

Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) Terhadap Asam Pada Eco-Enzyme Kulit Buah Jeruk

Acid Resistance Test of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Citrus Peel Eco-Enzymes

Hajrah Hidriya^{1*}, Yuliana Salman², Muhammad Zaini³

¹Program Studi DIII Analis Kesehatan, Politeknik Unggulan Kalimantan

^{2,3}Program Studi DIII Farmasi, Politeknik Unggulan Kalimantan

*Korespondensi: hidriya1992@gmail.com

Abstract

Eco enzyme is a fermented product from organic waste that has an impact on health and the environment. Eco enzyme is fermented from leftover fruit peels mixed with water and molasses sugar for approximately 90 days. One of the fruit peels that can be used as an eco-enzyme product is orange peel. This study aims to determine the number of germs and test the bacterial resistance to acid in eco enzyme orange peel. The study used a quantitative descriptive method. The sample in this study, namely eco enzyme orange peel that is 90 days old, was calculated the number of germs using a multilevel dilution method, then a bacterial resistance test was carried out to acid in a regulated acidic environment, namely in acidic environmental conditions. Based on the LAB resistance test isolated from eco enzyme to low pH, it showed that 4 LAB isolates with gram-positive properties and rod-shaped can survive in media conditions with a pH of 0.8-2.5 LAB that is faced with more acidic conditions is increasingly resistant to the environmental conditions, this is indicated by the presence of sediment at the bottom of the tube and turbidity after the incubation process for 24 hours. So the eco enzyme can be developed as a probiotic.

Keywords: *Eco enzyme, lactic acid bacteria (LAB), orange peel, pH*

Pendahuluan

Dalam kehidupan sehari-hari, buah-buahan menjadi bagian penting bagi kebutuhan manusia. Umumnya, masyarakat hanya memanfaatkan bagian daging buah sebagai bahan pembuatan jus, selai, salad, maupun sirup. Sementara itu, kulit buah jarang dimanfaatkan sehingga sering kali dibuang dan menjadi limbah. Apabila limbah tersebut dibuang sembarangan atau dibiarkan menumpuk tanpa pengelolaan yang tepat, hal ini dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan. Sampah sendiri merupakan sisa material yang tidak lagi digunakan, tidak disukai, atau harus dibuang, dan biasanya berasal dari aktivitas manusia (1). Salah satu upaya pengolahan limbah organik yang dapat dilakukan adalah mengubahnya menjadi *eco-enzyme*.

Eco-enzyme merupakan larutan kompleks yang dihasilkan dari fermentasi

limbah dapur (kulit buah atau sayur), gula (gula merah, jiggery, atau tetes tebu), dan air. Prinsip proses pembuatan *eco-enzyme* sendiri sebenarnya hampir sama dengan proses pembuatan kompos, namun dalam pembuatan *eco-enzyme* ditambahkan air sebagai media pertumbuhan, sehingga diperoleh produk akhir yang berupa cairan. Gula merah, kulit buah atau sayuran, dan air dicampur dengan perbandingan 1:3:10 untuk membuat *eco-enzyme* (2). Larutan *eco-enzyme* umumnya berwarna coklat gelap dengan aroma asam atau segar yang kuat (3). *Eco-enzyme* yang dihasilkan dari bahan organik (ampas) mengandung berbagai jenis mikroorganisme, termasuk bakteri dan kapang/khamir. Proses fermentasi *eco-enzyme* berlangsung selama tiga bulan. Pada bulan pertama terbentuk alkohol, pada bulan kedua terbentuk asam asetat, dan pada bulan ketiga mulai dihasilkan enzim. Karena itu,

pemanenan dilakukan pada bulan ketiga dengan menyaring hasil fermentasi menggunakan kain. Beberapa literatur juga menyebutkan bahwa bakteri yang terdapat dalam ampas *eco-enzyme* termasuk kelompok Bakteri Asam Laktat.

Bakteri Asam Laktat (BAL) *dapat* menjadi probiotik, tetapi *tidak semua* BAL otomatis merupakan probiotik. Probiotik merupakan bakteri yang ramah atau bermanfaat disebut juga dengan mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya ketika diberikan dalam jumlah yang cukup. Mikroorganisme ini memainkan peran penting dalam menjaga keseimbangan mikrobioma usus, meningkatkan fungsi kekebalan tubuh, dan bahkan mencegah atau mengobati berbagai penyakit. Salah satu kelompok mikroorganisme baik tersebut adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) (5).

BAL mampu memproduksi asam laktat, hidrogen peroksida, senyawa antimikroba, dan metabolit lainnya yang berdampak positif bagi tubuh. BAL sering diisolasi untuk menghasilkan senyawa antimikroba dan dapat dimanfaatkan sebagai probiotik. Bakteri ini berbentuk batang atau bulat, bersifat gram positif, tidak membentuk spora, tidak motil, tidak berpigmen, bersifat katalase negatif, serta menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. BAL juga dikenal sebagai bakteri probiotik karena dapat memberikan manfaat bagi kesehatan. BAL bersifat mesofilik dan termofilik, beberapa dapat tumbuh pada suhu 5°C dan tertinggi 45°C, dapat bertahan pada pH 1,2-9,6 dan beberapa hanya dapat tumbuh pada kisaran pH yang sempit (pH 4,0-4,5) (6).

Terdapat sejumlah karakteristik yang perlu diperhatikan untuk menilai apakah suatu mikroba berpotensi dijadikan kultur probiotik. Beberapa di antaranya meliputi kemampuan bertahan pada kondisi asam, sifat yang tidak patogen atau tidak menimbulkan penyakit, serta tidak memproduksi toksin. Mikroba tersebut juga tidak boleh membawa gen resistensi antibiotik yang mudah ditransfer ke mikroorganisme lain. Selain itu, bakteri kandidat probiotik harus mampu bersaing dengan bakteri enterik patogen di dalam saluran pencernaan (7). Sehingga dalam penelitian ini perlu dilakukan uji ketahanan

bakteri terhadap asam pada *eco-enzyme* kulit buah jeruk.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Politeknik Unggulan Kalimantan. Data diperoleh dari data primer melalui pengambilan sampel kulit buah jeruk yang dibeli di Pasar Ulin Raya Banjarbaru untuk dijadikan sebagai bahan baku dalam pembuatan *Eco-Enzyme*.

Pembuatan *Eco-enzyme* merujuk pada (2) dengan perbandingan 1:3:10 (100 gr molase : 300 gr kulit buah jeruk : 1000 ml / 1 Liter air keran yang sudah diendapkan selama 24 jam). Hasil fermentasi dari *eco-enzyme* dijadikan untuk sampel dalam penelitian uji ketahanan bakteri terhadap asam.

Uji ini dapat dilakukan dengan cara mengukur pH larutan, dengan cara memasukkan pH meter ke dalam MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Broth yang sudah ditambahkan HCl 10% atau HCl pekat (sebagai perlakuan) dan inoculum bakteri sebanyak 1 ml. Sedangkan control tanpa penambahan HCL 10% / HCl pekat. Sebanyak 1 ml kultur setiap bakteri asam laktat diinokulasikan ke dalam 3 ml MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Broth yang sudah diatur pada kondisi asam yaitu antara pH 1 - 3,5 dengan menambahkan HCl 10% atau HCL pekat. Sebagai kontrol, yaitu masukkan dalam jumlah yang sama namun MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Broth tanpa penambahan HCl. Selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan pada dasar tabung dan adanya perubahan media menjadi lebih keruh dibandingkan sebelum waktu inkubasi.

Hasil

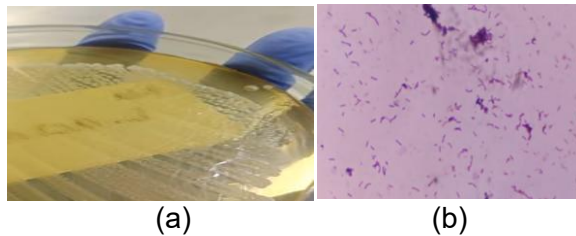
Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2025. Kultur murni dari BAL (*Lactobacillus acidophillus*) didapatkan pada Laboratorium Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Kultur murni diidentifikasi dan dipastikan Kembali keasliannya dengan cara menumbuhkannya Kembali ke media MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Broth dan diinkubasi selama 24 jam

pada 37°C. Berikut merupakan hasil setelah inkubasi dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Isolat dari Kultur BAL

Didapatkan dari hasil isolat kultur BAL yang telah diinkubasi selama 24 jam pada 37°C. terlihat terdapat buih pada permukaan media. Kemudian dilanjutkan penanaman pada media MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) agar untuk melihat karakteristik dari BAL. Pengamatan makroskopik meliputi bentuk koloni, tepi, elevasi dan warna koloni. Isolat BAL diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian dilakukan pewarnaan gram untuk mengetahui sifat gram daripada bakteri, dapat dilihat pada gambar 2.



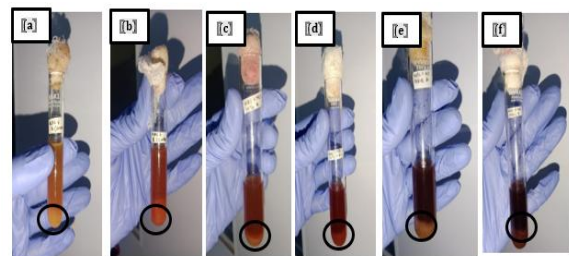
Gambar 2. (a) koloni BAL yang tumbuh pada media MRS agar pengamatan secara makroskopik, (b) koloni bakteri pengamatan secara mikroskopik dengan perbesaran 100x Berdasarkan gambar 2a. Nampak terlihat koloni bakteri BAL berbentuk bulat, tepi rata, elevasi convex dan koloni berwarna putih susu. Pada gambar 2b Nampak terlihat bakteri berbentuk batang (basil) dan gram positif.

Tahapan selanjutnya yang dilakukan yaitu uji ketahanan bakteri terhadap asam. Pada tahapan ini dipilih 4 isolat BAL yang digunakan untuk membuktikan ketahanannya terhadap asam, sedangkan 2 isolat BAL lagi tanpa perlakuan atau tanpa penambahan asam. Berikut merupakan uji ketahanan BAL terhadap asam dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) Terhadap Asam

| No | Perlakuan | pH | Pertumbuhan |
|----|--|-----|-------------|
| 1 | Sampel A + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl 10%) | 2,5 | + |
| 2 | Sampel B + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl 10%) | 2,0 | + |
| 3 | Sampel A + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl pekat) | 1,0 | + |
| 4 | Sampel B + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl pekat) | 0,8 | + |
| 5 | Sampel A + 3 ml MRS Broth (kontrol) | 6,5 | + |
| 6 | Sampel B + 3 ml MRS Broth (kontrol) | 6,5 | + |

Note : + (terjadi kekeruhan dan terdapat endapan pada dasar tabung)



Gambar 3. Uji ketahanan bakteri terhadap asam a). Kontrol Sampel A b). Kontrol Sampel B c). Sampel A + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl 10%) d). Sampel B + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl 10%) e). Sampel A + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl pekat) f). Sampel B + (3 ml MRS Broth + 1 ml HCl pekat)

Berdasarkan hasil penelitian dengan melakukan uji isolat bakteri terhadap kadar

keasaman. Hasil pengujian tersebut dapat dilihat bahwa pada 24 jam isolat bakteri asam laktat menunjukkan pertumbuhan pada semua media yang dilakukan pengujian, yaitu berkisar pada pH 0,8-2,5.

Berdasarkan uji ketahanan bakteri terhadap asam semakin pekat larutan asam yang diberikan semakin memberikan kemampuan bakteri dalam bertahan hidup. Hal ini dibuktikan dari adanya endapan yang terdapat di dasar tabung dan terjadi kekeruhan setelah inkubasi selama 24 jam. Hasil uji ketahanan bakteri terhadap asam pada media MRS Broth penambahan HCl dengan pH bervariasi yaitu 0,8-2,5 menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu bertahan pada kondisi tersebut.

Pembahasan

Berdasarkan pengujian isolate pada kultur murni BAL yang dilakukan sebelumnya isolat yang digunakan adalah jenis bakteri *Lactobacillus acidophilus* (10) menyatakan bahwa *Lactobacillus* sp. memiliki ciri-ciri yaitu selnya berbentuk batang dengan ukuran dan bentuk yang sangat seragam, beberapa juga dapat sangat panjang dan beberapa lainnya bersifat batang bulat. Hasil isolate yang ditumbuhkan pada media MRS agar didapatkan koloni berbentuk bulat, tepi rata, elevasi convex dan berwarna putih susu. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (11) bahwa BAL memiliki ciri-ciri koloni berwarna putih susu, berbentuk bulat, memiliki tepian yang licin serta permukaan yang cembung.

Hasil pemurnian isolat BAL selanjutnya diamati dibawah mikroskopis dengan metode pewarnaan Gram. Hasil mikroskopis pada Gambar 2b menunjukkan bahwa isolat BAL berbentuk batang (*bacillus*) dengan terlihat sel berwarna ungu, yang berarti masuk dalam kategori Gram positif. Prinsip pewarnaan Gram adalah kemampuan dinding sel mengikat zat warna dasar (Kristal violet) setelah pencucian dengan alkohol 95%. Keadaan ini berhubungan dengan komposisi senyawa penyusun dinding sel. Pada bakteri Gram positif mengandung peptidoglikan lebih banyak dan lemak lebih sedikit dibandingkan bakteri Gram negatif. (12) Munculnya warna ungu pada bakteri Gram positif disebabkan karena komponen utama penyusun dinding sel bakteri Gram positif adalah peptidoglikan, sehingga mampu mengikat pewarna kristal

violet dan hanya terwarnai oleh safranin (13). Kompleks kristal violet-iodin, yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal pada proses pewarnaan dapat diekstraksi, oleh kandungan lipid yang rendah, dinding sel selama bakteri Gram-positif menjadi terhidrasi selama perlakuan dengan alkohol, sehingga terjadi perubahan warna sel (14).

Berdasarkan uji ketahanan bakteri terhadap asam semakin pekat larutan asam yang diberikan semakin memberikan kemampuan bakteri dalam bertahan hidup. Hal ini dibuktikan dari adanya endapan yang terdapat di dasar tabung dan terjadi kekeruhan setelah inkubasi selama 24 jam. Hasil uji ketahanan bakteri terhadap asam pada media MRS Broth penambahan HCl dengan pH bervariasi yaitu 0,8-2,5 menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu bertahan pada kondisi tersebut. Hasil ini diperkuat oleh penelitian (15) yang menyatakan bahwa BAL telah memenuhi persyaratan pengujian probiotik apabila didapatkan dapat tumbuh pada pH 2,5 serta adanya endapan pada media. Ketahanan hidup pada pH rendah berhubungan dengan kemampuan bakteri dalam mempertahankan kondisi internal sel dengan lingkungan luar (16). Bakteri dalam pertumbuhannya memerlukan pH optimum 6.5 – 7.5 (17). Namun dalam hal ini isolate BAL mampu mempertahankan kehidupannya dalam kondisi pH yang relative rendah. Bakteri Asam Laktat mampu bertahan pada pH yang relatif rendah karena memiliki sistem yang sekaligus mentransport asam laktat dan proton ke bagian luar sel (18).

Isolat BAL dari *eco enzyme* dapat bertahan pada kondisi pH 0,8-2,5 dapat disebabkan karena kemampuan isolat tersebut untuk mempertahankan pH dalam selnya lebih netral daripada lingkungan, dapat juga dikarenakan membran sel bakteri tersebut lebih tahan dari paparan asam pada lingkungan. Perbedaan ketahanan membran sel bakteri terhadap kerusakan akibat terjadinya penurunan pH ekstraseluler menyebabkan keragaman ketahanan sel pada pH rendah. Bakteri asam laktat juga mampu mempertahankan pH sitoplasma lebih alkali daripada pH ekstraseluler, tetapi penurunan pH intraseluler tetap berlangsung seiring dengan menurunnya pH ekstraseluler yang mendukung toleransinya terhadap asam. Untuk mempertahankan pH

sitoplasma lebih basa, sel harus memiliki membran yang merupakan barier yang membatasi pergerakan senyawa/proton. Komposisi asam lemak dan protein penyusun yang beragam di antara spesies bakteri diduga mempengaruhi keragaman ketahanan bakteri terhadap pH rendah (19). Terdapat pula enzim yang terikat pada membran sel yang dapat melakukan reaksi reversible bertindak sebagai pompa yang memindahkan ion. Enzim tersebut mengkatalisa gerakan proton (H⁺) menyeberangi membran sel sebagai akibat dari hidrolisis atau sintesis ATP. Ketahanan isolat terhadap pH ekstraseluler yang rendah tergantung dari pengaturan pH internal bakteri (20).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa isolat bakteri asam laktat pada *eco enzyme* dapat di manfaatkan sebagai probiotik. Bakteri tersebut mampu tumbuh pada kondisi pH asam. Hasil uji ketahanan BAL yang diisolasi dari *eco enzyme* terhadap pH rendah menunjukkan bahwa 4 isolat BAL dengan sifat gram positif, dan berbentuk batang dapat bertahan hidup pada kondisi media dengan pH 0.8-2.5 sehingga dapat dikembangkan sebagai probiotik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menghaturkan terima kasih kepada Program Studi DIII Analis Kesehatan Politeknik Unggulan Kalimantan atas dukungan sarana dan prasarana selama pelaksanaan penelitian dan juga kepada Komunitas *Eco-Enzyme* Banjarmasin yang turut membantu dalam bimbingan yang diajarkan selama pembuatan *Eco-Enzyme*. Selain itu juga penulis mengucapkan terima kasih kepad LPPM Politeknik Unggulan Kalimantan yang telah memberikan *support*, dukungan dan arahan kepada penulis hingga lolos hibah penelitian pendanaan 2025 kemendiksisaintek.

Daftar Pustaka

1. Marjenah, Wawan Kustiawan, Ida Nurhifitiani, Keren Hapukh Morina Sembiring & Retno Precillya Ediyono. (2017). Pemanfaatan Limbah Kulit Buah-Buahan Sebagai Bahan Baku Pembuatan

- Pupuk Organik Cair. *Jurnal Hut Trop*, Vol. 1 (2): 120-127
2. Novianti, Adelliya & I Nengah Muliarta. (2021). Eco-Enzym Based on Household Organic Waste as MultiPurpose Liquid. *AGRIWAR JOURNA*,. Vol. 1, (1) : 12-17
3. M. Hemalatha and P.Visantini, (2020). Potential use of eco-enzyme for the treatment of metal based effluent. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering, 716, 1-6
4. Ishibashi N and Yamazaki S. (2001). Probiotics and Safety. *Am J Clin Nutr* ; 73(2), 465-70
5. Finanda Aprilia, Mukarlina & Rahmawati. Isolasi dan Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Dagung Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). (2021). *Jurnal Protobiont*, Vol. 10 (2) : 37-41
6. Purwohadisantoso K. (2008). Isolasi bakteri asam laktat dari sayur kubis yang memiliki kemampuan penghambatan terhadap bakteri patogen. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya Malang.
7. Hardani et al. (2020). Buku Metode Penelitian Kualitatif. In *Revista Brasileira de Linguística Aplicada* (Vol. 5, Issue 1).
8. Mahtuti, E. Y. (2022). *Identification Of Soil Transmitted Helminth Using Formol Ether Sedimentation And ZnSO4 Solution Flotation Methods* Identifikasi Soil Transmitted Helminth Menggunakan Metode Sedimentasi Formol Ether Dan Flotasi. 5(2), 68–73. <https://doi.org/10.21070/medicra.v5i2.1634>
9. Ray B. (2001). *Fundamental Food Microbiology*. Ed-2. CRC Press, New York.
10. K. S. Touw. (2014). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dominan Selama Fermentasi Tempe dan Evaluasi Potensinya sebagai Probiotik. IPB,
11. Syulasmi, A., Hamdiyati, Y., dan Kusnadi. (2005). Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
12. S. Deviani, Y. Haryani, and C. Jose. (2014). "Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik dari Air Muara Daerah Aliran Sungai Siak Wilayah Kabupaten Bengkalis," *JOM FMIPA*, vol. 1, pp. 78–88.
13. C. S. Utama, Zuprizal, C. Hanim, and Wihandoyo. (2018). "Isolasi dan

- Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi,” *J. Apl. Teknol. Pangan*, vol. 7, no. 1, pp. 1–6.
14. W. Rahmah, E. Nandini, S. S. Ressandy, and H. Hamzah. (2021). “Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Tape Singkong,” *J. Penelit. Farm. Indones.*, vol. 10 (1). pp. 1–5, 2021, [Online]. Available: <http://jurnal.radenfatah.ac.id/index.php/biota/article/view/538/488>.
 15. G. Priadi, F. Setiyoningrum, F. Afiati, R. Irzaldi, and P. Lisdiyanti. (2020). “Studi in Vitro Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Dari Makanan Fermentasi Indonesia,” *J. Teknol. dan Ind. Pangan*, vol. 31, no. 1, pp. 21–28, 2020, doi: 10.6066/jtip.2020.31.1.21.
 16. Maunatin A, & Khanifa. (2012). Uji Potensi Probiotic *Lactobacillus planetarium* Secara In Vitro. *Alchemy-J Chem 2* : 26-34. Doi 10.18860/11.v0i0.2298
 17. Ramirez-Chavarin, M.L., C.Wacher, C.A. Eslava-Campos and M.L. Prez-Chabela. (2013). Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *Int. Food research Journal* 20(2) : 991-1000
 18. Siegumfeldt H, Rechninger BK, Jacobsen M. (2000). Dynamic Changes of Intraceluller pH in Individual Lactic Acid Bacterium Cells in Response to A Rapid Drop in Extracelluler pH. *Appl. Environ. Microbiol* 66:2330-2335 17
 19. Nannen NL and Hutkins RW. (1991). Intracellular pH Effect in Lactic Acid Bacteria. *J. Dairy Sci* 74:741-746