



Isolasi dan identifikasi mikroorganisme dari produk ekoenzim WOP FST 1310

ARINA FINDO SARI¹⁾, LILY SURAYYA EKA PUTRI¹⁾, DINDA RAMA HARIBOWO²⁾, ARMAR RILIANSYAH TAMALA¹⁾, IRAWAN SUGORO³⁾, ALDI MUJIYANTO^{1,4)}, DAN FIRDAUS RAMADHAN^{4,5)*}

¹⁾Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah. ²⁾Pusat Laboratorium Terpadu (PLT), Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah. ³⁾Organisasi Riset dan Teknologi Nuklir, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jakarta Selatan. ⁴⁾Kelompok Studi GENOM, Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah. ⁵⁾Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN).

Kata kunci: bakteri, eko-enzim, jamur, WOP FST 1310	ABSTRAK: Produk ekoenzim Waste Organic Product (WOP) FST 1310, merupakan produk buatan tim Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah. Produk ini terbuat dari 2 jenis sampah organik yang berbeda, yaitu sisa sayur dan kulit jeruk. Penelitian mengenai konsorsium mikroba pada produk ekoenzim belum banyak dilaporkan. Pentingnya mengetahui mikroba yang hadir pada produk WOP FST 1310 merupakan langkah awal untuk menentukan pemilihan bahan substrat yang akan digunakan. Karakterisasi makroskopis diamati bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni. Karakter mikroskopis dilakukan dengan pengamatan bentuk sel dan pewarnaan gram. Identifikasi koloni dengan uji fisiologis biokimia yang diujikan, yaitu H ₂ S, karbohidrat (uji katalase dan TSIA), fermentasi gula (glukosa, sukrosa, laktosa, manitol) dan MR-VP. Berdasarkan hasil diperoleh 11 isolat bakteri dan jamur dari kedua bahan dengan lima isolat dari kulit jeruk dan enam isolat dari sayuran. Berdasarkan uji makroskopis, mikroskopis, pewarnaan gram, aktivitas fisiologis dan biokimia merupakan isolat KJ NA 1, KJ NA 2, SY NA 3, SY NA 4, SY NA 5, dan SY NA 6 merupakan bakteri asam laktat (BAL).
Keywords: bacteria, eco-enzymes, fungi, WOP FST 1310	ABSTRACT: Ecoenzyme product Waste Organic Product (WOP) FST 1310, is a product made by a team from the Faculty of Science and Technology, UIN Syarif Hidayatullah. This product is made from 2 different types of organic waste, namely vegetable waste and orange peels. Research on microbial consortia on ecoenzyme products has not been widely reported. The importance of knowing the microbes that are present in the WOP FST 1310 product is the first step to determine the selection of the substrate material to be used. Macroscopic characterization observed the shape of the colony, the surface of the colony, the edge of the colony and the color of the colony. Microscopy characters were carried out by observing cell shape and gram staining. Identification of colonies by physiological biochemical tests tested, namely, H ₂ S, carbohydrates (catalase test and TSIA), sugar fermentation (glucose, sucrose, lactose, mannitol) and MR-VP. Based on the results, 11 bacterial and fungal isolates were obtained from both materials, with five isolates from orange peels and six isolates from vegetables. Based on macroscopic, microscopic, gram staining, physiological and biochemical tests, the isolates KJ NA 1, KJ NA 2, SY NA 3, SY NA4, SY NA 5, and SY NA 6 were lactic acid bacteria (LAB).

1 PENDAHULUAN

Ekoenzim adalah produk dari fermentasi limbah organik. Bahan-bahan seperti ampas buah, kulit buah, dan sayuran yang diformulasikan dengan gula (gula coklat, gula merah atau gula tebu) dan air. Produk ini berwarna coklat gelap dan memiliki aroma fermentasi asam manis yang kuat [1], [2]. Produk ini awalnya dibuat untuk mengatasi permasalahan sampah yang selalu meningkat khususnya sampah

rumah tangga. Hal tersebut berpotensi mencemari lingkungan, sumber penyakit dan merusak nilai keindahan. Pemanfaatan limbah rumah tangga dengan menjadikannya produk ekoenzim memiliki manfaat lain selain di bidang lingkungan seperti di bidang pertanian dan kesehatan [2], [3].

Produk ekoenzim Waste Organic Product (WOP) FST 1310, merupakan produk buatan tim Fakultas Sains dan Teknologi (FST), UIN Syarif Hidayatullah.

* Corresponding Author: email: daushamada@istn.ac.id

Produk ini terbuat dari 2 jenis sampah organik yang berbeda, yaitu sisa sayur dan kulit jeruk. Komponen sisa sayur, yaitu kol, sawi, dan mentimun. Produk WOP FST 1310 ini diharapkan mampu menjadi solusi untuk menangani sampah organik yang berada di sekitar kampus UIN dan sebagai agen bioremediator untuk lingkungan perairan sekitar. Hal ini juga mendukung langkah peningkatan menuju *Evidence Universitas Indonesia GreenMetric (UIGM) Questionnaire* kampus UIN Syarif Hidayatullah.

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan ekoenzim berpotensi antibakteri secara *in vitro* pada *Shigella* spp., *Bacillus* spp., *Salmonella* *thyphi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* [4], *Enterococcus faecalis* [5]. Lebih lanjut Hasanah (2020) melaporkan ekoenzim berfungsi menjadi pupuk organik cair dan desinfektan. Dalam pengembangannya di bidang lingkungan, ekoenzim mampu untuk memurnikan air sehingga berpotensi menurunkan tingkat pencemaran di perairan [6]–[9]. Fungsi ekoenzim yang beragam merupakan hasil dari reaksi enzimatis yang berasal dari mikroba baik, kelompok bakteri ataupun jamur [10]. Enzim-enzim seperti amilase, lipase dan protease dibutuhkan untuk merombak senyawa kompleks yang terdapat di dalam sampah organik [11], [12]. Penelitian mengenai konsorsium mikroba pada produk ekoenzim belum banyak dilaporkan. Pentingnya mengetahui mikroba yang hadir pada produk WOP FST 1310 merupakan langkah awal untuk menentukan pemilihan bahan substrat yang akan digunakan. Hal tersebut akan mendukung pengembangan penelitian mengenai produk WOP FST 1310 yang berkelanjutan.

2 BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, PLT UIN Syarif Hidayatullah. Bahan utama dalam penelitian ini adalah produk ekoenzim Waste Organic Product (WOP) FST 1310. Produk ini terbuat dari 2 jenis sampah organik yang berbeda, yaitu sisa sayur dan kulit buah jeruk. Komponen sisa sayur, yaitu kol, sawi, dan mentimun. Alat dan bahan yang digunakan dalam pembuatan media diantaranya adalah, media NA dan PDA, cawan gores, botol pengencer, cawan petri, laminar air flow, alumunium foil, kapas, botol specimen, jarum oce, kaca objek, alkohol, bunsen, isolat bakteri, akuades, zat pewarna primer untuk bakteri (*crystal violet* dan *safranin*) dan jamur (*lactophenol cotton blue*), aseton, mikroskop, pereaksi indol, pereaksi *methyl red*, larutan *alpha naftol*, larutan KOH 40%, tabung reaksi, media NA, media MIO, tetesreagen *kovaes*, media MR-VP, media SCA, inkubator, larutan H₂O₂, reagen *tetramethyl – paraphenyldiamine*, ose.

Prosedur kerja penelitian ini terdiri dari pembuatan media, isolasi, karakterisasi makroskopis dan mikroskopis mikroba hasil isolasi dan uji fisiologis biokimia. Karakterisasi makroskopis diamati bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni [13]. Karakter mikroskopis dilakukan dengan pengamatan bentuk sel dan pewarnaan gram. Identifikasi isolat terduga dengan uji aktivitas fisiologis dan biokimia bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memproduksi gas H₂S dan karbohidrat (uji katalase dan TSIA), memfermentasi gula (glukosa, sukrosa, laktosa, manitol) dan produksi asam campuran (uji MR-VP) yang mengacu *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* [14]. Pada setiap uji koloni ditanam pada media spesifik dan diamati perubahan pada media setelah masa inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Prosedur kerja penelitian ini terdiri dari pembuatan media, isolasi, karakterisasi makroskopis dan mikroskopis mikroba hasil isolasi dan uji fisiologis biokimia. Karakterisasi makroskopis diamati bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni [13]. Karakter mikroskopis dilakukan dengan pengamatan bentuk sel dan pewarnaan gram. Identifikasi isolat terduga dengan uji aktivitas fisiologis dan biokimia bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memproduksi gas H₂S dan karbohidrat (uji katalase dan TSIA), memfermentasi gula (glukosa, sukrosa, laktosa, manitol) dan produksi asam campuran (uji MR-VP) yang mengacu *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* [14]. Pada setiap uji koloni ditanam pada media spesifik dan diamati perubahan pada media setelah masa inkubasi 24 jam pada suhu 37°C.

3 HASIL

Cairan WOP FST 1310 berbahan kulit jeruk dan sayuran diisolasi pada media NA hingga tumbuh. Setelah berhasil ditumbuhkan, isolat bakteri dimurnikan dengan media yang sama. Hal ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik koloni bakteri. Berdasarkan hasil diperoleh 11 isolat dari kedua bahan WOP FST 1310, yaitu lima isolat pada kulit jeruk (KJ NA 1; KJ NA 2; KJ NA 3; KJ NA 4; dan KJ NA 5) dan enam isolat pada sayuran (SY NA 1; SY NA 2; SY NA 3; SY NA 4; SY NA 5; dan SY NA 6). Karakteristik makroskopis koloni bakteri hasil isolasi dari kedua bahan memiliki karakter yang beragam (Tabel 1).

Hasil uji pewarnaan gram pada penelitian ini menunjukkan seluruh isolat adalah gram positif kecuali KJ NA 4. Bentuk sel yang teramat diperoleh enam isolat berbentuk coccus dan lima isolat berbentuk bacil (Tabel 2).

Uji biokimia yang dilakukan pada penelitian kali ini diantaranya uji katalase, kandungan sulfur, fermentasi karbohidrat, indol, MR, VP dan Sitrat (Tabel 3). Hasil uji katalase menunjukkan bahwa isolat bakteri KJ NA 3, KJ NA 4, KJ NA 5, SY NA 1, dan 2 menghasilkan hasil positif dengan adanya gelembung pada uji katalase. Bakteri KJ NA3, dan 4 menunjukkan hasil positif pada uji H_2S yang ditunjukkan dengan adanya warna kehitaman pada hasil uji. Pada hasil pengamatan uji karbohidrat, SY NA 1 memiliki kemampuan untuk memfermentasikan seluruh gula. KJ NA 1, dan 5 hanya mampu memfermentasi glukosa dan laktosa. SY NA 2, 3, dan 5 hanya mampu memfermentasi glukosa dan sukrosa. Isolat KJ NA 4 hanya mampu memfermentasi laktosa dan SY NA 5 hanya mampu memfermentasi glukosa. Hampir seluruh isolat bakteri menunjukkan hasil positif pada uji indol yang ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna merah, kecuali KJ NA 3, KJ NA 4, dan KJ NA 5. Seluruh bakteri menunjukkan hasil negatif untuk uji MR. Pada uji VP hampir seluruh bakteri menunjukkan hasil positif kecuali KJ NA 1 dan KJ NA 5. Hasil pengamatan pada uji sitrat, hanya KJ NA 4, KJ NA 5, dan SY NA 5 yang menunjukkan hasil positif.

Karakteristik Makroskopis Isolat Jamur

Terdapat 11 isolat yang diperoleh dari kedua bahan, yaitu lima dari kulit jeruk (KJ) dan enam dari sayuran (SY). Karakter makroskopis isolat jamur diperoleh memiliki ciri yang beragam (Tabel 4). Morfologi koloni jamur yang didapatkan cukup bervariasi. Dari segi warna, terdapat beberapa warna koloni yang ditemukan seperti jingga, abu-abu, hitam, putih kekuningan, putih, dan merah muda. Bentuk koloni terdiri dari *irregular* dan *circular*. Bentuk tepian koloni yang didapatkan, yaitu *undulate* dan *entire lobate*. Ukuran koloni jamur bervariasi mulai dari *small*, *moderate*, dan *large*. Konsistensi koloni jamur yang diisolasi paling banyak adalah *opaque*, namun juga terdapat *transparant*. Elevasi koloni jamur cukup beragam, seperti *raised*, *flat*, dan *convex*. Koloni jamur yang ditumbuhkan memiliki beberapa struktur permukaan, seperti mengkilap, berkerut, kusam, halus, dan licin.

4 PEMBAHASAN

Kulit jeruk dan sisa sayuran merupakan bahan-bahan yang dapat dijadikan sebagai sumber karbon mikroorganisme, sehingga mikroba dapat ditemukan pada ekoenzim. Contoh sumber karbon bagi mikroorganisme adalah karbohidrat. Karbohidrat seperti pati atau amilum merupakan senyawa organik pada ekoenzim [15]. Hal ini karena terdapat kan-

dungan karbohidrat yang banyak pada sayuran dan buah-buahan (Slavin & Carlson, 2014). Kemudian karbohidrat tersebut digunakan bakteri. Kulit jeruk memiliki sumber pektin yang sekitar 18,3% oleh karenanya memungkinkan banyak mikroba seperti kelompok bakteri dan jamur dapat hidup [17]. Sisa sayuran sendiri umumnya banyak mengandung selulosa dan garam mineral yang cukup tinggi [18]. Bakteri menggunakan nutrisi yang terdapat pada lingkungan hidupnya melalui berbagai aktivitas biokimia [19].

Karakteristik Makroskopis Isolat Bakteri dan Pewarnaan Bakteri

Isolat dengan warna putih hingga putih pucat merupakan isolat yang dominan diperoleh sama dengan penelitian sebelumnya. Penelitian [15], [20] melaporkan seluruh isolat yang diperoleh hasil isolasi dari eko-enzim beberapa buah memiliki warna keputihan hingga putih pucat. Lebih lanjut Arun & Sivashanmugam (2015) menginfokan bahwa warna bakteri pada ekoenzim didominasi oleh warna putih.

Isolat bakteri dari penelitian ini didominasi oleh bakteri gram positif yang diduga merupakan bakteri asam laktat (BAL). Menurut Viza (2022) ekoenzim mengandung asam laktat dan asam asetat. Lebih lanjut Hanifah et al. (2022) menerangkan bahwa produksi asam tersebut berhubungan dengan sintesis asam laktat dan asam asetat hasil dari metabolisme mikroba dalam ekoenzim. Hasil yang serupa dengan penelitian Naeem et al. (2012) semua isolat gram positif dan isolat terduga kelompok BAL. Menurut Mozzi (2016) BAL merupakan bakteri gram positif dan memiliki bentuk bulat atau batang. Berbeda dengan penelitian Widowati et al. (2020) yang diperoleh semua isolat gram negatif.

Aktivitas Fisiologis dan Biokimia

Gelembung pada hasil uji aktivitas katalase terbentuk karena isolat bakteri KJ NA 3, KJ NA 4, KJ NA 5, SY NA 1, dan SY NA 2 memiliki enzim katalase. Enzim katalase akan mengurai hidrogen peroksida membentuk H_2O dan gas O_2 [25]. Berdasarkan uji katalase, maka bakteri yang menunjukkan hasil positif tergolong bakteri aerob. Hal ini dikarenakan menurut enzim katalase dapat mendetoksifikasi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan biasanya ditemukan pada bakteri yang mampu tumbuh dengan adanya oksigen [26].

Hasil positif pada uji H_2S yang ditunjukkan oleh isolat bakteri KJ NA3, dan KJ NA 4 menandakan bahwa bakteri tersebut mampu memfermentasi asam amino. Sedangkan jika hasil negatif berarti

bakteri tidak mampu melakukan fermentasi asam amino [25].

Uji fermentasi karbohidrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghidrolisis karbohidrat [25]. Hasil pada uji fermentasi karbohidrat yang telah dilakukan akan mengungkapkan pola fermentasi, kemudian pola tersebut dapat digunakan untuk membedakan antara kelompok bakteri atau spesies. Dalam penelitian ini juga kebanyakan isolat (kecuali KJ NA 3) mampu melakukan fermentasi karbohidrat menghasilkan asam organik yang dapat menurunkan pH. Seperti produk ekoenzim lainnya, WOP FST 1310 juga memiliki pH rendah. Rendahnya pH mengindikasikan tingginya asam-asam organik. Menurut Viza (2022) ekoenzim mengandung asam laktat dan asam asetat. Produk ekoenzim hasil kulit buah jeruk dan sayur memiliki pH sekitar 4 - 5 akibat degradasi karbohidrat menghasilkan asam organik dan asam volatil [18], [27]. Hanifah et al. (2022) menerangkan bahwa produksi asam tersebut berhubungan dengan sintesis asam laktat dan asam asetat hasil dari metabolisme mikroba dalam ekoenzim.

Uji indol dilakukan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi asam amino triptofan dan membentuk *indole* [25]. Sampir seluruh mikroorganisme pada penelitian ini menunjukkan hasil positif, karenanya mikroorganisme tersebut mengandung enzim tripfanase yang merupakan katalis pengurai indol yang terkandung dalam asam amino triptofan [28].

Hasil negatif pada Uji Methyl Red (MR), mengindikasikan bahwa seluruh isolat negatif dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. Hasil positif pada uji Voges Proskauer (VP) menunjukkan bahwa semua isolat positif terhadap pembentukan acetonin dalam kultur cair bakteri [29].

Hasil positif isolat KJ NA 4, KJ NA 5, dan SY NA 5 pada uji sitrat menunjukkan bahwa mikroorganisme pada isolat tersebut menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Bila mikroba mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru [28].

Hasil uji makroskopis, mikroskopis, dan biokimia mengindikasikan bahwa isolat KJ NA 1, KJ NA 2, SY NA 3, SY NA 4, SY NA 5 dan SY NA 6 diduga masuk ke dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL), sedangkan sisa isolat yang didapatkan merupakan kelompok non-BAL. Isolat KJ NA 1, KJ NA 2, SY NA 5, dan SY NA 6 diduga merupakan *Streptococcus*

dan *enterococcus*, sedangkan SY NA 3 & SY NA 4 diduga merupakan *Lactobacillus*. Mozzi (2016) menerangkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang secara filogenetik terkait erat menghasilkan asam laktat sebagai produk utama atau satu-satunya dari fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat (BAL) ini memiliki karakteristik gram positif, tidak menghasilkan spora, katalase-negatif, toleran asam, aerotoleran, dan biasanya berbentuk kokus atau batang nonmotil.

Hasil uji makroskopis, mikroskopis, dan biokimia Isolat KJ NA 4 diduga merupakan *Pseudomonas*. *Pseudomonas* dalam ekoenzim pernah ditemukan oleh penelitian sebelumnya [30]. *Pseudomonas* mempunyai kemampuan untuk mensekresikan asam organik [31]. Asam organik seperti asam sitrat merupakan asam organik yang dapat disekresikan oleh genus *Pseudomonas* [32]. Hasil uji fermentasi menunjukkan bahwa KJ NA 4 yang diduga sebagai *Pseudomonas* hanya mampu melakukan fermentasi laktosa. Hal ini tidak sejalan dengan [33] yang menyatakan bahwa berbagai macam bakteri termasuk *pseudomonas* mampu mengoksidasi d-glukosa menjadi asam glukonat dan kemampuan tersebut digunakan dalam fermentasi untuk biosintesis. Isolat KJ NA 3 & 5 diduga merupakan *micrococcus* dan *staphylococcus* berturut-turut. Kedua isolat tidak masuk kedalam kelompok BAL. Lebih lanjut hasil uji makroskopis, mikroskopis, dan biokimia menunjukkan bahwa isolat SY NA 3, dan SY NA 4 juga tidak termasuk ke dalam kelompok BAL, meskipun demikian isolat-isolat yang tidak masuk ke dalam kelompok BAL tersebut mampu melakukan fermentasi karbohidrat, kecuali isolat KJ NA 3 yang diduga *micrococcus*. Hal ini karena *micrococcus* tidak dapat melakukan fermentasi karbohidrat [34]. Uji molekuler perlu dilakukan untuk identifikasi lebih lanjut. Karena identifikasi secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia masih belum cukup untuk mengidentifikasi bakteri dengan tepat.

Berdasarkan hasil karakteristik makroskopis terdapat beberapa isolat jamur yang diduga kelompok genus *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* dan *Trichoderma*. Hasil penelitian sebelumnya melaporkan terdapat 10 isolat kulit jeruk dengan karakter morfologi, enzim pektinolitik yang teridentifikasi sebagai genus *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* dan *Trichoderma* (Amilia et al., 2017). Lebih lanjut, Setiawan dkk. (2016) melaporkan isolat yang ditemui pada penelitian di kulit jeruk memiliki koloni putih, pertumbuhan koloni rata dan tebal. Isolat yang kedua memiliki warna hijau tua kemudian hitam dengan pertumbuhan koloni menyebar dan tebal.

5 KESIMPULAN

Hasil isolasi mikroorganisme pada ekoenzim *Waste Organic Product* (WOP) FST 1310 terdapat 11 isolat bakteri dari kedua bahan dan Isolat jamur yang diperoleh terdapat 11 isolat dari kedua bahan. Isolat KJ NA 1, KJ NA 2, SY NA 3, SY NA 4, SY NA 5, dan SY NA 6 diduga masuk ke dalam kelompok kelompok bakteri asam laktat (BAL).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LP2M) dengan Surat Keputusan Nomor: UN.01/KPA/760/2021 UIN Syarif Hidayatullah yang telah mendanai penelitian ini.

REFERENSI

- [1] D. Yanti and R. Awalina, "Sosialisasi dan Pelatihan Pengolahan Sampah Organik Menjadi Eco-Enzyme," *Jurnal Warta Pengabdian Andalas*, vol. 28, no. 2, pp. 84–90, Jun. 2021, doi: 10.25077/jwa.28.2.84-90.2021.
- [2] K. Jain, "MAR Microbiology Curbing Chemical Chaos against COVID-19 by Simple Solitary Solution-A Mini Review on Bio-Enzymes," 2021.
- [3] Y. Hasanah, "Eco enzyme and its benefits for organic rice production and disinfectant," *Journal of Saintech Transfer*, vol. 3, no. 2, pp. 119–128, Jan. 2020, doi: 10.32734/JST.V3I2.4519.
- [4] K. Neupane and R. Khadka, "Production of Garbage Enzyme from Different Fruit and Vegetable Wastes and Evaluation of its Enzymatic and Antimicrobial Efficacy," *Tribhuvan University Journal of Microbiology*, vol. 6, pp. 113–118, Dec. 2019, doi: 10.3126/tujm.v6i0.26594.
- [5] H. A. K. Mavani et al., "Antimicrobial efficacy of fruit peels eco-enzyme against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study," *Int J Environ Res Public Health*, vol. 17, no. 14, pp. 1–12, Jul. 2020, doi: 10.3390/ijerph17145107.
- [6] M. Hemalatha and P. Visantini, "Potential use of eco-enzyme for the treatment of metal based effluent," in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, Institute of Physics Publishing, Feb. 2020. doi: 10.1088/1757-899X/716/1/012016.
- [7] M. Janarthanan, K. Mani, and S. R. S. Raja, "Purification of Contaminated Water Using Eco Enzyme," in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, IOP Publishing Ltd, Nov. 2020. doi: 10.1088/1757-899X/955/1/012098.
- [8] B. S. Patel, B. R. Solanki, and A. U. Mankad, "Effect of eco-enzymes prepared from selected organic waste on domestic waste water treatment," *World Journal of Advanced Research and Reviews*, vol. 10, no. 1, pp. 323–333, Apr. 2021, doi: 10.30574/wjarr.2021.10.1.0159.
- [9] E. Pratamadina and T. Wikaningrum, "Potensi Penggunaan Eco Enzyme pada Degradasi Deterjen dalam Air Limbah Domestik," *Jurnal Serambi Engineering*, vol. 7, no. 1, Feb. 2022, Accessed: Nov. 27, 2022. [Online]. Available: <https://ojs.serambimekkah.ac.id/jse/article/view/2722-2728>
- [10] D. Larasati, A. Puji Astuti, and E. Triwahyuni Maharani, *UJI ORGANOLEPTIK PRODUK ECO-ENZYME DARI LIMBAH KULIT BUAH (STUDI KASUS DI KOTA SEMARANG)*. 2020.
- [11] C. Arun and P. Sivashanmugam, "Investigation of biocatalytic potential of garbage enzyme and its influence on stabilization of industrial waste activated sludge," *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 94, no. C, pp. 471–478, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.psep.2014.10.008.
- [12] N. Rasit, L. Hwe Fern, and W. Azlina Wan Ab Karim Ghani, "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*, vol. 10, no. 3, pp. 967–980, 2019.
- [13] Dwidjoseputro, *Dasar - Dasar Mikrobiologi*, 16th ed. Jakarta: Djambatan, 2005. Accessed: Nov. 27, 2022. [Online]. Available: <https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=366166#>
- [14] J. G. Holt, N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, and S. T. Williams, *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*, 9th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Accessed: Nov. 27, 2022. [Online]. Available: <https://books.google.co.id/books?id=jtMLzaa5ONcC&printsec=frontcover&hl=id#v=onepage&q&f=false>
- [15] R. H. Wibowo et al., "Bakteri Penghasil Amilase yang Diisolasi dari Ekoenzim Limbah Buah-Buahan," *Jurnal Biosilampari : Jurnal Biologi*, vol. 4, no. 2, pp. 107–117, Jun. 2022, doi: 10.31540/BIOSILAMPARI.V4I2.1531.
- [16] J. Slavin and J. Carlson, "Carbohydrates," *Advances in Nutrition*, vol. 5, no. 6, pp. 760–761, Nov. 2014, doi: 10.3945/an.114.006163.
- [17] A. Jabeen, Q.-U.-A. Hanif, M. Hussain, A. Munawar, N. Farooq, and S. Bano, "Screening, isolation and identification of pectinase producing bacterial strains from rotting fruits and determination of their pectinolytic activity," *SCIENCE LETTERS*, vol. 3, no. 2, pp. 42–45, Feb. 2015, Accessed: Nov. 27, 2022. [Online]. Available: http://thesciencenpublishers.com/science_letters/files/v3i2-1-2014046-SL.pdf
- [18] S.-S. Teo, L. C. Wen, and R. L. Z. Ling, "Effective Microorganisms in Producing Eco-Enzyme from Food Waste for Wastewater Treatment," *Applied Microbiology: Theory & Technology*, pp. 28–36, May 2021, doi: 10.37256/AMTT.212021726.
- [19] C. N. Mutiarahmi, T. Hartady, and R. Lesmana, "Use Of Mice As Experimental Animals In Laboratories That

- Refer To The Principles Of Animal Welfare: A Literature Review," *Indonesia Medicus Veterinus*, vol. 10, no. 1, pp. 134–145, Jan. 2021, doi: 10.19087/IMV.2020.10.1.134.
- [20] M. Naeem, M. Ilyas, S. Haider, S. Baig, and M. Saleem, "Isolation Characterization And Identification Of Lactic Acid Bacteria From Fruit Juices And Their Efficacy Against Antibiotics," *Pak J Bot*, vol. 44, pp. 323–328, Mar. 2012, Accessed: Nov. 27, 2022, [Online]. Available: [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/44\(SI1\)/48.pdf#](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/44(SI1)/48.pdf#)
- [21] R. Y. Viza, "Uji Organoleptik Eco-Enzyme dari Limbah Kulit Buah," *BIOEDUSAINS:Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*, vol. 5, no. 1, pp. 24–30, Mar. 2022, doi: 10.31539/bioedusains.v5i1.3387.
- [22] A. Hanifah *et al.*, "The Effect of Variations in Sugar Types and Fermentation Time on Enzyme Activity and Total Titrated Acid on Eco-Enzyme Results of Fermentation," *Proceedings of the 7th International Conference on Biological Science (ICBS 2021)*, vol. 22, pp. 585–589, May 2022, doi: 10.2991/ABSR.K.220406.084.
- [23] F. Mozzi, "Lactic Acid Bacteria," *Encyclopedia of Food and Health*, pp. 501–508, Jan. 2016, doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00414-1.
- [24] E. Widowati, R. Utami, E. Nurhartadi, and F. Fenny, "Karakterisasi bakteri pektinolitik dari limbah kulit jeruk dan karakterisasi pektinase yang dihasilkan serta studi aplikasinya untuk penjernihan sari buah Jeruk Pontianak," *Journal of Tropical AgriFood*, vol. 2, no. 1, p. 34, Aug. 2020, doi: 10.35941/jtaf.2.1.2020.3937.34-44.
- [25] A. G. Liemppepas, W. Astuty Lolo, and P. Yamlean, "Isolasi Dan Uji Antibakteri Dari Isolat Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons Callyspongia Aerizusa Serta Identifikasi Secara Biokimia," *PHARMACON*, vol. 8, no. 2, pp. 380–387, May 2019, doi: 10.35799/PHA.8.2019.29304.
- [26] M. T. Madigan, J. M. Martinko, K. S. Bender, D. H. Buckley, and D. A. Stahl, *Brock Biology of Microorganisms*, 14th ed. Pearson Education, Inc., 2015.
- [27] N. Rasit and O. Chee Kuan, "Investigation on the Influence of Bio-catalytic Enzyme Produced from Fruit and Vegetable Waste on Palm Oil Mill Effluent," *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*, vol. 140, no. 1, p. 012015, 2018, doi: 10.1088/1755-1315/140/1/012015.
- [28] S. M. Pattuju, Fatimawali, and A. Manampiring, "Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urine, Feses dan Kalkulus Gigi Pada Individu di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara," *eBiomedik*, vol. 2, no. 2, 2014, doi: 10.35790/EBM.V2I2.5108.
- [29] S. A. Rahayu and M. H. Gumilar, "Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri Escherichia coli," *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, vol. 4, no. 2, pp. 50–56, Oct. 2017, doi: 10.15416/IJPST.V4I2.13112.
- [30] S. Sarabhai, A. Arya, and C. Arti Arya, "Garbage enzyme: A study on compositional analysis of kitchen waste ferments," *The Pharma Innovation Journal*, vol. 8, no. 4, pp. 1193–1197, 2019, Accessed: Nov. 27, 2022, [Online]. Available: www.thepharmajournal.com
- [31] D. Susilaningsih *et al.*, "ISOLASI GEN SITRAT SINTASE BAKTERI Pseudomonas aeruginosa PS2 DARI RIZOSFER POHON KRUING (Dipterocarpus sp.) UNTUK MODEL KONSTRUKSI METABOLISME SEL MIKROALGA BERKARBOHIDRAT RENDAH," *Berita Biologi Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*, vol. 18, no. 2, pp. 247–253, Aug. 2019, doi: 10.14203/BERITABILOGI.V18I2.2967.
- [32] R. J. Mailloux, J. Lemire, S. Kalyuzhnyi, and V. Appanna, "A novel metabolic network leads to enhanced citrate biogenesis in *Pseudomonas fluorescens* exposed to aluminum toxicity," *Extremophiles*, vol. 12, no. 3, pp. 451–459, May 2008, doi: 10.1007/S00792-008-0150-1.
- [33] R. J. Gomes, M. de F. Borges, M. de F. Rosa, R. J. H. Castro-Gómez, and W. A. Spinosa, "Acetic Acid Bacteria in the Food Industry: Systematics, Characteristics and Applications," *Food Technol Biotechnol*, vol. 56, no. 2, p. 139, Apr. 2018, doi: 10.17113/FTB.56.02.18.5593.
- [34] G. H. G. Davis and B. Hoyling, "Observations on anaerobic glucose utilization tests in *Staphylococcus* *Micrococcus* identification," *Int J Syst Bacteriol*, vol. 24, no. 1, pp. 1–5, Jan. 1974, doi: 10.1099/00207713-24-1-1/CITE/REFWORKS.

LAMPIRAN

Tabel 1. Karakteristik makroskopis koloni bakteri dari WOP FST 1310

Koloni	Warna	Bentuk koloni	Bentuk tepi	Ukuran	Konsistensi	Elevasi	Permukaan
Kulit Jeruk (KJ)							
KJ NA 1	Kuning kecoklatan	Irregular	Undulate	Moderate	Transparent	Flat	Halus, kusam
KJ NA 2	Putih	Irregular	Undulate	Moderate	Transparent	Flat	Halus
KJ NA 3	Putih kekuningan	Circular	Entire lobate	Small	Opaque	Flat	Halus
KJ NA 4	Putih kekuningan	Circular	Entire lobate	Small	Opaque	Flat	Halus
KJ NA 5	Putih kekuningan	Irregular	Entire lobate	Moderate	Opaque	Flat	Halus, kusam

Sayur (SY)

SY NA 1	Putih kekuningan	Irregular	Undulate	Moderate	Opaque	Flat	Halus, kusam
SY NA 2	Putih pucat	Irregular	Undulate	Small	Opaque	Flat	Halus
SY NA 3	Putih pucat	Circular	Entire lobate	Moderate	Opaque	Flat	Halus
SY NA 4	Putih	Circular	Entire lobate	Small	Opaque	Flat	Halus
SY NA 5	Kuning kecoklatan	Irregular	Entire lobate	Moderate	Translucent	Convex	Halus, mengkilap
SY NA 6	Kuning kecoklatan	Irregular	Undulate	Moderate	Translucent	Flat	Halus, kusam

Keterangan : KJNA = Kulit Jeruk; SY NA = Sayur-sayuran

Tabel 2. Karakteristik dan uji pewarnaan gram bakteri isolat WOP FST 1310

Koloni	Warna	Bentuk	Koloni	Warna	Bentuk
Kulit Jeruk					Sayur
KJ NA 1	ungu	bulat	SY NA 1	ungu	batang
KJ NA 2	ungu	bulat	SY NA 2	ungu	batang
KJ NA 3	ungu	bulat	SY NA 3	ungu	batang
KJ NA 4	merah muda	batang	SY NA 4	ungu	batang
KJ NA 5	ungu	batang	SY NA 5	ungu	bulat
			SY NA 6	ungu	bulat

Keterangan : KJNA = Kulit Jeruk;
SY = Sayur-sayuran**Tabel 3.** Hasil uji aktivitas fisiologi dan biokimia

Koloni	Uji Katalase	Uji Kandungan Sulfur	Fermentasi Karbohidrat			Uji Indol	Uji MR	Uji VP	Uji Sistrit
			Glukosa	Sukrosa	Laktosa				
KJ NA 1	-	-	Kuning	-	Kuning	+	-	-	-
KJ NA 2	-	-	Kuning	Kuning	-	+	-	+	-
KJ NA 3	+	+	-	-	-	-	-	+	-
KJ NA 4	+++	+	-	-	Kuning	-	-	+	+
KJ NA 5	+	-	Kuning	-	Kuning	-	-	-	+
Sayur (SY)									
SY NA 1	+++	-	Kuning	Kuning	Oranye	+	-	+	-
SY NA 2	++	-	Kuning	Kuning	-	+	-	+	-
SY NA 3	-	-	Kuning	Kuning	-	+	-	+	-
SY NA 4	-	-	Oranye	-	-	+	-	+	-
SY NA 5	-	-	Kuning	Oranye	-	+	-	+	+
SY NA 6	-	-	Kuning	Kuning	-	+	-	+	-

Keterangan : KJNA = Kulit Jeruk; SY NA = Sayur-sayuran

Tabel 4. Karakter makroskopis isolat jamur

Koloni	Warna		Bentuk koloni	Tekstur	Bentuk tepi	Garis radial	Zona lingkaran
	Kulit Jeruk (KJ)	Atas	Bawah				
KJ PDA 1	Jingga	Jingga	Irregular	Mengkilap	Undulate	Tidak ada	Ada
KJ PDA 2	Abu-abu	Putih	Irregular	Berkerut	Curved	Tidak ada	Ada
KJ PDA 3	Hitam	Putih	Irregular	Berkerut, kusam	Entire lobate	Ada	Ada
KJ PDA 4	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Circular	Halus, licin	Entire lobate	Tidak ada	Ada
KJ PDA 5	Hitam	Hitam	Circular	Berkerut	Entire lobate	Tidak ada	Tidak ada
Sayur (SY)							
SY PDA 1	Merah muda	Merah muda	Circular	Halus, licin	Entire lobate	Tidak ada	Tidak ada
SY PDA 2	Merah muda	Merah muda	Circular	Halus, licin	Entire lobate	Tidak ada	Tidak ada
SY PDA 3	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Irregular	Kasar, mengkilap	Undulate	Tidak ada	Ada
SY PDA 4	Putih	Putih	Circular	Halus, kusam	Entire lobate	Tidak ada	Ada
SY PDA 5	Hitam	Hitam	Circular	Berkerut	Entire lobate	Tidak ada	Ada
SY PDA 6	Putih	Putih	Irregular	Halus, licin	Undulate	Tidak ada	Tidak ada

KJ PDA = Kulit Jeruk; SY PDA = Sayur-sayuran