

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI HASIL FERMENTASI LIMBAH ORGANIK KULIT BUAH (*ECO-ENZYME*)

Linda Syafitri Siagian¹, Kartika Manalu², Rizki Amelia Nasution³,
Universitas Islam Negeri Sumatera Utara^{1,2,3}
lindasyafitrisiagian01@gmail.com¹

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah isolasi dan identifikasi berdasarkan ciri-ciri morfologi bakteri asam laktat pada hasil fermentasi limbah organik dari kulit buah. Isolasi Bakteri Asam Laktat dilakukan dengan metode cawan cebar pada media de Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRSA). Kultur dinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh diamati ciri-ciri morfologi dan dilakukan pewarnaan Gram bakteri. Hasil penelitian menunjukkan, isolasi BAL dari ekoenzim pada media de Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRSA) diperoleh 10 isolat bakteri yaitu E-BAL 01, E-BAL 02, E-BAL 03, E-BAL 04, E-BAL 05, E-BAL 06, E-BAL 07, E-BAL08, E-BAL 09 dan E-BAL 10, dan 10 isolat memiliki karakteristik sebagai Gram positif dengan bentuk sel Basil. Simpulan, ditemukan 10 isolat dengan karakteristik yang mendukung media MRSA adalah isolat Bakteri Asam Laktat dengan genus *Lactobacillus*. Hal ini diperkuat dari hasil uji biokimia yaitu bersifat tidak bergerak, tidak menghasilkan enzim katalase dan tidak mempunyai kemampuan memproduksi gas.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat (BAL), Ekoenzim, Kulit Buah

ABSTRACT

*The aim of this research is the isolation and identification based on the morphological characteristics of lactic acid bacteria in the fermentation of organic waste from fruit peels. Isolation of Lactic Acid Bacteria was carried out using the spread plate method on de Man, Rogosa, and Sharpe Agar (MRSA) media. The culture was incubated at 37 °C for 48 hours. The growing colonies were observed for morphological characteristics, and bacterial Gram staining was carried out. The results of the research showed that 10 bacterial isolates were obtained from the isolation of BAL from ecoenzymes on de Man, Rogosa, and Sharpe Agar (MRSA) media, namely E-BAL 01, E-BAL 02, E-BAL 03, E-BAL 04, E-BAL 05, E-BAL 06, E-BAL 07, E-BAL 08, E-BAL 09, and E-BAL 10, and 10 isolates were characterized as Gram-positive with a bacillary cell form. In conclusion, 10 isolates were found with characteristics that supported MRSA media, namely isolates of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus*. This is confirmed by the results of biochemical tests, namely that it is immobile, does not produce the catalase enzyme, and does not have the ability to produce gas.*

Keywords: Lactic Acid Bacteria (LAB), Ecoenzymes, Fruit Skin

PENDAHULUAN

Dalam kehidupan sehari-hari, buah-buahan merupakan kebutuhan yang penting bagi manusia. Pada umumnya, masyarakat hanya memanfaatkan daging buahnya saja sebagai jus, selai, salad, dan sirup. Sejauh ini pemanfaatan kulit buah sangat jarang ditemukan dan kulit buah-buahan tersebut hanya dibuang dan menjadi sampah. Bila sampah dibuang secara sembarangan atau ditumpuk tanpa ada pengelolaan yang baik, maka akan menimbulkan berbagai dampak kesehatan yang serius. Sampah merupakan material sisa yang sudah tidak dipakai, tidak disenangi atau sesuatu yang harus dibuang, yang umumnya berasal dari kegiatan yang dilakukan oleh manusia (Marjenah et al., 2017). Salah satu langkah untuk memanfaatkan dan mengolah limbah organik adalah dengan mengkonversinya menjadi *Eco-enzyme*. *Eco-enzyme* merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sisa organik, gula, dan air. Cairan *Eco-enzyme* ini berwarna coklat gelap dan memiliki aroma yang asam atau segar yang kuat (Hemalatha & Visantini, 2016).

Eco-enzyme yang terbuat dari bahan organik (ampas) memiliki jenis mikroorganisme yang beraneka ragam seperti bakteri dan cendawan (Khamir). Penelitian Murdiana et al. (2022), melaporkan bahwa untuk proses fermentasinya memerlukan waktu selama 3 bulan dengan fermentasi pada bulan pertama menghasilkan alkohol, bulan ke-2 menghasilkan asam asetat dan bulan ke-3 menghasilkan enzyme sehingga panen akan dilakukan pada bulan ke-3 dengan cara menyaring hasil fermentasi tersebut dengan kain. Beberapa literature mengatakan bahwa bakteri yang ada dalam ampas *eco-enzyme* yaitu Bakteri Asam Laktat. Bakteri Asam Laktat dapat ditemukan pada lingkungan yang kaya akan karbohidrat, selain itu bakteri juga dapat ditemukan pada berbagai jenis fermentasi makanan, sayuran dan buah-buahan, seperti buah durian, manga, kako, nanas, dan pisang (Ibrahim, 2007 Dalam Yuliana & Handayani, 2022).

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan mikroba yang penting dalam teknologi fermentasi pangan karena mempunyai kemampuan untuk memperbaiki cita rasa, tekstur dan aroma produk akhir yang secara organoleptik dan kualitas lebih dapat diterima oleh konsumen. Selain itu, BAL juga mempunyai kemampuan sebagai antimikrobia baik itu anti bakteri maupun antibiotik (Puspawati, 2008). Dalam penelitian Manik et al. (2021), juga berpendapat bahwa bakteri asam laktat yang terdapat dalam *Eco-enzyme* memiliki peran penting dalam menurunkan angka kuman pada telapak tangan. Bakteri asam laktat sangat berpotensi sebagai agensia probiotik yang dapat digunakan sebagai kultur starter dalam proses fermentasi. Sampai saat ini penggunaan BAL tidak hanya sebagai mikroba yang berperan pada proses fermentasi pangan, namun juga dapat digunakan sebagai pangan fungsional seperti pengembangan produk probiotik (Puspawati, 2008). BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan menurunkan pH lingkungannya dengan mengeksresikan senyawa asam organik, alkohol, bakteriosin, diasetil, dan CO₂ (Usmiati & Risfaberi, 2012).

Dalam mengoptimalkan ketersediaan BAL maka perlu dilakukan penelitian ekstensif untuk mengeksplorasi BAL dari berbagai buah-buahan. Penelitian yang dilakukan oleh Nyanga et al. (2007), mengisolasi bakteri *Lactobacillus agilis* dan *Lactobacillus plantarum* dari buah bidara (*Ziziphus mauritiana*), dimana strain tertentu *L. agilis* dan *L. plantarum* telah dilaporkan memiliki efek probiotik. Sehubungan dengan itu, dilaporkan dalam penelitian

Yanti (2022), bahwa Bakteri Asam Laktat telah banyak diisolasi dari berbagai macam buah-buahan, antara lain sirsak, manggis, jambu nasi-nasi, salak, dan pisang barangan.

Ketersediaan isolat BAL yang diisolasi dari sumber dalam negeri masih sangat terbatas, sehingga diperlukan eksplorasi untuk meningkatkan keragaman isolat bakteri asam laktat. Berdasarkan uraian di atas perlunya dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada *Eco-enzyme* dari limbah organik untuk mengetahui jenis BAL yang terdapat di dalamnya, hasil penelitian yang didapat diharapkan dapat digunakan sebagai upaya untuk memperkaya isolat bakteri asam laktat lokal Indonesia serta memberikan informasi mengenai jenis BAL pada *Eco-enzyme* dari limbah organik kulit buah.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekoenzim dan pengambilan sampel dilakukan di perumahan Lestari yang beralamat di Jl. Pulo Brayon Darat, Kec. Medan Timur, Kota Medan, Sumatera Utara. Selanjutnya untuk isolasi dan identifikasi direncanakan akan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Sumatera Utara yang beralamat di jalan Dr. T. Mansyur No. 9. Padang Bulan, Kec. Medan, Sumatera Utara.

Metode Pengumpulan Data

Data diperoleh melalui pengambilan sampel kulit buah diambil dari penjual jus yang berlokasi di Jl. Bilal Ujung, Gang Lestari dengan masing-masing jenis buah yang dibutuhkan sebanyak 300 gram. Adapun kulit buah yang diambil adalah Jeruk, Mangga, Terong Belanda, Alpukat dan Belimbing dengan masing-masing kulit buah ditimbang sebanyak 60gram. Masing-masing kulit buah dipotong kecil-kecil menggunakan pisau. Dibutuhkan gula merah sebanyak 100 gram yang telah dihaluskan yang mana sesuai dengan Rida Jelita (2022) dalam penelitiannya.

Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan atau penggambaran dari jenis-jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada *Eco-enzyme* kulit buah yang sudah terfermentasi. meliputi tampilan data dalam table Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), Hasil Uji Biokimia BAL Ekoenzim dan Uji Nilai OD (OD600 nm) Pertumbuhan BAL.

HASIL PENELITIAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Hasil Fermentasi Limbah Organik Kulit Buah (*Eco-enzyme*)

Isolasi bakteri dilakukan dari hasil fermentasi limbah organik kulit buah (ekoenzim) yang masing-masing terdiri dari kulit Jeruk, kulit Mangga, kulit Terong Belanda, kulit Alpukat dan kulit Belimbing dengan campuran air dan gula merah dengan perbandingan 3:10:1. Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada bulan Januari tahun 2024 didapatkan 10 isolat bakteri asam laktat yang berasal

dari hasil fermentasi limbah organik kulit buah (*Eco-enzyme*). Hal ini ditandai dengan tumbuhnya bakteri pada media MRS-A. Media MRSA merupakan media spesifik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Nurlaela et al., 2017). Hal ini dikuatkan dalam penelitian Sari et al. (2016), bahwa ditemukan isolat bakteri tumbuh berkoloni di dalam media MRSA. Koloni yang tumbuh pada media MRSA merupakan bakteri asam laktat karena media MRSA didesain untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat termasuk genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc*.

Karakterisasi isolat bakteri meliputi morfologi koloni yang terdiri dari bentuk koloni, tepi koloni, elevasi koloni, dan warna koloni serta morfologi sel yang terdiri dari bentuk sel dan pewarnaan Gram (Tabel 1). Bakteri asam laktat dapat tumbuh pada media MRSA karena mengandung beberapa komponen yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri tersebut. Media MRSA mengandung dekstrosa, ekstrak daging, ekstrak ragi, ammonium sitrat, magnesium sulfat, pepton, natrium asetat, dikalium fosfat, tween 80 dan mangan sulfat. Kandungan ammonium sitrat pada pH rendah menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat.

Tabel 1. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Asam Laktat (BAL)

Kode Isolat	MORFOLOGI KOLONI				MORFOLOGI SEL		
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Gram	Bentuk	Penataan
E-BAL 01	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Convex</i>	Putih Kekuningan	+	Basil	Streptobasil
E-BAL 02	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih Kekuningan	+	Basil	Streptobasil
E-BAL 03	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih Kekuningan	+	Basil	Monobasil
E-BAL 04	<i>Irregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Convex</i>	Putih Kekuningan	+	Basil	Monobasil
E-BAL 05	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Kuning	+	Basil	Streptobasil
E-BAL 06	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih	+	Basil	Streptobasil
E-BAL 07	<i>Irregular</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Convex</i>	Putih Kekuningan	+	Basil	Streptobasil
E-BAL 08	<i>Irregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Convex</i>	Putih Kekuningan	+	Basil	Streptobasil
E-BAL 09	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Kuning	+	Basil	Streptobasil
E-BAL 10	<i>Irregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Convex</i>	Putih	+	Basil	Streptobasil

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bentuk koloni pada 10 isolat yang telah teridentifikasi yaitu berbentuk *Irregular* (tidak beraturan) sebanyak 7 isolat dan *Circular* (bundar) sebanyak 3 isolat, sedangkan tepi koloni berbentuk *lobate* (tidak teratur) berjumlah 1 isolat, *undulate* (bergelombang) berjumlah 2 isolat, *entire* (rata) sebanyak 3 isolat, *curled* berjumlah 3 isolat dan *rhizoid* (berakar) berjumlah 1 isolat. Elevasi pada ke 10 isolat teridentifikasi berbentuk *convex* atau cembung yang berwarna putih berjumlah 2 isolat, putih kekuningan berjumlah 6 isolat dan kuning berjumlah 2 isolat.

Uji Biokimia Bakteri Asam Laktat (BAL) Ekoenzim

Pengujian biokimia bakteri dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat fisiologisnya.

Uji biokimia yang dilakukan pada ke 10 isolat BAL hasil fermentasi limbah organik kulit buah (*Eco-enzyme*) meliputi uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar), gas, H₂S, uji motilitas dan uji Katalase.

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia BAL Ekoenzim

Kode Isolat	Uji TSIA	Gas	H ₂ S	Uji Motilitas	Uji Katalase
E-BAL 01	Kuning/Merah	-	-	-	-
E-BAL 02	Merah/Kuning	-	-	-	-
E-BAL 03	Kuning/Kuning	-	-	-	-
E-BAL 04	Merah/Kuning	-	-	-	-
E-BAL 05	Kuning/Merah	-	-	-	-
E-BAL 06	Merah/Kuning	-	-	-	-
E-BAL 07	Merah/Kuning	-	-	-	-
E-BAL 08	Merah/Kuning	-	-	-	-
E-BAL 09	Merah/Kuning	-	-	-	-
E-BAL 10	Merah/Kuning	-	-	-	-

Keterangan: Tanda “+” (positif (terjadi perubahan)); Tanda “-“ (negatif (tidak terjadi perubahan))

Identifikasi Bakteri Asam Laktat Ekoenzim

Berdasarkan Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology dari hasil identifikasi Setelah dilakukan uji morfologi sel dan uji biokimiawi dapat diketahui bahwa bakteri yang berhasil diisolasi tersebut merupakan bakteri asam laktat dan termasuk dalam genus *Lactobacillus*. Hasil identifikasi sampai tingkat genus didasarkan atas ciri-ciri yang terdapat pada bakteri tersebut yaitu mempunyai bentuk bulat dan tidak beraturan, bentuk selnya batang, gram positif dengan warnanya yang ungu (violet), bersifat katalase negatif yang berarti bahwa bakteri ini tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat menghidrolisis senyawa H₂O₂ yang bersifat racun dan di samping itu isolat bakteri ini juga tidak mempunyai kemampuan membentuk gas dalam uji produksi gas dari glukosa. Berdasarkan Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology dari hasil identifikasi Setelah dilakukan uji morfologi sel dan uji biokimiawi, didapat beberapa dugaan spesies dari jenis *Lactobacillus*, yaitu *Lactobacillus acetotolerans*, dan *Lactobacillus kitasatonis*. *Acetotolerans* memiliki ciri-ciri morfologi dengan bentuk irregular, circular, berwarna putih, putih kekuningan, margin undulate dan elevasi convex, hal ini sama dengan ciri-ciri morfologi dari kode isolat E-BAL 02 dan E-BAL 06. *Lactobacillus kitasatonis* memiliki ciri-ciri morfologi dengan bentuk irregular, circular, berwarna putih, margin curled dan elevasi convex, hal ini sama dengan ciri morfologi dari kode isolat E-BAL 04, E-BAL 08, dan E-BAL 10.

Uji Ketahanan Terhadap Keasaman (pH)

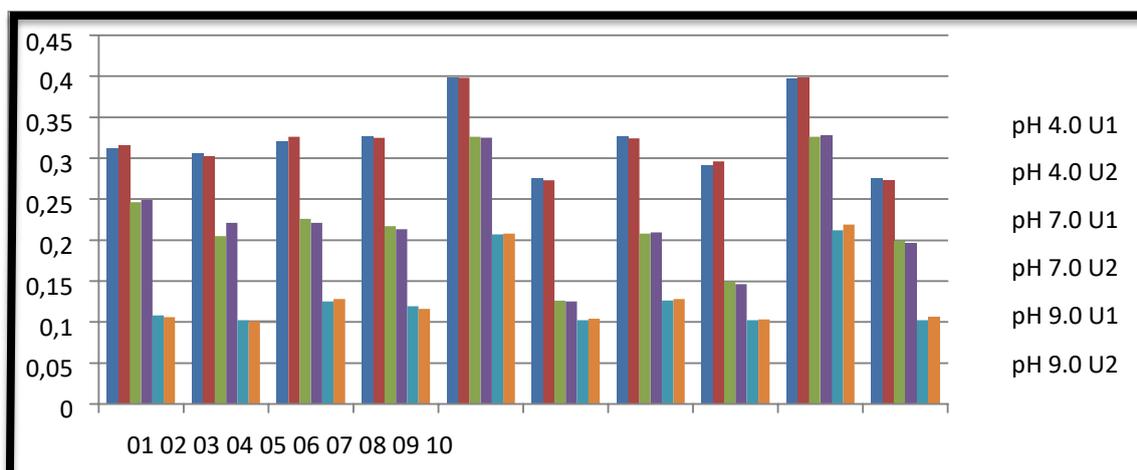
Tabel 3 menyajikan hasil pengukuran OD₆₀₀ nm untuk berbagai isolat BAL pada tiga kondisi pH berbeda: pH 4.0, pH 7.0, dan pH 9.0. Data ini diambil untuk dua ulangan (U1 dan U2) untuk setiap isolat dan kondisi pH.

Tabel 3. Uji Nilai OD (OD₆₀₀ nm) Pertumbuhan BAL

Kode Isolat	pH 4.0	pH 7.0	pH 9.0
-------------	--------	--------	--------

	U1	U2	U1	U2	U1	U2
E-BAL 01	0,312	0,316	0,246	0,249	0,108	0,106
E-BAL 02	0,306	0,302	0,205	0,221	0,102	0,101
E-BAL 03	0,321	0,326	0,226	0,221	0,125	0,128
E-BAL 04	0,327	0,325	0,217	0,213	0,119	0,116
E-BAL 05	0,399	0,398	0,326	0,325	0,207	0,208
E-BAL 06	0,276	0,273	0,126	0,125	0,102	0,104
E-BAL 07	0,327	0,324	0,208	0,209	0,126	0,128
E-BAL 08	0,291	0,296	0,149	0,146	0,102	0,103
E-BAL 09	0,397	0,398	0,326	0,328	0,212	0,219
E-BAL 10	0,276	0,273	0,199	0,196	0,102	0,106

Hasil pengukuran kerapatan optik (*optical density* atau OD) dari kultur cair dengan pH 4, 7 dan 9 menunjukkan BAL dapat hidup dan berkembangbiak pada pada kisaran pH tersebut. Hal ini sejalan dengan penelitian Abdel-Rahman (2013) dalam Okfrianti et al., (2018) bahwa bakteri asam laktat dapat tumbuh di sekitar pH 3,5 – 10,0 serta suhu 5°C - 45°C dan toleran terhadap kondisi asam.



PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Hasil Fermentasi Limbah Organik Kulit Buah (*Eco-enzyme*)

Isolasi bakteri dilakukan dari hasil fermentasi limbah organik kulit buah (ekoenzim) yang masing-masing terdiri dari kulit Jeruk, kulit Mangga, kulit Terong Belanda, kulit Alpukat dan kulit Belimbing dengan campuran air dan gula merah dengan perbandingan 3:10:1. Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada bulan Januari tahun 2024 didapatkan 10 isolat bakteri asam laktat yang berasal dari hasil fermentasi limbah organik kulit buah (*Eco-enzyme*). Hal ini ditandai dengan tumbuhnya bakteri pada media MRS-A. Media MRSA merupakan media spesifik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Nurlaela et al., 2017). Hal ini dikuatkan dalam penelitian Sari et al., (2016) bahwa ditemukan isolat bakteri tumbuh berkoloni di dalam media MRSA. Koloni yang tumbuh pada media MRSA merupakan bakteri asam laktat karena media MRSA didesain untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat termasuk genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc*.

Pewarnaan Gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang paling penting

yang digunakan untuk membedakan antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Prinsip pewarnaan Gram yaitu saat bakteri diwarnai dengan kristal violet, bakteri Gram positif akan menyerap zat warna tersebut sehingga bewarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan melepas zat warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan kemudian akan menyerap zat warna terakhir yang diberikan yaitu safranin sehingga bewarna merah. Hal ini sesuai dengan pendapat Waluyo (2008), yang menyatakan bahwa bakteri Gram positif memiliki dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal. Saat peluruhan dengan alkohol, pori-pori dinding sel menyempit karena terjadi dekolorisasi sehingga dinding sel tetap menahan kristal violet. Bakteri Gram negatif memiliki 3 lapisan dinding sel, sehingga lipid akan tercuci oleh alkohol dan pewarnaan kristal violet akan ikut tercuci. Bakteri Gram negatif saat diwarnai dengan safranin akan bewarna merah.

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram, didapatkan hasil yaitu semua isolat memiliki karakter Gram positif. Menurut Wibowo (1988) dalam Nasution et al., (2017), bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif karena tidak mengalami dekolorisasi dan tetap mengikat warna ungu kristal violet pada tahap akhir pewarnaan. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram dapat diamati pula bentuk sel bakteri. Bentuk sel bakteri berdasarkan hasil pengamatan yaitu batang atau basil. Pada penelitian ini juga diperoleh hasil pewarnaan keseluruhan isolat bersifat Gram positif dengan sel berbentuk basil dengan penataan streptobasil.

Uji Biokimia Bakteri Asam Laktat (BAL) Ekoenzim

Menurut Fardiaz (1987) dalam Finanda et al. (2021), pengujian pada medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dapat diketahui terjadinya fermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa yang ditandai terbentuknya perubahan warna pada media. Warna merah pada agar menunjukkan reaksi basa dan warna kuning menunjukkan reaksi asam. Warna merah pada permukaan dan kuning di bagian bawah tabung menunjukkan terjadi fermentasi glukosa tetapi tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa. Warna kuning pada bagian permukaan dan bawah tabung menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa. Berdasarkan hasil penelitian terdapat 9 isolat yang mampu memfermentasi glukosa, dan 1 isolat yang mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Asmara & Triyanto (2012), isolat bakteri asam laktat (BAL) dari genus *Lactobacillus* menunjukkan reaksi asam pada uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA). Hasil uji tersebut ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning pada bagian *slant* (permukaan) dan *butt* (bagian bawah).

Uji produksi gas dilakukan untuk melihat aktivitas metabolisme BAL. Dari hasil uji didapatkan *strain* acuan tidak memproduksi gas yang berarti memiliki tipe fermentasi homofermentatif. Hal ini sesuai dengan penelitian Suardana et al., (2018) hasil uji produksi gas yang diperoleh bersifat homofermentatif. Menurut Surono (2004) dalam Rahmadi (2019), bakteri homofermentatif tidak mampu menghasilkan gas CO₂. Hal ini disebabkan oleh ketiadaan enzim piruvat oksidase, yang berperan dalam konversi piruvat menjadi CO₂ dan diikuti dengan pembentukan H₂O₂. Karena tidak ada aktivitas enzim ini, bakteri homofermentatif cenderung menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama dari fermentasi, tanpa produksi gas CO₂.

Uji produksi H₂S ke-10 isolat yang diujikan bersifat negatif karena tidak terdapatendapan berwarna hitam di dasar media (-). Menurut Isnain et al. (2017), pengujian hidrogen sulfida (H₂S) dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan bakteri dalam mengubah asam amino alanin menjadi H₂S. Bakteri yang mampu menghasilkan H₂S akan mengubah ion besi (Fe) dalam medium uji menjadi besi sulfida (FeS), yang terlihat sebagai warna hitam atau kehitaman pada dasar medium. Isolat bakteri yang tidak menunjukkan warna hitam atau kehitaman berarti tidak mampu menghasilkan H₂S atau mereaksikan Fe menjadi FeS. Dalam hal ini, isolat bakteri asam laktat (BAL) tidak mampu mengubah H₂S serta tidak dapat mereaksikan Fe menjadi FeS.

Hasil pengujian motilitas menunjukkan seluruh isolat BAL bersifat non motil karena tidak memiliki flagella. Bakteri yang digolongkan bersifat non motil adalah bakteri yang hanya mampu tumbuh di sepanjang tusukan media tegak, sedangkan bakteri motil adalah bakteri yang mampu tumbuh tidak hanya di sepanjang tusukan media agar tegak. Isolat bakteri asam laktat (BAL) diketahui bersifat non-motil, yang ditandai dengan ketidakmampuan mereka untuk tumbuh di sekitar bekas tusukan ose dalam medium uji (Susilawati, 2016). Hal ini sejalan dengan pernyataan Fardiaz (1992) dalam Finanda et al. (2021), yang menyebutkan bahwa bakteri asam laktat memang memiliki sifat tidak bergerak atau non-motil.

Uji katalase digunakan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada isolat bakteri. Hasil uji katalase menunjukkan hasil yang negatif pada ke-10 isolat dan *strain* acuan, dimana tidak terdapatnya gelembung gas yang terbentuk. Menurut Wibowo (1988), bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat Ekoenzim

Ke-10 isolat dalam penelitian ini memiliki ciri-ciri sebagai berikut: berbentuk sel batang dengan susunan berantai, termasuk dalam kategori gram positif, dan katalase negatif. Berdasarkan ciri-ciri ini, isolat tersebut diduga termasuk dalam genus *Lactobacillus*. Holt et al. (1994) dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* menyatakan bahwa bakteri dalam genus *Lactobacillus* adalah gram positif dan non-motil. Lous et al. (2011) juga mencatat bahwa *Lactobacillus* adalah bakteri gram positif dan tidak motil. Ray (2001) dalam Bulu et al. (2019) menambahkan bahwa *Lactobacillus* memiliki sel berbentuk batang yang seragam dalam ukuran dan bentuk, dengan beberapa spesies yang bisa sangat panjang atau pendek, mayoritas spesies adalah gram positif, dan sebagian kecil dapat berwarna gram negatif. Sebagian besar spesies *Lactobacillus* tidak bergerak.

Uji Ketahanan Terhadap Keasaman (pH)

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan isolat BAL hasil fermentasi limbah organik kulit buah (*Eco-enzyme*) untuk bertahan hidup pada pH 4, 7 dan 9. Pada penelitian ini didapatkan bahwa ke-10 isolat BAL yang diuji dapat tumbuh pada pH 4, 7, dan 9. Hasil ini tidak jauh berbeda dari penemuan-penemuan terdahulu, salah satunya Nursyirwani (2013), mendapatkan hasil bakteri asam laktat yang diisolasi dari ikan kerapu macan bersifat resisten dan dapat hidup pada lingkungan asam.

Berdasarkan profil pertumbuhan Isolat Bakteri dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) tampak bahwa isolat bakteri tersebut memiliki sifat resisten yang berbeda-beda terhadap perlakuan pH yang diberikan. Hasil pengukuran pertumbuhan isolat bakteri menunjukkan bahwa Isolat bakteri E-BAL 01 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Hal ini ditandai dengan tingginya nilai *Optical Density* (OD) yang dihasilkan. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan. Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 02 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 02 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan.

Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 03 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 03 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan. Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 04 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 04 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan.

Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 05 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 05 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan. Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 06 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 06 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan.

Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 07 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 07 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan. Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 08 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 08 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan.

Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 09 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 09 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sedangkan pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan. Profil pertumbuhan Isolat Bakteri E-BAL 10 dengan perlakuan pH yang berbeda (4, 7, 9) menunjukkan bahwa Isolat Bakteri E-BAL 10 mampu tumbuh baik pada pH 4, 7, dan 9, dan mencapai nilai optimal pada pH 4. Sama hal dengan bakteri-bakteri sebelumnya, pada pH 9 isolat bakteri tersebut tidak mengalami pertumbuhan bakteri yang signifikan.

Pemberian perlakuan pH yang berbeda memberikan pengaruh dalam pertumbuhan ke-10 isolat bakteri. Pernyataan tersebut konsisten dengan literatur yang ada. Suriani et al. (2013) mengungkapkan bahwa pH medium sangat

memengaruhi pertumbuhan bakteri. pH mempengaruhi aktivitas enzim, yang merupakan kunci dalam berbagai reaksi biokimia yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri. Kondisi pH yang tidak optimal dapat menghambat aktivitas enzim, yang pada gilirannya dapat mengganggu proses pertumbuhan bakteri.

Bakteri asam laktat dapat tumbuh di sekitar pH 3,5 hingga 10,0 serta suhu 5 °C hingga 45 °C dan toleran terhadap kondisi asam, dengan sebagian besar *strain* mampu tumbuh baik pada pH 4,4. (Rahman et al., 2013; Nousiainen et al 2004). Pertumbuhan isolat bakteri dari E-BAL 01 - E-BAL 10 menunjukkan bahwa keseluruhan isolat tahan pada pH rendah, yang mana $OD \geq 0,1$ (tahan pH rendah); $OD \leq 0,1$ (tidak tahan pH rendah).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi yang dilakukan, diperoleh 10 isolat Bakteri Asam Laktat (BAL). Setelah identifikasi, semua isolat termasuk dalam genus *Lactobacillus*. Untuk pH pertumbuhan, nilai *Optical Density* (OD) pada pH 4, 7, dan 9 menunjukkan rata-rata OD sebesar 0,225. Ini menunjukkan bahwa isolat BAL tersebut dapat tumbuh pada rentang pH yang beragam, dengan pH 4, 7, dan 9 menunjukkan kemampuan pertumbuhan yang relatif konsisten berdasarkan nilai OD yang didapat. Nilai OD ini menunjukkan tingkat pertumbuhan bakteri dalam medium kultur pada berbagai kondisi pH, dan pH yang berbeda mungkin mempengaruhi aktivitas dan efisiensi pertumbuhan bakteri secara bervariasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, J., Widyawati, N., & Suprihati. (2016). The Effect of Yeast Dosage and Sugar Addition on the Quality of Grain Wheat Tape. *Agric*, 26(1), 75-84. <https://doi.org/10.24246/agric.2014.v26.i1.p75-84>
- Asmara, W., & Triyanto, A. E. T. H. W. (2012). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan Potensinya Sebagai Antivibrio. *Ilmu Kelautan - Indonesian Journal of Marine Sciences*, 16(2), 70–77. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.16.2.70-77>
- Barrow, G. I. (1993). *Cowan and Steel Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Inggris: Cambridge University Press
- Bulu, S., Bullu, N. I., & Rupidara, A. D. N. (2019). Identifikasi Morfologi Bakteri Asam Laktat pada Nira Segar Lontar (*Borassus flabellifer* Linn). *Jambura Edu Biosfer Journal*, 1(2), 47–52. <https://doi.org/10.34312/jebj.v1i2.2518>
- Finanda, A., Mukarlina, M., & Rahmawati, R. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Daging Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Jurnal Protobiont*, 10(2), 37–41. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jprb/article/download/53897/75676592> 748
- Haryanto, R. (2005). *Antara Antibiotik, Probiotik, dan Prebiotik*. Bandung: Asisten mobil lab. Basic Science Center ITB
- Hemalatha, M., & Visantini, P. (2016). Potential Use of *Eco-enzyme* for the Treatment of Metal Based Effluent. *IOP Publishing*, 1–6. <https://doi.org/10.1088/1757-899X%2F716%2F1%2F012016>
- Hersoelistyorini, W., Sumanto, D., & Najih, L. (2010). Pengaruh Lama Simpan pada Suhu Ruang Terhadap Kadar Protein Dodol Tape Kulit Ubi Kayu. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 1(1), 24-34.

<https://doi.org/10.26714/jpg.1.1.2010.%25p>

- Idroes, R., Khairan, & Fakri, F. (2017). Skrining Aktivitas Tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan antimikroba di kawasan ie Jue (upflow geothermal Zone) Aceh besar. *Thesis*. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
- Jelita, R. (2022). Produksi Eco Enzyme dengan Pemanfaatan Limbah Rumah Tangga untuk Menjaga Kesehatan Masyarakat di Era New Normal. *Jurnal Maitreyawira*, 3(1), 5–24. <https://doi.org/10.69607/jm.v3i1.49>
- Larasati, D., Astuti, P. A., & Maharani, T. E. (2020). Uji Organoleptik Produk *Eco-enzyme* dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus di Kota Se Semarang). *Seminar Nasional Edusainstek*, 278–283. <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/edusaintek/article/view/569>
- Latifah, R. N., & Rahayu, Y. S. (2012.). Pemanfaatan Sampah Organik sebagai Bahan Pupuk Cair untuk Pertumbuhan Tanaman Bayam Merah. *Lentera*, 1(3). <https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/416>
- Lous, J., Ryborg, C. T., & Thomsen, J. L. (2011). A Systematic Review of The Effect of Tympanostomy Tubes in Children with Recurrent Acute Otitis Media. *In International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 75(9). <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2011.05.009>
- Isnain, M. H., & Gelgel, K. T. P. (2017). Isoli dan Identifikasi Bakteri dari Susu Kambing Peranakan Etawa Terindikasi Mastitis Klinis di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Banyuwangi. *Buletin Veteriner Udayana*, 9(1), 319–325. <https://doi.org/10.21531/bulvet.2017.9.1.73>
- Manik, M., Kaban, J., Silalahi, J., & Ginting, M. (2021). Lactic Acid Bacteria (LAB) with Probiotic Potential from Dengke Naniura. *Baghdad Science Journal*, 18(1), 35–40. <https://doi.org/10.21123/bsj.2021.18.1.0035>
- Marjenah, M., Kurniawan, W., Nurhifitiani, I., Sembiring, K. H. M., & Ediyono, R. P. (2017). Pemanfaatan Limbah Kulit Buah-Buahan Sebagai Bahan Baku Pembuatan Pupuk Organik Cair. *Hut Trop*, 1(2), 120–127. <http://dx.doi.org/10.32522/ujht.v1i2.800>
- Muhiddin, N. H., Juli, N., & Nyoman, P. A. (2001). Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *Jms*, 6(1), 1–12. <https://media.neliti.com/media/publications/196901-ID-peningkatan-kualitas-nutrisi-limbah-kuli.pdf>
- Murdiana, H. E., Yuhara, N. A., Rahmavika, T., & Danila, D. (2022). Diseminasi: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat Pelatihan Pembuatan Eco Enzyme dari Limbah Organik Rumah Tangga di Dasa Wisma Sukun. *Diseminasi*, 4(1), 55–60. <https://doi.org/10.33830/diseminasiabdimas.v4i1.1531>
- Nasution, A. P. A., Erina, E., Darmawi, D., Darniati, D., Ismail, I., & Thasmi, C. N. (2017). Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Caecum Puyuh (*Coturnix japonica*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 01(4), 774–779. <https://doi.org/10.21157/jim%20vet.v1i4.5470>
- Nazim, F., & Meera, V. (2021). Treatment of Synthetic Greywater Using 5 % and 10% Garbage Enzyme Solution. *Bonfring International Journal of Industrial Engineering and Management Science*, 3, 111. <https://doi.org/10.9756/BIJEMS.4733>
- Nurlaela, S., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. (2017). Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2), 31–

38. <https://doi.org/10.29244/jsdh.2.2.31-38>
- Nyanga, L. K., Nout, M. J. R., Gadaga, T. H., Theelen, B., Boekhout, T., & Zwietering, M. H. (2007). Yeasts and Lactic Acid Bacteria Microbiota From Masau (*Ziziphus mauritiana*) Fruits and Their Fermented Fruit Pulp In Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.021>
- Okfrianti, Y., Darwis, D., & Pravita, A. (2018). Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus* Plantarum C410LI dan *Lactobacillus* Rossiae LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan*, 6(1), 49–58. <https://doi.org/10.32668/jitek.v6i1.108>
- Pebriani, T. H., S, A. A. H. W., Hanhadyanaputri, E. S., Sulistyarini, I., Cahyani, I. M., Kresnawati, Y., Suprijono, A., & Adhityasmara, D. (2022). Pemanfaatan Kulit Buah sebagai Bahan Baku *Eco-enzyme* di Dusun Demungan. *Jurnal DIMAS*, 4(2), 43–49. <https://doi.org/10.53359/dimas.v4i2.43>
- Puspawati, N. (2008). Penggunaan Berbagai Jenis Pelindung untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Air Susu Ibu (ASI) pada Prose Pengeringan Beku dan Penyimpanan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 21(1), 59–65. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jtip/article/view/2463>
- Rahmadi, A. (2019). Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak. Samarinda: Mulawarman University Press
- Romadhon, R., Subagiyo, S., & Sebastian, M. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*, 8(1), 59–64. <https://doi.org/10.14710/presipitasi.v%25vi%25i.313-328>
- Salsabila, R. K., & Winarsih, W. (2023). Efektivitas Pemberian Ekoenzim Kulit Buah sebagai Pupuk Organik Cair terhadap Pertumbuhan Tanaman Sawi Pakcoy (*Brassica rapa* L.). *Lentera Bio*, 12(1), 50–59. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index50>
- Sari, R. A., & Risa, N. P. A. (2012). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Genus *Leuconostoc* dari Pekasam Ale-Ale Hasil Formulasi Skala Laboratorium. *Jurnal Kimia*, 1(1), 14–20. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/992>
- Sari, R., Deslianri, L., & Apridamayanti, P. (2016). Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari Minuman Ce Hun Tiau. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(2), 88–96. <https://doi.org/10.7454/psr.v3i2.3272>
- Seniati, S., Marbiah, M., & Nurhayati, N. (2017). Kajian Uji Konfrontasi Terhadap Bakteri Pathogen dengan Menggunakan Metode Sebar, Metode Tuang, dan Metode Gores. *Jurnal Galung Tropika*, 6(1), 42–48. <https://doi.org/10.31850/jgt.v6i1.209>
- Sharah, A., Karnila, R., & Desmelati. (2015). Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat yang di Isolasi dari Ikan Peda Kembung (*Rastrelliger sp.*). *Jom*, 2(2), 1–8. <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAPERIKA/article/view/6153>
- Srikandi, F. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

- Suardana, I. W., Sukoco, H., & Antara, N. S. (2018). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 18A Secara Fenotipik. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2018.v10.i01.p01>
- Suprayogi, D., Asra, R., & Mahdalia, R. (2022). Analisis Produk EcoEnzyme dari Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) dan Jeruk Berastagi (*Citrus sinensis* L.). *Jurnal Redoks*, 7(1), 19–27. <https://doi.org/10.31851/redoks.v7i1.8414>
- Suriani, S., Soemarno, & Suharjo. (2013). Pengaruh Suhu dan pH terhadap laju pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Anggota Genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen di sekitar Kampus Universitas Brawijaya. *Indonesian Journal of Environment and Sustainable Development*, 3(2), 58–62. <https://jpal.ub.ac.id/index.php/jpal/article/view/126>
- Susilawati, S. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Air Cucian Beras. Riau: Universitas Riau Press
- Susilowati, A. Y., Jannah, S. N., Kusumaningrum, H. P., & Sulistiani, S. S. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kambing Sebagai Bakteri Antagonis *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* Penyebab Foodborne Disease. *Jurnal Teknologi Pangan*, 6(2), 24–31. <https://doi.org/10.14710/jtp.2022.29488>
- Sutrisno, A. D., Widjaja, W. P., & Salam, W. Q. (2020). Pendugaan Umur Simpan Ikan Asap Menggunakan Jenis Asap Tempurung Kelapa dan Jenis Ikan Air Tawar. *Pasundan Food Technology Journal*, 7(2). <https://doi.org/10.23969/pftj.v7i2.2981>
- Usmiati, S., & Risfaberi. (2012). Pengembangan Dadih sebagai Pangan Fungsional Probiotik Asli Sumatera Barat. *J. Litbang Pert*, 32(1), 20–29. <https://dx.doi.org/10.21082/jp3.v32n1.2013.p20-29>
- Waluyo, L. (2008). *Teknik Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. Malang: UMM Press.
- Yanti, N. A. (2022). Bakteri Asam Laktat dari Buah Mangga Arum Manis (*Mangifera indica* L. var. Arum manis). *Bionature*, 23(2), 132. <https://doi.org/10.35580/bionature.v23i2.37860>
- Yuliana, S., & Handayani, D. (2022). Jenis-Jenis Cendawan dari Ampas Ecoenzyme dengan Sumber Bahan Organik Berbagai Jenis Kulit Jeruk. *Serambi Biologi*, 7(1), 120-126. <https://doi.org/10.24036/srmb.v7i1.48>
- Zurmiati, M. E., Mahata, M. H., & Abbas, W. (2014). Aplikasi Probiotik untuk Ternak Itik The Aplication of Probiotic on Duck. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 16(2), 134–144. <https://doi.org/10.25077/jpi.16.2.134-144.2014>