

Exploration of amylase-producing bacteria from eco-enzymes made from vegetable and fruit waste

Yuni Satitiningrum¹, Aulia Ulmillah^{1*}, Helmalia Putri²

¹Program Studi Biologi, Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung, Indonesia

*Corresponding author, email: aulia@radenintan.ac.id

Submitted:
26-07-2025

Accepted:
14-05-2026

Published:
21-05-2026

Abstract: An ecoenzyme solution obtained from the fermentation of organic materials using a mixture of water and sugar is recognized as a sustainable alternative for organic waste management. In addition to reducing the accumulation of organic waste, this fermentation product also has the potential to serve as a habitat for various types of microorganisms that can be utilized as producers of industrially valuable enzymes. One enzyme that plays a crucial role is amylase, as its applications are extensive across the food, textile, and bioenergy production industries. This study was conducted to isolate amylase-producing bacteria from an ecoenzyme solution derived from a mixture of fruit and vegetable waste, while also analyzing the amylolytic index of the successfully isolated strains. This study employed a quantitative approach. Bacterial isolation was conducted using the pour plate technique on Nutrient Agar media, followed by qualitative screening of amylolytic activity on Soluble Starch Agar (SSA) medium using iodine solution. The amylolytic index was calculated based on the ratio between the diameter of the clear zone and the diameter of the bacterial colony. The findings revealed that 14 bacterial isolates were successfully obtained from the eco-enzyme solution. Among these isolates, 10 demonstrated positive amylolytic activity characterized by the formation of clear zones surrounding the colonies, while 4 isolates showed no amylolytic activity. The highest amylolytic index was observed in isolate CP82 with a value of 2.33. Overall, the results indicate that eco-enzyme solutions produced from mixed vegetable and fruit waste possess considerable potential as a source of amylase-producing bacteria.

Keywords: Amylolytic index, bacterial isolation, eco-enzyme, organic waste

Abstrak: Larutan ekoenzim yang diperoleh dari proses fermentasi bahan organik menggunakan campuran air dan gula dikenal sebagai alternatif berkelanjutan dalam pengelolaan limbah organik. Selain mampu menekan akumulasi sampah organik, produk fermentasi ini juga berpotensi menjadi habitat berbagai jenis mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim bernilai industri. Salah satu enzim yang memiliki peranan penting ialah amilase, karena pemanfaatannya sangat luas pada industri pangan, tekstil, hingga produksi bioenergi. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri penghasil amilase yang berasal dari larutan ekoenzim berbahan campuran limbah buah dan sayuran, sekaligus menganalisis nilai indeks amilolitik dari isolat yang berhasil diperoleh. Penelitian ini menerapkan pendekatan kuantitatif. Prosedur isolasi dilakukan dengan metode pour plate pada media Nutrient Agar, dilanjutkan dengan uji amilolitik kualitatif menggunakan media *Soluble Starch Agar* (SSA) dengan larutan yodium. Indeks amilolitik didefinisikan sebagai rasio antara diameter zona jernih dan diameter koloni bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari larutan *eco-enzyme* yang digunakan, berhasil diisolasi 14 isolat bakteri. Sekitar 10 isolat menunjukkan aktivitas amilolitik positif yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni, sedangkan 4 isolat menunjukkan hasil negatif. Isolat dengan indeks amilolitik tertinggi diperoleh dari kode CP82 dengan nilai 2,33. Penelitian ini menunjukkan bahwa larutan *eco-enzyme* yang dibuat dari campuran limbah sayur dan buah memiliki potensi sebagai sumber isolat bakteri penghasil amilase.

Kata kunci: Indeks amilolitik, isolasi bakteri, enzim ekologis, limbah organik

PENDAHULUAN

Limbah organik rumah tangga, terutama yang berasal dari sisa sayur dan buah, masih menjadi permasalahan lingkungan yang cukup besar di Indonesia. Berdasarkan data Sistem Informasi Pengelolaan Sampah Nasional (SIPSN) tahun 2023, sekitar 41% sampah nasional didominasi oleh sisa makanan yang sebagian besar berupa limbah sayur dan buah (Parbuntari et al., 2023). Jenis limbah ini mudah mengalami pembusukan sehingga menimbulkan bau tidak sedap dan dapat mencemari lingkungan melalui pelepasan gas rumah kaca, seperti metana. Apabila tidak dikelola dengan baik, penumpukan limbah organik juga dapat menjadi tempat berkembangnya mikroorganisme patogen yang memicu berbagai penyakit, seperti diare, kolera, disentri, tifoid, dan infeksi kulit (Hartoyo et al., 2023; Salawati et al., 2020). Selain berdampak pada kesehatan, kondisi tersebut turut memperparah perubahan iklim akibat meningkatnya emisi gas rumah kaca (Herlina et al., 2022). Oleh karena itu, diperlukan upaya pengelolaan yang lebih efektif dan berkelanjutan, salah satunya melalui pendekatan *organic waste bioconversion*, yaitu pemanfaatan aktivitas mikroorganisme untuk mengubah limbah organik menjadi produk yang lebih bernilai.

Salah satu bentuk pemanfaatan limbah organik yang ramah lingkungan adalah pembuatan ekoenzim. Ekoenzim merupakan cairan hasil fermentasi limbah organik, seperti sisa sayuran dan buah-buahan, yang dicampur dengan sumber gula, misalnya gula merah atau molase (Dedu et al., 2023). Fermentasi ini menjadi salah satu contoh sederhana proses biokonversi limbah organik karena melibatkan aktivitas mikroba dalam mengubah bahan buangan menjadi produk yang bermanfaat. Selama ini ekoenzim lebih dikenal sebagai pupuk cair organik dan disinfektan alami, namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekoenzim juga mengandung berbagai mikroorganisme potensial, termasuk bakteri penghasil enzim industri seperti amilase (Rita Noveriza & Melati, 2022). Amilase sendiri merupakan enzim yang berperan dalam menguraikan pati menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti glukosa dan maltosa (Suyanto et al., 2022). Karena kemampuannya tersebut, amilase banyak dimanfaatkan dalam industri pangan, tekstil, deterjen, hingga bioenergi.

Kebutuhan amilase di Indonesia terus meningkat seiring berkembangnya berbagai sektor industri yang menggunakan proses hidrolisis pati dalam produksinya. Industri makanan, tekstil, deterjen, dan bioenergi memanfaatkan enzim ini untuk membantu mengubah pati menjadi gula sederhana yang kemudian digunakan sebagai bahan baku maupun pendukung proses produksi. Namun hingga kini masih banyak bergantung pada impor karena terbatasnya produksi lokal. Oleh karena itu, eksplorasi sumber bakteri penghasil amilase dari bahan lokal yang murah dan berlimpah menjadi langkah strategis. Dalam kerangka *organic waste bioconversion*, ekoenzim yang dihasilkan dari limbah campuran sayur dan buah berpotensi menjadi sumber mikroorganisme unggul yang mampu mengonversi bahan organik menjadi produk bernilai ekonomi tinggi. Limbah organik, terutama dari sisa sayur dan buah, memiliki potensi besar untuk diolah menjadi ekoenzim,

yang dapat mendukung pertanian dan mengurangi masalah limbah di masyarakat (Dedu et al., 2023; Hartoyo et al., 2023; Nurhamidah et al., 2021).

Sebagian besar penelitian sebelumnya menggunakan limbah kulit buah sebagai bahan utama pembuatan ekoenzim dan menerapkan metode streak plate untuk isolasi bakteri. Pada penelitian ini, digunakan campuran limbah sayur dan buah karena dinilai lebih mencerminkan kondisi nyata limbah organik rumah tangga yang umumnya bersifat beragam dan kompleks. Keanekaragaman bahan organik tersebut diperkirakan mampu mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang lebih bervariasi dibandingkan penggunaan satu jenis substrat saja. Selain perbedaan bahan baku, penelitian ini juga menggunakan metode pour plate dalam proses isolasi bakteri. Metode tersebut dilakukan dengan menambahkan 1 mL sampel hasil pengenceran ke dalam cawan petri steril, kemudian dicampurkan dengan media Nutrient Agar cair steril bersuhu sekitar 45–50°C, dihomogenkan, lalu diinkubasi hingga koloni tumbuh. Teknik ini memungkinkan bakteri tumbuh tidak hanya pada permukaan media, tetapi juga di dalam media, sehingga koloni yang terbentuk lebih mudah dipisahkan dan dihitung secara jelas (Cappuccino & Sherman 2014; Madigan et al. 2018).

Nilai kebaruan penelitian ini terletak pada penggunaan substrat campuran limbah sayur dan buah yang lebih aplikatif untuk menggambarkan limbah domestik sehari-hari, serta penggunaan metode isolasi yang berbeda dibandingkan penelitian terdahulu. Penelitian ini juga mendukung pengembangan konsep biokonversi limbah organik sebagai pendekatan pengelolaan limbah yang berkelanjutan melalui pemanfaatan mikroorganisme lokal penghasil enzim industri. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan produksi enzim lokal sekaligus menjadi alternatif pengelolaan limbah organik yang lebih ramah lingkungan. Selain itu, penelitian ini juga sejalan dengan Sustainable Development Goals (SDGs) poin ke-12 mengenai konsumsi dan produksi yang bertanggung jawab. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi bakteri dari larutan ekoenzim berbahan limbah campuran sayur dan buah serta menguji kemampuannya dalam menghasilkan enzim amilase melalui pengukuran indeks amilolitik.

METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Maret 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Raden Intan Lampung. Penelitian menggunakan pendekatan kuantitatif dengan metode deskriptif laboratorium untuk menggambarkan hasil pengamatan secara sistematis. Adapun tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi:

Pembuatan larutan ekoenzim

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan ekoenzim meliputi botol berkapasitas 1L beserta tutup, timbangan digital, karet gelang, plastik, pena, pisau, jarum pentul, serta label. Bahan yang digunakan terdiri atas 800 mL air, 80 g gula merah, dan 240 g limbah organik yang berasal dari 120 g sayuran (kol dan kangkung) dan 120 g buah-buahan (mangga

dan jeruk). Pembuatan ekoenzim dilakukan dengan pemotongan limbah organik berupa sayur/buah, penimbangan gula merah limbah organik air dengan perbandingan 1:3:10 (80 g molase: 240 g limbah organik: 800 mL air) (Junaidi et al., 2021; Patrisyawati et al., 2024). Air molase limbah organik dimasukkan dalam botol berkapasitas 1.500 mL dan ditutup rapat. Botol fermentasi selanjutnya ditutup memakai plastik yang direkatkan menggunakan karet gelang. Beberapa jarum pentul, sekitar 3–4 buah, dipasang pada bagian plastik untuk membantu keluarnya gas hasil fermentasi. Pada badan botol ditempelkan label yang berisi informasi tanggal pembuatan dan waktu panen ekoenzim. Setelah fermentasi berlangsung selama satu minggu, penutup botol diganti agar proses fermentasi tetap optimal. Larutan ekoenzim kemudian didiamkan hingga mencapai masa panen setelah tiga bulan fermentasi (Patrisyawati et al., 2024).

Pembuatan media isolasi bakteri amilolitik

Media untuk isolasi bakteri amilolitik dibuat menggunakan starch agar yang diperkaya dengan pati sebanyak 1% (b/v). Aktivitas hidrolisis pati diamati setelah media ditetesi larutan iodin sebagai indikator. Koloni bakteri yang mampu memproduksi enzim amilase akan membentuk zona bening di sekeliling koloni karena pati pada media telah terurai. Sebaliknya, bagian media yang tidak mengalami hidrolisis akan berubah menjadi warna biru keunguan akibat reaksi antara pati dan iodin. Dengan demikian, kemampuan amilolitik bakteri dapat dikenali melalui terbentuknya zona jernih di sekitar koloni. Penggunaan media pati yang diperkaya dinilai efektif untuk mendeteksi aktivitas amilase berdasarkan perubahan warna yang muncul pada media kultur (Sari et al., 2023; Susilawati et al., 2022).

Pengenceran

Tahap pengenceran dilakukan secara aseptik dengan memasukkan 1 mL larutan ekoenzim ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 mL akuades steril. Pengenceran serial kemudian dilakukan bertahap mulai dari 10^{-1} hingga 10^{-8} dengan memindahkan 1 mL suspensi ke tabung berikutnya yang juga berisi 9 mL akuades steril. Setiap tabung ditutup rapat untuk mencegah terjadinya kontaminasi dari bakteri lain. Seluruh proses pengenceran dilakukan sebagai bagian dari metode pour plate. Penggunaan teknik pour plate dinilai lebih efektif karena mampu menghasilkan jumlah koloni bakteri yang lebih banyak dan memberikan hasil pengamatan yang lebih akurat dibandingkan metode streak plate dalam isolasi bakteri amilolitik (Haqq et al., 2022; Sari et al., 2023).

Isolasi bakteri

Pembuatan media Nutrient Agar (NA) dilakukan dengan menimbang sebanyak 5,6 g serbuk NA, kemudian melarutkannya ke dalam 200 mL akuades steril dalam erlenmeyer hingga homogen sebelum digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri. Larutan ditaruh di atas kompor sambil diaduk, panaskan sampai larutan menjadi bening. Larutan yang telah

bening didinginkan sampai suam-suam kuku kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk disterilkan, panaskan selama 1 jam. Isolasi bakteri dalam penelitian dilakukan dengan satu teknik, yakni *Pour Plate Method*. Dari masing-masing penguji 10^{-7} ditempuh 1 mL suspensi yang diambil dan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Proses pengenceran yang dilakukan dalam kondisi steril, setiap langkah dilakukan untuk mencegah kontaminasi silang, adalah kunci untuk keberhasilan isolasi bakteri berkualitas tinggi (Ramlan & Masrianih, 2022; Susilawati et al., 2022). Larutan Nutrient Agar yang sudah didinginkan sampai $\pm 45^{\circ}\text{C}$ dituang ke dalam cawan tersebut. Cawan petri yang telah memadat selanjutnya dibalut menggunakan kertas HVS atau kertas buram, kemudian disimpan pada suhu ruang selama 24 jam untuk proses inkubasi.

Pembuatan agar pati (*Starch Agar*)

Sebanyak 200 mL akuades, 5,6 g Nutrient Agar (Himedia), dan 2 g Soluble Starch terlebih dahulu dipersiapkan sebagai bahan pembuatan media. Akuades dan Nutrient Agar dimasukkan ke dalam erlenmeyer berukuran 500 mL, lalu dipanaskan sambil diaduk secara perlahan menggunakan spatula hingga seluruh media larut secara sempurna. Setelah larutan Nutrient Agar homogen, Soluble Starch ditambahkan dan campuran kembali diaduk sampai seluruh komponen tercampur merata. Media yang telah homogen kemudian didiamkan beberapa saat hingga suhunya menjadi hangat. Tahap sterilisasi selanjutnya dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Proses tersebut dilakukan agar seluruh mikroorganisme kontaminan dapat dieliminasi sehingga media yang diperoleh berada dalam kondisi steril dan layak digunakan untuk inokulasi bakteri amilolitik. Setelah sterilisasi selesai dilakukan, media dituangkan secara merata ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 20 mL dan dibiarkan hingga memadat. Cawan petri yang telah berisi media kemudian dibungkus menggunakan kertas HVS dan kembali diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk memastikan tidak terdapat kontaminasi mikroba pada media.

Skrining bakteri amilase

Setelah proses inkubasi selama 24 jam selesai dilakukan, isolat bakteri yang tumbuh pada media Nutrient Agar diambil untuk dilakukan pemurnian menggunakan metode four-way streak pada media Starch Agar. Media yang telah diinokulasikan kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah masa inkubasi berakhir, pengujian aktivitas amilolitik dilakukan dengan menambahkan larutan iodin 1% pada permukaan media. Aktivitas enzim amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening tersebut diamati setelah penambahan larutan iodin sebagai indikator kemampuan bakteri dalam menghidrolisis pati. Kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan enzim amilase selanjutnya ditentukan melalui perhitungan indeks amilolitik, yaitu berdasarkan perbandingan antara diameter zona bening dan diameter koloni bakteri.

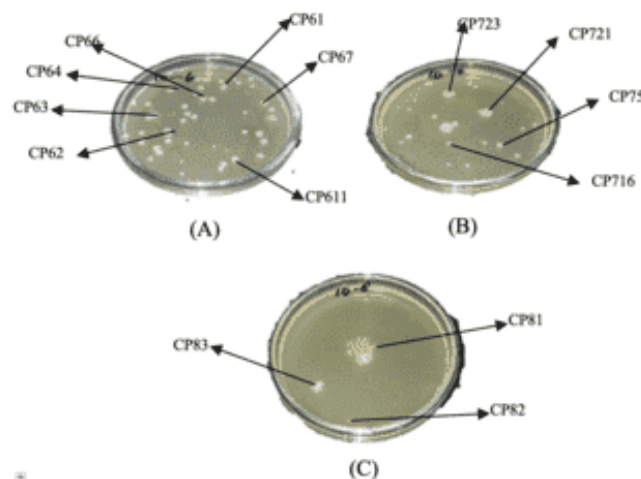
Perhitungan indeks amilolitik

Indeks amilolitik dihitung menggunakan rumus (Sundari et al., 2019):

$$\text{Indeks Amilolitik} = \frac{\text{Diameter total zona bening}}{\text{Diameter koloni bakteri}} \quad (1)$$

HASIL DAN DISKUSI



























Hasil isolasi bakteri pada berbagai tingkat pengenceran ditunjukkan pada Gambar 1, yang memperlihatkan pertumbuhan koloni pada pengenceran 10^{-6} hingga 10^{-8} . Perbedaan tingkat kerapatan dan distribusi koloni pada masing-masing pengenceran memberikan gambaran efektivitas metode pengenceran dalam memperoleh isolat bakteri yang terpisah dengan baik



Gambar 1. Hasil isolasi dari pengenceran 10^{-6} hingga 10^{-8} . [A] 10^{-6} ; [B] 10^{-7} ; [C] 10^{-8}

Berdasarkan Gambar 1, diperoleh 14 isolat bakteri dari larutan ekoenzim yang telah difermentasi. Isolat-isolat tersebut kemudian dipisahkan dan dimurnikan untuk memastikan bahwa bakteri yang diperoleh benar-benar berasal dari larutan ekoenzim dan tidak tercampur dengan mikroorganisme lain. Proses pemurnian dilakukan menggunakan teknik four-way streak pada media agar, yaitu metode yang umum digunakan dalam mikrobiologi untuk mendapatkan koloni bakteri tunggal yang murni (Abna & Puspitalena, 2023). Setelah itu, pengujian aktivitas amilolitik dilakukan dengan menambahkan larutan iodine pada media yang mengandung pati. Aktivitas amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri akibat hidrolisis pati oleh enzim yang dihasilkan bakteri (Wodi et al., 2019). Selain pengujian aktivitas amilolitik, setiap isolat juga diamati karakter morfologinya pada media Nutrient Agar. Pengamatan meliputi bentuk koloni, bentuk tepi, elevasi, dan warna koloni untuk mengetahui karakteristik masing-masing isolat bakteri (Pratiwi & Asri, 2022).

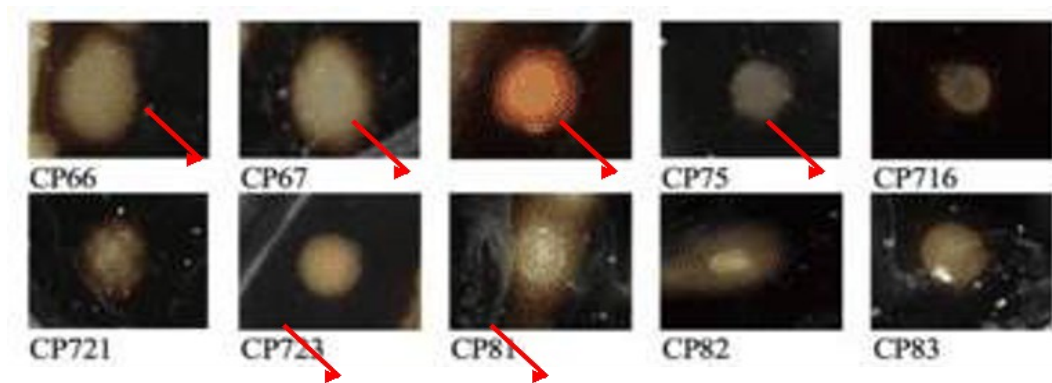
Tabel 1. Pengamatan morfologi isolasi bakteri

Pengamatan Morfologi Koloni								
No	Pengenceran	Kode Isolat	Bentuk	Pinggiran	Elevasi	Warna	Gambar Penelitian	Gambar Referensi (Sumber: Megananda, 2021)
1.	10 ⁻⁶	CP61	Tidak beraturan	Bergelombang	Menonjol	Putih		
		CP62	Tidak beraturan	Bergelombang	Datar	Putih		
		CP63	Tidak beraturan	Bergerigi	Cembung	Putih		
		CP64	Lingkaran	Utuh	Menonjol	Putih		
		CP66	Lingkaran	Utuh	Datar	Putih		
		CP67	Lingkaran	lobus	Menonjol	Putih		
		CP611	Lingkaran	Bergelombang	Menonjol	Putih		
2.	10 ⁻⁷	CP75	Lingkaran	Utuh	Cembung	Putih		
		CP716	Tidak beraturan	Bergelombang	Datar	Putih		
		CP721	Tidak beraturan	Utuh	Menonjol	Putih		
		CP723	Tidak beraturan	Bergelombang	Cembung	Putih		
3.	10 ⁻⁸	CP81	Tidak beraturan	lobus	Menonjol	Putih		
		CP82	Lingkaran	Bergerigi	Menonjol	Putih		
		CP83	Lingkaran	Bergelombang	Datar	Putih		

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sebagian besar isolat memiliki bentuk koloni bulat dan tidak beraturan. Bentuk tepi koloni yang ditemukan meliputi entire, undulate, dan lobate (Tabel 1). Warna koloni umumnya putih, meskipun beberapa isolat tampak berwarna kekuningan. Sementara itu, tipe elevasi yang paling banyak ditemukan yaitu raised dan flat, serta sebagian lainnya berbentuk convex. Perbedaan morfologi antar isolat tersebut

menunjukkan bahwa larutan ekoenzim dari campuran limbah sayur dan buah mengandung beragam jenis bakteri dengan karakteristik yang berbeda-beda. Ini menunjukkan bahwa isolat bakteri dengan ciri morfologi tertentu dapat ditemukan dalam substrat organik yang telah difermentasi. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Cepeda et al., (2020) bahwa substrat organik yang difermentasi dapat mengandung banyak jenis bakteri. Ciri-ciri ini dapat diidentifikasi secara biokimia dan molekuler untuk menentukan genus atau spesies (Yanti, 2022). Hasil ini juga menjadi dasar penting dalam seleksi isolat untuk pengujian lanjutan yang berkaitan dengan aktivitas enzimatik, terutama amilolitik. Sifat morfologi bakteri dapat berubah sebagai tanggapan terhadap berbagai kondisi lingkungan. Bakteri dapat menghasilkan enzim yang stabil jika tumbuh di lingkungan yang memiliki nutrisi dan kondisi fisik yang baik. Salah satu faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah nutrisi, baik organik maupun anorganik. Selain itu, suhu yang stabil secara fisik membantu metabolisme dan aktivitas pertumbuhan mikroorganisme. Untuk proses identifikasi, ciri-ciri morfologi koloni bakteri seperti bentuk, ukuran, warna, tepi, dan elevasi digunakan.

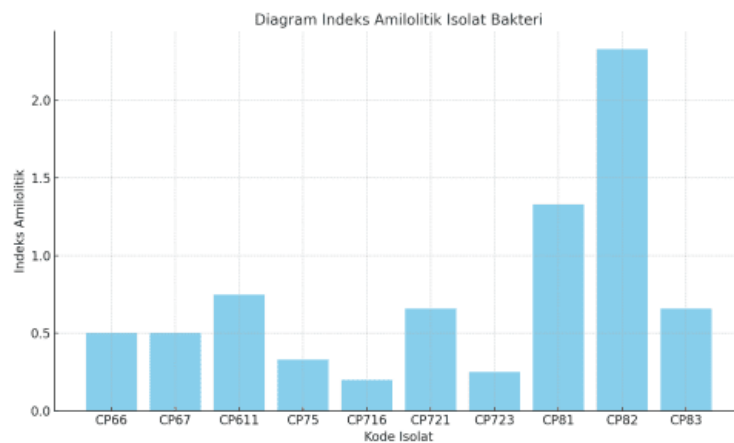
Bakteri diisolasi untuk mendapatkan biakan murni dari koloni tunggal untuk mempermudah identifikasi. Salah satu metode yang paling umum digunakan dalam isolasi adalah metode *Total Plate Count* (TPC), juga dikenal sebagai hitung cawan, yang bertujuan untuk mengetahui berapa banyak koloni bakteri dalam satuan pembentukan koloni (CFU). Nilai CFU diperoleh dari hasil pengenceran bertingkat terhadap sampel (Handayani et al., 2023), dan hanya digunakan pada cawan dengan jumlah koloni antara tiga puluh hingga tiga ratus, sehingga mengurangi kesalahan dalam menghitung jumlah bakteri (Nuritasari et al., 2017).



Gambar 2. Hasil uji positif isolat bakteri (tanda panah menunjukkan zona bening)

Aktivitas amilase pada isolat ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media yang mengandung pati setelah penambahan larutan iodine. Zona bening tersebut menjadi indikator bahwa pati telah terhidrolisis oleh enzim amilase yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Dari 14 isolat yang diuji, sebanyak 10 isolat menunjukkan aktivitas amilolitik positif (Gambar 2). Keberhasilan isolasi ini menunjukkan bahwa larutan ekoenzim merupakan medium yang potensial sebagai sumber mikroorganisme penghasil enzim. Isolat

bakteri menunjukkan hasil uji amilase positif, yang menunjukkan bahwa zona bening terbentuk di sekitar koloni yang mengindikasikan bahwa isolat tersebut mampu menghidrolisis pati. Empat isolat lainnya menunjukkan hasil negatif. Hal ini terlihat karena tidak adanya zona bening di sekitar koloni medium agar yang mengandung pati. Setelah medium ditetesi dengan larutan iodin, medium menjadi biru-ungu gelap tanpa zona bening (Irsyadah & Santosa, 2023; Susilawati et al., 2022). Tidak terdapat perubahan warna di sekitar koloni, yang menunjukkan bahwa pati tidak mengalami hidrolisis. Hal ini mengindikasikan bahwa mikroorganisme tersebut tidak menghasilkan enzim amilase atau enzim yang dihasilkan tidak aktif. Substrat fermentasi limbah organik mengandung keragaman mikroorganisme yang mampu memproduksi enzim-enzim ekstraseluler, termasuk amilase (Ramadhan & Wikandari, 2021; Rotua Silitonga et al., 2020). Proses fermentasi yang berlangsung selama tiga bulan pada pembuatan ekoenzim memungkinkan perkembangan populasi mikroba amilolitik, terutama dari genus *Bacillus*, yang diketahui umum ditemukan pada substrat organik dan memiliki kemampuan memproduksi amilase secara signifikan (Istia'nah et al., 2020; Maftukhah, 2020).



Gambar 3 Indeks amilolitik isolasi bakteri

Gambar 3 menunjukkan indeks amilolitik tertinggi dihasilkan oleh isolat CP82 dengan perolehan nilai indeks sebesar 2,33 menunjukkan kemampuannya dalam mendegradasi amilum secara efisien. Terbentuknya zona bening luas di sekitar koloni pada media SSA setelah penambahan larutan iodin 1% menjadi indikator utama dari aktivitas enzim amilase yang tinggi. Semakin luas zona bening yang terbentuk, maka semakin tinggi pula aktivitas amilolitik dari bakteri tersebut (Ramadhan & Wikandari, 2021). Oleh sebab itu, isolat CP82 merupakan kandidat unggulan untuk pengembangan enzim amilase lokal dalam skala industri di sektor pangan, bioenergi, dan tekstil. Adapun aktivitas amilolitik ekoenzim dari limbah kulit buah jeruk dan kulit pisang pada indeks masing- masing 1,77 dan 1,97 (Susilawati et al., 2022), yang lebih rendah apalagi dibandingkan dengan indeks CP82, menguatkan potensi yang lebih besar bakteri dari limbah organik hasil komposisi limbah campuran buah dan sayur potensi lebih besar. Selain itu, CP81 1,33, CP611 0,75, CP721, dan

CP83 0,66 juga menunjukkan aktivitas positif hingga turun tingkat. Di samping itu, CP716 0,2 dan CP723 0,25 memiliki zona bening sempit atau tidak signifikan, yang berarti aktivitas enzim rendah. Hal ini menunjukkan zona bening sempit, mencerminkan perbedaan dalam ekspresi genetik masing-masing isolat. Hasil pengamatan setelah penambahan iodine yang tidak menunjukkan perubahan warna di sekitar koloni mendukung bahwa kondisi substrat memengaruhi kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim amilase (Hidayati et al., 2020; Irsyadah & Santosa, 2023).

Heterogenitas metabolik di antara isolat bakteri menjelaskan variasi aktivitas amilolitik yang teramati, yang dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti variasi spesies, strain, dan kondisi pertumbuhan (Hidayat & Fajariningtyas, 2021). Zona bening di sekitar koloni setelah penambahan iodine mengindikasikan amilum di media SSA telah terhidrolisis menjadi dekstrin, maltosa, dan glukosa sebagai hasil enzim amilase. Enzim ini dipengaruhi oleh konsentrasi, struktur konformasi, serta komposisi asam amino penyusunnya (Ramadhan & Wikandari, 2021). Variasi dari pH dan suhu mempengaruhi aktivitas amilase yang dihasilkan oleh bakteri, yang relevan untuk memahami kondisi optimum bagi fermentasi dan produksi enzim tersebut (Oktavia et al., 2018).

Indeks amilolitik yang dihasilkan oleh rasio diameter zona bening terhadap diameter koloni setelah 24 jam inkubasi merupakan metode seleksi secara kualitatif untuk menilai kemampuan bakteri menghidrolisis pati. Enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri merupakan ekstraseluler karena bakteri mengeluarkan enzim keluar dari sel untuk menelusurkan substrat di lingkungan eksternal. Faktor substrat cair berkontribusi pada perbedaan aktivitas enzim yang dihasilkan (Oktavia et al., 2018). Campuran limbah yang mencakup kol, kangkung, mangga, dan jeruk menciptakan kondisi nutrisi yang tidak diinginkan dan mendukung pertumbuhan mikroorganisme penghasil enzim. Sejalan dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa residu limbah organik dapat mendukung pertumbuhan bakteri penghasil amilase (Wahyuni et al., 2015). Variasi karbon sumber dalam substrat mempengaruhi jenis mikroba dan aktivitas enzimatisnya. Teknik yang digunakan dalam isolasi bakteri telah diuji dalam memperoleh koloni tunggal dengan cara aseptik dan memudahkan produksi jumlah koloni. Media SSA telah digunakan sebagai indikator kualitatif aktivitas enzim amilase karena menunjukkan zona bening setelah ditetesi iodine. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ekoenzim dari limbah organik rumah tangga berpotensi sebagai sumber bakteri penghasil enzim industri. Isolat CP82 memperlihatkan aktivitas amilolitik yang tinggi dan perlu untuk dilakukan karakterisasi molekular dan uji lanjutan.

KESIMPULAN

Berdasarkan larutan ekoenzim yang digunakan, berhasil diisolasi sebanyak 14 isolat bakteri. Sebanyak 10 isolat menunjukkan aktivitas amilolitik dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni, sedangkan 4 isolat menunjukkan hasil negatif. Isolat dengan indeks amilolitik tertinggi diperoleh pada kode CP82 dengan nilai 2,33. Penelitian ini menunjukkan

bahwa larutan ekoenzim berbahan limbah campuran sayur dan buah memiliki potensi sebagai sumber isolat bakteri penghasil amilase. Hal ini membuka peluang pemanfaatan limbah organik sebagai bahan dasar bioteknologi yang mendukung pengelolaan lingkungan berkelanjutan dan produksi enzim lokal bernilai ekonomi.

RERERENSI

- Abna, I. M., & Puspitalena, A. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kelurahan Cengkareng Barat Jakarta Barat. *Archives Pharmacia*, 5(1), 23-34. <https://doi.org/10.47007/ap.v5i1.6335>
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual* (10th ed.). Pearson.
- Cepeda, G. N., Lisangan, M. M., Silamba, I., Nilawati, N., & Syartika, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Kulit Kayu Akway (*Drimys piperita* Hook f.) Pada Bakso Daging Sapi Selama Penyimpanan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 9(2), 50–56. <https://doi.org/10.17728/jatp.6097>
- Dedu, M. O., Purnomo, S. C., Seran, V. L., Jihanto, M. V. N., Listiyanto, Z., Dhamayanti, K. I., Yuniwati, M., & Setyaningsih, E. (2023). Peningkatan Ekonomi Sirkular melalui Pelatihan Pembuatan Ekoenzim dan Produk Turunan Ekoenzim di Kelurahan Klitren Daerah Istimewa Yogyakarta. *Inovasi Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(3), 317–326. <https://doi.org/10.54082/ijpm.240>
- Handayani, N., Sabdaningsih, A., Jati, O. E., & Ayuningrum, D. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Akar *Avicennia marina* di Kawasan Mangrove Pantai Tirang, Semarang. *Jurnal Pasir Laut*, 7(2), 68–73. <https://doi.org/10.14710/jpl.2023.59064>
- Haqq, I. M., Dewi, R. S., Mumpuni, A., Hikam, A. R., & Yulianti, D. M. (2022). Identifikasi dan Uji Potensi Amilolitik Isolat Jamur Pendegradasi Sampah Organik. *BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 4(1), 19. <https://doi.org/10.20884/1.bioe.2022.4.1.4748>
- Hartoyo, A. P. P., Istomo, & Rahaju, S. (2023). Aplikasi Ekoenzim untuk Peningkatan Pertumbuhan Tanaman pada Sistem Agroforestri Jati di Desa Sugihwaras, Magetan, Jawa Timur. *Jurnal Pusat Inovasi Masyarakat (PIM)*, 5(2), 168–182. <https://doi.org/10.29244/jpim.5.2.168-182>
- Herlina, M., Syahfitri, J., Lubis, R., Fitriani, A., & Nopriyeni, N. (2022). Sosialisasi dan Praktek Teknik Pengolahan Sampah Rumah Tangga Menjadi Pupuk Organik Cair (POC). *Surya Abdimas*, 6(2), 209–217. <https://doi.org/10.37729/abdimas.v6i2.1410>
- Hidayat, J. N., & Fajariningtyas, D. A. (2021). Isolasi Bakteri Amilolitik dari Ragi. *LENSA (Lentera Sains): Jurnal Pendidikan IPA*, 3(2), 39–42. <https://doi.org/10.24929/lensa.v3i2.1260>
- Hidayati, W., Maharadingga, M., & Syahputra, R. (2020). Potensi Kapang Endofit Belimbing Wuluh sebagai Kandidat Penghasil Senyawa Antidiabetes. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 9(1), 35–46. <https://doi.org/10.22435/jbmi.v9i1.3897>

- Irsyadah, N., & Santosa, S. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik, Proteolitik dari Tanah Perkebunan Pepaya dengan Serangan Hama Kutu Putih (*Paracoccus Marginatus*) di Kebumen. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 13(1), 86–92. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v13n1.p86-92>
- Istia'nah, D., Utami, U., & Barizi, A. (2020). Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya*, 2(1), 11. <https://doi.org/10.26740/jrba.v2n1.p11-17>
- Junaidi, R. J., Zaini, M., Ramadhan, R., Hasan, M., Ranti, B. Y. Z. B., Firmansyah, M. W., Umayasari, S., Sulisty, A., Aprilia, R. D., & Hardiansyah, F. (2021). Pembuatan Eco-Enzyme sebagai Solusi Pengolahan Limbah Rumah Tangga. *Jurnal Pembelajaran Pemberdayaan Masyarakat (JP2M)*, 2(2), 118. <https://doi.org/10.33474/jp2m.v2i2.10760>
- Kandowangko, N. Y., Ahmad, M., Ibrahim, M., & Febriyanti. (2024). Pemberdayaan Masyarakat Desa Bihe, Kabupaten Gorontalo melalui Diversifikasi Kelapa Menjadi Virgin Coconut Oil dan Cocopeat. *Agrokreatif: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, 10(2), 175–182. <https://doi.org/10.29244/agrokreatif.10.2.175-182>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- Maftukhah, S. (2020). Aplikasi *Bacillus* sp Pada Produksi Enzim Menggunakan Metode Fermentasi Padat - Review. *UNISTEK*, 7(1), 6–9. <https://doi.org/10.33592/unistek.v7i1.471>
- Nurhamidah, N., Amida, N., Rohiat, S., & Elvinawati, E. (2021). Pengolahan Sampah Organik Menjadi Eco-Enzyme pada Level Rumah Tangga menuju Konsep Eco-Community. *Andromeda: Jurnal Pengabdian Masyarakat Rafflesia*, 1(2), 43–46. <https://doi.org/10.33369/andromeda.v1i2.19241>
- Nuritasari, D., Sarjono, P. R., & Aminin, A. L. N. (2017). Isolasi Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Gedongsongo dengan Media Pengaya MB (Minimal Broth) dan TS (Taoge Sukrosa) serta Identifikasi Fenotip dan Genotip. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(2), 84–91. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.2.84-91>
- Oktavia, Y., Lestari, S. D., Lestari, S., Herpandi, ., & Jannah, M. (2018). Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Protease dan Amilase Isolat Bakteri Asal Terasi Ikan Teri *Stolephorus* sp. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 10(3), 719–725. <https://doi.org/10.29244/jitkt.v10i3.18840>
- Parbuntari, H., Pangestuti, A. D., Etika, S. B., Farma, S. A., Syolendra, D. F., & Mahmud, M. (2023). Pelatihan Pembuatan Eco-enzyme sebagai Disinfektan Alami. *Abdi: Jurnal Pengabdian Dan Pemberdayaan Masyarakat*, 5(1), 17–22. <https://doi.org/10.24036/abdi.v5i1.426>
- Patrisyawati, W., Muniroh, C., Fakhruddin, F., Widiyanto, A., & Trisnowati, E. (2024). Efektivitas Penambahan EM-4 pada Proses Fermentasi Eco Enzyme: Pengolahan

- Sampah Rumah Tangga Menjadi Produk Serba Guna. *EDUPROXIMA: Jurnal Ilmiah Pendidikan IPA*, 6(3), 1016–1023. <https://doi.org/10.29100/.v6i3.5165>
- Pratiwi, W. M., & Asri, M. T. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Indigenous Pendegradasi Pestisida Profenofos dan Klorantraniliprol di Jombang Jawa Timur. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), 300–309. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n2.p300-309>
- Ramadhan, B., & Wikandari, P. R. (2021). Review Artikel: Aktivitas Enzim Amilase dari Bakteri Asam Laktat (Karakteristik dan Aplikasi). *Unesa Journal of Chemistry*, 10(2), 109–120. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p109-120>
- Ramlan, R., & Masrianih. (2022). Pemanfaatan Sampah Sayur Menjadi Pupuk Organik Cair Dengan Penambahan Bioaktivator EM4. *Jurnal Pengabdian Dan Pengembangan Masyarakat Indonesia*, 1(2), 41–45. <https://doi.org/10.56303/jppmi.v1i2.55>
- Rita Noveriza, R. N., & Melati, M. (2022). Potensi Pemanfaatan Ekoenzim Air Cucian Beras (ACB) Sebagai Biopestisida dan Biofertilizer. *Prosiding Seminar Nasional MIPA UNIPA*, 44–54. <https://doi.org/10.30862/psnmu.v7i1.7>
- Rotua Silitonga, L., Nursyirwani, N., & Effendi, I. (2020). Isolation, Identification and Sensitivity of Amilolitic Bacteria from Mangrove Ecosystem Sediment in Purnama Marine Station Dumai on The Pathogenic Bacteria. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 2(3), 257–266. <https://doi.org/10.31258/ajoa.2.3.257-266>
- Salawati, S., Hikmah, N., Nurmala, N., Rasud, Y., Ende, S., & Henrik, H. (2020). Peningkatan Produktivitas Lahan Pekarangan Melalui Pemanfaatan Sampah Rumah Tangga Sebagai Pupuk Organik di Desa Lantapan Kecamatan Galang Kabupaten Tolitoli. *Jurnal Abditani*, 3(1), 44–49. <https://doi.org/10.31970/abditani.v2i0.41>
- Sari, A. F., Eka Putri, L. S., Hariwibowo, D. R., Riliansyah, A., Sugoro, I., Mujiyanto, A., & Hamada, F. R. (2023). Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Dari Produk Ekoenzim WOP FST 1310. *Jurnal Penelitian Sains*, 25(3), 249. <https://doi.org/10.56064/jps.v25i3.876>
- Sundari, A. S., Purwani, N. N., & Kurniati, A. (2019). Isolasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Bakteri Amilolitik dari Tanah Sediment Mangrove di Wonorejo, Surabaya. *Quantum: Jurnal Inovasi Pendidikan Sains*, 10(1), 38–44. <https://doi.org/10.20527/quantum.v10i1.5879>
- Susilawati, I. O., Aurora, M. E. M., Badruzaufari, B., & Mulyanto, A. (2022). Produksi Enzim Amilase oleh *Aeromonas hydrophila* pada Berbagai Sumber Amilum. *BIOTIKA Jurnal Ilmiah Biologi*, 20(1), 66–75. <https://doi.org/10.24198/biotika.v20i2.37224>
- Suyanto, A., Oktarianti, S., Astar, I., & Tutik Purwani Irianti, A. (2022). Penggunaan *Streptomyces Ambofaciens* sebagai Bioaktivator dalam Pembuatan Pupuk Organik Cair dari Limbah Organik. *Jurnal Teknotan*, 16(1), 1–6. <https://doi.org/10.24198/jt.vol16n1.1>

- Wahyuni, L. S., Rosahdi, T. D., & Supriadin, A. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Amilase dari Biji Durian (*Durio* sp.). *Al-Kimiya*, 2(1), 18–23. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.348>
- Wodi, S. I. M., Trilaksani, W., & Nurilmala, M. (2019). Histamin dan Identifikasi Bakteri Pembentuk Histamin Pada Tuna Mata Besar (*Thunnus obesus*). *Jurnal Teknologi Perikanan Dan Kelautan*, 9(2), 185–192. <https://doi.org/10.24319/jtpk.9.185-192>
- 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>