamin. Ciri pada betina adalah jika bentuk helaian daun lebih berkilau, sedangkan ciri pala jantana dalah jika bentuk helaian daun relative kecil dengan letak daun lebih tegak.

Buah pala berbentuk bulat lonjong, berwarna hijau kekuning-kunigan. Apa bila masak buah akan terbelah dua, diameter 3-9 cm. daging buahnya/pericarpe tebal dan rasanya asam. Biji pala berbentuk bulat sampai lonjong panjangnya 1,5-4,5 cm dengan lebar 1-25 cm. warna biji pala coklat dan mengkilap pada bagian luarnya. Arilus berwarna merah gelap dan ada pala putih kekuning-kunigan dan membungkus biji menyerupai jala. Petani Pala Maluku biasanya menentukan pala jantan dan betina dari bentuk bijinya. Biji yang memiliki permukaan ujung yang membukit diduga jantan dan biji yang bagian ujungnya rata diduga betina (Arijani, 2005)

Biji pala mengandung Minyak atsiri (*esential oil*) seb anyak 5-15% dari berat biji keseluruhan, diantaranya golongan senyawa monoterpene dalam industry obat-obatan, buah pala memiliki beragam khasiat yang bermanfaat bagi Kesehatan tubuh. Dalam dosis rendah pala dapat digunakan untuk menguragi (kembung perut), meningkatkan gaya cerna, komponen meristin yang terkandung dalam daging buah memiliki kemampuan sebagai insektisida dan

dianggap berkontribusi terhadap sifat halusinogen yang dapat menyebabkan halusinasi (Wattimena, 2019).

Selain rempah-rempah pala juga berfungsi sebagai tanaman penghasil minyak atsiri yang banyak digunakan dalam industri pengalengan, minuman dan kosmetik. Biji pala mengandung senyawa anestesia, daging buah pala mengandung myristicin merupakan senyawa ciri khas dan menjadi karakteristik utama dalam minyak atsiri, daun pala mengandung senyawa fanolik, alkaloid, triterpenoid dan tannin.

2. Cengkeh

Cengkeh adalah tanaman asli Indonesia, banyak digunakan sebagai bumbu masakan pedas di Negara-negara Eropa, dan sebagai bahan utama rokok. Cengkih ditanam terutama dibagian Maluku Indonesia. klasifikasi ilmiah cengkeh adalah sebagai berikut (Suwanto dan Hermawati, 2014):

Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Marga : Syzygium
Spesies : *Syzygium aromaticum* L.

Cengkeh dikenal dengan berbagai macam istilah di beberapa daerah seperti bunga rawan (Sulawesi), bunga eulawang (Sumatra) dan cengkeh (Jawa). Istilah lain dari cengkeh

diantaranya sinke, cangke, cengke, gomode, sake, singke, sangke dan hungolawa (Anonim, 2020). Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) merupakan tanaman pohon dengan batang besar berkayu keras yang tingginya mencapai 20–30 m. Tanaman ini mampu bertahan hidup hingga lebih dari 100 tahun dan tumbuh dengan baik di daerah tropis dengan ketinggian 600–1000 meter di atas permukaan laut (Darti dan Najiati, 1991). Tanaman cengkeh memiliki 4 jenis akar yaitu akar tunggang, akar lateral, akar serabut dan akar rambut. Daun dari tanaman cengkeh merupakan daun tunggal yang kaku dan bertangkai tebal dengan panjang tangkai daun sekitar 2–3 cm (Nuraini, 2014). Daun cengkeh berbentuk lonjong dengan ujung yang runcing, tepi rata, tulang daun menyirip, panjang daun 6–13 cm dan lebarnya 2,5–5 cm. Daun cengkeh muda berwarna hijau muda, sedangkan daun cengkeh tua berwarna hijau kemerahan (Kardinan, 2003).

Tanaman cengkeh mulai berbunga setelah berumur 4,5–8,5 tahun, tergantung keadaan lingkungannya. Bunga cengkeh merupakan bunga tunggal berukuran kecil dengan panjang 1–2 cm dan tersusun dalam satu tangkai yang keluar pada ujung-ujung ranting. Setiap tangkai terdiri dari 2–3 cabang malai yang bias bercabang lagi. Jumlah bunga permalai bias mencapai lebih dari 15 kuntum. Bunga cengkeh muda berwarna hijau muda, kemudian berubah menjadi kuning pucat kehijauan dan berubah menjadi kemerahan apa bila sudah tua. Bunga cengkeh kering akan

berwarna coklat kehitaman dan berasa pedas karena mengandung minyak atsiri (Thomas, 2007). Tanaman cengkeh mengandung rendemen minyak atsiri dengan jumlah cukup besar, baik dalam bunga (10–20%), tangkai (5–10%), maupun daun (1–4%). Minyak atsiri dari bunga cengkeh memiliki kualitas terbaik karena hasil rendamannya tinggi dan mengandung eugenol mencapai 80–90% (Nurjannah, 2004).

3. Kayu Putih

Kayu putih dengan nama latin (*melaleuca leucadendra*) merupakan tumbuhan berupa pohon yang berasal dari Kabupaten Buru. Berikut klasifikasi ilmiah Kayu Putih.

Kerajaan : Plantea
Devisi : Manoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genuas : Melaleuca
Spasis : *M. leucandenra*

Tanaman yang akrab di tengah masyarakat, karena manfaat tanaman ini sebagai bahan obat, insektisida, dan aroma wewangian (minyak kayu putih), di samping pertumbuhan tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai tanaman konservasi lahan-lahan kritis. Pada beberapa kasus diwilayah Perum Perhutani, penanaman kayu putih, juga dimaksudkan untuk mengatasi lahan kritis. Secara habitus, kayu putih dapat tumbuh mencapai tinggi 10-20 meter, batang pohon tidak berkembang

terlalu besar dengan permukaan kulit berlapis-lapis dan mengelupas takberaturan.

Kayu putih berciri berdaun tunggal, relative tebal, bertangkai pendek, daunnya berposisi duduk berselang-seling. Helaian daun berbentuk jorong tau lanset, dengan panjang 4,5-15 cm, lebar 0,75-4 cm, ujung dan pangkal daun runcing, tepi rata dan tulang daun hampir sejajar. Permukaan daun berambut, warna hijau kelabu sampai hijau kecoklatan, Daun bila diremas akan mengeluarkan aroma khas kayu putih. Perbungaannya majemuk bentuk bulir, dengan bunga seperti lonceng, daun mahkota warna putih, kepala putik berwarna putih kekuningan, keluar di ujung percabangan. Buah panjang 2,5-3 mm, lebar 3-4 mm, warna coklat muda sampai coklat tua (Sadono dkk, 2019).

Kayu putih biasa tumbuh di atas tanah-tanah grumusol, latosol, dan regosol. Walau dikenal sebagai tanaman lahan kritis, tetapi pertumbuhannya membutuhkan kelembaban yang cukup dengan curah hujan yang tinggi, sehingga biasa ditanam pada masa itu, agar tanaman kayu putih tumbuh dengan baik. Jarak tanam pada hutan tanaman kayu putih biasanya menggunakan 2 m x 1 m, atau 3 m x 1 m, untuk polatanam tumpangsari. Pengolahan lahan dapat dilakukan dengan dicangkul atau untuk lahan yang topografinya datar dapat diolah dengan traktor. Cara lain yang dapat dilakukan adalah dengan sistem cemplongan yaitu tanah yang diolah hanya seluas 1 m dari titik tanam. Lubang tanam yang dianjurkan adalah 30

cm x 30 cm x 30 cm. Lubang tanam dipupuk dengan kompos sebanyak 1-2 kg per lubang untuk memacu pertumbuhan pada awal tumbuh. Pemasangan ajir dengan ukuran 50-80 cm pada setiap lubang tanam lajim dilakukan agar pelaksanaan penanaman menjadi lebih mudah.

Kayu putih merupakan tanaman yang menghasilkan minyak atsiri, minyak kayu putih, yang dihasilkan melalui penyulingan daun kayu putih. Minyak kayu putih bermanfaat sebagai anti septik, insektisida dan vermifuge, decongestant dan expectorant, kosmetik dan tonik, perangsang dan sudironific, analgesic, anti sakit saraf. Dengan manfaat kayu putih yang banyak itu, minyak kayu putih di senangi banyak ibu rumah tangga. Di dalam negeri saja, kebutuhan minyak kayu putih hingga mencapai 1.500 ton per tahun. Kebutuhan itu belum bias dicukupi secara mandiri dari dalam negeri.

Kenyataannya, kebutuhan dalam negeri dicukupi dengan mengimpor minyak kayu putih dari Tiongkok dari penyulingan eukaliptus, tidak kurang 1.000 ton pertahun. Di Indonesia, minyak kayu putih berasal dari tanaman kayu putih (*Melaleuca cajuputi sub-spcajuputi*) yang ditanam secara alami maupun ditanam secara sengaja (plantation), sebagian besar berada dikepulauan Maluku dan pulau Jawa. Di pulau Jawa, industry minyak kayu putih didominasi Perum Perhutani, dengan produksi mencapai rerata 300 ton per tahun, dan menjadi input pengemasan minyak kayu putih yang laku dipasaran (Guenther, 1987).

BAB IV LIMBAH

Limbah merupakan bahan buangan berupa sisa makanan, plastik, serasa tumbuhan, dan sisa detergen yang tidak dibutuhkan oleh manusia. Limbah tergolong dua jenis, yaitu limbah oorganik dan limbah anorganik. Limbah anorganik adalah limbah yang tidak bersumber dari makhluk hidup dan biasanya sangat sulit untuk terurai, namun tidak menimbulkan bau busuk. Limbah organik adalah limbah yang berasal dari makhluk hidup yang mudh terurai, namun menimbulkan bau busuk

Karena mudah terurai, maka limbah organik dapat diolah menjadi produk yang memberi mnfaat bagi manusia maupun lingkungan. Salah satu produk dari pengolahan limbah organik adalah pupuk atau kompos, baik yang berbentuk cair maupun padat. Kompos sangat ramah lingkungan dan mengandung nutrisi lengkap yang membantu menyuburkan tanah. Pembuatan kompos menggunakan semua jenis limbah organik, sedangkan untuk produk lain dari pengolahan limbah organik seperti *Eco-Enzyme* hanya menggunakan limbah organik non lemak. Adanya sifat mudah terurai, limbah organik dapat diolah menjadi *Eco-Enzyme* dengan memnfaatkan mikroorganisme bebas sehingga dapat mengatasi penpecamaran lingkungan, khususnya pencemaran

air dan penceraan udara (Megah S. I. S., et al, 2018)

Limbah organik adalah bahan organik yang terbuang dari suatu kegiatan manusia maupun proses alam dan tidak atau mempunyai nilai ekonomi. Limbah yang tidak di tangani secara benar dapat mengganggu kebersihan dan kesehan lingkungan. Usaha untuk meningkatkan nilai ekonomi limbah organik tersebut adalah dengan memanfaatkannya menjadi pupuk kompos (Budiono 2003). Berbagai limbah organik dapat dijadikan kompos, seperti limbah pertanian, limbah industri, dan limbah rumah tangga, termaksud ke dalamnya sampah kota. Sehingga diperlukan metode pengelolaan sampah organik yang efisien dan ramah lingkungan seperti pengomposan. Pengomposan adalah suatu proses dekomposisi yang dilakukan oleh agen decomposer (bacteria actionomycetes, fungi, dan organisme tanah) terhadap buangan organik yang biodegradable (Indriani, 2003).

1. Pengertian Limbah Organik

Sampah organik adalah barang yang dianggap sudah tidak terpakai dan dibuang oleh pemilik/pemakai sebelumnya, tetapi masi bisa dipakai atau dikelola dengan prosedur yang benar. Sampah organik adalah sampah yang bisa mengalami pelapukan (dekomposisi) dan terurai menjadi bahan yang lebih kecil dan tidak berbau (sering disebut dengan komposis). Kompos merupakan hasil pelapukan bahan-bahan organik

seperti daun-daunan, jerami, alang-alang, sampah, rumput, dan bahan lain yang sejenis yang proses pelapukanya dipercepat oleh bantuan manusia. Sampah pasar khusus seperti pasar sayur mayur, pasar buah, atau pasar ikan, jenisnya relative seragam, sebagian besar (95%) berupa sampah organik sehingga lebih mudah ditangani. Sampah yang berasal dari pemukiman umumnya sangat beragam, tetapi secara umum minimal 75% terdiri dari sampah organik dan sisanya anorganik.

2. Jenis-Jenis Sampah Organik

Sampah organik berasal dari makhluk hidup, baik manusia maupun hewan, maupun tumbuhan. Sampah organik sendiri dibagi menjadi:

a. Sampah Organik Basah

Sampah organik basah adalah jenis sampah yang terdiri dari sisa-sisa potongan hewan atau sayuran hasil dari pengolahan dan pembuatan makanan yang sebagian besar terdiri dari zat yang mudah membusuk.



Gambar 1. Limbah Basah

b. Sampah Organik Kering

Sementara bahan yang termasuk sampah organik kering adalah bahan organik lain yang kandungan airnya kecil. Contohnya sampah organik kering diantaranya kertas, kayu atau ranting pohon, dan dedaunan kering.



Gambar 2. Limbah Organik Kering

Limbah industri organik di Indonesia biasanya berupa limbah pabrik kelapa sawit (PKS). Limbah PKS semakin meningkat seiring dengan perkembangannya industri kelapa sawit yang sedang terjadi sehingga kuantitas dan kualitas limbah padat yang dihasilkan juga semakin banyak. Oleh karena itu dibutuhkan manajemen penanganan limbah padat industri yang terstandarisasi (Asbudi, 2010). limbah rumah sakit biasanya berupa botol plastik, botol impus dan plastic suntikan

3. Dampak Limbah

a. Dampak Terhadap Kesehatan

Potensi bahaya kesehatan yang dapat ditimbulkan adalah sebagai berikut:

- 1) Penyakit diare, korela, tifus menyebar dengan cepat karena virus yang berasal dari sampah dengan pengelolaan tidak tepat dapat bercampur air minum. Penyakit demam berdarah (*haemorrhagic fever*) dapat juga meningkatkan dengan cepat didaerah pengelolaan sampahnya kurang memadai.
- 2) Penyakit jamur dapat juga menyebar (misalnya jamur kulit).
- 3) Penyakit yang dapat menyebar melalui rantai makanan. Salah satu contohnya adalah suatu penyakit yang ditjangkitkan oleh cacing pita (*taenia*). Cacing ini sebelumnya masuk kedalam pencernaan binatang ternak melalui makanannya yang berupa sisa makanan/sampah
- 4) Sampah beracun : telah dilaporkan bahwa di Jepang kira-kira 40.000 orang meninggal akibat mengonsumsi ikan yang telah terkontaminasi oleh raksa (Hg). Raksa ini berasal dari sampah yang dibuang ke laut oleh pabrik yang memproduksi baterai dan akumulator.

b. Dampak Terhadap Lingkungan

Cairan rembesan sampah yang masuk kedalam drainase atau sungai akan mencemari air. Berbagai organisme termasuk ikan dapat mati sehingga beberapa sepsis akan lenyap, hal ini mengakibatkan beribahnya ekosistem perairan

biologis. Penguraian sampah yang dibuang ke air akan menghasilkan asam organik dan gas cair organik seperti metana. Selain berbau kurang sedap gas ini dalam konsentrasi tinggi dapat meledak.

4. Prinsip Pengolahan Limbah Organik

Berikut adalah prinsip-prinsip yang bisa diterapkan dalam pengolahan sampah. Prinsip-prinsip ini dikenal dengan nama 4R, yaitu:

a. Mengurangi

Sebisa mungkin meminimalisasi barang atau material yang kita pergunakan. Semakin banyak kita menggunakan material, semakin banyak sampah yang dihasilkan.

b. Menggunakan Kembali

Sebisa mungkin pilihlah barang-barang yang bisa dipakai kembali. Hindari pemakaian barang-barang yang sekali pakai, buang.

c. Mendaur Ulang

Sebisa mungkin, barang-barang yang sudah tidak berguna didaur ulang lagi. Tetapisaat ini sudah banyak industri tidak resmi dan industri rumah tangga yang sudah memanfaatkan sampah menjadi barang lain.

d. Mengganti

Teliti barang yang kita pakai sehari-hari. Gantilah barang-barang yang hanya bisa dipakai sekali dengan barang yang lebih tahan lama

BAB V

FERMENTASI

1. Pengertian Fermentasi

Fermentasi adalah proses terjadinya penguraian senyawa-senyawa organik untuk menghasilkan energi serta terjadi perubahan substrat menjadi produk baru oleh mikroba (Madigan, 2011). Fermentasi berasal dari bahasa latin *ferfere* yang artinya mendidihkan. Fermentasi merupakan pengolahan substrat menggunakan peranan mikroba (jasad renik) sehingga dihasilkan produk yang dikehendaki (Muhiddin, 2001). Produk fermentasi berupa biomassa sel, enzim, metabolit primer maupun sekunder atau produk transformasi (biokonversi).

Proses fermentasi mendayagunakan aktivitas suatu mikroba tertentu atau campuran beberapa spesies mikroba. Mikroba yang banyak digunakan dalam proses fermentasi antara lain khamir, kapang dan bakteri. Teknologi fermentasi merupakan salah satu upaya manusia dalam memanfaatkan bahan-bahan yang berharga relatif murah bahkan kurang berharga menjadi produk yang bernilai ekonomi tinggi dan berguna bagi kesejahteraan hidup manusia.

Fermentasi merupakan suatu cara untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu yang dikehendaki dengan menggunakan bantuan mikroba. Produk-produk tersebut biasanya dimanfaatkan sebagai minuman atau makanan.

Fermentasi suatu cara telah dikenal dan digunakan sejak lama sejak jaman kuno. Sebagai suatu proses fermentasi memerlukan:

- a. Mikroba sebagai inokulum
- b. Tempat (wadah) untuk menjamin proses fermentasi berlangsung dengan optimal.
- c. Substrat sebagai tempat tumbuh (medium) dan sumber nutrisi bagi mikroba.

Bioteknologi fermentasi menyangkut hal-hal yang berkaitan dengan proses industri fermentasi yang meliputi:

- a. Sifat Fermentasi
- b. Prinsip Kultivasi Mikroba dalam Sistem Cair
- c. Desain Bioreaktor (fermenter)
- d. Desain Media
- e. Instrumentasi dan Pengendalian Proses dalam Bioreaktor
- f. Teknik Pengukuran
- g. Pemindahan Massa dan Energi
- h. Peningkatan Skala
- i. Fermentasi substrat padat

2. Prinsip dan Jenis-jenis Fermentasi

Agar fermentasi dapat berjalan dengan optimal, maka harus memperhatikan prinsip fermentasi berikut ini:

- a. Aseptis: bebas kontaminan.
- b. Komposisi medium pertumbuhan.
- c. Penyiapan inokulum
- d. Kultur
- e. Tahap produksi akhir.

Berdasarkan produk yang dihasilkan, fermentasi dibagi menjadi dua jenis, yaitu (Belitz, 2009):

- a. **Homofermentatif**, yaitu fermentasi yang produk akhirnya hanya berupa asam laktat. Contoh homofermentatif adalah proses fermentasi yang terjadi dalam pembuatan yoghurt.
- b. **Heterofermentatif**, yaitu fermentasi yang produk akhirnya berupa asam laktat dan etanol sama banyak. Contoh heterofermentatif adalah proses fermentasi yang terjadi dalam pembuatan tape.

Berdasarkan penggunaan oksigen, fermentasi dibagi menjadi fermentasi aerobik dan anaerobik. Fermentasi aerobik adalah fermentasi yang memerlukan oksigen, sedangkan fermentasi anaerobik tidak memerlukan oksigen (Fardiaz, 1992). Berdasarkan proses yang dihasilkan oleh mikroba, fermentasi dibagi menjadi tiga jenis, yaitu:

- a. **Fermentasi yang memproduksi sel mikroba (biomass)**. Produksi komersial dari biomass dapat dibedakan menjadi produksi yeast untuk industri roti, dan produksi sel mikroba untuk digunakan sebagai makanan manusia dan hewan.
- b. **Fermentasi yang menghasilkan enzim dari mikroba**. Secara komersial, enzim dapat diproduksi oleh tanaman, hewan, dan mikroba, namun enzim yang diproduksi oleh mikroba memiliki beberapa keunggulan yaitu, mampu

dihasilkan dalam jumlah besar dan mudah untuk meningkatkan produktivitas bila dibandingkan dengan tanaman atau hewan.

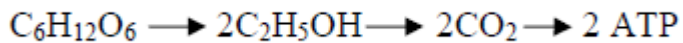
- c. **Fermentasi yang menghasilkan metabolit mikroba.** Metabolit mikroba dapat dibedakan menjadi metabolit primer dan metabolit sekunder. Produk metabolisme primer yang dianggap penting contohnya etanol, asam sitrat, polisakarida, aseton, butanol, dan vitamin. Sedangkan metabolit sekunder yang dihasilkan mikroba contohnya antibiotik, pemacu pertumbuhan, inhibitor enzim, dan lain-lain.

3. Desain Bioreaktor dan Reaksi Kimia Fermentasi

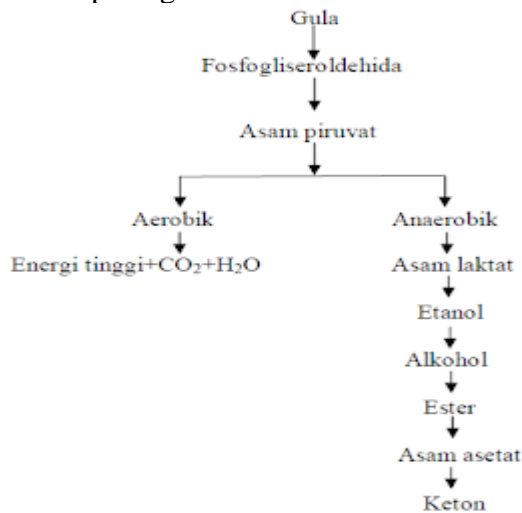
Istilah fermenter (bioreaktor) digunakan untuk tempat fermentasi. Pada prinsipnya fermenter harus menjamin pertumbuhan mikroba dan produk dari mikroba di dalam fermenter. Semua bagian di dalam fermenter pada kondisi yang sama dan semua nutrisi termasuk oksigen harus tersedia merata pada setiap sel dalam fermenter dan produk limbah seperti; panas, CO₂, dan metabolit harus dapat dikeluarkan (*remove*). Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata. Oleh karena itu, wadah perlu didesain sedemikian rupa sehingga proses dalam wadah dapat dimonitor dan dikontrol. Wadah (fermenter) memberikan kondisi

lingkungan fisik yang cocok bagi katalis sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan substrat. Desain fermenter mulai dari yang sederhana (tangki dengan putaran) sampai yang *integrated sistem* dengan komputer.

Reaksi dalam fermentasi berbeda-beda tergantung pada jenis gula yang digunakan dan produk yang dihasilkan. Secara singkat glukosa ($C_6H_{12}O_6$) yang merupakan gula paling sederhana, melalui fermentasi akan menghasilkan etanol ($2C_2H_5OH$). Persamaan reaksi kimia yaitu :



Reaksi di atas dijelaskan: **gula (glukosa, fruktosa dan sukrosa) = alkohol (etanol) + karbondioksida + energi (ATP)**. Urutan proses terjadinya fermentasi dan produk yang dihasilkan dijelaskan pada gambar di bawah ini:



Gambar 3. Alur Fermentasi

Penerapan metode fermentasi yang banyak digunakan diantaranya adalah fermentasi alkohol dan fermentasi asam laktat. Fermentasi alkohol dan fermentasi asam laktat memiliki perbedaan dalam produk akhir yang dihasilkan. Produk akhir fermentasi alkohol berupa etanol dan CO₂, sedangkan produk akhir fermentasi asam laktat berupa asam laktat (Lehninger, 1994). Reaksi fermentasi multifase, yaitu:

- a. Fase gas (mengandung N₂, O₂ dan CO₂)
- b. Fase cair (medium cair dan substrat cair), dan
- c. Fase padat.

4. Prinsip kultivasi mikroba dalam sistem cair

Mikroba berada dalam cairan yang mengandung nutrisi sebagai substrat untuk tumbuh dan berkembang bercampur dengan produk-produk yang dihasilkan termasuk limbah. Nutrien dan oksigen yang diperlukan untuk pertumbuhan optimal mikroba harus tercampur merata (homogen) pada semua bagian fermenter. Untuk mendapatkan sistem fermentasi yang optimum, maka fermenter harus memenuhi syarat sebagai berikut:

- a. Bebas dari kontaminan
- b. Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
- c. Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar
- d. Kondisi lingkungan seperti: suhu, pH harus terkontrol. *Stirred tank reactor* sistem model yang banyak dipakai.

Sistem fermenter tertutup dan terbuka adalah sebagai berikut:

- a. Tertutup, semua nutrisi ditambahkan pada awal fermentasi dan pada akhir fermentasi dikeluarkan bersama produknya. Sebagai contoh: pembuatan bir (*brewing*), antibiotik, dan enzim.
- b. Terbuka, secara kontinu (terus menerus) terjadi pemasukan medium kultur dan pengeluaran medium bersama produk. Sebagai contoh: SCP (petrokimia).

Fermenter berdasarkan tipenya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:

- a. Septis untuk pembuatan pengembang roti, bir (*brewing*).
- b. Aseptis untuk memproduksi *fine product* seperti: antibiotik, asam amino, polisakarida dan *single cell protein* (SCP).

Fermenter berdasarkan skala produksinya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:

- a. Skala kecil (*small scale*); untuk industri rumah tangga (*home industri*).
- b. Skala besar (*large scale*); untuk industri skala besar (*petrokimia industri*). Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata.

Medium untuk fermentasi biasa disebut substrat. Biasanya pada teknologi fermentasi digunakan bahan dasar yang mengandung karbon. Oleh karena itu, kebanyakan berasal dari

tumbuhan dan sedikit dari produk hewani. Sebagai contoh; biji-bijian (*grain*), susu (*milk*). *Natural raw material* berasal dari hasil pertanian dan hutan. Karbohidrat; gula, pati (tepung), selulosa, hemiselulosa, dan lignin.

- a. Gula, bahan makanan yang mengandung gula mudah dan relatif mudah didapatkan untuk proses biotek.
- b. Pati, jagung, padi, gandum, kentang, dan pohong (kassava) didegradasi menjadi gula sederhana (monosakarida) dengan hidrolisis sebelum fermentasi. Pati juga dapat digunakan sebagai bahan bakar non minyak (etanol).
- c. Selulosa
- d. Substrat dari limbah industri: Molase (tetes tebu), mengandung 50 % gula sebagai substrat untuk produksi antibiotik, asam organik. Whey (air dadih), Damen dan ampas tahu, bahkan urine hewan ternak.

Berdasarkan bentuknya substrat dapat dibedakan menjadi:

- a. Substrat cair (air anggur)
- b. Substrat semi cair (yoghurt)
- c. Substrat padat digunakan untuk produksi tempe, oncom, kecap, kompos dsb. *Solid Substrate Fermentation* (SSF), melibatkan jamur berfilamen, yeast atau streptomyces.

5. Inokulum

- a. Bakteri: *Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Eschericia spp.*
- b. Jamur: *Aspergillus spp* p. *Penicillium spp.*
- c. Jamur filamentous:
- d. Khamir (yeast): *Saccharomyces spp.*

Tabel 1. Berbagai Jenis Inokulum dan Produknya

Jenis	Inokulum	Substrat	Produk
Jamur	<i>Rhizopus oligoporus</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kedele, Ampas kacang Bahan roti, tetes tebu	Tempe, Oncom Roti
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bahan dasar karbohidrat: beras, ketan, ketela Air anggur, bir, brem	Tape Anggur, brem, dan bir
Bakteri	<i>Acetobacter xylinum</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Air kelapa Air susu	Nata de coco Yoghurt

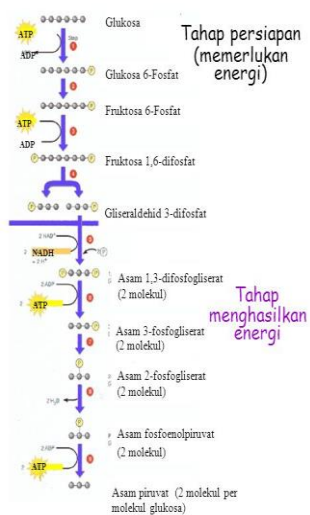
Peningkatan Skala (*Up Scalling*) berkembang dalam 3 tahap.

- a. Tahap perintisan (laboratorium)
- b. Pilot plan, dan
- c. Skala lapangan (ekonomi).

Kondisi lingkungan meliputi: faktor kimia (konsentrasi substrat) dan faktor fisik (perpindahan medium, pencampuran medium). Faktor fisik

menimbulkan problem pada skala besar. Sehingga perlu designer dari teknik kimia.

Glikolisis



BIO 101 / V / Glikolisis dan Respirasi 8

Gambar 4. Lintasan Glikolisis

6. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi

Keberhasilan fermentasi ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu:

- a. **Keasaman (pH):** Makanan yang mengandung asam biasanya tahan lama, tetapi jika oksigen cukup jumlahnya dan kapang dapat tumbuh serta fermentasi berlangsung terus, maka daya awet dari asam tersebut akan hilang. Tingkat keasaman sangat berpengaruh dalam perkembangan bakteri. Kondisi keasaman yang baik untuk bakteri adalah 4,5-5,5.

- b. **Mikroba:** Fermentasi biasanya dilakukan dengan kultur murni yang dihasilkan di laboratorium. Kultur ini dapat disimpan dalam keadaan kering atau dibekukan.
- c. **Suhu:** Suhu fermentasi sangat menentukan macam mikroba yang dominan selama fermentasi. Tiap-tiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan yang maksimal, suhu pertumbuhan minimal, dan suhu optimal yaitu suhu yang memberikan terbaik dan memperbanyak diri tercepat.
- d. **Oksigen:** Udara atau oksigen selama fermentasi harus diatur sebaik mungkin untuk memperbanyak atau menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Setiap mikroba membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya untuk pertumbuhan atau membentuk sel-sel baru dan untuk fermentasi. Misalnya ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) akan tumbuh lebih baik dalam keadaan aerobik, tetapi keduanya akan melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat dengan keadaan anaerobik.
- e. **Waktu:** Laju perbanyakan bakteri bervariasi menurut spesies dan kondisi pertumbuhannya. Pada kondisi optimal, bakteri akan membelah sekali setiap 20 menit. Untuk beberapa bakteri memilih waktu generasi yaitu selang waktu antara pembelahan, dapat dicapai selama 20 menit. Jika waktu generasinya 20 menit pada kondisi yang cocok sebuah sel dapat menghasilkan beberapa juta sel selama 7 jam.

BAB VI MIKROORGANISME PATOGEN

1. Tinjauan tentang *Escherichia coli*

E.coli adalah salah satu jenis bakteri yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan baik manusia maupun hewan yang sehat. Nama bakteri ini diambil dari nama seorang bacteriologist yang berasal dari Jerman yaitu Theodor Von Escherich, yang berhasil melakukan isolasi bakteri ini pertamakali pada tahun 1885. Dr. Escherich juga berhasil membuktikan bahwa diare dan gastroenteritis yang terjadi pada infant adalah disebabkan oleh bakteri *E. coli* (Jawetz et al, 1995)

E.coli merupakan bakteri komersial yang dapat bersifat patogen, bertindak sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas diseluruh dunia (tenailon dkk, 2010). Berdasarkan taksonominya *E. coli* diklasifikasikan sebagai berikut (Kenneth, 2008):

Kingdom : Bacteria
Divisio : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

E.coli. diisolasi pertama kali oleh Theodore Escherich pada tahun 1885 dari tinja seorang bayi (Merchant and Parker, 1961). *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang

pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata. Pada umumnya bakteri memerlukan kelembaban yang cukup tinggi sekitar 85% (Madigan and Marthinko, 2005). *E. coli* merupakan golongan bakteri mesofilik yaitu bakteri yang suhu pertumbuhan optimumnya 15-45 $^{\circ}\text{C}$ dan dapat hidup pada pH 5,5-8. *E. coli* akan tumbuh secara optimal pada suhu 27 $^{\circ}\text{C}$. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hawa (2011). *E. coli* memiliki suhu maksimum pertumbuhan 40-45 $^{\circ}\text{C}$, di atas suhu tersebut bakteri akan mengalami inaktivasi. Penentuan serotipe bakteri *E. coli* berdasarkan antigen dinding sel (O), kapsular (K), dan flagela (H). Diperkirakan terdapat 173 antigen O, 80 antigen kapsular (K), 56 antigen H yang telah diisolasi.

E. coli biasanya berkolonisasi di saluran pencernaan dalam beberapa jam setelah masuk ke dalam tubuh dan membangun hubungan mutualistik. Namun, strain non-patogenik dari *E. coli* bisa menjadi patogen, ketika adanya gangguan di dalam pencernaan serta immunosupresi pada host. Berdasarkan sifat dan karakteristik virulensinya, *E. coli* diklasifikasikan menjadi lima kelompok yaitu:

- 1) *Enteroinvasive E. coli (EIEC)* Menyebabkan penyakit yang mirip dengan shigellosis dengan menyerang sel epitel mukosa usus.
- 2) *Enterogregative E. coli (EAEC)* Menyebabkan diare yang akut dan kronis

(dalam jangka waktu lebih dari 14 hari) dengan cara melekat pada mukosa intestinal, menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin, sehingga terjadi kerusakan mukosa, pengeluaran sejumlah besar mukus, dan terjadi diare.

- 3) *Enteropathogenic E. coli (EPEC)* Merupakan penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. Bakteri ini melekat pada usus kecil. Infeksi *EPEC* dapat mengakibatkan diare cair yang sulit diatasi dan kronis.
- 4) *Enterotoxigenic E. coli (ETEC)* Beberapa strain *ETEC* memproduksi eksotoksin yang sifatnya labil terhadap panas (LT) dan toksin yang stabil terhadap panas (ST). Infeksi *ETEC* dapat mengakibatkan gejala sakit perut, kadang disertai demam, muntah, dan pada feses ditemukan darah.
- 5) *Enterohemorrhagic E. coli (EHEC)* Serotipe *E. coli* yang memproduksi verotoksin yaitu *EHEC O157:H7*. *EHEC* memproduksi toksin yang sifatnya hampir sama dengan toksin Shiga yang diproduksi oleh strain *Shigella dysenteriae*. Verotoksin yang dihasilkan menghancurkan dinding mukosa menyebabkan pendarahan.

E. coli sekarang dianggap sebagai genus dengan hanya satu species yang mempunyai beberapa ratus tipe antigenik. Tipe-tipe ini dicirikan menurut kombinasi yang berbeda-beda yakni :

- 1) Antigen O (somatik) yang bersifat tahan panas atau termostabil, dan terdiri dari lipopolisakarida yang mengandung glukosamin dan terdapat pada dinding sel bakteri gram negatif.
- 2) Antigen H (flagel) yang bersifat tidak tahan panas atau termolabil dan akan rusak pada suhu 100 °C.
- 3) K (kapsul)/ envelop antigen, terdapat pada permukaan luar bakteri yang terdiri dari polisakarida dan tidak tahan panas. Tambahan pula antigen K dibagi menjadi antigen L, A atau B berdasarkan pada ciri fisiknya yang berbeda-beda.

E. coli O157:H7 ditemukan pertama kali pada tahun 1982 pada hamburger yang terkontaminasi. *E. coli* tersebut diketahui menghasilkan shiga like toksin (SLT) sebagai penyebab utama wabah diare berdarah. Dari struktur segi morfologinya, bakteri *E. coli* O157:H7 berbentuk batang, Gram negatif dengan dinding sel yang memiliki lapisan luar dari lipopolisakarida dan peptidoglikan sebagai lapisan utamanya. *E. coli* O157:H7 dapat hidup berbulan-bulan di dalam air dan di tanah namun dapat dimatikan dengan pemanasan 60 °C dalam waktu 20 menit. Pada pH 7 pertumbuhan *E. coli* O157:H7 dapat berkembang secara optimal. Bakteri *E. coli* O157:H7 dapat bertahan hidup selama 49-56 hari dengan suhu 22°, di dalam tinja sapi pada suhu 37°C dengan kelembaban relatif 10%. Keadaan

tersebut mengindikasikan bahwa *E. coli O157:H7* dapat hidup lama dalam tinja.

Ruminansia dianggap sebagai reservoir *E. coli O157:H7* yang mampu menginfeksi. *E. coli O157:H7* mudah menginfeksi ternak sapi dan dapat ditemukan di dalam tanah Burung liar memainkan peran penting dalam penyebaran *E. coli O157:H7* dan burung yang menjadi reservoir utama untuk *E. coli O157:H7* adalah burung camar. Burung camar mampu menyebarkan *E. coli O157:H7* pada ternak dan hewan lain. Serotipe *E. coli O157:H7* dapat mengontaminasi daging dan menimbulkan penyakit pada manusia (Rahayu, 2006). Hal tersebut juga dikuatkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Cliver (1990) menyatakan bahwa adanya infeksi *E. coli O157:H7* merupakan ancaman yang serius dan biasanya ditularkan dari konsumsi daging sapi atau susu yang kurang masak.

Virotype *Enterohemorrhagic E. coli* memproduksi shiga toksin yang dapat menginfeksi hewan dan manusia. Menurut laporan Faith et al. (1996), *E. coli O157:H7* dapat diisolasi dari hewan sehat tetapi awalnya menderita diare saat muda yang kemudian berlanjut asimtomatik. Virulensi *EHEC* sebagai agen zoonosis pada manusia ditentukan oleh kemampuannya untuk melakukan perlekatan dan penyerangan pada sekum dan kolon dan kemampuannya untuk menghasilkan toksin (Suardana dkk, 2005). *E. coli O157:H7* memiliki fimbriae yang berperan dalam menginvasi inang dan menghasilkan toksin yang identik dengan

toksin dari shigella disentri tipe 1 sehingga dikenal *shiga like toxin* (SLT).

Pada manusia menimbulkan gejala diare berair, hemoragi kolitis, dan Hemolitik Uremic Syndrome (HUS), sindrom tersebut terjadi pada manusia sekitar 2-7% akibat infeksi *E. coli O157:H7* dan kasus gejala diare berdarah yang banyak terjadi di dunia. Menurut (Kudo et al. 2000. dalam Suardana et al. 2005), mengidentifikasi serotipe *E. coli O157:H7*, hasil dari uji EMBA maupun uji IMVIC selanjutnya diinokulasikan pada media *Sorbital Mac Conkey Agar* (SMAC) sebagai media penduga *E. coli O157:H7*. Pada media SMAC sebagai media penduga *E. coli O157:H7*, koloni yang diduga *E. coli O157* akan berbentuk bundar, cembung, dan tidak berwarna karena tidak memfermentasi sorbitol. Sedangkan pada uji latex agglutination test berguna untuk konfirmasi hasil positif dari media SMAC sehingga dapat diketahui benar hasil positif *E. coli O157* yang ditandai dengan bentukan pasir dalam waktu satu menit. Uji Motilitas dilakukan sebanyak dua kali yang bertujuan untuk mengetahui adanya antigen H7 sebagai alat gerak dan selanjutnya dilakukan uji antiserum H7 sebagai konfirmasi uji motilitas yang ditandai terbentuknya endapan berupa butiran pasir pada dasar tabung, menandakan *E. coli* positif mengandung H7.

2. Tinjauan tentang *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri fakultatif anaerob. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz et al, 2008). Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Pada lempeng agar darah umumnya koloni lebih besar dan pada varietas tertentu koloninya di kelilingi oleh zona hemolisis (Syahrurachman dkk, 2010).

S. aureus merupakan bakteri Gram-Positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 µm, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora, maka *S.aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Pada agar miring dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah dapat tetap hidup selama 6-14 minggu.

S. aureus merupakan salah satu kuman patogen yang berbahaya. Infeksi oleh *S. aureus* dapat menyebar melalui kontak dengan nanah dari luka yang terinfeksi *S. aureus*, kontak dengan kulit

orang yang terinfeksi *S. aureus*, kontak dengan karier *S. aureus*, serta kontak dengan barang-barang, seperti handuk, seprei, pakaian, dan alat pencukur jenggot orang yang terinfeksi *S. aureus*

S. aureus dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzyme dan toksin, contohnya:

1) Katalase

Katalase adalah enzyme yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus*.

2) Koagulase

Enzyme ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzyme tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis.

3) Hemolisin

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *S. aureus* terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin, dan delta hemolisin. Alfa hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis disekitar koloni *S. aureus* pada medium agar darah.

Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. Beta hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan *S. aureus* yang diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisis sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba.

4) Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena *Staphylococcus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis.

5) Toksin eksfoliatif

Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intraepitelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSSS), yang ditandai dengan melepuhnya kulit.

6) Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *Staphylococcus Aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh.

7) Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzyme yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzyme ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein.

3. Tinjauan tentang *Candida albicans*

Candida albicans dalam kingdom fungi dan keluarga *sacchoromyteaceae* yang bersifat patogen ketika sistem pertahanan tubuh normal. Berikut adalah klasifikasi *Candida albicans* (De Orney, 2017)

Kingdom : Fungi
Divisio : Ascomycota
Sub Divisio : Saccharomycitina
Class : Saccharomytales
Ordo : Saccharomytales
Family : Saccharomyteacea
Genus : Candida
Species : *Candida albicans*

Morfologi *candida albicans* pertumbuhan sebagai sel ragi berbentuk oval dan bertunas (ukuran 3-6 m). *candida albicans* juga membentuk pasedohifa Ketika tunas-tunasnya terus bertumbuh, tetapi melepaskan diri sehingga menghasilkan rantai-rantai sel panjang yang bertarik atau menyempit pada lokasi penyekatan pada sel. Di medium air atau dalam 24 jam disuhu 37 derajat C atau suhu ruangan. *Candida* sp membentuk koloni lunak berbentuk krem dengan

berbau ragi. Pasuodohifa tampak sebagai sebutuk pertumbuhan dibawa permukaan (Rao, 2012)

Infeksi candida dapat terjadi apabila ada faktor predisposisi baik endogen maupun eksogen.

a. Faktor endogen

1) Perubahan fisiologik:

- (1) Kehamilan, karena perubahan pH pada vagina
- (2) Kegemukan, karena banyak kerigit, muda terjadi maserasi kulit, dan memudahkan infeksi candida.
- (3) Pemakaian lat-alat di dalam tubuh, seperti gigi palsu, infus dan krateker
- (4) Letrogenetik, misalnya kateter kerintra vena, kateter saluran kemih
- (5) Endokrinopati, penyakit diabetes Melitus, gangguan gul drakulit.
- (6) Pemberian anti mikroba yang intensif (yang mengubah flora bakteri normal)

2) Umur. Orang tua dan bayi lebih mudah terkena ainfeksi karena sistim imunnya rendah.

3) Immunologik (*imunodefisiensi*). Pada penyakit genetic seperti atopic dermatis, infeksi candida mudah terjadi.

b. Faktor eksogen

- 1) Iklim panas dan kelembaban menyebabkan perspirasi meningkat terutama pada lipatan kulit, menyebabkan kulit meserasi Dan memudahkan inveksi candida.
- 2) Kebersihan dan kontak dengan penderita pada penderita yang suda terkena infeksi (candida)

- 3) Kebiasaan merendam kaki dalam air yang terlalu lama dapat memudahkan pertumbuhan jamur.

BAB VII

ALUR BERFIKIR PENELITIAN

Eco-Enzyme merupakan cairan multifungsi yang terbuat dari bahan organik non lemak melalui proses fermentasi an aerobik. Eco-Enzyme memiliki warna coklat muda sampai coklat tua dan berbau agak asam. Eco-Ezyme dapat dibuat dari limbah buah maupun dari daun. Selama proses fermentasi, diperlukan gula merah sumber carbon sebagai nutrisi mikroorganismen dalam mengurai bahan organik menjadi lebih sederhana.

Maluku yang dikenal dengan propinsi kepulauan terkenal dengan hasil lautnya. Selain hasil laut, Maluku dikenal sebagai daerah penghasil rempah, seperti: pala dan cengkeh. Selain pala dan cengkeh, maluku juga terkenal dengan kayu putihnya. Pala dan cengkeh hanya difungsikan buahnya, sehingga selama pengolahan dihasilkan limbah berupa daging buah dan daun. Kayu putih digunakan bagain daunnya, namun selam proses penyulingan dihasilkan limbah daun kayu putih

Ketiga jenis limbah tersebut sangat potensial diolah Kembali menjadi produk baru, yaitu eco-enzyme. Eco-enzyme yang dibuat dari limbah tanaman lokal Maluku memiliki keunggulan dibandingkan dengan eco-enzyme yang dibuat dari limbah buah. Kandungan senyawa metabolit sekunder, seperti: eugenol, sineol, dan

myristisin memberikan pengaruh terhadap kualitas eco-enzyme yang dihasilkan.

Eco-enzyme digunakan sebagai antiseptic, penjernih air, dan penyubur tanah. Fungsi eco-enzyme sebagai antiseptic sangat dibutuhkan oleh masyarakat, mengingat adanya pandemic covid-19. Antiseptik mengalami kelangkaan dan kenaikan harga bersamaan dengan munculnya covid-19, dan hal ini mengakibatkan masyarakat sulit untuk mendapatkannya.

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh jenis *eco-enzyme* terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*
2. Ada perbedaan penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* setelah pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil

BAB VIII

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah kuantitatif dengan pendekatan eksperimen lapangan dan laboratorium. Eksperimen lapangan bertujuan untuk memperoleh sediaan limbah organik berupa limbah buah pala, limbah daun pala, limbah daun cengkeh, dan limbah daun kayu putih. Setelah melakukan preparasi limbah, dilanjutkan dengan eksperimen laboratorium, yaitu membuat *Eco-Enzyme* dengan menggunakan bahan baku limbah tanaman lokal yang dilaksanakan di TP3SR Ambon. *Eco-Enzyme* yang dihasilkan, kemudian di analisis kandungan asam asetat, alkohol, myristisin, eugenol, dan sineol yang dilaksanakan di laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang. Setelah uji kandungan kimia dari eco-enzyme, selanjutnya dilakukan uji daya hambat *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* yang kesemuanya dilakukan di laboratorium Biologi Dasar FKIP Unpatti Ambon.

Penelitian ini menggunakan dua variabel, yaitu jenis eco-enzyme dari limbah organik lokal yang diberi simbol X dengan level: limbah buah pala, limbah daun pala, limbah daun kayu putih, dan limbah daun cengkeh. Variabel Y adalah kualitas *Eco-Enzyme* dengan level: warna, aroma, kadar alkohol, kadar asam asetat, kadar fenol, kadar myristisin, kadar eugenol, daya hambat bakteri (mm), dan daya hambat jamur patogen.

Produk komersil yang menjadi pembanding adalah 2 merek produk dengan konsistensi cair (Ae) dan gel (Ai). Untuk menjawab rumusan masalah pertama sampai ke tiga digunakan “Rancangan Acak Lengkap” non faktorial dengan 4 perlakuan dan 2 kontrol positif berupa antiseptik komersil. Tiap perlakuan diulang 3 kali pengujian, sehingga total pengamatan adalah 18 unit.

Penelitian ini dilaksanakan selama 7 bulan yang dimulai pada bulan Maret sampai Septemer 2021. Lokasi penelitian adalah: (1). Pengambilan limbah buah pala, limbah daun pala, dan limbah daun kayu putih berlokasi di Banda Neira, (2). Pembuatan *Eco-Enzyme* dilakukan di TP2S IAIN Ambon, dan (3). Pengujian kualitas *Eco-Enzyme* dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang dan Laboratorium Biologi Dasar Universitas Pattimura Ambon. Alat yang digunakan adalah: Tabung fermentor dari bahan plastik berpenutup dengan mulut lebar ukuran 10 L, Inkubator, Oven, Laminar Air Flow, Cawan Petri, Timbangan, DO meter, pH meter, Tabung Reaksi, Mikropipet, Jangka Sorong, Toples Plastik ukuran 1 L, Gelas Ukur 100 ml dan 10 ml, Gelas Kimia 1000 ml, Labu Erlenmeyer 100 ml dan 500 ml, Batang penyebar, Sprayer, Pengaduk Kayu, Ember Plastik, dan lainnya. Bahan utama yang digunakan adalah: Limbah Buah Pala, Limbah Daun Pala, Limbah Daun Kayu Putih, Gula Merah/Molases, Air Suling, PDA, NA, Antiseptik komersil, Fungisida Komersil, Insektisida Komersil, Biakan *E. coli*, Biakan *S.*

aureus, dan Biakan *C. Albicans* Tahapan dalam penelitian ini adalah:

1. Tahap Pengumpulan Limbah Tanaman Lokal Maluku

Survei awal yang dilakukan oleh peneliti pada bulan Januari 2020, menunjukkan bahwa hampir semua wilayah di Maluku memiliki tanaman pala dan cengkeh. Banda Neira merupakan sentra pembuatan jus pala yang banyak menghasilkan limbah hasil perasan daging buah pala. Selain itu, di daerah tersebut juga banyak terdapat tanaman pala dan cengkeh yang setiap hari menghasilkan limbah daun yang tidak dimanfaatkan oleh masyarakat. Limbah diambil sebanyak 10 Kg untuk masing-masing jenis limbah dan dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan cara dicuci pada air yang mengalir.

2. Tahap Pembuatan *Eco-Enzyme*

Limbah yang telah diperoleh, selanjutnya dipisahkan berdasarkan jenisnya. Siapkan tabung fermentor berupa wadah plastik bertutup ukuran 10 liter yang bersih sebanyak 5 buah. Tiap wadah diberi label A (berisi limbah buah pala), B (berisi limbah daun pala), C (berisi limbah daun kayu putih), dan D (berisi limbah daun cengkeh) dan masing-masing wadah ditambahkan limbah buah (salak, tomat, jeruk, dan manga) sesuai proporsinya. Masing-masing limbah ditimbang sebanyak 1800 g atau 1,8 kg dan menimbang larutan gula merah/molases sebanyak 600 g.

Masukkan limbah dan gula ke dalam wadah fermentor dan tambahkan air sebanyak 6 liter. Tutup wadah dan lakukan pengadukan setiap minggu. Selain melakukan pengadukan setiap minggu, tutup drum rutin dibuka 3 kali dalam seminggu untuk melepaskan senyawa samping hasil fermentasi. Tunggu selama 3 bulan dan *Eco-Enzyme* siap dipanen. *Eco-Enzyme* yang jadi ditandai dengan warna kecoklatan dan memiliki aroma asam. Ampas dari hasil *Eco-Enzyme* dapat digunakan sebagai pupuk organik yang kaya unsur Nitrogen dan baik untuk tumbuhan serta aman bagi lingkungan.

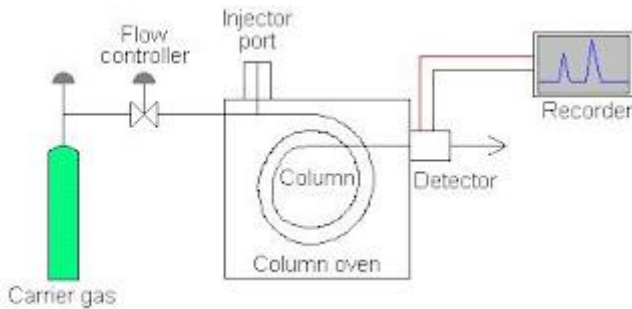
3. Tahap Pengujian Kandungan Kimia Eco-Enzyme

Pengukuran kandungan senyawa kimia yang terkandung di dalam eco-enzyme dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Gas. Kromatografi pertama kali diperkenalkan oleh Michael Tswest (1906), seorang ahli botani Rusia. Tswest menyiapkan kolom yang diisi dengan serbuk kalsium karbonat, dan kedalamnya dituangkan campuran pigmen tanaman yang dilarutkan dalam eter. Secara mengejutkan, pigmen memisahkan dan membentuk lapisan berwarna di sepanjang kolom. Ia menamakan kromatografi pada teknik pemisahan baru ini, dimana “chroma” berarti warna serta “graphein” yang berarti tulisan. Kemudian kimiawan dari Swiss Richard Martin Willstätter (1872-1942)

menerapkan teknik ini untuk risetnya yakni untuk pemisahan pigmen klorofil.

Pengertian kromatografi menyangkut metode pemisahan yang didasarkan atas distribusi deferensial komponen sampel diantara dua fasa. Hal tersebut mengacu pada beberapa sifat komponen, yaitu: melarut dalam cairan, melekat pada permukaan padatan halus, dan bereaksi secara kimia. Sifat-sifat tersebutlah yang dimanfaatkan dalam metode kromatografi ini, yaitu perbedaan migrasi komponen-komponen di dalam sampel.

Kromatografi gas (GC) adalah jenis umum dari kromatografi yang digunakan dalam kimia analitik untuk memisahkan dan menganalisis senyawa yang dapat menguap tanpa dekomposisi. GC dapat digunakan untuk pengujian kemurnian zat tertentu, atau memisahkan komponen yang berbeda dari campuran (jumlah relatif komponen tersebut juga dapat ditentukan). GC dapat digunakan dalam mengidentifikasi suatu senyawa. Kromatografi gas, berdasarkan fasa gerak dan fasa diamnya merupakan kromatografi gas-cair. Dimana fasa geraknya berupa gas yang bersifat inert, sedangkan fasa diamnya berupa cairan yang inert pula, dapat berupa polimer ataupun larutan. Adapun gambaran umum dari GC adalah sebagai berikut:



Gambar 5. Morfologi Kromatografi Gas

Pada prinsipnya pemisahan dalam GC adalah disebabkan oleh perbedaan dalam kemampuan distribusi analit diantara fase gerak dan fase diam di dalam kolom pada kecepatan dan waktu yang berbeda. Kromatografi gas terdiri dari 2 yaitu kromatografi gas cairan dengan mekanisme pemisahan partisi, yaitu:

a. Kromatografi gas-cair (KGC),

Fase diamnya berupa cairan yang diikatkan pada suatu pendukung sehingga solut akan terlarut dalam fase diam. Partisi komponen cuplikan didasarkan atas kelarutan uap komponen bersangkutan pada zat cair (fasa diam).

b. Kromatografi gas-padat (KGP)

Fase diamnya berupa padatan dan kadang-kadang berupa polimerik. Pada kromatografi gas-padat, partisi komponen cuplikan didasarkan atas fenomena adsorpsi pada permukaan zat padat (fasa diam). Namun KGP jarang digunakan sehingga pada umumnya yang disebut dengan GC saat ini adalah KGC. Adapun komponen dari GC adalah:

a. Gas Pengangkut

Gas pengangkut/ pemasok gas (carrier gas) ditempatkan dalam silinder bertekanan tinggi. Biasanya tekanan dari silinder sebesar 150 atm. Tetapi tekanan ini sangat besar untuk digunakan secara Iansung. Gas pengangkut harus memenuhi persyaratan : Harus inert, tidak bereaksi dengan cuplikan, cuplikan-pelarut, dan material dalam kolom; Murni dan mudah diperoleh, serta murah; Sesuai/cocok untuk detektor; dan Harus mengurangi difusi gas.

Gas-gas yang sering dipakai adalah : helium, argon, nitrogen, karbon dioksida dan hidrogen. Gas helium dan argon sangat baik, tidak mudah terbakar, tetapi sangat mahal. H₂ mudah terbakar, sehingga harus berhati-hati dalam pemakaiannya. Kadang-kadang digunakan juga CO₂. Pemilihan gas pengangkut atau pembawa ditentukan oleh ditektor yang digunakan. Tabung gas pembawa dilengkapi dengan pengatur tekanan keluaran dan pengukur tekanan. Sebelum masuk ke kromatografi, ada pengukur kecepatan aliran gas serta sistem penapis molekuler untuk memisahkan air dan pengotor gas lainnya.

Pada dasarnya kecepatan alir gas diatur melalui pengatur tekanan dua tingkat yaitu pengatur kasar (coarse) pada tabung gas dan pengatur halus (fine) pada kromatografi. Tekanan gas masuk ke kromatograf (yaitu tekanan dari tabung gas) diatur pada 10-50 psi (di atas tekanan ruangan) untuk memungkinkan aliran gas 25-150

mL/menit pada kolom terpaket dan 1-25 mL/menit untuk kolom kapiler.

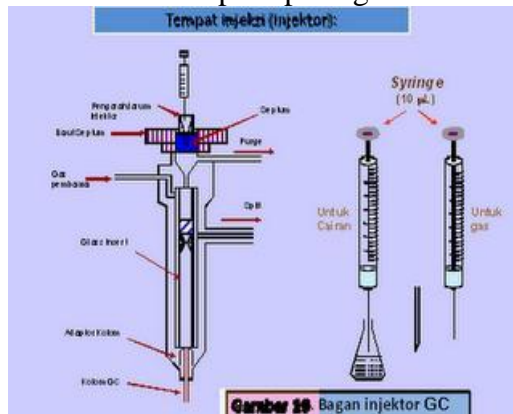
b. Tempat injeksi (*injection port*)

Dalam kromatografi gas cuplikan harus dalam bentuk fase uap. Gas dan uap dapat dimasukkan secara langsung. Tetapi kebanyakan senyawa organik berbentuk cairan dan padatan. Hingga dengan demikian senyawa yang berbentuk cairan dan padatan pertama-tama harus diuapkan. Ini membutuhkan pemanasan sebelum masuk dalam kolom.

Tempat injeksi dari alat GLC/KGC selalu dipanaskan. Dalam kebanyakan alat, suhu dari tempat injeksi dapat diatur. Aturan pertama untuk pengaturan suhu ini adalah bahwa suhu tempat injeksi sekitar 50°C lebih tinggi dari titik didih campuran dari cuplikan yang mempunyai titik didih yang paling tinggi. Bila kita tidak mengetahui titik didih komponen dari cuplikan maka kita harus mencoba-coba. Sebagai tindak lanjut suhu dari tempat injeksi dinaikkan. Jika puncak-puncak yang diperoleh lebih baik, ini berarti bahwa suhu percobaan pertama terlalu rendah. Namun demikian suhu tempat injeksi tidak boleh terlalu tinggi, sebab kemungkinan akan terjadi perubahan karena panas atau penguraian dari senyawa yang akan dianalisa.

Cuplikan dimasukkan ke dalam kolom dengan cara menginjeksikan melalui tempat injeksi. Hal ini dapat dilakukan dengan pertolongan jarum injeksi yang sering disebut "a gas tight syringe". Perlu diperhatikan bahwa kita

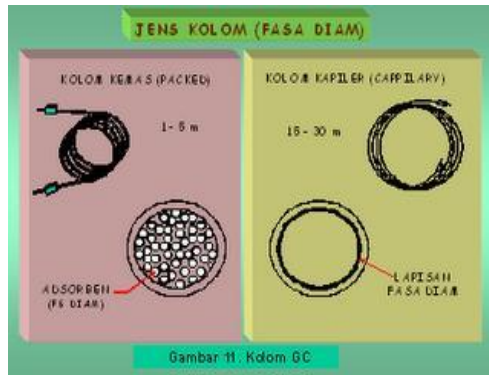
tidak boleh menginjektikan cuplikan terlalu banyak, karena GC sangat sensitif. Biasanya jumlah cuplikan yang diinjeksikan pada waktu kita mengadakan analisa 0,5 -50 ml untuk gas dan 0,2 - 20 ml untuk cairan seperti pada gambar di bawah.



Gambar 6. Mekanisme Injeksi Sampel

c. Kolom

Coulom, ada dua jenis kolom yang digunakan dalam GC. Yang pertama adalah **kolom kemas**, yaitu berupa tabung yang terbuat dari gelas atau steinstless berisi suatu padatan inert yang dikemas secara rapi. Kolom ini memiliki ukuran panjang 1,5-10 m dan diameter 2,2-4 nm. Yang kedua adalah **kolom kapiler**, yang biasanya terbuat dari silica dengan lapisan poliamida. Kolom jenis ini biasanya memiliki ukuran panjang 20-26 m dengan diameter yang sangat kecil



Gambar 7. Jenis Kolom

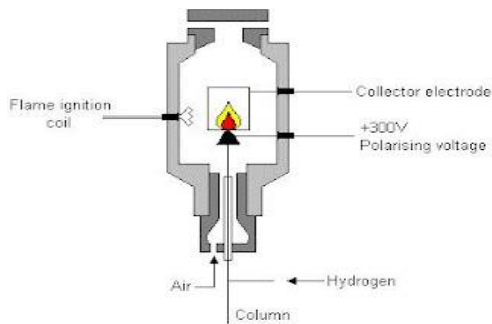
d. Detektor

Detektor berfungsi sebagai pendeteksi komponen-komponen yang telah dipisahkan dari kolom secara terus-menerus, cepat, akurat, dan dapat melakukan pada suhu yang lebih tinggi. Fungsi umumnya mengubah sifat-sifat molekul dari senyawa organik menjadi arus listrik kemudian arus listrik tersebut diteruskan ke rekorder untuk menghasilkan kromatogram. Detektor yang umum digunakan: Detektor hantaran panas (Thermal Conductivity Detector_TCD); Detektor ionisasi nyala (Flame Ionization Detector_FID); Detektor penangkap elektron (Electron Capture Detector_ECD); Detektor fotometrik nyala (Flame Photometric Detector_FPD); Detektor nyala alkali; dan Detektor spektroskopi massa

Detector, yang paling umum digunakan dalam GC adalah detector ionisasi nyala (FID) dan detector konduktivitas termal (TCD). Keduanya peka terhadap berbagai komponen dan dapat berfungsi

pada berbagai konsentrasi. Sementara TCD pada dasarnya universal dan dapat digunakan untuk mendeteksi setiap komponen selain gas pembawa (selama konduktivitas mereka berbeda dari gas pembawa, suhu detektor), dalam jumlah besar sensitif terutama untuk hidrokarbon. Sedangkan FID tidak dapat mendeteksi air. TCD adalah detector non-destruktif, sedangkan FID adalah detector destruktif. Biasanya detector ini akan dihubungkan dengan Spektrokopi Masa, sehingga akan menjadi rangkaian alat GC-MS. Adapun salah satu bentuk dari FID adalah sebagai berikut :

The Flame Ionisation Detector



Gambar 8. Bentuk FID

e. Oven kolom

Kolom terletak didalam sebuah oven dalam instrumen. Suhu oven harus diatur dan sedikit dibawah titik didih sampel. Jika suhu diset terlalu tinggi, cairan fase diam bisa teruapkan, juga sedikit sampel akan larut pada suhu tinggi dan bisa mengalir terlalu cepat dalam kolom sehingga menjadi terpisah.

f. Recorder

Rekorder berfungsi sebagai pengubah sinyal dari detektor yang diperkuat melalui elektrometer menjadi bentuk kromatogram. Dari kromatogram yang diperoleh dapat dilakukan analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dengan cara membandingkan waktu retensi sampel dengan standar. Analisis kuantitatif dengan menghitung luas area maupun tinggi dari kromatogram. Sinyal analitik yang dihasilkan detektor disambungkan oleh rangkaian elektronik agar bisa diolah oleh rekorder atau sistem data.

Sebuah rekorder bekerja dengan menggerakkan kertas dengan kecepatan tertentu. di atas kertas tersebut dipasangkan pena yang digerakkan oleh sinyal keluaran detektor sehingga posisinya akan berubah-ubah sesuai dengan dinamika keluaran penguat sinyal detektor. Hasil rekorder adalah sebuah kromatogram berbentuk pik-pik dengan pola yang sesuai dengan kondisi sampel dan jenis detektor yang digunakan.

Ada beberapa detektor yang dapat digunakan dalam kromatografi gas. Detektor yang berbeda akan memberikan berbagai jenis selektivitas. **Detektor non selektif** merespon senyawa kecuali gas pembawa, **Detektor selektif** meresponi berbagai senyawa dengan sifat fisik atau kimia umum dan detektor khusus menanggapi suatu senyawa kimia tunggal. Detektor juga dapat dikelompokkan ke dalam *concentration dependant detectors* and *mass flow dependant detectors*.

Sinyal dari *concentration dependant detectors* terkait dengan konsentrasi zat terlarut dalam detektor, dan biasanya Pengenceran sampel akan menurunkan respon detektor. *Mass flow dependant detectors* biasanya menghancurkan sampel, dan sinyal tersebut tergantung dengan laju di mana molekul-molekul zat terlarut menuju ke detektor. Cara penggunaan GC adalah sebagai berikut:

a. Mengaktifkan GC

- 1) Aktifkan Un-interruptable Power Supply (UPS) jika ada.
- 2) Buka katup gas (alirkan gas ke GC): Gas Helium (He) sebagai gas pembawa (carier), Gas Nitrogen (N₂) sebagai pembawa (carier) dan sebagai make up gas (FID), Gas Hydrogen (H₂) sebagai gas pembakar (FID), dan Gas Compress Air sebagai pembakar (FID)
- 3) Aktifkan computer.
- 4) Aktifkan Gas Chromatography (GC) dengan tombol On/Off berada di sisi kiri bawah, tunggu hingga GC selesai initialisasi & self test (kira-kira 2 menit).
- 5) Aktifkan software chemstation dengan double Program click kiri icon instrument 1 online atau klik start Instrument 1 online. ChemStation
- 6) Pastikan menu berada pada Load Method (Conditioning Methode) Method "Method and Run Kontrol" pilih metode yang diinginkan.
- 7) Sebelum digunakan, pastikan column sudah diconditioning dengan suhu 20 °C dibawah

suhu maximum column atau diatas suhu operational tetapi tidak diperbolehkan melewati suhu max column seperti yang tertera di tag column.

- 8) Conditioning GC selama 30 menit. Pilih Methode yang akan digunakan untuk analisa (Method and Run Kontrol)

b. Analisis Sampel

- 1) Isi Operator Sample Info Isi identitas sampel melalui : Run Kontrol Name, Sub Directory (untuk memudahkan pencarian data, gunakan tanggal hari ini), Nama Signal, Nama Sample, komentar bila ada.
- 2) Apabila menggunakan Sequence, isi identitas sampel melalui : Sequence Isi Operator Name, Sub Directory (untuk memudahkan Parameter pencarian data, gunakan tanggal hari ini), Pastikan Data file Prefix/Counter, Nama Signal, Counter. Sequence Table
- 3) Pastikan Parts of Method to Run berada pada According to Runtime Checklist: Sequence; Location: isikan lokasi vial sampel; Sample Name: sampel yang akan dianalisa; Method Name: method yang digunakan untuk Analisa; Inj/Location: jumlah injeksi pada satu lokasi vial; Inj Volume: jumlah sampel yang diinjeksikan ke GC; Injector: Front atau Back; Sample Info: apabila diperlukan Save Sequence
- 4) Tunggu hingga status di layar computer ready (warna hijau) atau pada display GC: Ready for Injection dan lampu indicator “not ready”

(warna merah) pada panel GC off. Run Sequence.

- 5) Pastikan ikon Sequence aktif dengan cara pilih Run Kontrol
- 6) Tunggu hingga analisa selesai, hasil analisa akan langsung tercetak secara otomatis.

c. Kalibrasi Standar

- 1) Setelah selesai “running” standard, pada menu View klik menu Data Analysis, double click Data yang diinginkan.
- 2) Ambil data yang akan dianalisa melalui : File
- 3) Bila pada data yang dipilih terdapat “peak” yang tidak dikehendaki (Auto Integration), klik Integration, Save lewat icon bergambar buku, isi nilai parameter yang cocok, klik Yes.
- 4) Isi Calibration Table melalui Calibration, isi column dengan nama ”Auto Calibration Table Concentrasi” masing-masing compound, klik Yes.
- 5) Bila data sudah terkalibrasi dan ingin di edit, cukup melalui Replace, bila ada waktu retensi (RT) yang berubah, ganti dengan RT yang baru.
- 6) Simpan data yang sudah terkalibrasi.
- 7) Cetak hasil kalibrasi melalui menu Report

4. Tahap Pengujian *Eco-Enzyme*

Pengujian *Eco-Enzyme* meliputi: uji daya hambat bakteri dan daya hambat jamur patogen. Untuk uji daya hambat bakteri dan jamur patogen digunakan kontrol positif berupa antiseptik komersil. Sediaan *Eco-Enzyme* dari setiap

perlakuan disiapkan sesuai dengan volume yang dibutuhkan. Siapkan masing-masing 3 cawan petri untuk setiap bahan uji sehingga. Buat paper disk dan jenuhkan ke dalam cairan *Eco-Enzyme* dan kontrol positif selama 20 menit. Setelah itu tempatkan paper disk pada bagian tengah cawan petri yang sudah berisi biakan bakteri atau jamur patogen. Cawan petri diinkubasi selama 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam, kemudian diamati zona penghambatan bahan uji dengan cara mengukur zona bening menggunakan jangka sorong.

5. Tahap Produksi Massal *Eco-Enzyme*

Setelah melakukan uji kualitas *Eco-Enzyme* dan dibandingkan dengan produk komersil, selanjutnya dilakukan produksi massal *Eco-Enzyme* dan aplikasi penggunaannya sebagai hand sanitizer, pembersih lantai, pembersih kaca, pembersih toilet, dan aplikasi lainnya dalam kehidupan sehari-hari. Produksi massal harus menggunakan wadah yang lebih besar dan kontroling fermentasi yang ketat sehingga *Eco-Enzyme* yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik.

Data yang terkumpul selama penelitian berupa volume, warna, dan aroma *Eco-Enzyme* dari setiap bahan limbah organik lokal dianalisis secara deskriptif. Data berupa daya hambat pertumbuhan bakteri dan penghambatan pertumbuhan jamur patogen dianalisis secara inferensial dengan menggunakan program SPSS versi 21 for windows.

BAB IX **HASIL PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan 4 tahapan, yaitu: **Tahap pertama** adalah pembuatan *Eco-Enzyme* dari limbah buah pala, Limbah daun Pala, dan Limbah Daun Kayu Putih yang merupakan limbah organik dari tanaman lokal Maluku. Data yang akan diperoleh dalam tahap pertama ini adalah volume, warna, dan aroma *Eco-Enzyme* dari setiap limbah organik yang digunakan. Adapun manfaat yang diperoleh pada tahap pertama ini adalah diperolehnya cairan *Eco-Enzyme* yang merupakan cairan antiseptik, insektisida, fungisida, dan pembersih air.

Eco-Enzyme akan diperoleh melalui proses fermentasi semi aerobik selama 3 bulan. Setelah tahap pertama, dilanjutkan **tahap kedua**, yaitu uji kandungan kimia dari eco-enzyme yang meliputi uji kandungan asam asetat, kandungan alkohol, kandungan senyawa myristisin, senyawa eugenol, dan senyawa sineol. **Tahap ketiga**, yaitu melakukan uji kualitas *Eco-Enzyme*. Uji coba kualitas *Eco-Enzyme* meliputi: uji penghambatan bakteri gram positif dan negatif, dan uji penghambatan jamur patogen. Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah data kuantitatif berupa daya hambat (mm). Manfaat yang diperoleh dalam tahap ketiga ini adalah ditemukannya *Eco-Enzyme* dari limbah organik lokal yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dan jamur.

Setelah tahap ketiga, dilanjutkan dengan **tahap keempat**, yaitu membandingkan *Eco-Enzyme* dengan produk antiseptik komersil yang sudah dijual di pasar/swalayan. Data yang diperoleh adalah data perbandingan kemampuan masing-masing produk antiseptik komersil. Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah ditemukannya kualitas yang terbaik antara *Eco-Enzyme* yang berasal dari limbah lokal atau produk antiseptik komersial yang dijual dipasar/swalayan. Dampak yang akan ditimbulkan bagi lembaga kampus setelah penelitian tahap 1 sampai tahap 4 adalah “ditemukannya produk antiseptik yang dikenal dengan *Eco-Enzyme* yang ramah lingkungan sebagai salah satu solusi dalam mengatasi pandemi Covid-19 melalui program pengembangan kampus yang sehat dan berwawasan lingkungan” (produk kampus ramah lingkungan).

1. Tahap Pembuatan Eco-Enzyme

Eco-Enzyme adalah sediaan cairan hasil fermentasi dari limbah buah atau sayur berwarna coklat kehitaman. Tidak semua limbah organik dari tumbuhan dapat diolah menjadi eco-enzyme hanya bagian buah (kulit dan daging buah) dan daun bertekstur tipis. Penelitian ini berhasil membuat eco-enzyme dari limbah tanaman lokal maluku (cengkeh, pala, dan kayu putih). Bagian limbah yang digunakan dalam pembuatan eco-enzyme adalah daun pala, kulit dan daging buah pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih. Adapun

prosedur pembuatan eco-enzyme dengan menggunakan limbah tanaman lokal Maluku adalah sebagai berikut:

- a. Untuk toples berlabel BP: Menimbang daging buah pala sebanyak 200 g, daun pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih masing-masing 100 g. Limbah yang telah ditimbang selanjutnya dihancurkan dengan menggunakan blender.
- b. Untuk toples berlabel DP: Menimbang daun pala sebanyak 200 g, daging buah pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih masing-masing 100 g. Limbah yang telah ditimbang selanjutnya dihancurkan dengan menggunakan blender.
- c. Untuk toples berlabel DC: Menimbang daun cengkeh sebanyak 200 g, daun pala, daging buah pala, dan daun kayu putih masing-masing 100 g. Limbah yang telah ditimbang selanjutnya dihancurkan dengan menggunakan blender.
- d. Untuk toples berlabel DK: Menimbang daun kayu putih sebanyak 200 g, daun pala, daging buah pala, dan daun cengkeh masing-masing 100 g. Limbah yang telah ditimbang selanjutnya dihancurkan dengan menggunakan blender.
- e. Toples pada point 1, 2, 3, dan 4 diberi larutan gula merah masing-masing 200 ml dan air bersih masing-masing 100 ml
- f. Toples pada point 1, 2, 3, dan 4 diaduk dan ditutup.

- g. Toples disimpan pada lemari yang tidak kena sinar matahari langsung selama 3 bulan
- h. Melakukan pengadukan pada masing-masing toples setiap 1 minggu
- i. Setelah 3 bulan, memanen eco-enzyme dengan terlebih dahulu mengamati warna dan aroma. (proses pembuatan eco-enzyme dapat dilihat pada lampiran dokumentasi)

2. Kualitas Fisik, Kimia, Dan Biologi Eco-Enzyme

Eco-enzyme digunakan sebagai cairan pembersih dan antiseptik. Cairan ini telah lama ditemukan oleh peneliti dari Thailand dan baru sekitar Tahun 2019 menjadi kajian penelitian di Indonesia. Eco-enzyme dibuat dari limbah organik non lemak dan protein yang difermentasi oleh mikroorganisme bebas dengan menggunakan larutan gula merah sebagai sumber carbon sekaligus sebagai bio-mol. Eco-enzyme yang baik harus memenuhi syarat kualitas fisik, kimia, dan biologi. Berikut disajikan data kualitas eco-enzyme yang dibuat dari limbah tanaman lokal Maluku yang meliputi kualitas fisik (warna dan aroma), kualitas kimia (kadar etanol, kadar asam asetat, kadar eugenol, kadar myristisin, dan kadar sineol), dan kualitas biologi (kemampuan eco-enzyme dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*)

a. Kualitas Fisik

Kualitas fisik berarti kondisi atau standar suatu benda atau barang berdasarkan pengamatan

dengan menggunakan alat indra. Kualitas fisik yang diukur pada sediaan eco-enzyme dari limbah tanaman lokal meliputi: warna dan aroma. Warna diperoleh dari hasil pengamatan mata, sedangkan aroma diperoleh dari hasil pengamatan hidung. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh data bahwa rata-rata warna eco-enzyme dari limbah tanaman lokal Maluku adalah coklat. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2 berikut

Tabel 2. Kualitas Fisik (Warna Eco-Enzyme) dari Limbah Tanaman Lokal Maluku

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
DP	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat
DC	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman
DK	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat
BP	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat

(Sumber Data, Hasil Penelitian, 2021)

Tabel 2 di atas memperlihatkan bahwa dari enam kali pengulangan pembuatan eco-enzyme dengan menggunakan kombinasi limbah tanaman lokal Maluku (daun pala, daun cengkeh, daun kayu putih, dan daging uah pala) memiliki warna yang hampir sama. Perlakuan DP, DK, dan BP memiliki warna coklat sedangkan perlakuan DC berwarna coklat kehitaman. Perbedaan warna dapat terjadi

karena adanya perbedaan komposisi kimia dari masing-masing bahan yang digunakan. Kualitas fisik yang diamati selain warna adalah aroma. Aroma pada eco-enzyme dapat bersumber dari produk hasil fermentasi berupa aroma asam dan dari penguraian bahan yang digunakan. Berikut disajikan data aroma eco-enzyme dari setiap perlakuan

Tabel 3. Kualitas Fisik (Aroma Eco-Enzyme) dari Limbah Tanaman Lokal Maluku

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
DP	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala
DC	Asam + Aroma Cengkeh	Asam + Aroma Cengkeh	Asam + Aroma Cengkeh	Asam + Aroma Cengkeh	Asam + Aroma Cengkeh	Asam + Aroma Cengkeh
DK	Asam + Aroma Kayu Putih	Asam + Aroma Kayu Putih	Asam + Aroma Kayu Putih	Asam + Aroma Kayu Putih	Asam + Aroma Kayu Putih	Asam + Aroma Kayu Putih
BP	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala	Asam + Aroma Pala

	Menyengat	Menyengat	Menyengat	Menyengat	Menyengat	Menyengat
--	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

(Sumber: Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 3 di atas terlihat bahwa aroma dari setiap perlakuan adalah asam. Aroma ini bersumber dari produk samping yang dihasilkan oleh mikroorganisme selama proses fermentasi. Aroma asam tersebut merupakan asam asetat yang berasal dari penguraian senyawa alkohol saat fermentasi aerob terjadi. Selain aroma asam, masing-masing perlakuan memberikan aroma tambahan sesuai dengan bahan baku dominan yang digunakan. Perlakuan DP dan BP beraroma pala, DC beraroma cengkeh, dan DK beraroma kayu putih. Aroma ini terjadi karena adanya penguraian senyawa kimia pada masing-masing bahan baku yang digunakan.

b. Kualitas Kimia

Kualitas kimia menunjukkan kandungan senyawa kimia yang terkandung di dalam sediaan eco-enzyme. Senyawa kimia dapat berasal dari hasil akhir dari proses fermentasi atau bersumber dari penguraian bahan organik yang dijadikan bahan pembuatan eco-enzyme. Senyawa kimia yang diidentifikasi dari eco-enzyme adalah: kadar alkohol asam asetat, myristisin, eugenol, dan sineol. Berikut disajikan data senyawa kimia yang diidentifikasi selama penelitian pada Tabel 4-5

Tabel 4. Kandungan Alkohol pada Eco-Enzyme dari Limbah Tanaman Maluku

Sampel	ul	V sampel (g)	abs	Etanol (%)
DC	1	2	Warna oranye	Negatif
	2	2	Warna oranye	Negatif
DP	1	2	Warna oranye	Negatif
	2	2	Warna oranye	Negatif
BP	1	2	Warna oranye	Negatif
	2	2	Warna oranye	Negatif
DK	1	2	Warna oranye	Negatif
	2	2	Warna oranye	Negatif

Tabel 4 di atas menunjukkan bahwa eco-enzyme dari setiap perlakuan tidak mengandung etanol. Etanol dihasilkan dari penguraian bahan organik berupa karbohidrat (misal glukosa) dalam kondisi anaerob. Selama proses glikolisis, glukosa akan diurai menjadi asam piruvat dan asam piruvat akan diubah menjadi etanol dalam kondisi anaerobik. Etanol yang dihasilkan dalam kondisi anaerobik akan diubah menjadi asam asetat, sehingga dalam eco-enzyme ditemukan asam asetat sebagaimana yang tertera pada Tabel berikut

Tabel 5. Kandungan Asam asetat pada Eco-Enzyme

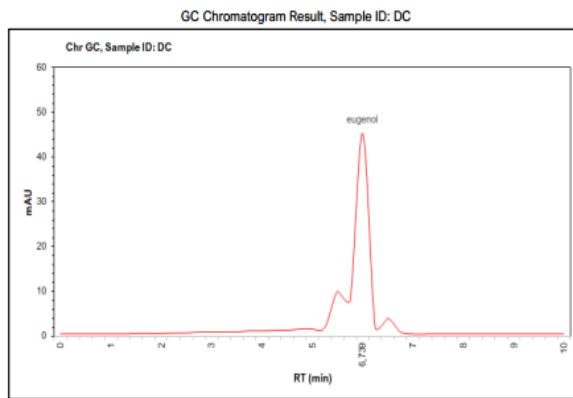
Sampel	Ul	V sampel (ml)	titrasi (ml)	Tot. As. Asetat (%)	Rerata As. Asetat (%)
DC	1	5	3,9	0,936	0,924
	2	5	3,8	0,912	
DP	1	5	4,2	1,008	0,996
	2	5	4,1	0,984	
BP	1	5	3,6	0,864	0,876
	2	5	3,7	0,888	
DK	1	5	4,3	1,032	1,02
	2	5	4,2	1,008	

(Sumber: Hasil Penelitian, 2021)

Tabel 5 di atas memperlihatkan bahwa setiap eco-enzyme mengandung asam asetat yang berbeda. Asam asetat berasal dari proses penguraian etanol selama proses fermentasi. Eco-enzyme dari perlakuan DK memiliki kadar asam asetat yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan DC, DP, dan BP. Tiap perlakuan menggunakan komposisi bahan berbeda, yaitu: DC memiliki komposisi daun cengkeh, DP memiliki komposisi daun pala, BP memiliki komposisi daging buah pala, dan DK memiliki komposisi daun kayu putih. Adanya perbedaan komposisi bahan utama, menyebabkan eco-enzyme yang dihasilkan memiliki kandungan senyawa kimia berbeda.

Daun cengkeh dikenal sebagai tanaman rempah Indonesia yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Eugenol merupakan

senyawa kimia dominan ditemukan dalam buah maupun daun cengkeh. Daun cengkeh yang digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan eco-enzyme ternyata masih mengandung eugenol setelah dalam bentuk sediaan eco-enzyme. Berikut disajikan Gambar dan hasil pembacaan GC-Chromatogram



Gambar 9. Grafik Eugenol dari Hasil Pembacaan GC-Chromatogram

Berdasarkan Gambar di atas terlihat bahwa ada dua puncak grafik yang terbentuk dan salah satu puncak grafik adalah senyawa eugenol. Bila dibandingkan dengan puncak pertama, puncak grafik eugenol lebih tinggi sehingga dapat diasumsikan bahwa kadar eugenol pada sediaan eco-enzyme lebih tinggi dari senyawa lainnya. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel hasil pembacaan GC-Chromatogram berikut.

Table 1 GC Chromatogram Result

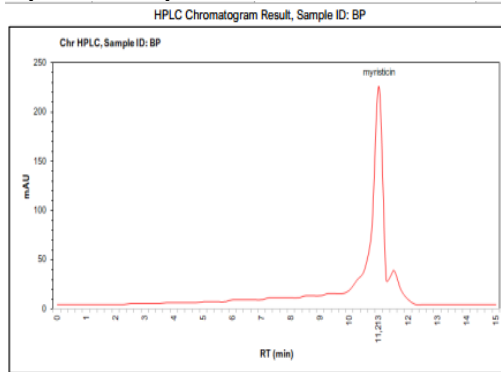
Sample ID	Sample volume (ml)	RT (min)	Sample curve area	Result (µg/ml)	Compound
DC	1	6,739	45,22163	5113,45283	eugenol

Table 2 Eugenol Standard

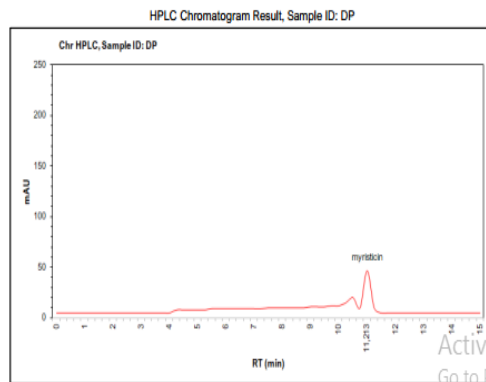
Standard	RT (min)	Concentration (µg/ml)	Curve area	Regression Equation	
eugenol	nd	0	0	a	0,82832
	6,739	0,1	1,98372	b	8,68167
	6,739	0,5	4,33287	R ²	0,9096
	6,739	1	9,93785	Working vol (ml)	1
	6,739	2,5	24,44726	Injection vol (µl)	1
	6,739	5	43,27166	Equation (µg/ml)	$\frac{\text{curve area} \cdot 0,82832}{8,68167 \times \text{sample volume}} \times 1 \times \left(\frac{1000}{1}\right)$

Tabel pertama menunjukkan hasil pembacaan GC-Chromatogram dengan nilai RT sebesar 6,739 dan kadar eugenol pada sediaan eco-enzyme adalah 5113,45283 µg/ml. Artinya dalam setaip 1 ml eco-enzyme terdapat 5113,45283 µg. Sebelum melakukan pembacaan pada sampel, terlebih dahulu dilakukan pembuatan eugenol standar seperti yang tertera hasilnya pada tabel kedua. Hasil dari pembacaan eugenol standar akan terbentuk persamaan regresi yang berfungsi dalam penentuan kadar eugenol pada sampel. Selain daun cengkeh, dalam penelitian ini digunakan daun dan daging buah pala sebagai bahan pembuatan eco-enzyme

Daun dan daging buah pala mengandung senyawa myristisin yang berfungsi sebagai senyawa anti depresi atau penenang saraf. Eco-enzyme berbahan daun dan buah pala ternyata masih mengandung myristisin, namun kadarnya berbeda antara daun dengan daging buah. Kadar myristisin pada eco-enzym dari daun dan buah pala dapat dilihat pada Gambar 10 berikut



A (BP = Buah)



B (DP = Daun)

Gambar 10. Kandungan Myristisin Eco-Enzyme dari Daun dan Buah Pala

Gambar 10 (A dan B) terbentuk dua puncak yang salah satunya adalah puncak senyawa myristisin. Tinggi puncak senyawa myristisin pada Gambar A lebih tinggi dari Gambar B, sehingga kadar myristisin buah pala lebih tinggi dari daun pala. Untuk melihat perbedaan kadar myristisin antara daging buah dengan daun pala, dapat dilihat pada Tabel berikut.

Table 1 HPLC Chromatogram Result

Sample ID	Sample volume (ml)	RT (min)	Sample curve area	Result (µg/ml)	Compound
BP	1	11,213	226,22514	6605,27197	myristicin

Table 2 Myristicin Standard

Standard	RT (min)	Concentration (µg/ml)	Curve area	Regression Equation	
myristicin	nd	0	0	a	2,9326
	11,213	0,1	2,51362	b	8,4513
	11,213	0,5	9,52469	R ²	0,9821
	11,213	1	14,21154	Working vol (ml)	5
	11,213	2,5	23,61978	Injection vol (µl)	20
	11,213	5	44,63265	Equation (µg/ml)	$\frac{\text{curve area} - 2,9326}{8,4513 \times \text{sample volume}} \times 5 \times \left(\frac{1000}{20}\right)$

Nilai RT dari sampel BP (eco-enzyme dari buah pala) adalah 11,213 dengan kadar myristisin adalah 6605,27197 µg/ml. Berbeda dengan nilai RT dan kadar myristisin pada sampel DP berikut

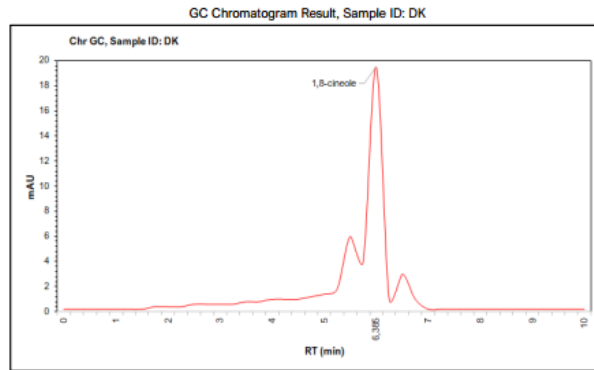
Table 1 HPLC Chromatogram Result

Sample ID	Sample volume (ml)	RT (min)	Sample curve area	Result (µg/ml)	Compound
DP	1	11,213	46,26635	1283,38496	myristicin

Table 2 Myristicin Standard

Standard	RT (min)	Concentration (µg/ml)	Curve area	Regression Equation	
myristicin	nd	0	0	a	2,9326
	11,213	0,1	2,51362	b	8,4513
	11,213	0,5	9,52469	R ²	0,9821
	11,213	1	14,21154	Working vol (ml)	5
	11,213	2,5	23,61978	Injection vol (µl)	20
	11,213	5	44,63265	Equation (µg/ml)	$\frac{\text{curve area} - 2,9326}{8,4513 \times \text{sample volume}} \times 5 \times \left(\frac{1000}{20}\right)$

Nilai RT dari sampel DK (eco-enzyme dari daun pala) adalah 11,213 dengan kadar myristisin 46,26635 µg/ml. Kadar myristisin daging buah pala lebih tinggi dari daun pala. Hal ini mempengaruhi kadar myristisin dalam sediaan eco-enzym dari daging buah dan daun pala. Tanaman Maluku selain cengkeh dan pala adalah kayu putih. Kayu putih banyak tumbuh pada daerah beriklim panas dan memiliki kandungan sineol yang banyak digunakan dalam industri farmasi. Daun kayu putih yang dijadikan sebagai bahan pembuatan eco-enzyme masih mengandung sineol dan hal tersebut terbukti dari hasil pembacaan GC-Chromatogram sebagai berikut



Gambar 11. Kandungan Sineol Eco-Enzyme dari Daun Kayu Putih

Terdapat 3 puncak grafik yang terbentuk dari hasil pembacaan sediaan eco-enzyme pada GC-Chromatogram. Puncak grafik tertinggi merupakan senyawa sineol, sedangkan dua puncak lainnya merupakan senyawa lain yang terdapat dalam eco-enzyme. Untuk mengetahui kadar sineol yang terkandung di dalam eco-enzyme, maka dapat dilihat pada Tabel berikut

Table 1 GC Chromatogram Result

Sample ID	Sample volume (ml)	RT (min)	Sample curve area	Result (µg/ml)	Compound
DK	1	6,385	19,50214	1877,87784	1,8-cineole

Table 2 1,8-Cineole Standard

Standard	RT (min)	Concentration (µg/ml)	Curve area	Regression Equation	
1,8-cineole	nd	0	0	a	3,66440
	6,385	0,1	2,92733	b	8,43385
	6,385	0,5	8,21726	R ²	0,9627
	6,385	1	15,87726	Working vol (ml)	1
	6,385	2,5	28,52441	Injection vol (µl)	1
	6,385	5	43,18819	Equation (µg/ml)	$\frac{\text{curve area} - 3,66440}{8,43385 \times \text{sample volume}} \times 1 \times \left(\frac{1000}{1}\right)$

Tabel di atas memperlihatkan nilai RT sebesar 6,385 dengan kadar sineol sebesar 1877,87784 $\mu\text{g/ml}$. Sineol dalam eco-enzyme bersumber dari daun kayu putih yang digunakan sebagai bahan baku. Baik asam asetat, eugenol, myristisin, maupun sineol merupakan senyawa kimia yang bersifat antimikroba. Senyawa antimikroba adalah senyawa yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu, seperti bakteri maupun jamur. Berikut disajikan data tentang penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* dengan menggunakan eco-enzyme dari daun pala, daging buah pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih.

c. Kualitas Mikrobiologi

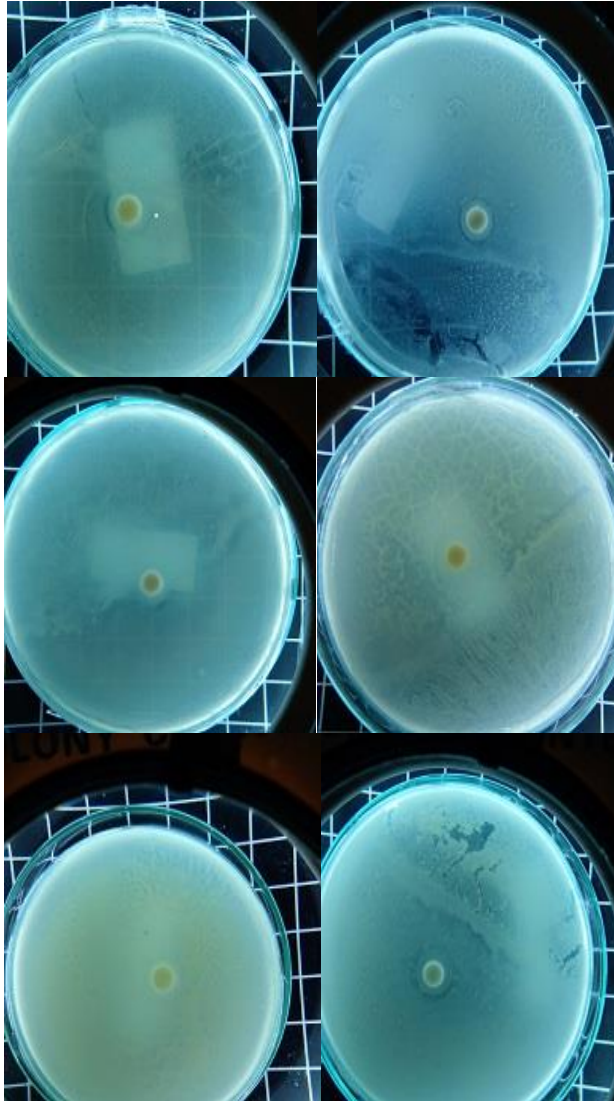
Adanya senyawa kimia seperti: asam asetat, eugenol, myristisin, dan sineol pada eco-enzyme yang dibuat, membuat sediaan tersebut dapat digunakan sebagai zat anti mikroba. Untuk membuktikan hal tersebut, maka dilakukan pengujian kemampuan eco-enzyme dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* untuk masa inkubasi 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam dengan menggunakan dua produk antispetik sebagai pembanding. Data zona hambat pertumbuhan *E. coli* untuk masa inkubasi 1 x 24 jam dengan menggunakan eco-enzyme dapat dilihat pada Tabel 6 berikut

Tabel 6. Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli* (1 x 24 jam) dengan menggunakan Eco-Enzyme

Perlakuan	Ulangan ke-....Zona Hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rerata (mm)
	1	2	3		
BP	10,25	10,75	9	30	10,00
DP	12,25	11	10,75	34	11,33
DC	7,5	10,75	11	29,25	9,75
DK	3,75	8,25	15,5	27,5	9,17
K1(AE)	10,75	10,75	10,75	32,25	10,75
K2(AI)	10,75	10,75	10,75	32,25	10,75

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 6 tersebut diketahui bahwa semua jenis eco-enzyme yang berasal dari jenis limbah tanaman lokal Maluku yang berbeda memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* untuk masa inkubasi 24 jam. Penghambatan pertumbuhan *E. coli* tertinggi diperoleh pada eco-enzyme berbahan utama daun pala dan yang terendah adalah eco-enzyme berbahan utama daun kayu putih. Penghambatan pertumbuhan *E. coli* oleh eco-enzyme berbahan utama daun pala lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol 1 dan kontrol 2. Artinya eco-enzyme tersebut lebih baik digunakan dibandingkan dua produk antiseptik komersil. Untuk melihat penghambatan *E. coli* oleh eco-enzyme dan kontrol, maka disajikan Gambar 12 berikut



Gambar 12. Zona hambat pertumbuhan *E. coli* dengan pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil untuk inkubasi 1 x 24 jam

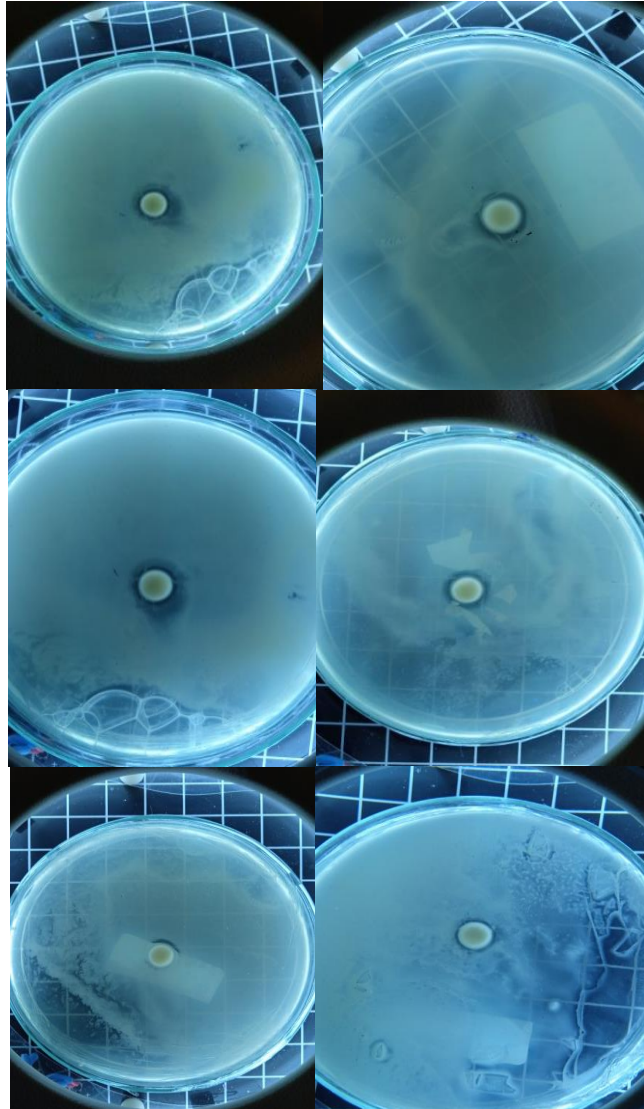
Gambar 12 di atas memberikan penjelasan Tabel 1 tentang zona hambat yang terbentuk pada cawan petri yang berisi sebaran *E. coli*. Metode yang digunakan adalah infusum atau infuse dengan menggunakan paper disk yang dijenuhkan dengan larutan eco-enzyme dan antiseptik komersil selama 20 menit. Dari gambar terlihat zona bening disekitar paper disk dengan diameter berbeda. Untuk mengetahui kemampuan eco-enzyme dan antiseptik komersil dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, maka dilakukan pengujian 2 x 24 jam sebagaimana yang tertera pada Tabel 7

Tabel 7 Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli* (2 x 24 jam) dengan menggunakan Eco-Enzyme

Perlakuan	Ulangan ke-....Zona Hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rerata (mm)
	1	2	3		
BP	10,5	11,25	10	31,75	10,58
DP	9,75	11,5	9	30,25	10,08
DC	9,25	11,25	10,25	30,75	10,25
DK	11,75	15	16,5	43,25	14,42
K1(AE)	11,25	11,25	11,25	33,75	11,25
K2(AI)	12	12	12	36	12,00

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 7 di atas terlihat bahwa zona penghambatan terbesar setelah masa inkubasi 2 x 24 jam adalah perlakuan DK, yaitu eco-enzyme dari bahan daun kayu putih. Untuk melihat besarnya penghambatan dari setiap perlakuan, maka disajikan pada Gambar 13 berikut



Gambatr 13. Zona hambat pertumbuhan *E. coli* dengan pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil untuk inkubasi 2 x 24 jam

Untuk membuktikan kemampuan eco-enzyme dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* untuk masa inkubasi 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam dengan menggunakan dua produk antiseptik sebagai pembanding, maka dilakukan pengujian secara invitro dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 8 berikut

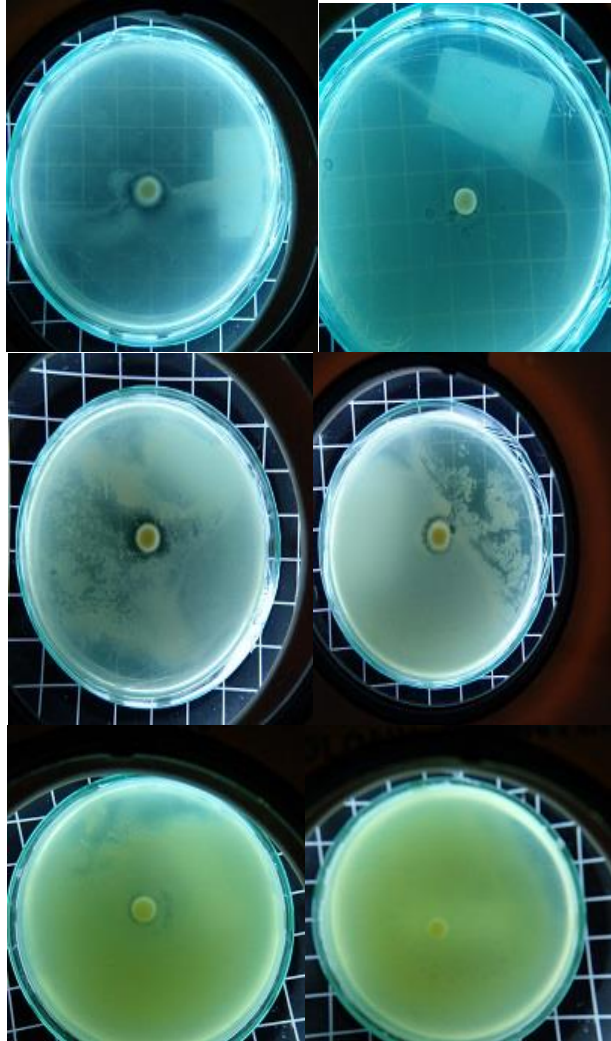
Tabel 8. Zona Hambat Pertumbuhan *S. aureus* (1 x 24 jam) dengan menggunakan Eco-Enzyme

Perlakuan	Ulangan ke-...Zona Hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rerata (mm)
	1	2	3		
BP	11,25	11,25	9,75	32,25	10,75
DP	11	15,5	10,5	37	12,33
DC	9,75	12	11	32,75	10,92
DK	15,75	9,75	10	35,5	11,83
K1(AE)	10,5	10,5	10,5	31,5	10,50
K2(AI)	11	11	11	33	11,00

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 8 tersebut diketahui bahwa semua jenis eco-enzyme yang berasal dari jenis limbah tanaman lokal Maluku yang berbeda memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* untuk masa inkubasi 1 x 24 jam. Penghambatan pertumbuhan *S. aureus* tertinggi diperoleh pada eco-enzyme berbahan utama daun pala dan yang terendah adalah kontrol AE. Penghambatan pertumbuhan *S. aureus* oleh eco-enzyme berbahan utama daun pala lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol 1 dan kontrol 2. Artinya eco-enzyme tersebut lebih baik digunakan dibandingkan dua produk antiseptik komersil. Untuk melihat penghambatan *S. aureus* oleh eco-

enzyme dan kontrol, maka disajikan Gambar 14 berikut



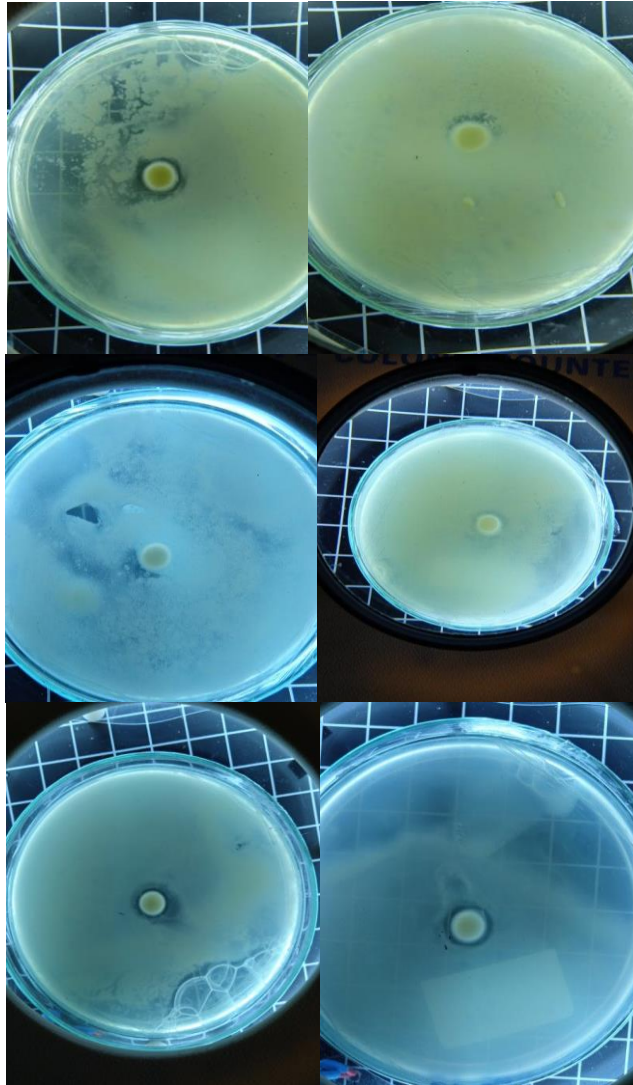
Gambar 14. Zona hambat pertumbuhan *S. aureus* dengan pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil untuk inkubasi 1 x 24 jam

Gambar 14 di atas memberikan penjelasan Tabel 3 tentang zona hambat yang terbentuk pada cawan petri yang berisi sebaran *S. aureus*. Metode yang digunakan adalah infusum atau infuse dengan menggunakan paper disk yang dijenuhkan dengan larutan eco-enzyme dan antiseptik komersil selama 20 menit. Dari gambar terlihat zona bening disekitar paper disk dengan diameter berbeda. Untuk mengetahui kemampuan eco-enzyme dan antiseptik komersil dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*, maka dilakukan pengujian 2 x 24 jam sebagaimana yang tertera pada Tabel 9. Zona Hambat Pertumbuhan *S. aureus* (2 x 24 jam) dengan menggunakan Eco-Enzyme

Perlakuan	Ulangan ke-....Zona Hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rerata (mm)
	1	2	3		
BP	13,25	10	9,25	32,5	10,83
DP	8,75	11	10	29,75	9,92
DC	11,25	8,75	12,25	32,25	10,75
DK	12,75	11,25	13,75	37,75	12,58
K1(AE)	6,25	6,25	6,25	18,75	6,25
K2(AI)	7,25	7,25	7,25	21,75	7,25

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 9 di atas terlihat bahwa zona penghambatan terbesar setelah masa inkubasi 2 x 24 jam adalah perlakuan DK, yaitu eco-enzyme dari bahan daun kayu putih. Untuk melihat besarnya penghambatan dari setiap perlakuan, maka disajikan pada Gambar 15 berikut



Gambatr 15. Zona hambat pertumbuhan *S. aureus* dengan pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil untuk nkubasi 2 x 24 jam

Untuk membuktikan kemampuan eco-enzyme dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* untuk masa inkubasi 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam dengan menggunakan dua produk antiseptik sebagai pembanding, maka dilakukan pengujian secara invitri dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 10 berikut

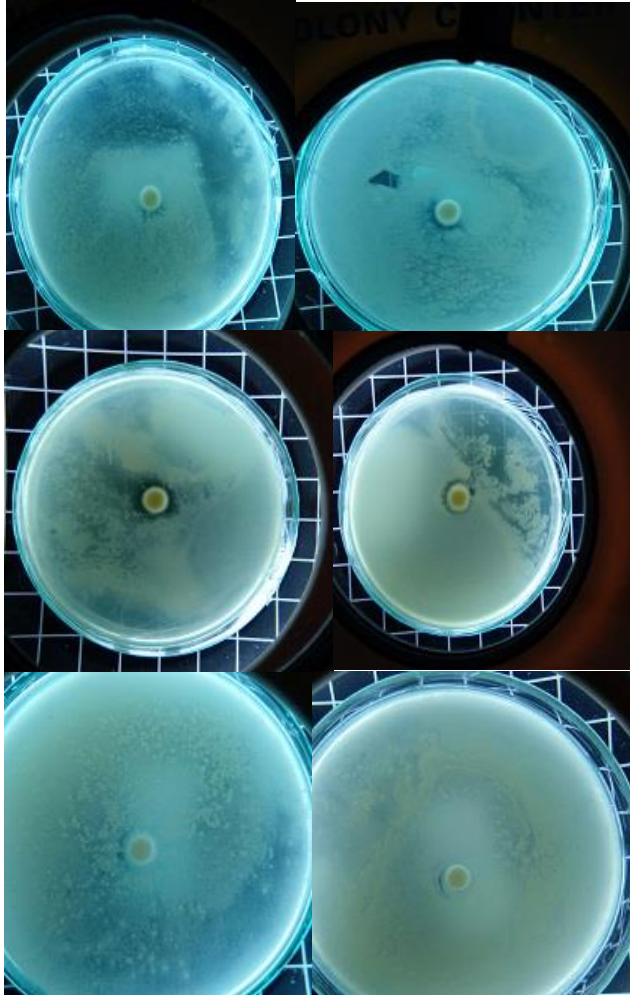
Tabel 10. Zona Hambat Pertumbuhan *C. albicans* (1 x 24 jam) dengan menggunakan Eco-Enzyme

Perlakuan	Ulangan ke-....Zona Hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rerata (mm)
	1	2	3		
BP	9,5	12	12	33,5	11,167
DP	11,5	13,25	13	37,75	12,583
DC	8,75	8,25	10,5	27,5	9,167
DK	11,75	12,25	9	33	11,000
K1 (AE)	12	8,75	8,75	29,5	9,833
K2 (AI)	9,5	10,25	10,25	30	10,000

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 10 tersebut diketahui bahwa semua jenis eco-enzyme yang berasal dari jenis limbah tanaman lokal Maluku yang berbeda memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* untuk masa inkubasi 24 jam. Penghambatan pertumbuhan *C. albicans* tertinggi diperoleh pada eco-enzyme berbahan utama daun pala dan yang terendah adalah eco-enzyme berbahan utama daun kayu putih. Penghambatan pertumbuhan *C. albicans* oleh eco-enzyme berbahan utama daun pala lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol 1 dan kontrol 2. Artinya eco-enzyme tersebut lebih baik digunakan dibandingkan dua produk antiseptik komersil. Untuk melihat penghambatan *C. albicans* oleh

eco-enzyme dan kontrol, maka disajikan Gambar 16 berikut



Gambar 16. Zona hambat pertumbuhan *C. albicans* dengan pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil untuk inkubasi 1 x 24 jam

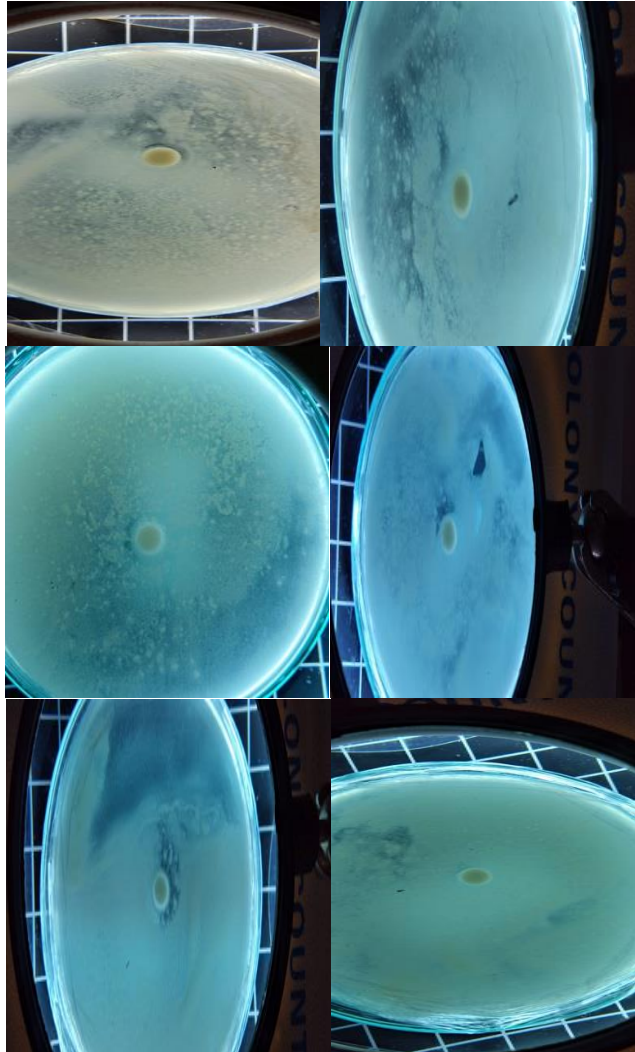
Gambar 16 di atas memberikan penjelasan Tabel 10 tentang zona hambat yang terbentuk pada cawan petri yang berisi sebaran *C. albicans*. Metode yang digunakan adalah infusum atau infuse dengan menggunakan paper disk yang dijenuhkan dengan larutan eco-enzyme dan antiseptik komersil selama 20 menit. Dari gambar terlihat zona bening disekitar paper disk dengan diameter berbeda. Untuk mengetahui kemampuan eco-enzyme dan antiseptik komersil dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*, maka dilakukan pengujian 2 x 24 jam sebagaimana yang tertera pada Tabel 11

Tabel 11. Zona Hambat Pertumbuhan *C. albicans* (2 x 24 jam) dengan menggunakan Eco-Enzyme

Perlakuan	Ulangan ke-....Zona Hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rerata (mm)
	1	2	3		
BP	11	10,25	10,75	32	10,67
DP	13,75	13,5	11,75	39	13,00
DC	12,25	9,5	9	30,75	10,25
DK	8,75	9,75	11	29,5	9,83
K1(AE)	9	10,5	10,5	30	10,00
K2(AI)	6,75	8	8	22,75	7,58

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 11 di atas terlihat bahwa zona pemghambatan terbesar setelah masa inkubasi 2 x 24 jam adalah perlakuan BP, yaitu eco-enzyme dari bahan buah pala. Untuk melihat besarnya penghambatan dari setiap perlakuan, maka disajikan pada Gambar 17 berikut



Gambatr 17. Zona hambat pertumbuhan *C. albicans* dengan pemberian eco-enzyme dan antiseptik komersil untuk nkubasi 2 x 24 jam

3. Perbedaan Kualitas Mikrobiologi Eco-Enzyme Dari Limbah Tanaman Lokal dan Antiseptik Komersil

Setiap jenis eco-enzyme dan antiseptik komersil memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* yang berbeda. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kandungan senyawa bioaktif dari masing-masing jenis eco-enzyme. Rata-rata penghambatan dari setiap jenis eco-enzyme disajikan pada Tabel 12 berikut

Tabel 12. Rerata Zona Hambat Mikroba Setelah Pemberian Eco-Enzyme dan Antiseptik Komersial untuk Masa Inkubasi 1 x 24 jam

Perlakuan	Jenis Mikroba....Rerata Zona Hambat (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
BP	10,00	10,75	11,167
DP	11,33	12,33	12,583
DC	9,75	10,92	9,167
DK	9,17	11,83	11,000
K1(AE)	10,75	10,50	9,833
K2(AI)	10,75	11,00	10,000

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 12 di atas, terlihat bahwa eco-enzyme dari bahan limbah daun pala memiliki kemampuan yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* untuk masa inkubasi 1 x 24 jam. Untuk melihat kemampuan setiap jenis eco-enzyme dalam mempertahankan eksistensinya dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan

C. albicans, maka dilanjutkan masa inkubasi selama 2 x 24 jam. Data penghambatan eco-enzyme setelah masa inkubasi 2 x 24 jama disajikan pada Tabel 13 berikut

Tabel 13. Rerata zona hambat Mikroba Setelah Pemberian Eco-Enzyme dan Antiseptik Komersial untuk Masa Inkubasi 2 x 24 jam

Perlakuan	Jenis Mikroba....Rerata Zona Hambat (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
BP	10,58	10,83	10,67
DP	10,08	9,92	13,00
DC	10,25	10,75	10,25
DK	14,42	12,58	9,83
K1(AE)	11,25	6,25	10,00
K2(AI)	12,00	7,25	7,58

(Data Hasil Penelitian, 2021)

Berdasarkan Tabel 13 di atas terlihat bahwa eco-enzyme dari bahan utama daun pala tidak dapat mempertahankan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *E coli* dan *S. aureus*, tetapi masih dapat mempertahankan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Eco-enzyme berbahan utama limbah daun kayu putih memiliki kemampuan yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *E coli* dan *S. aureus* bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dan dua kontrol positif. Setiap jenis eco-enzyme dan kontrol memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* yang berbeda untuk masa inkubasi 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam, hal ini dimungkinkan dari perbedaan kandungan senyawa kimia yang

terdapat pada masing-masing jenis eco-enzyme dan kontrol.

4. Uji Pengaruh Jenis Eco-Enzyme Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *E.coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* (1 x 24 jam)

Setiap jenis eco-enzyme memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*, bahkan kemampuan dari masing-masing perlakuan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme coba lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol 1 dan kontrol 2. Kontrol yang digunakan adalah produk antiseptik yang memiliki konsistensi cair dan gel dengan nama produk diberi symbol Ae dan Ai. Berdasarkan hasil uji anova dengan menggunakan program SPSS versi 20, diperoleh informasi bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan penggunaan jenis eco-enzyme dari limbah tanaman lokal dan kelompok kontrol terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada data berikut:

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
E_Coli	Between Groups	9,448	5	1,890	,281	,915
	Within Groups	80,833	12	6,736		
	Total	90,281	17			
S_Aureus	Between Groups	7,486	5	1,497	,425	,823
	Within Groups	42,250	12	3,521		
	Total	49,736	17			
C_Albigans	Between Groups	22,240	5	4,448	2,394	,100
	Within Groups	22,292	12	1,858		
	Total	44,531	17			

(Hasil Analisis SPSS Versi 21)

Berdasarkan hasil uji Anova di atas terlihat bahwa nilai signifikan dari setiap parameter ukur lebih besar dari 0.05 yang berarti bahwa tidak terdapat pengaruh antara penggunaan jenis eco-enzyme dari limbah lokal maluku dan kontrol terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* untuk masa inkubasi 1 x 24 jam.

5. Uji Pengaruh Jenis Eco-Enzyme Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *E.coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* (2 x 24 jam)

Untuk melihat konsisten penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* oleh eco-enzyme, maka dilakukan pengamatan 2 x 24 jam yang hasilnya dapat dilihat pada data berikut

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
E_Coli	Between Groups	39,601	5	7,920	5,317	,008
	Within Groups	17,875	12	1,490		
	Total	57,476	17			
S_Aureus	Between Groups	85,767	5	17,153	9,687	,001
	Within Groups	21,250	12	1,771		
	Total	107,017	17			
C_Albigans	Between Groups	45,236	5	9,047	7,825	,002
	Within Groups	13,875	12	1,156		
	Total	59,111	17			

(Hasil Analisis SPSS Versi 21)

Berdasarkan data di atas, terlihat bahwa masing-masing parameter ukur memperlihatkan adanya pengaruh yang ditandai dengan nilai signifikansi lebih kecil dari 0.05. Terdapat pengaruh penggunaan jenis eco-enzyme dan kontrol terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* untuk masa inkubasi 2 x 24 jam. Untuk melihat perbedaan dari setiap perlakuan, maka dilakukan uji tukey yang hasilnya dapat dilihat pada data berikut

E_Coli

Eco_Enzyme	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Tukey B ^a 2,00	3	10,0833	
3,00	3	10,2500	
1,00	3	10,5833	
5,00	3	11,2500	
6,00	3	12,0000	12,0000
4,00	3		14,4167

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

(Hasil Analisis SPSS Versi 21)

Berdasarkan data di atas terlihat bahwa setiap perlakuan memberikan hasil yang berbeda terhadap penghambatan pertumbuhan E. coli, dimana perlakuan DP, DC, BP, Ai, dan AE tidak berbeda nyata, tetapi berbeda untuk perlakuan DK. Antara perlakuan Ae tidak berbeda nyata dengan DK. Untuk penghambatan pertumbuhan *S. aureus* disajikan pada data berikut

S_Aureus

Eco_Enzyme	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Tukey B ^a 5,00	3	6,2500		
6,00	3	7,2500	7,2500	
2,00	3		9,9167	9,9167
3,00	3			10,7500
1,00	3			10,8333
4,00	3			12,5833

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

(Hasil Analisis SPSS Versi 21)

Data di atas menunjukkan bahwa perlakuan Ai dan Ae tidak berbeda, Ae dan DP tidak berbeda, DP, DC, BP, dan DK tidak berbeda nyata. Namun jika melihat besaran data penghambatan, maka perlakuan DK lebih baik dari lainnya. Seperti halnya dengan hasil uji tukey dari parameter pertama dan kedua, parameter ketiga yaitu penghambatan pertumbuhan *C. albicans* memiliki perbedaan diantara tiap perlakuan. Data tentang hasil uji tukey dapat dilihat sebagai berikut

C_Albicans

Eco_Enzyme	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Tukey B ^a 6,00	3	7,5833		
4,00	3	9,8333	9,8333	
5,00	3	10,0000	10,0000	
3,00	3	10,2500	10,2500	
1,00	3		10,6667	10,6667
2,00	3			13,0000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

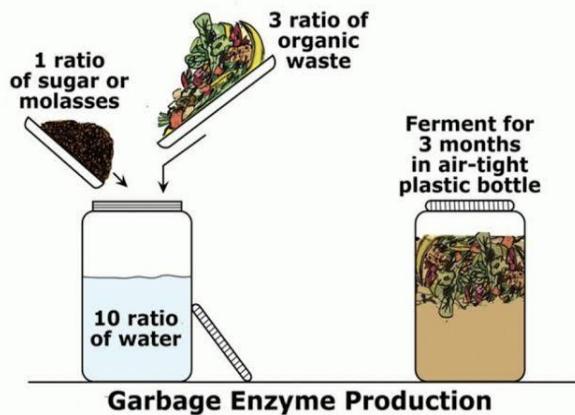
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

(Hasil Analisis SPSS Versi 21)

Data di atas menunjukkan bahwa perlakuan Ae, DK, Ai, dan DC tidak berbeda, DK, Ai, DC, dan BP tidak berbeda, BP dan DP tidak berbeda. Namun jika melihat nilai penghambatan, maka perlakuan yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* adalah DP.

BAB X
PEMBUATAN ECO-ENZYME DARI TANAMAN LOKAL MALUKU

Eco-enzyme merupakan sediaan cair dari hasil fermentasi limbah organik non lemak. Proses pembuatan eco-enzyme sangat mudah dan hanya menggunakan bahan berupa limbah organik dan mol dari larutan gula merah. Berikut disajikan Gambar proses pencampuran bahan dalam pembuatan eco-enzyme



Gambar 18. Komposisi Bahan Eco-Enzyme

Wadah yang digunakan sebagai tabung fermentasi terbuat dari bahan plastik karena bersifat elastis. Jangan menggunakan bahan dari logam karena mudah mengalami korosi akibat senyawa asam yang diproduksi selama proses fermentasi. Komposisi bahan yang digunakan

dalam pembuatan eco-enzyme dari limbah tanaman lokal maluku adalah 3 bagian limbah organik: 1 bagian gula merah : 10 bagian air bersih. Limbah organik yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pala, buah pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih sebagai bahan pokok. Selain itu, digunakan limbah buah sebagai bahan tambahan yang terdiri dari limbah kulit jeruk, limbah buah mangga, limbah buah salak, dan limbah buah tomat. Dalam penelitian ini dibuat 4 komposisi eco-enzyme dengan limbah tanaman lokal sebagai perlakuan. Setiap komposisi menggunakan limbah tanaman lokal sebagai bahan yang dominan dibandingkan dengan limbah buah lainnya. Berikut disajikan tabel komposisi bahan untuk setiap perlakuan

Tabel 14. Komposisi Bahan dari Setiap Perlakuan

Perlakuan	Komposisi Limbah				
DP	Daun Pala	Buah Jeruk	Buah Salak	Buah Tomat	Buah Mangga
BP	Buah Pala	Buah Jeruk	Buah Salak	Buah Tomat	Buah Mangga
DC	Daun Cengkeh	Buah Jeruk	Buah Salak	Buah Tomat	Buah Mangga
DK	Daun Kayu Putih	Buah Jeruk	Buah Salak	Buah Tomat	Buah Mangga

Komposisi bahan pada tabel 14 dicampur dalam wadah plastik bertutup dengan komposisi limbah ditimbang sebanyak 1800 g atau 1,8 kg (60%) untuk bahan utama dan masing-masing 10% untuk bahan pendamping), menimbang gula merah sebanyak 600 g. Masukkan limbah dan gula ke dalam wadah fermentor dan tambahkan air

sebanyak 6 liter. Setelah semua bahan tercampur, selanjutnya wadah di tutup rapat selama 3 hari (perlu ada ruang sekitar 3/4 dari tinggi wadah). Setelah 3 hari wadah dibuka dan dilakukan pengadukan, kemudia wadah ditutup kembali. Setiap satu minggu selama tiga bulan dilakukan pengadukan yang bertujuan untuk memberikan aerasi pada mikroba yang melakukan fermentasi bahan. Setelah tiga bulan dilakukan pemanenan eco-enzyme dan produk yang dihasilkan siap untuk dilakukan uji coba. Eco-enzyme memiliki banyak manfaat seperti yang tertera pada Tabel 15 berikut

Tabel 15. Kegunaan dan Cara Penggunaan Eco-Enzyme

Penggunaan	Enzim	Air
Mencuci/merendam sayuran dan buah-buahan (direndam 15 menit untuk menghilangkan bahan-bahan kimia yang menempel)	1 cc	200 cc
Mengepel lantai (lantai menjadi bersih, beraroma segar, serangga berkurang/ hilang)	2 tutup botol enzim	8 liter
Mencuci pakaian	2 tutup botol enzim + 1 sendok detergen	1 ember/ secukupnya
Menguras toilet	1 cc	500 cc
Penyegar udara (dengan cara disemprotkan)	1 cc	500 cc
Mencegah penyumbatan saluran wastafel, dan air limbah	1 cc	2 cc
Sebagai desinfektan/ antiseptik untuk membersihkan dan membasuh luka	1 cc	500 cc
Sebagai pupuk	1 cc	500 cc
Pengusir serangga	1 cc	1.000 cc

Tabel 15 di atas menunjukkan bahwa eco-enzyme memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai desinfektan atau antiseptik. Eco-enzyme dapat berfungsi sebagai antiseptik dikarenakan adanya senyawa kimia yang berasal dari limbah buah atau sayur yang terfermentasi oleh mikroorganisme. Seperti halnya dengan eco-enzyme yang dibuat dari limbah tanaman lokal Maluku (pala, cengkeh, dan kayu putih) memiliki senyawa yang bersifat sebagai antimikroba.

BAB XI

KUALITAS FISIK ECO-ENZYME

1. Warna

Eco-enzyme yang telah selesai difermentasi selama 3 bulan menghasilkan warna coklat muda sampai coklat pekat tergantung dari jenis bahan baku yang digunakan. Dalam penelitian ini digunakan 4 jenis bahan utama, yaitu: daun pala, buah pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih. Sedangkan bahan pendukung yang digunakan adalah: kulit buah jeruk, kulit mangga, limbah buah salak, dan limbah buah tomat. Terdapat 4 jenis eco-enzyme berdasarkan jenis bahan utama yang digunakan yang diberi simbol sebagai berikut:

BP = Bahan utama dari limbah daging buah pala

DP = Bahan utama dari daun pala

DC = Bahan utama dari daun cengkeh

DK = Bahan utama dari daun kayu putih

Dari keempat jenis eco-enzyme yang dibuat, warna BP, DP, dan DK adalah coklat muda sedangkan DC berwarna coklat tua. Gradasi warna yang dihasilkan bersumber dari bahan yang digunakan dalam pembuatan eco-enzyme. Bahan organik yang tercampur secara merata kemudian ditambahkan dengan larutan gula merah sebagai mol akan difermentasi oleh mikroorganisme bebas dalam kondisi anaerob selama 3 hari, kemudian secara aerobik sampai masa panen. Bahan organik akan terurai menjadi molekul-molekul sederhana,

termasuk pigmen yang terkandung didalam daun dan buah yang digunakan. Pigmen dari daun cengkeh lebih pekat dibandingkan dengan daun pala dan kayu putih sehingga mempengaruhi warna eco-enzyme yang dihasilkan, yaitu lebih pekat dari lainnya.

2. Aroma

Ecco-enzyme yang terbentuk dari hasil fermentasi bahan organik dengan menggunakan larutan gula merah sebagai mol memiliki aroma yang khas, yaitu beraroma asam. Aroma asam tersebut bersumber dari penguraian alkohol menjadi asam asetat selama proses respirasi aerob. Bahan organik berupa daun dan limbah buah mengandung karbohidrat dalam bentuk amilum ataupun gula buah yang akan diubah menjadi asam piruvat selama proses glikolisis. Adam piruvat yang dihasilkan akan diubah menjadi etanol selama proses respirasi anerobik. Etanol tidak memasuki jalur daur krebs, melainkan diubah menjadi asam asetat selama respirasi aerobik.

Dalam pembuatan eco-enzyme melibatkan respirasi anaerobik dan aerobik. Respirasi anaerobik dimulai pada hari pertama sampai hari ketiga setelah semua bahan tercampur di dalam tabung atau wadah fermentasi. Selama 3 hari mikroorganisme yang masuk ke dalam wadah akan mengurai bahan organik menjadi molekul sederhana. Setelah tiga hari, wadah fermentasi dibuka dan dilakukan pengadukan sehingga dalam peristiwa ini terjadi proses respirasi aerobik.

Mikroorganisme bebas diudara masuk ke dalam wadah dan melakukan penguraian etanol menjadi asam asetat. Adanya asam asetat pada eco-enzyme mengakibatkan aroma yang dihasilkan adalah asam. Selain memiliki aroma asam, terdapat aroma lain yang mencirikan bahan utama yang digunakan, misalnya aroma pala pada eco-enzyme dengan bahan utama daun atau buah pala, aroma cengkeh pada eco-enzyme dengan bahan utama adalah daun cengkeh, dan aroma kayu putih pada eco-enzyme yang dibuat dengan menggunakan bahan utama daun kayu putih. Olehnya itu, eco-enzyme yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki perbedaan aroma dengan eco-enzyme yang telah diproduksi sebelumnya dengan menggunakan limbah buah atau limbah sayuran, yaitu memiliki aroma khas rempah atau bahan baku utama yang digunakan.

3. Kandungan Alkohol

Dalam kimia, alkohol (atau alkanol) adalah istilah yang umum untuk senyawa organik apa pun yang memiliki gugus hidroksil ($-OH$) yang terikat pada atom karbon, yang ia sendiri terikat pada atom hidrogen dan/atau atom karbon lain. Alkohol sering dipakai untuk menyebut etanol, yang juga disebut *grain alcohol*, dan kadang untuk minuman yang mengandung alkohol. Hal ini disebabkan karena memang etanol yang digunakan sebagai bahan dasar pada minuman tersebut, bukan metanol, atau grup alkohol lainnya. Begitu juga dengan alkohol yang digunakan dalam dunia

farmasi. Alkohol yang dimaksudkan adalah etanol. Kelas alkohol yang penting adalah metanol dan etanol dengan rumus umum $C_nH_{2n+1}OH$.

Alkohol ditemukan pada bahan organik yang telah mengalami fermentasi secara anerob. Substrat berupa karbohidrat, baik golongan monosakarida, disakarida, dan polisakarida selama proses glikolisis akan menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat pada jalur anerob akan diubah menjadi etanol, sedangkan pada jalur aerob asam piruvat akan diubah menjadi asetil koensim. Proses pembuatan eco-enzyme melibatkan dua tahapan respirasi, yaitu secara anerobik dan aerobik. Fase anerobik dimulai pada hari pertama sampai hari ketiga dan dihasilkan senyawa etanol. Senyawa etanol yang terbentuk, selanjutnya akan diubah menjadi asam asetat setelah wadah feremnetasi dibuka. Olehnya itu, saat melakukan analisis kandungan etanol (alkohol) pada eco-enzyme, tidak didapatkan senyawa tersebut. Hal ini disebabkan karena senyawa alkohol telah diubah oleh mikroorganismenya menjadi asam asetat.

4. Kandungan Asama Asetat

Asam asetat, asam etanoat atau **asam cuka** adalah salah satu senyawa organik yang berada dalam golongan asam alkanoat. Asam cuka memiliki rumus empiris $C_2H_4O_2$. Rumus ini sering kali ditulis dalam bentuk CH_3-COOH , CH_3COOH , atau CH_3CO_2H . Asam asetat pekat (disebut *asam asetat glasial*) adalah cairan higroskopis tak berwarna, dan memiliki titik beku

16,7°C. Asam asetat adalah komponen utama cuka (3–9%) selain air. Asam asetat berasa asam dan berbau menyengat. Selain diproduksi untuk cuka konsumsi rumah tangga, asam asetat juga diproduksi sebagai prekursor untuk senyawa lain seperti polivinil asetat dan selulosa asetat. Meskipun digolongkan sebagai asam lemah, asam asetat pekat bersifat korosif dan dapat menyebabkan iritasi pada kulit.

Asam asetat merupakan salah satu asam karboksilat paling sederhana, setelah asam format. Larutan asam asetat dalam air merupakan sebuah asam lemah, artinya hanya terdisosiasi sebagian menjadi ion H^+ dan CH_3COO^- . Asam asetat merupakan pereaksi kimia dan bahan baku industri yang penting. Asam asetat digunakan dalam produksi polimer seperti polietilena tereftalat, selulosa asetat, dan polivinil asetat, maupun berbagai macam serat dan kain. Dalam industri makanan, asam asetat, dengan kode aditif makanan E260, digunakan sebagai pengatur keasaman. Di rumah tangga, asam asetat encer juga sering digunakan sebagai pelunak air. Sebagai aditif makanan, asam asetat disetujui penggunaannya di banyak negara, termasuk Kanada, Uni Eropa, Amerika Serikat, Australia dan Selandia Baru. Dalam setahun, kebutuhan dunia akan asam asetat mencapai 6,5 juta ton per tahun. 1,5 juta ton per tahun diperoleh dari hasil daur ulang, sisanya diperoleh dari industri petrokimia, terutama dengan bahan baku metanol. Cuka adalah asam

asetat encer, sering kali diproduksi melalui fermentasi dan oksidasi lanjutan etanol.

Asam asetat yang terkandung di dalam eco-enzyme berasal dari oksidasi lanjutan etanol. Etanol sendiri dihasilkan selama proses fermentasi dan diubah menjadi asam asetat dengan bantuan bakteri asam. Kandungan asam asetat dari setiap sediaan eco-enzyme berbeda, dimana kadar asam asetat tertinggi diperoleh pada perlakuan DK (bahan utama adalah daun kayu putih) sedangkan terendah diperoleh pada perlakuan BP (bahan utama adalah limbah daging buah pala). Perbedaan kadar asam asetat pada setiap perlakuan disebabkan oleh kemampuan mikroorganisme dalam mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Selain itu, disebabkan oleh kadar etanol yang dihasilkan selama proses respirasi anerobik atau karena bahan utama yang digunakan.

5. Kandungan Myristisin, Eugenol, dan Sineol

Myristisin adalah turunan dari senyawa fenilpropanoid. Myristisin berwujud zat cair yang bening, tak larut dalam air tetapi dalam pelarut organik. Baunya khas seperti rempah-rempah dan aromanya tajam serta mudah menguap. Myristisin ditemukan pada daun dan buah pala dengan kadar yang berbeda. Kadar myristisin pada buah pala lebih tinggi dibandingkan pada daunnya, hal ini juga yang mempengaruhi kadar myristisin pada eco-enzyme dari bahan utama limbah daging buah dan daun pala. Kadar myristisin pada eco-enzyme dengan menggunakan daging buah pala sebagai

bahan baku adalah yaitu 6605,27 µg/ml dan yang menggunakan daun pala adalah 1283,38 µg/ml. Selain mengamati kadar myristisin pada eco-enzyme, dalam penelitian ini juga melakukan analisis kandungan eugenol dan sineol. Eugenol adalah salah satu jenis senyawa dari kimia fenilpropanoid. Senyawa ini merupakan cairan berminyak warna kuning pucat yang berasal dari ekstrak minyak esensial tertentu khususnya dari minyak cengkeh, kemangi, kayu manis, buah pala dan daun teluk. Senyawa ini dapat sedikit larut di dalam air dan larut dalam pelarut organik. Sifat dari senyawa ini memiliki rasa yang pedas dan aromanya seperti cengkeh. Nama eugenol berasal dari nama ilmiah cengkeh yakni *Eugenia caryophyllata* atau *Eugenia aromaticum*. Kandungan senyawa ini menjadi komponen utama pada minyak esensial yang diekstrak dari cengkeh dengan takaran kandungannya sebanyak 72% hingga 90%.

Cineol atau sineol merupakan terpenoid yang merupakan suatu golongan hidrokarbon yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan dan terutama terkandung pada getah dan vakuola selnya. Pada tumbuhan, senyawa-senyawa golongan terpena dan modifikasinya, terpenoid, merupakan metabolit sekunder. Terpena dan terpenoid dihasilkan pula oleh sejumlah hewan, terutama serangga dan beberapa hewan laut. Di samping sebagai metabolit sekunder, terpena merupakan kerangka penyusun sejumlah senyawa penting bagi makhluk hidup. Sebagai contoh, senyawa-

senyawa steroid adalah turunan skualena, suatu triterpena; juga karoten dan retinol. Nama "terpena" (*terpene*) diambil dari produk getah tusam, terpentin (*turpentine*).

Terpena dan terpenoid menyusun banyak minyak atsiri yang dihasilkan oleh tumbuhan. Kandungan minyak atsiri memengaruhi penggunaan produk rempah-rempah, baik sebagai bumbu, sebagai wewangian, serta sebagai bahan pengobatan, kesehatan, dan penyerta upacara-upacara ritual. Nama-nama umum senyawa golongan ini sering kali diambil dari nama minyak atsiri yang mengandungnya. Lebih jauh lagi, nama minyak itu sendiri diambil dari nama (nama latin) tumbuhan yang menjadi sumbernya ketika pertama kali diidentifikasi. Sebagai misal adalah citral, diambil dari minyak yang diambil dari jeruk (*Citrus*). Contoh lain adalah eugenol, diambil dari minyak yang dihasilkan oleh cengkih (*Eugenia aromatica*), dan mentol yang diambil dari tumbuhan mint.

Pada awalnya, ahli kimia menemukan perbandingan jumlah atom karbon dan hidrogen pada terpena adalah 5:8. Selanjutnya, diketahui bahwa terpena tersusun dari senyawa yang terdiri dari gabungan kepala hingga ekor dari satuan-satuan kerangka isoprena. Maka, terpena disebut juga isoprenoid. Hal ini dapat dimengerti karena kerangka penyusun terpena dan terpenoid adalah isoprena (C_5H_8). Terpenoid banyak dikandung pada minyak atsiri atau dikenal juga sebagai minyak eterik (*aetheric oil*), minyak esensial

(*essential oil*), minyak terbang (*volatile oil*), serta minyak aromatik (*aromatic oil*), adalah kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas. Minyak asiri merupakan bahan dasar dari wangi-wangian atau minyak gosok (untuk pengobatan) alami. Di dalam perdagangan, hasil sulingan (distilasi) minyak atsiri dikenal sebagai *bibit minyak wangi*.

Para ahli biologi menganggap minyak atsiri sebagai metabolit sekunder yang biasanya berperan sebagai alat pertahanan diri agar tidak dimakan oleh hewan (hama) ataupun sebagai agensia untuk bersaing dengan tumbuhan lain (lihat alelopati) dalam mempertahankan ruang hidup. Walaupun hewan kadang-kadang juga mengeluarkan bau-bauan (seperti kesturi dari beberapa musang atau cairan yang berbau menyengat dari beberapa kepik), zat-zat itu tidak digolongkan sebagai minyak atsiri. Cineol termasuk minyak atsiri dengan dua kelompok, yaitu: 1,4-cineol dan 1,8-cineol.

1,4-cineol atau 1,4-sineol (IUPAC: (1s,4s)-1-isopropyl-4-methyl-7-oxabicyclo [2.2.1] heptane) adalah satu dari dua macam cineol yang ditemukan di alam. 1,4-cineol adalah monoterpenoid yang biasa dijumpai bersama-sama dengan 1,8-cineol pada berbagai rempah-rempah, misalnya pada rimpang temu-temuan serta buah kemukus. Senyawa ini memiliki sifat-sifat yang cukup menyerupai 1,8-cineol. Eukaliptol (*eucalyptol*, dikenal pula sebagai 1,8-cineol, 1,8-

epoxy-p-menthane, cajeputol, IUPAC: 1,3,3-trimetil-2-oksabisiklo[2,2,2]oktana) adalah eter siklik alami dan anggota monoterpenoid. Eukaliptol dihasilkan dari banyak anggota marga *Eucalyptus* dan beberapa anggota suku Myrtaceae lain, seperti *Melaleuca* dan *Syzygium*. Selasih, kemangi, dan banyak rempah-rempah bumbu lainnya juga mengandung eukaliptol. Eter ini tidak larut dalam air namun dapat bercampur dengan baik dalam petroleum eter, etanol, serta kloroform. Karena aromanya yang menenangkan, eukaliptol banyak dipakai sebagai campuran obat, parfum, serta berbagai produk pendukung kesehatan.

Eco-enzyme dengan bahan dasar dari limbah tanaman lokal maluku (pala, cengkeh, dan kayu putih) mengandung senyawa myristisin, eugenol, dan sineol sesuai dengan bahan utama yang digunakan. Eco-enzyme dari limbah daun dan buah pala mengandung myristisin, yang terbuat dari limbah daun cengkeh mengandung eugenol, dan eco-enzyme yang terbuat dari limbah daun kayu putih mengandung 1,8-cineol. Kandungan senyawa yang terdapat di dalam larutan eco-enzyme berasal dari bahan baku yang digunakan. Daun atau buah mengalami fermentasi sehingga semua senyawa yang terdapat di dalamnya akan keluar dan larut di dalam eco-enzyme.

6. Kualitas Mikrobiologi

Proses pembuatan eco-enzyme dengan menggunakan bahan utama dari limbah tanaman

lokal Maluku (pala, cengkeh, dan kayu putih) dilaksanakan di Laboratorium MIPA IAIN Ambon selama 3 bulan. Hasil akhir dari kegiatan ini adalah dihasilkannya cairan eco-enzyme dengan warna kecoklatan dan beraroma asam. Untuk mengetahui kemampuan eco-enzyme dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* maka dilakukan penelitian uji aktivitas eco-enzyme di Laboratorium Biologi Dasar Universitas Pattimura Ambon.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua eco-enzyme yang diuji memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan Bakteri dan kapang yang berbeda. Pengamatan masa inkubasi 24 jam diperoleh data bahwa kemampuan penghambatan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* terbaik dilakukan oleh eco-enzyme yang terbuat dari daun pala dengan ukuran zona hambat berturut-turut sebagai berikut 11,33 mm; 12,33 mm, dan 12,583 mm. Penghambatan pertumbuhan bakteri dan kapang yang terbaik untuk masa inkubasi 48 jam adalah eco-enzyme dari daun kayu putih untuk bakteri dan daun pala untuk kapang. Rata-rata penghambatan pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* adalah 14,42 mm dan 12,58 mm. Sedangkan rata-rata penghambatan pertumbuhan *C. albicans* dengan menggunakan eco-enzyme dari daun pala adalah 13,00 mm.

Antibiotik yang digunakan pada saat ini selain dihasilkan oleh mikroorganisme juga dapat disolasi dari tumbuhan. Tumbuhan memiliki

senyawa metabolit sekunder, misalnya: tannin, alkaloid, saponin, dan lainnya yang memiliki kemampuan dapat menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur. Mekanisme kerja antimikroba dengan cara menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, misalnya terikat pada protein atau organel sel dan merusak fungsi penting yang berhubungan dengan pertumbuhan ataupun bentuk adaptasi mikroorganisme. Antimikroba dapat bersifat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Atlas, 1997).

Pala, cengkeh, dan kayu putih mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang mampu menghasilkan senyawa antimikroba memiliki mekanisme kerja merusak sel dengan menghambat biosintesis polisakarida pada dinding sel, dapat merusak membran sel dengan merusak fungsi mannoprotein dan berinteraksi dengan ergosterol dan sebagai anti mikroba (Goodfellow & Williams, 1986). Eco-enzyme dengan menggunakan daun dan buah pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih dapat menghasilkan zat-zat antimikroba berupa myristisin, eugenol, dan sineol. Antibiotik yang dimiliki oleh eco-enzyme dapat menghambat bahkan mematikan patogen, sehingga pertumbuhan diameter koloni mikroba terhambat, karena adanya zat-zat dimiliki oleh eco-enzyme yang mampu merusak dinding sel dan sitoplasma dari patogen (Yurnaliza, 2002).

Hasil zona hambat eco-enzyme bervariasi. Beberapa faktor yang memengaruhi perbedaan zona hambat yaitu bahan utama eco-enzyme, proses pembuatan eco-enzyme, jenis senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh eco-enzyme, lama inkubasi saat pengujian, kondisi lingkungan saat pengujian aktivitas antifungi, morfologi dari jamur target. Dilihat dari metode yang digunakan yaitu metode difusi agar, faktor yang memengaruhi perbedaan zona hambat, yaitu kepadatan medium uji, kecepatan senyawa antimikroba berdifusi, konsentrasi senyawa antimikroba yang dihasilkan, sensitivitas dari mikroba target, dan interaksi senyawa antimikroba dengan medium uji. Daya difusi dari substansi antibakteri ke dalam medium agar menentukan penghambatan terhadap *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*. Menurut Parish dan Davidson (1993) ukuran zona jernih tergantung pada kecepatan difusi senyawa-senyawa antimikroba pada medium agar, yang mana semakin cepat difusi senyawa-senyawa antibakteri ke dalam medium agar, maka semakin luas zona penghambatan yang terbentuk

Mengacu pada Madigan et al. (1997) senyawa antibakteri yang berdifusi ke dalam medium agar dapat menyebabkan terhambatnya pembentukan dinding sel sehingga sel hanya dibatasi oleh membran sel yang tipis dan dapat lisis. Penghambatan juga dapat terjadi pada proses sintesis protein. Menurut Pelczar dan Chan (1988) proses penghambatan terhadap sintesis protein terjadi pada proses transkripsi dan translasi bahan

genetik, dimana terjadi kesalahan penerjemahan, sehingga asam amino yang dihasilkan salah menempatkan diri dalam rantai peptida dan menghasilkan protein yang tidak berfungsi. Penghambatan juga dapat terjadi terhadap enzim yang bekerja dalam sel. Menurut Pelczar dan Chan (1988) enzim merupakan sasaran potensial senyawa antibakteri. Penghambatan ini umumnya bersifat irreversible yaitu terjadi perubahan, sehingga enzim menjadi tidak aktif. Dengan terhambatnya atau terhentinya aktivitas enzim, mekanisme kerja enzim dapat terganggu, sehingga mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri.

Menurut Praptosuwirya (2001) pala, cengkeh, dan kayu putih memiliki aktivitas bakterisida dan fungisida karena adanya kandungan senyawa myristisin, eugenol, sineol, senyawa hidrokarbon terpena, dan turunan fenilpropana. Hal ini juga diungkapkan oleh Agusta (2000) yang menyatakan bahwa tanaman pala, cengkeh, dan kayu putih memiliki senyawa berupa minyak atsiri, yaitu: myristisin, eugenol, dan sineol. Mengacu pada Jawetz et al. (1982) aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat lebih efektif dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa. Namun dimungkinkan juga, senyawa-senyawa antibakteri yang memiliki prosentase terbesar dapat mempengaruhi keefektifan daya kerjanya. Di sisi lain aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat juga kurang efektif

dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa.

Mekanisme kerja senyawa metabolit sekunder dari tanaman pala, cengkeh, dan kayu putih sebagai antibakteri adalah mengubah tegangan muka dan mengikat lipid pada sel bakteri yang menyebabkan lipid terekskresi dari dinding sel sehingga permeabilitas membran bakteri terganggu atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Wardhani dan Sulistyani, 2012). Menurut Cavalieri dkk., (2005), senyawa metabolit tumbuhan berupa myristisin, eugenol, dan sineol berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida.

Selain itu, mekanisme kerja myristisin, eugenol, dan sineol sebagai antimikroba adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Selain berperan dalam inhibisi pada sintesis DNA–RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat, senyawa metabolit sekunder tumbuhan juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara

yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul (Cushnie dan Lamb, 2005)

Eco-enzyme yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* untuk masa inkubasi 24 jam adalah yang berbahan utama daun pala, sedangkan untuk masa inkubasi 48 jama adalah yang berbahan utama daun kayu putih. Eco-enzyme yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada masa inkubasi 24 jam dan 48 jam adalah yang berbahan utama daun pala. Perbedaan yang terjadi disebabkan karena kandungan senyawa metabolit sekunder pada setiap jenis eco-enzyme sesuai dengan bahan utama yang digunakan, namun pada dasarnya perbedaan penghambatan dari setiap jenis eco-enzyme tidak terlalu besar. Olehnya itu, eco-enzyme yang dibuat dari limbah tanaman lokal maluku memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* lebih baik dari kontrol (antiseptik Ae dan antiseptik Ai).

BAB XII

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Eco-enzyme berbahan limbah tanaman lokal Maluku memiliki warna kecoklatan, berbau asam dan memiliki kadar alkohol negatif. Selain itu, masing-masing eco-enzyme yang dihasilkan memiliki kadar asam asetat yang bervariasi dengan kadar tertinggi adalah 1,02% dengan bahan utama adalah daun kayu putih.
3. Tidak ada pengaruh eco-enzyme dan antiseptik komersial terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* untuk masa inkubasi 24 jam, namun pada masa inkubasi 48 jam terdapat pengaruh eco-enzyme dan antiseptik komersial terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans*
4. Terdapat perbedaan penghambatan *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* dengan menggunakan eco-enzyme dari limbah tanaman Maluku dan antiseptik komersil. Perlakuan terbaik adalah DK untuk penghambatan *E. coli* dan *S. aureus*, serta DP untuk penghambatan *C. albicans*

Penelitian ini hanya sampai pada pengujian kualitas fisik secara lengkap, kualitas kimia sebahagian, dan aplikasi hanya pada uji penghambatan bakteri dan jamur. Olehnya itu,

penelitian ini masih perlu dilanjutkan dengan mengaji hal-hal berikut:

1. Melakukan pengujian eco-enzyme sebagai insektisida nabati
2. Melakukan pengujian eco-enzim dalam meningkatkan kualitas air yang tercemar
3. Melakukan pengujian eco-enzyme sebagai formula penyubur tanaman palawijaya
4. Membuat eco-enzyme dengan menggabungkan limbah buah pala, daun pala, daun cengkeh, dan daun kayu putih sehingga diperoleh eco-enzyme dengan kualitas kimia yang lebih baik
5. Memproduksi eco-enzyme dan memberi label produk komersil.

DAFTAR PUSTAKA

- Alkadri A. P. S., Asmara D. K. (2020). Pelatihan Pembuatan Eco- Enzyme Sebagai Hand Sanitizer Dan Desinfektan Pada Masyarakat Dusun Margo Sari Desa Rasau Jaya Tiga Dalam Upaya Mewujudkan Desa Mandiri Tangguh Covid-19 Berbasis Eco-Community. *Buletin Al-Ribaath*, 17: 98-103
- Ariandi dan Khaerati. (2017). Uji Aktivitas Enzim Diastase, Hidroksimetilfurfural (HMF), Kadar Gula Pereduksi, Dan Kadar Air Pada Madu Hutan Battang. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian (SNP2M)*, pp.1-4
- Arifin W. L., Syambarkah. A., Purbasari S. H., Ria R., Puspita A. V. (2019). Introduction Of Eco-Enzyme To Support Organik Farming In Indonesia. *As. J. Food Ag-Ind*, Special Issue, S356-S359
- Burke RM, Midgley CM, Dratch A, Fenstersheib M, Haupt T, Holshue M, et al. 2020. Active Monitoring of Persons Exposed to Patients with Confirmed COVID-19 United States, January–February 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*: 69(:245-6.6.
- Chan JF-W, Yuan S, Kok K-H, To KK-W, Chu H, Yang J, et al. 2020. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person

- transmission: a study of a family cluster. *Lancet*: 395 14-23.4.
- Dhiman S. (2017). Eco-Enzyme-A Perfect Household Organik Cleanser. *International Journal of Engineering Technology, Management and Applied Sciences*, Volume 5, Issue 11: 19-23
- Dhiman S. (2020). Eco-Enzymes-An Approach Towards Reducing Pollution. *Journal of pollution effects and kontrol*, Vol. 1, No. 2: 1-7
- Fitriani S. D. dan Gatot M. (2020). Gerakan Produktif Dengan Mengolah Sampah Organik Menjadi Eco-Enzyme Di Tengah Pandemi Covid-19. *Jurma*, Vol. 4, No. 1: 48-53
- Ghinai I, McPherson TD, Hunter JC, Kirking HL, Christiansen D, Joshi K, et al. 2020. First known person-to-person transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in the USA. *Lancet*: 395:1137-44.9.
- Hamner L, Dubbel P, Capron I, Ross A, Jordan A, Lee J, et al. 2020. High SARS-CoV-2 Attack Rate Following Exposure at a Choir Practice Skagit County, Washington, March 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*: 69:606-10.8.
- Handayani D., Dwi Rendra Hadi, Fathiyah Isbaniah, Erlina Burhan, Heidy Agustin. 2020. Penyakit Virus Corona 2019. *J Respir Indo* Vol. 40 No. 2 April 2020 hal 119-129

- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. 2020. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*: 395:497-506.5.
- Janarthanan M., Mani K., Raja S. R. S. (2020). Purification of Contaminated Water Using Eco Enzyme. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 955: 1-6
- Komala O., Sugiharti D., Darda I. R. (2020). Pengelolaan Sampah Organik Menggunakan Mikroorganismen. *Ekologia*, Vol. 12 No.2: 1-8
- Kumar N., Rajshree Y.A., Yadav A., Malhotra H. N., Gupta N., Pushp P. (2019). Validation Of Eco-Enzyme For Improved Water Quality Effect During Large Public Gathering At River Bank. *Int. J. Hum. Capital Urban Manage*, 4(3): 181-188
- Larasati D., Astuti P. A., Maharani T. E. (2020). Uji Organoleptik Produk Eco-Enzyme Dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus Di Kota Semarang). *Seminar Nasional Edusainstek FMIPA UNIMUSL*: 278-283
- Liu J, Liao X, Qian S, Yuan J, Wang F, Liu Y, et al. 2020. Community Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, Shenzhen, Chin. *Emerg Infect Dis.*: 26:1320-3.3.
- Luo L, Liu D, Liao X, Wu X, Jing Q, Zheng J, et al. 2020. Modes of contact and risk of transmission in COVID-19 among close

- contacts (pracetak). *MedRxiv*. doi:10.1101/2020.03.24.20042606
- Mavani K. A. H., Tew M. I., Wong L., Yew S. H., Mahyuddin A., Ghazali A. R., and Pow N. H. E. (2020). Antimicrobial Ecaacy of Fruit Peels Eco-Enzyme against *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health*: 1-12
- Megah S. I. S., Dewi S. D., Wilany E. (2018). The Utilization Of Household Waste Used For Medicine And Cleanliness. *Minda Baharu*, Volume 2, No 1: 50-58.
- Muin R., Hakim I., Febriyansyah A. (2015). Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Bioetanol Dalam Proses Fermentasi Nasi Aking Sebagai Substrat Organik. *Jurnal Teknik Kimia*, No. 3, Vol. 21: 59-69
- Penmatsa B., Sekhar C. D., Diwakar S. B., TV Nagalakshmi. (2019). Effect of Bio-Enzyme in the Treatment of Fresh Water Bodies. *International Journal of Recent Technology and Engineering (IJRTE)*, Volume-8 Issue-1S3: 308-310
- Pung R, ChiewCJ, Young BE, Chin S, Chen MIC, Clapham HE, et al. 2020. Investigation of three clusters of COVID-19 in Singapore: implications for surveillance and response measures. *Lancet*: 395:1039-46.10.
- Ramadani H. A., Rosalina R., Ningrum S. R. (2019). Pemberdayaan Kelompok Tani Dusun Puhrejo Dalam Pengolahan Limbah

- Organik Kulit Nanas Sebagai Pupuk Cair *Eco-Enzyme*. *Prosiding Seminar Nasional Hayati VII*: 1-6
- Rasit N. (2019). Production And Characterization Of Eco Enzyme Produced From Tomato And Orange Wastes And Its Influence On The Aquaculture Sludge. *International Journal of Civil Engineering and Technology (IJCIET)*, Volume 10, Issue 03, pp. 967-980
- Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019. 2020. (COVID-19) 16-24 Februari 2020. Jenewa: World Health Organization (tersedia di <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>).7.
- Rochyani N., Utpalasari L. R., Dahliana I. (2020). Analisis Hasil Konversi Eco Enzyme Menggunakan Nenas (*Ananas comosus*) Dan Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Teknik*, Volume 5, Nomor 2: 135-140
- Safirah D., Helianti I., Kusumaningrum P. H., Budiharjo A. (2016). Kloning dan Sekuensing Gen Xilanase dengan Produk Gen Berukuran 30 kDa dari *Bacillus halodurans* CM1 pada *Escherichia coli* DH5 α . *Bioma*, Vol. 18, No. 2: 167-172
- Sanjaya A. T. W., Giyanto, Widyastuti G., Santosa A. D. (2020). Invertase Diversity, Novel Strain and Production Technology Developmen. *Bioteknologi & Biosains Indonesia*, Volume 7, Nomor 1: 146-165

- Sari P. R., Astuti P. A., Maharani W. T. E. (2020). Pengaruh Ecoenzym Terhadap Tingkat Keawetan Buah Anggur Merah dan Anggur Hitam. *Higiene*, Vol. 6, No. 2: (70-75)
- Sayali D. J., Shruti C. S., Shweta S. S., Sudarshan E. P., Akash H. D., Shrikant T. P. (2019). Use of Eco Enzymes in Domestic Waste Water Treatment. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, Volume 4, Issue 2: 568-570
- Susilo A., C. Martin Rumende, Ceva W Pitoyo, Widayat Djoko Santoso, Mira Yulianti, Herikurniawan, Robert Sinto, Gurmeet Singh, Leonard Nainggolan, Erni J Nelwan, Lie Khie Chen, Alvina Widhani, Edwin Wijaya, Bramantya Wicaksana, Maradewi Maksum, Firda Annisa, Chyntia OM Jasirwan, Evy Yuniastuti. 2020. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini Coronavirus Disease 2019: *Review of Current Literatures. Jurnal Penyakit Dalam Indonesia* Vol 7 No 1 (45-67)
- Tim Eco Enzim Nusantara. (2020). *Modul Belajar Pembuatan Eco-Enzyme 2020*. Disampaikan dalam Webinar Nasional *Eco-Enzyme* Nusantara.
- Vama L. and Cherekar N. M. (2020). Production, Extraction And Uses Of Eco-Enzyme Using Citrus Fruit Waste: Wealth From Waste. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.* Vol. 22 (2) : 346-351

- Winata A., Cacik S., Mizan S.. (2017). Pelatihan Pembuatan Garbage Enzyme Di Desa Grabagan. *Proseding Seminar Naional Unirow Tuban*: 140-145
- Yuliana. 2020. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur. *Wellness and Healthy Megazine*, Vol 02 No 1, 187-192
- Yuliandewi W. N., Sukerta M. I., Wiswasta A. I. (2016). Utilization of Organik Garbage as "Eco Garbage Enzyme" for Lettuce Plant Growth (*Lactuca Sativa L.*). *International Journal of Science and Research (IJSR)*, Volume 7 Issue 2: 1521-1525