

**KARAKTERISASI DAN ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)  
DARI *ECOENZYME* YANG DIBUAT MENGGUNAKAN BAHAN  
ORGANIK VARIASI LIMBAH KULIT JERUK**

**SKRIPSI**

*Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar  
Sarjana Sains*



**OLEH  
AZZAHRAH KHAIRUNNISA MARDHIYAH  
18032105 /2018**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
2022**

## PERSETUJUAN SKRIPSI

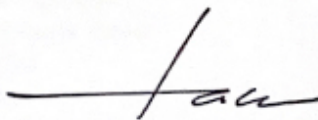
### KARAKTERISASI DAN ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI *ECOENZYME* YANG DIBUAT MENGGUNAKAN BAHAN ORGANIK VARIASI LIMBAH KULIT JERUK

Nama : Azzahrah Khairunnisa Mardhiyah  
NIM/TM : 18032105/2018  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

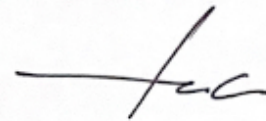
Padang, 11 Februari 2022

Diketahui oleh:  
Ketua Jurusan Biologi

Disetujui Oleh:  
Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed.  
NIP. 19750815 2006042 001



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed.  
NIP. 19750815 2006042 001

## PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Azzahrah Khairunnisa Mardhiyah  
NIM/TM : 18032105/2018  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

### **KARAKTERISASI DAN ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI *ECOENZYME* YANG DIBUAT MENGGUNAKAN BAHAN ORGANIK VARIASI LIMBAH KULIT JERUK**

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi  
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Padang

Padang, 17 Februari 2022

#### Tim Penguji

Nama  
1. Ketua : Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M. Biomed.  
2. Anggota : Dezi Handayani, S.Si., M.Si  
3. Anggota : Siska Alicia Farma, S.Pd, M.Biomed.

Tanda Tangan



## SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Azzahrah Khairunnisa Mardhiyah  
NIM/TM : 18032105/2018  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul “Karakterisasi dan Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari *Ecoenzyme* yang Dibuat Menggunakan Bahan Organik Variasi Limbah Kulit Jeruk” adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang ditulis dan diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 11 Februari 2022

Diketahui oleh,  
Ketua Jurusan Biologi

Saya yang menyatakan,

Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed.  
NIP. 19750815 2006042 001



Azzahrah Khairunnisa Mardhiyah  
NIM.18032105

# Karakterisasi dan Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari *Ecoenzyme* yang Dibuat Menggunakan Bahan Organik Variasi Limbah Kulit Jeruk

Azzahrah Khairunnisa Mardhiyah

## ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) memegang peranan penting dalam industri fermentasi, khususnya dalam menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba. Disamping itu, BAL juga berperan penting dalam pertanian karena mampu memproduksi IAA, siderofor dan aktivitas antagonis terhadap fitopatogen. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari produk fermentasi seperti *ecoenzyme*. Tujuan dari penelitian ini untuk mengisolasi BAL dari *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Bakteri asam laktat diisolasi dari *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk. Penentuan jenis BAL didasarkan pada ciri-ciri morfologi koloni makroskopis dan mikroskopis bakteri yang tumbuh pada medium selektif (MRS). Selanjutnya penentuan kerapatan BAL dihitung dengan metode *total plate count* (TPC). Pada penelitian ini juga diamati faktor yang mempengaruhi kerapatan BAL diantaranya adalah kerapatan total bakteri (dihitung dengan metode spektrofotometri dan TPC) dan faktor lingkungan fermentasi (suhu dan pH).

Penelitian ini berhasil mengisolasi sebanyak 24 isolat BAL dari *ecoenzyme* yang difermentasi selama 14 hari, dan 13 isolat BAL dari *ecoenzyme* yang difermentasi selama 100 hari. Terjadi penurunan kerapatan BAL pada fermentasi selama 100 hari, seperti halnya dengan kerapatan bakteri total. Faktor lingkungan yang mendukung terjadinya penurunan kerapatan BAL adalah kenaikan suhu dan penurunan pH medium fermentasi.

Kata Kunci : Bakteri Asam Laktat, *Ecoenzyme*, Isolasi

# **Characterization and Isolation of Lactic Acid Bacteria (LAB) from Ecoenzyme Made Using Various Organic Ingredients of Orange Peel Waste**

**Azzahrah Khairunnisa Mardhiyah**

## **ABSTRACT**

Lactic acid bacteria (LAB) play an important role in the fermentation industry, especially in producing compounds that have antimicrobial activity. In addition, LAB also plays an important role in agriculture because it can produce IAA, siderophore and antagonistic activity against phytopathogens. Lactic acid bacteria can be isolated from fermentation products such as ecoenzyme. The purpose of this study was to isolate LAB from ecoenzymes made using various organic materials from orange peel waste.

This research is a descriptive research. Lactic acid bacteria were isolated from ecoenzyme which was made using various organic materials from orange peel waste. The determination of LAB species was based on the morphological characteristics of macroscopic and microscopic bacteria growing on a selective medium (MRS). Furthermore, the determination of LAB density was calculated using the total plate count (TPC) method. This study also observed that the factors that influence the density of LAB include the total density of bacteria (calculated by spectrophotometry and TPC methods) and environmental factors of fermentation (temperature and pH).

This study succeeded in isolating 24 LAB isolates from ecoenzyme fermented for 14 days, and 13 LAB isolates from ecoenzyme fermented for 100 days. There was a decrease in LAB density in fermentation for 100 days, as was the case with total bacterial density. Environmental factors that support the decrease in LAB density are the increase in temperature and decrease in the pH of the fermentation medium

Keywords: Lactic Acid Bacteria, Ecoenzyme, Isolation

## KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Karakterisasi dan Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari *Ecoenzyme* yang Dibuat Menggunakan Bahan Organik Variasi Limbah Kulit Jeruk”** Shalawat beriring salam untuk Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M. Biomed. Sebagai ketua jurusan biologi serta sebagai pembimbing yang telah memberikan pikiran, waktu dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dezi Handayani, S.Si., M.Si, ibu Resti Fevria, S.TP, MP. dan ibu Siska Alicia Farma, S.Pd, M.Biomed. sebagai tim dosen penguji yang telah memberikan arahan serta saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Mades Fifendy, M.Biomed. sebagai pembimbing akademik (PA) yang telah membimbing dan memberi masukan selama perkuliahan.
4. Bapak/Ibu dosen staf jurusan biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kepada kedua orang tua tercinta yang telah memberikan doa dan dukungan finansial dan mental yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis.
6. Kepada saudara tersayang, Ahmad AUFAR Al khairi dan Ahmad Abrar Dhiya Ramadhan untuk doa dan dukungan yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis.
7. Semua teman-teman tim penelitian udin *squad* (Zima, Ica, Ferdian, Farel, Zia dan Afifah), terima kasih atas semua bantuan dukungan dan kerjasamanya.
8. Semua teman-teman tim penelitian *ecoenzyme* (Salma, Ayu, Raisa, Leo, Audy, Dina dan Sukma), terima kasih atas semua bantuan dukungan dan kerjasamanya.
9. Kepada teman (Nurul, Amalia dan Fina) yang telah menemani penulis selama perkuliahan.
10. Keluarga besar Biologi 2018 yang selalu memberikan dukungan serta doanya.
11. *Last but not least, I wanna thank me. I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work, I wanna thank me for never quitting, I wanna thank me for just being me at all times.*

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 11 Februari 2022

Penulis



## DAFTAR ISI

### Halaman

<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>SURAT PERNYATAAN</b>	
<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	5
D. Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A <i>Ecoenzyme</i> Bahan Organik Kulit Jeruk.....	7
B. Bakteri Asam Laktat (BAL) .....	11
C. Isolasi Bakteri .....	13
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b>	
A. Jenis Penelitian .....	16
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
C. Alat dan Bahan .....	16
D. Prosedur Penelitian .....	17
1. Persiapan penelitian .....	17
2. Pelaksanaan Penelitian .....	19
E. Analisis Data .....	26
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Penelitian.....	27
B. Pembahasan .....	35
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan .....	41
B. Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43
<b>LAMPIRAN</b> .....	49

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Kode dan Jenis Bahan Organik.....	17
2. Formulasi Komponen <i>Ecoenzyme</i> .....	20
3. Kerapatan BAL pada Medium MRS Agar .....	27
4. Karakteristik Morfologi Koloni BAL yang Diisolasi dari <i>Ecoenzyme</i> Fermentasi 14 Hari.....	29
5. Karakteristik Morfologi Koloni BAL yang Diisolasi dari <i>Ecoenzyme</i> Fermentasi 100 Hari.....	31
6. Bentuk Sel dan Jenis Gram Isolat Bakteri yang Diisolasi dari <i>Ecoenzyme</i> Fermentasi 14 Hari.....	32
7. Bentuk Sel dan Jenis Gram Isolat Bakteri yang Diisolasi dari <i>Ecoenzyme</i> Fermentasi 100 Hari.....	32

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Bentuk Sel Bakteri.....	15
2. Pola <i>spread plate</i> .....	22
3. Karakteristik Morfologi Bakteri .....	22
4. Pewarnaan Bakteri .....	23
5. Pewarnaan Bakteri Gram Positif dan bakteri Gram Negatif.....	24
6. Hasil Pengukuran Kerapatan Bakteri Total .....	33
7. Hasil Pengukuran Karakter Lingkungan <i>Ecoenzyme</i> .....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat di Medium MRS.....	49
2. Pengamatan Mikroskopis Bakteri dari <i>Ecoenzyme</i> Fermentasi 14 Hari	50
3. Pengamatan Mikroskopis Bakteri dari <i>Ecoenzyme</i> Fermentasi 100 Hari .....	52
4. Foto Hasil Isolasi Bakteri di Medium NA.....	53

# BAB I PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang

Bakteri asam laktat (BAL) memegang peranan penting dalam industri fermentasi karena menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba, anti-tumorigenik dan kemampuannya dalam memodulasi respon imun. Disamping itu, BAL juga berperan penting dalam pertanian karena mampu memproduksi IAA, siderofor dan aktivitas antagonis terhadap fitopatogen (Jagadeesh, 2015).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif, berbentuk basil atau kokus, tidak berspora dan bersifat fakultatif anaerob (Widyadnyana *et al.*, 2015). Bakteri ini mampu mengubah gula menjadi produk metabolit sekunder dan primer (Ismail, 2007). Menurut Daeschel (1989), BAL umumnya akan memecah karbohidrat untuk menghasilkan beberapa jenis asam organik.

Bakteri asam laktat dapat ditemukan pada lingkungan yang kaya akan karbohidrat. Di dalam tubuh manusia dan hewan, BAL merupakan bagian dari mikrobiota atau mikroflora normal yang secara alami menghuni saluran pencernaan dan urogenital (Florou-Paneri *et al.*, 2013). Selain itu, BAL juga dapat ditemukan pada berbagai jenis makanan baik produk fermentasi ataupun bahan alami termasuk *ecoenzyme* (Ismail, 2007).

*Ecoenzyme* adalah istilah untuk menyederhanakan berbagai jenis enzim yang dihasilkan dalam media fermentasi menggunakan limbah organik (Utpalasar, 2020). Selanjutnya, menurut Arun and Sivashanmugam (2015), *ecoenzyme* merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sisa sampah organik, gula, dan air.

Penelitian yang dilakukan oleh Arya (2019), melaporkan bahwa fermentasi *ecoenzyme* dapat menghasilkan sejumlah enzim penting, seperti Lipase, Tripsin, dan Amilase. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Mavani (2020), menunjukkan bahwa fermentasi bahan organik kulit buah-buahan mampu menghasilkan beberapa jenis senyawa fenolik seperti flavonoid, saponin, tanin dan lignin. Arun and Sivashanmugam (2015); Sambaraju and Lakshmi (2020) dan Arya (2019) juga melaporkan bahwa fermentasi *ecoenzyme* dapat menghasilkan beberapa asam organik penting seperti asam asetat, asam laktat, asam malat, asam oksalat dan asam sitrat.

Produksi asam organik selama fermentasi *ecoenzyme* akan ditentukan oleh jenis bakteri yang terlibat dalam fermentasi ini. Belum banyak ditemukan penelitian yang melakukan kajian mikrobiologi mengenai jenis-jenis bakteri yang terlibat dalam proses fermentasi *ecoenzyme*. Namun berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mavani *et al.*, (2020), melaporkan bahwa kondisi medium selama fermentasi *ecoenzyme* cenderung bersifat asam (pH sekitar 4). Dikaitkan dengan keberadaan mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi *ecoenzyme*, maka BAL merupakan salah satu bakteri yang dapat berperan penting selama fermentasi.

Proses fermentasi yang dilakukan oleh BAL dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti suhu, dan pH (Pelczar and Chan, 2005). Menurut Saripah (1983), semakin lama waktu fermentasi maka jumlah BAL juga makin meningkat. Meningkatnya jumlah BAL selama fermentasi, disebabkan karena kondisi substrat masih memungkinkan untuk berlangsungnya metabolisme BAL. Sebaliknya, terjadinya penurunan substrat dalam larutan fermentasi akan

menyebabkan penurunan jumlah bakteri (Kiani *et al.*, 2008). Selain menghasilkan asam organik, BAL juga menghasilkan senyawa-senyawa tertentu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Senyawa tersebut diantaranya  $H_2O_2$ , diasetil dan bakteriosin. Asam organik yang dihasilkan menyebabkan pH media menjadi rendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain (Daeschel, 1989).

Jenis bahan organik yang digunakan untuk fermentasi *ecoenzyme* juga akan mempengaruhi pertumbuhan BAL. Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi BAL dari berbagai sumber, seperti pada tomat (Fevria dan Hartanto, 2018), strawberry (Fevria dan Hartanto, 2019), mangga (Ibrahim *et al.*, 2015), cabai rawit (Rustan, 2013) dan susu kedelai (Yusmarini *et al.*, 2009). Secara umum fermentasi *ecoenzyme* melibatkan tiga komponen utama yaitu, bahan organik, sumber karbon dan air. Perbedaan bahan organik akan memberikan efek yang berbeda pada hasil konversi *ecoenzyme* yang dilakukan (Utpalasarini dan Dahliana, 2020). Salah satu bahan organik yang dapat digunakan untuk fermentasi *ecoenzyme* adalah kulit buah jeruk.

Indonesia merupakan negara tropis dimana berbagai jenis jeruk banyak dijumpai dan dibudidayakan. Bahkan beberapa jenis jeruk tersebut menjadi unggulan daerah maupun nasional seperti Jeruk Siam, Jeruk Gunung Omeh, dan Jeruk Manis Pasaman. Kulit buah jeruk merupakan salah satu sumber bahan organik yang menarik dalam pembuatan *ecoenzyme*, karena aroma yang khas, rasa yang tajam, sumber vitamin C dan nilai keasaman yang tinggi (Vama and Cherekar, 2020). Kulit buah jeruk juga mengandung karbohidrat berupa sukrosa, glukosa, fruktosa, dan lainnya. Selain itu, kandungan asam organik pada kulit

buah jeruk, seperti asam sitrat, asam malat, asam oksalat, dan asam suksinat dapat mendukung kondisi lingkungan yang cocok untuk proses fermentasi oleh BAL (Srimathi *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ricci *et al.*, (2019), kulit jeruk terbukti menjadi bahan organik yang cocok untuk pertumbuhan BAL dan fermentasi asam laktat. Fermentasi kulit buah jeruk telah menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap berbagai mikroorganisme. Setelah fermentasi, sifat antibakteri kulit buah jeruk lebih ditingkatkan karena fermentasi menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki senyawa yang bersifat fitokimia (Mavani *et al.*, 2020).

Untuk mengoptimalkan manfaat BAL maka perlu dilakukan penelitian ekstensif untuk mengeksplorasi BAL dari berbagai buah-buahan. Penelitian yang dilakukan oleh Bae *et al.*, (2006), berhasil mengisolasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dari jus anggur dan teruji memiliki aktivitas antimikroba. Selanjutnya penelitian 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. Selain itu, penelitian yang dilakukan Chen *et al.*, (2010), berhasil mengisolasi 10 strain *Weissella cibaria* dan 1 strain *Lactococcus lactis* dari buah murbei (*Morus australis*) yang memiliki kemampuan memproduksi bakteriosin. Belum ditemukan penelitian yang memaparkan mengenai isolasi dan identifikasi BAL pada *ecoenzyme* dari bahan organik kulit jeruk. Selain itu ketersediaan isolat BAL yang diisolasi dari sumber dalam negeri masih sangat terbatas, sehingga diperlukan eksplorasi untuk meningkatkan keragaman isolat BAL.



Berdasarkan kemungkinan adanya BAL yang terdapat pada *ecoenzyme* dan besarnya manfaat yang dihasilkan dari BAL, maka sudah dilakukan penelitian dengan judul “**Karakterisasi dan Isolasi Bakteri Asam Laktat dari *Ecoenzyme* yang Dibuat Menggunakan Bahan Organik Variasi Limbah Kulit Jeruk**”

### **B. Rumusan Masalah**

1. Bagaimana kerapatan BAL pada *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk?
2. Apakah dapat diisolasi BAL dari *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk?
3. Bagaimana kerapatan bakteri total pada *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk?
4. Bagaimana perubahan pH dan suhu pada proses fermentasi *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui kerapatan BAL pada *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk.
2. Untuk mengisolasi BAL dari *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk
3. Untuk mengetahui kerapatan bakteri total pada *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk.
4. Untuk mengetahui perubahan pH dan suhu pada proses fermentasi *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk.

#### **D. Manfaat Penelitian**

1. Mendapatkan informasi mengenai kerapatan bakteri total pada *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk.
2. Menambah ilmu dalam bidang mikrobiologi mengenai BAL yang terdapat pada *ecoenzyme* yang dibuat menggunakan bahan organik variasi limbah kulit jeruk.
3. Sebagai informasi dan bahan acuan awal untuk penelitian selanjutnya.