

Karakterisasi Ekoenzim Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) dan Evaluasi Aktivitas Antibakterinya terhadap *Escherichia coli*

Ilham Salim¹, Nada Pertiwi Papriani^{2*}, Supeno³, Asriani Andini⁴

^{1,2,3,4}Program Studi Kima, Universitas Cenderawasih, Indonesia

e-mail: nadapertiwi1701@gmail.com

Abstrak

Kulit nanas merupakan salah satu limbah organik yang masih mengandung berbagai senyawa bioaktif sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan ekoenzim. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi ekoenzim yang dihasilkan dari kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.), mengidentifikasi kandungan metabolit sekundernya melalui skrining fitokimia, serta mengevaluasi aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli*. Ekoenzim diproduksi melalui fermentasi campuran 150 g kulit nanas, 50 g gula aren, dan 500 mL air selama 90 hari. Karakterisasi dilakukan dengan mengamati sifat organoleptik dan mengukur pH, sedangkan identifikasi metabolit sekunder menggunakan metode skrining fitokimia. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan metode difusi cakram menggunakan konsentrasi ekoenzim 50%, 75%, dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses fermentasi menyebabkan perubahan warna larutan dari coklat keruh menjadi coklat bening disertai perubahan aroma menjadi asam segar serta penurunan pH dari 6 menjadi 3. Hasil skrining fitokimia mengonfirmasi adanya flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, sementara alkaloid tidak terdeteksi. Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekoenzim mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan rata-rata diameter zona hambat masing-masing sebesar 2,41 mm, 4,90 mm, dan 7,20 mm pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100%. Temuan ini menunjukkan bahwa ekoenzim kulit nanas memiliki potensi sebagai sumber antibakteri alami sekaligus memberikan nilai tambah terhadap pemanfaatan limbah organik.

Kata kunci— Ekoenzim, Kulit Nanas, Antibakteri, *Escherichia coli*, Skrining Fitokimia.

1. PENDAHULUAN

Limbah organik merupakan salah satu permasalahan lingkungan yang terus meningkat seiring bertambahnya aktivitas rumah tangga maupun industri. Sebagian besar limbah yang berasal dari sisa buah dan sayuran belum dimanfaatkan secara optimal sehingga sering berakhir sebagai sampah dan berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan. Salah satu jenis limbah organik yang tersedia dalam jumlah melimpah adalah kulit nanas. Meskipun umumnya dibuang setelah buah dikonsumsi atau diolah, kulit nanas masih mengandung berbagai komponen bioaktif yang berpotensi dimanfaatkan menjadi produk bernilai ekonomi. Oleh karena itu, pengolahan limbah kulit nanas menjadi produk yang lebih bermanfaat merupakan salah satu bentuk pengelolaan limbah yang mendukung konsep keberlanjutan.

Indonesia termasuk salah satu negara dengan produksi nanas yang tinggi, yaitu melebihi tiga juta ton setiap tahun (Badan Pusat Statistik, 2024). Dalam proses pengolahan maupun konsumsi, sekitar 30–50% bagian buah berubah menjadi limbah yang terdiri atas kulit, mahkota, dan empulur. Besarnya jumlah limbah tersebut menyebabkan kulit nanas tersedia dalam jumlah yang sangat banyak dan berpotensi menjadi sumber pencemar apabila tidak dikelola dengan baik. Salah satu alternatif pemanfaatannya adalah mengolah kulit nanas menjadi ekoenzim yang memiliki nilai guna lebih tinggi sekaligus dapat mengurangi akumulasi limbah organik.

Kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti flavonoid, tanin, dan senyawa fenolik, yang berpotensi dimanfaatkan sebagai antibakteri alami. Selain itu, bahan ini juga mengandung enzim bromelin yang telah banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan maupun industri karena memiliki berbagai aktivitas biologis (Jauriah et al., 2018). Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menunjukkan bahwa kulit nanas masih memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi produk fungsional yang bernilai tambah.

Salah satu bentuk pemanfaatan limbah organik yang saat ini banyak dikembangkan adalah produksi ekoenzim. Ekoenzim merupakan cairan yang diperoleh melalui fermentasi limbah buah atau sayuran dengan penambahan gula sebagai sumber karbon dan air dalam kondisi anaerob. Selama proses fermentasi berlangsung akan terbentuk berbagai senyawa, seperti asam organik, enzim, alkohol, serta metabolit lainnya yang memberikan beragam manfaat. Rochyani et al. (2020) melaporkan bahwa ekoenzim dapat dimanfaatkan sebagai pembersih alami, desinfektan, insektisida, maupun pupuk organik. Selain itu, Rasit et al. (2019) menyatakan bahwa ekoenzim juga berperan dalam mempercepat proses dekomposisi bahan organik, membantu transformasi senyawa, serta berpotensi menetralkan berbagai polutan di lingkungan.

Berbagai penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekoenzim yang dibuat dari limbah buah, seperti kulit jeruk, pepaya, nanas, maupun campuran berbagai jenis buah, memiliki potensi sebagai antibakteri, antioksidan, dan bahan pembersih alami (Rasit et al., 2019; Rochyani et al., 2020). Namun demikian, penelitian mengenai ekoenzim kulit nanas masih lebih banyak berfokus pada pemanfaatannya sebagai pupuk organik cair atau hanya mengkaji karakteristik fisik dan kimianya. Informasi mengenai kandungan metabolit sekunder serta aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen, khususnya *Escherichia coli*, masih relatif terbatas. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa penelitian mengenai hubungan antara karakteristik ekoenzim, kandungan metabolit sekunder, dan aktivitas antibakterinya masih perlu dikembangkan.

Aktivitas biologis ekoenzim dipengaruhi oleh keberadaan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki berbagai mekanisme kerja sebagai antimikroba. Beberapa golongan metabolit sekunder yang umum ditemukan meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Kartikasari & Purwestri, 2021). Flavonoid diketahui mampu menghambat sintesis asam nukleat mikroba (Basir et al., 2023), sedangkan tanin dapat menghambat aktivitas enzim penting dan merusak membran sel bakteri (Nurdianti et al., 2022). Sementara itu, saponin dan terpenoid bekerja melalui peningkatan permeabilitas serta kerusakan membran sel sehingga pertumbuhan mikroorganisme dapat terhambat (Ilmiati et al., 2017; Yuhernita & Juniarti, 2011).

Dalam penelitian aktivitas antibakteri, *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang sering digunakan sebagai mikroorganisme uji. Bakteri Gram-negatif berbentuk batang pendek ini secara normal hidup di saluran pencernaan manusia dan hewan (Jawetz et al., 2015). Walaupun sebagian besar bersifat nonpatogen, beberapa strain mampu menyebabkan berbagai penyakit, seperti diare, infeksi saluran kemih, dan gangguan pada saluran pencernaan. Oleh sebab itu, pencarian sumber antibakteri alami yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* masih menjadi bidang penelitian yang penting untuk dikembangkan.

Senyawa antibakteri dapat bekerja melalui berbagai mekanisme, di antaranya menghambat pembentukan dinding sel, mengganggu integritas membran sel, menghambat sintesis protein maupun asam nukleat, serta mengacaukan proses metabolisme mikroorganisme (Pletzar et al., 1998). Aktivitas tersebut diduga berasal dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekoenzim hasil fermentasi kulit nanas. Namun demikian, karakteristik membran luar yang dimiliki *E. coli*, terutama lapisan lipopolisakarida (LPS), menyebabkan bakteri ini relatif lebih tahan terhadap berbagai senyawa antibakteri alami dibandingkan bakteri Gram-positif. Oleh karena itu, kemampuan ekoenzim dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dapat dijadikan indikator untuk mengevaluasi potensi aktivitas antibakterinya.

Berdasarkan uraian tersebut, pemanfaatan kulit nanas sebagai bahan baku ekoenzim tidak hanya berkontribusi terhadap pengurangan limbah organik, tetapi juga berpotensi menghasilkan produk yang memiliki aktivitas biologis. Namun, informasi mengenai karakteristik ekoenzim kulit nanas, kandungan metabolit sekundernya, serta aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkarakterisasi ekoenzim kulit nanas, mengidentifikasi metabolit sekundernya melalui skrining fitokimia, serta mengevaluasi aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Escherichia coli*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimen laboratorium untuk mengkaji karakteristik ekoenzim yang dihasilkan dari kulit nanas, mengidentifikasi kandungan metabolit sekundernya, serta mengevaluasi aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli*. Tahapan penelitian meliputi pembuatan ekoenzim, karakterisasi melalui pengamatan organoleptik dan pengukuran pH, skrining fitokimia, serta

pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Pengujian antibakteri dilakukan terhadap lima kelompok perlakuan yang terdiri atas ekoenzim dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100%, kontrol positif berupa kloramfenikol, serta kontrol negatif menggunakan DMSO. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali (triplo) untuk memperoleh hasil yang lebih reliabel.

2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama periode September hingga Desember 2024. Analisis kandungan metabolit sekunder melalui skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih. Sementara itu, pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

2.3 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi botol fermentasi berbahan plastik, autoklaf, oven, inkubator, laminar air flow, mikropipet, colony counter, timbangan analitik, jangka sorong digital, gelas beker, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, hot plate, shaker, jarum ose, cawan petri, serta berbagai peralatan laboratorium pendukung lainnya.

Bahan penelitian terdiri atas kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.), gula aren, air bersih, media Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Agar (MHA), Nutrient Broth (NB), larutan NaCl 0,9%, DMSO sebagai kontrol negatif, kloramfenikol sebagai kontrol positif, kertas cakram steril, serta berbagai reagen yang diperlukan dalam pengujian fitokimia. Isolat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diperoleh dari koleksi kultur Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

2.4 Pembuatan Ekoenzim

Pembuatan ekoenzim mengacu pada metode yang dikembangkan oleh Ramadani et al. (2019). Sebanyak 150 g kulit nanas yang telah dicuci bersih dan dipotong menjadi ukuran kecil dicampurkan dengan 50 g gula aren dan 500 mL air ke dalam wadah plastik yang dapat ditutup rapat. Campuran tersebut kemudian difermentasi selama 90 hari pada suhu ruang berkisar 25–30°C dalam kondisi semi-anaerob. Selama bulan pertama fermentasi, wadah dibuka setiap hari selama sekitar 5–10 detik untuk melepaskan gas yang terbentuk akibat aktivitas mikroorganisme, kemudian ditutup kembali. Setelah fermentasi selesai, larutan disaring menggunakan kain bersih untuk memisahkan residu padat. Sebelum digunakan pada pengujian antibakteri, filtrat disaring kembali menggunakan kertas saring steril Whatman No. 1 guna memperoleh larutan yang bebas dari partikel padat.

2.5 Karakterisasi Ekoenzim

Karakterisasi ekoenzim dilakukan melalui pengamatan sifat fisik dan pengukuran tingkat keasaman. Pengamatan organoleptik meliputi perubahan warna dan aroma yang terjadi sebelum maupun sesudah proses fermentasi. Selain itu, pengukuran pH dilakukan menggunakan indikator pH universal untuk mengetahui perubahan tingkat keasaman sebagai indikator berlangsungnya proses fermentasi.

2.6 Skrining Fitokimia

Identifikasi metabolit sekunder dilakukan secara kualitatif melalui uji skrining fitokimia terhadap flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid. Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk magnesium dan larutan HCl 37% ke dalam sampel. Terbentuknya warna kuning hingga jingga menunjukkan hasil positif. Identifikasi alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff dengan indikator terbentuknya warna jingga. Uji tanin dilakukan menggunakan larutan FeCl₃ 1%, sedangkan perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan hasil positif. Pengujian saponin dilakukan melalui metode pembentukan busa yang tetap stabil setelah penambahan akuades panas dan HCl 2N. Adapun terpenoid diuji menggunakan pereaksi Liebermann–Burchard dengan indikator terbentuknya cincin berwarna coklat atau violet.

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Seluruh alat dan media terlebih dahulu disterilkan sesuai prosedur laboratorium menggunakan

autoklaf atau oven. Isolat *E. coli* ATCC 25922 diremajakan pada media Nutrient Agar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, suspensi bakteri disiapkan menggunakan larutan NaCl steril 0,9% hingga mencapai tingkat kekeruhan setara standar 0,5 McFarland ($\pm 1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

Sebanyak 100 µL suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media Mueller Hinton Agar steril menggunakan kapas steril. Kertas cakram steril berdiameter 6 mm kemudian ditetesi sebanyak 20 µL larutan ekoenzim sesuai konsentrasi perlakuan (50%, 75%, dan 100%), kemudian diletakkan di atas permukaan media. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO berfungsi sebagai kontrol negatif. Seluruh cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dengan masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Setelah masa inkubasi berakhir, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital pada dua arah yang saling tegak lurus, kemudian dihitung nilai rata-ratanya. Pengukuran dilakukan dengan memasukkan diameter cakram (6 mm) sesuai prosedur standar metode difusi cakram.

2.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan organoleptik, pengukuran pH, dan skrining fitokimia dianalisis secara deskriptif. Sementara itu, aktivitas antibakteri dievaluasi berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram uji dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm). Semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan, semakin tinggi kemampuan ekoenzim dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakteristik Ekoenzim Kulit Nanas

Karakterisasi ekoenzim kulit nanas dilakukan melalui pengamatan warna, aroma, dan nilai pH setelah proses fermentasi selama 90 hari. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa fermentasi menyebabkan perubahan karakteristik fisik dan kimia ekoenzim sebagaimana disajikan pada Tabel 1, Tabel 2, dan Tabel 3.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Warna Ekoenzim Kulit Nanas

Sampel	Awal	Bulan ke-1	Bulan ke-2	Bulan ke-3
Ekoenzim	Cokelat	Keruh	Kuning kecokelatan	Cokelat bening

Tabel 2. Hasil Pengamatan Aroma Ekoenzim Kulit Nanas

Sampel	Sebelum Fermentasi	Sesudah Fermentasi
Ekoenzim	Aroma khas gula aren	Aroma asam segar

Tabel 3. Hasil Pengukuran pH Ekoenzim Kulit Nanas

Sampel	Sebelum Fermentasi	Sesudah Fermentasi
Ekoenzim	6,0	3,0

Pengamatan warna menunjukkan bahwa ekoenzim mengalami perubahan dari cokelat keruh pada awal fermentasi menjadi kuning kecokelatan pada bulan pertama, kemudian berubah menjadi cokelat bening setelah fermentasi selesai (Tabel 1). Perubahan aroma juga terjadi selama fermentasi, yaitu dari aroma khas gula aren menjadi aroma asam segar (Tabel 2). Selain itu, nilai pH mengalami penurunan dari 6 sebelum fermentasi menjadi 3 setelah fermentasi selama 90 hari (Tabel 3).

Perubahan karakteristik tersebut menunjukkan bahwa proses fermentasi berlangsung secara optimal. Perubahan warna menjadi lebih jernih mengindikasikan terjadinya degradasi senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana akibat aktivitas mikroorganisme selama fermentasi. Seiring berlangsungnya proses tersebut, jumlah partikel tersuspensi dalam larutan berkurang sehingga ekoenzim tampak lebih bening. Hasil ini sejalan dengan penelitian Yulistia dan Chimayati (2021) serta Herawati dan Royani (2022) yang menyatakan bahwa perubahan warna merupakan salah satu indikator berlangsungnya dekomposisi bahan organik selama fermentasi.

Perubahan aroma menjadi asam segar berkaitan dengan terbentuknya berbagai asam organik sebagai hasil metabolisme mikroorganisme yang memanfaatkan gula aren sebagai sumber karbon. Akumulasi asam organik tersebut tidak hanya menghasilkan aroma khas hasil fermentasi, tetapi juga menyebabkan penurunan nilai pH. Pada penelitian ini, pH ekoenzim menurun dari 6 menjadi 3 setelah fermentasi selama 90 hari. Nilai pH yang rendah menunjukkan terbentuknya asam organik dalam jumlah yang cukup dan menjadi salah satu indikator keberhasilan fermentasi. Kondisi ini juga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme kontaminan sehingga mendukung potensi aktivitas antibakteri ekoenzim. Temuan tersebut sesuai dengan laporan Atmanegara et al. (2015), Rohmah et al. (2020), dan Ambarwati et al. (2023) yang menyatakan bahwa fermentasi ekoenzim menghasilkan akumulasi asam organik sehingga pH produk akhir umumnya berada di bawah 4.

3.2 *Skrining Fitokimia Ekoenzim Kulit Nanas*

Hasil skrining fitokimia terhadap ekoenzim kulit nanas menunjukkan adanya beberapa golongan metabolit sekunder yang berpotensi berperan sebagai senyawa bioaktif. Berdasarkan hasil pengujian yang disajikan pada Tabel 4, ekoenzim kulit nanas memberikan hasil positif terhadap flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, sedangkan alkaloid tidak terdeteksi. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menunjukkan bahwa proses fermentasi tidak menghilangkan seluruh komponen bioaktif yang terdapat pada kulit nanas.

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Ekoenzim Kulit Nanas

Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil
Flavonoid	Positif (+)
Alkaloid	Negatif (-)
Tanin	Positif (+)
Saponin	Positif (+)
Terpenoid	Positif (+)

Keberadaan flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid mengindikasikan bahwa proses fermentasi mampu mempertahankan, bahkan diduga membantu melepaskan metabolit sekunder dari jaringan kulit nanas ke dalam cairan ekoenzim. Selama fermentasi, aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dapat menyebabkan degradasi dinding sel tanaman sehingga senyawa-senyawa bioaktif lebih mudah terekstraksi ke dalam medium fermentasi. Di samping itu, proses biotransformasi yang terjadi selama fermentasi dapat memengaruhi komposisi metabolit sekunder, baik melalui pembentukan senyawa baru maupun perubahan struktur kimia senyawa yang telah ada. Oleh karena itu, kandungan metabolit sekunder yang teridentifikasi pada ekoenzim merupakan hasil interaksi antara komponen alami kulit nanas dengan aktivitas mikroorganisme selama fermentasi.

Flavonoid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat dan gangguan terhadap fungsi membran sel bakteri (Nugraha et al., 2017; Widiyari, 2018). Tanin juga berperan sebagai antimikroba dengan cara membentuk kompleks bersama protein pada dinding sel maupun enzim bakteri sehingga menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Marlina et al., 2018). Sementara itu, saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel yang mengakibatkan kebocoran komponen intraseluler, sedangkan terpenoid dapat merusak integritas membran melalui interaksi dengan lipid penyusunnya (Reiza et al., 2019; Aulyawati & Suryani, 2021). Keberadaan keempat senyawa tersebut diduga memberikan kontribusi terhadap aktivitas antibakteri ekoenzim kulit nanas yang diperoleh pada penelitian ini.

Sebaliknya, alkaloid tidak terdeteksi pada hasil skrining fitokimia. Kondisi tersebut diduga disebabkan oleh rendahnya kandungan alkaloid pada kulit nanas atau terjadinya degradasi senyawa selama proses fermentasi sehingga tidak lagi dapat teridentifikasi melalui metode uji kualitatif yang digunakan. Hasil ini menunjukkan bahwa fermentasi tidak selalu mempertahankan seluruh golongan metabolit sekunder dalam jumlah yang dapat dideteksi, karena stabilitas masing-masing senyawa dipengaruhi oleh kondisi fermentasi dan aktivitas mikroorganisme yang berlangsung selama proses tersebut.

3.3 *Aktivitas Antibakteri terhadap Escherichia coli*

Aktivitas antibakteri ekoenzim kulit nanas terhadap *Escherichia coli* dievaluasi menggunakan metode difusi cakram. Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekoenzim mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji, meskipun efektivitasnya berbeda pada setiap konsentrasi. Diameter zona hambat yang terbentuk disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Diameter Zona Hambat Ekoenzim Kulit Nanas terhadap *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)
Kontrol positif (Kloramfenikol)	26,06
Ekoenzim 100%	7,20
Ekoenzim 75%	4,90
Ekoenzim 50%	2,41
Kontrol negatif (DMSO)	0

Berdasarkan Tabel 5, diameter zona hambat meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekoenzim. Konsentrasi 50% menghasilkan zona hambat sebesar 2,41 mm, konsentrasi 75% sebesar 4,90 mm, sedangkan konsentrasi 100% menghasilkan diameter zona hambat terbesar, yaitu 7,20 mm. Sebaliknya, kontrol negatif (DMSO) tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat, sedangkan kontrol positif berupa kloramfenikol menghasilkan diameter zona hambat sebesar 26,06 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekoenzim berpengaruh terhadap kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, meskipun efektivitasnya masih lebih rendah dibandingkan antibiotik standar.

Meningkatnya diameter zona hambat pada konsentrasi yang lebih tinggi menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekoenzim, semakin banyak senyawa aktif yang berdifusi ke dalam media sehingga daya hambat terhadap bakteri juga meningkat. Berdasarkan klasifikasi Davis dan Stout (1971), aktivitas antibakteri pada konsentrasi 50% dan 75% termasuk kategori lemah, sedangkan pada konsentrasi 100% tergolong sedang. Sementara itu, kloramfenikol sebagai kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri yang jauh lebih tinggi. Kondisi ini mengindikasikan bahwa ekoenzim kulit nanas memiliki potensi sebagai antibakteri alami, namun efektivitasnya belum mampu menyamai antibiotik komersial.

Kemampuan ekoenzim dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* diduga dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang teridentifikasi melalui skrining fitokimia, yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, serta keberadaan asam organik yang terbentuk selama fermentasi. Flavonoid diketahui mampu menghambat sintesis asam nukleat dan mengganggu fungsi membran sel bakteri, sedangkan tanin bekerja dengan menginaktivasi enzim serta membentuk kompleks dengan protein pada dinding sel. Di sisi lain, saponin meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, sementara terpenoid dapat merusak integritas membran sel bakteri. Sinergi antara senyawa-senyawa tersebut diduga berkontribusi terhadap terbentuknya zona hambat pada seluruh konsentrasi ekoenzim yang diuji.

Meskipun demikian, aktivitas penghambatan yang diperoleh masih relatif rendah apabila dibandingkan dengan kloramfenikol. Hal ini diduga berkaitan dengan karakteristik *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram-negatif yang memiliki membran luar tersusun atas lapisan lipopolisakarida (*lipopolysaccharide/LPS*). Struktur tersebut berfungsi sebagai penghalang sehingga penetrasi senyawa antibakteri alami menjadi lebih terbatas dibandingkan pada bakteri Gram-positif. Akibatnya, kemampuan ekoenzim dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* belum menunjukkan efektivitas yang optimal.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekoenzim kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat pada seluruh konsentrasi pengujian. Walaupun aktivitas yang dihasilkan masih berada pada kategori lemah hingga sedang, temuan ini menunjukkan bahwa ekoenzim kulit nanas berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan yang berfokus pada optimasi proses fermentasi, identifikasi senyawa aktif secara lebih spesifik, serta penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai efektivitas antibakterinya.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekoenzim yang dihasilkan dari fermentasi kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) selama 90 hari menunjukkan karakteristik fisik yang ditandai dengan perubahan warna dari cokelat keruh menjadi cokelat bening, perubahan aroma menjadi asam segar, serta penurunan nilai pH dari 6 menjadi 3. Hasil skrining fitokimia mengonfirmasi keberadaan flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, sedangkan alkaloid tidak terdeteksi. Pengujian aktivitas antibakteri memperlihatkan bahwa ekoenzim kulit nanas mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, dengan diameter rata-rata zona hambat masing-masing sebesar 2,41 mm pada konsentrasi 50%, 4,90 mm pada konsentrasi 75%, dan 7,20 mm pada konsentrasi 100%. Semakin tinggi konsentrasi ekoenzim yang digunakan, semakin besar daya hambat yang dihasilkan terhadap bakteri uji. Temuan ini menunjukkan bahwa ekoenzim kulit nanas memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai antibakteri alami sekaligus menjadi alternatif pemanfaatan limbah organik yang bernilai tambah.

4.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi dan kuantifikasi senyawa aktif menggunakan metode analisis yang lebih spesifik, seperti kromatografi atau spektroskopi, sehingga komponen bioaktif yang berperan sebagai antibakteri dapat diketahui secara lebih rinci. Selain itu, pengujian aktivitas antibakteri terhadap jenis bakteri lain, baik Gram-positif maupun Gram-negatif, serta penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) perlu dilakukan untuk memperoleh informasi yang lebih komprehensif mengenai efektivitas ekoenzim kulit nanas sebagai agen antibakteri alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, L., Mahanani, A. A., Nur, D., & Tika, I. (2023). *Karakteristik fisik fermentasi limbah ganggang coklat (Phaeophyceae) dengan penambahan level probiotik yang berbeda*. 20–21. (Lengkapi nama jurnal/prosiding jika ada).
- Atmanegara, A. J., Sutrisno, E. T., & Taufik, Y. (2015). *Pengaruh konsentrasi inokulum Acetobacter aceti dan lama fermentasi terhadap karakteristik vinegar murbei (Morus alba)* (Skripsi). Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pasundan, Bandung.
- Aulyawati, N., Yahdi, & Suryani, N. (2021). Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol rambut jagung manis (*Zea mays saccharata* Sturt) menggunakan metode DPPH. *SPIN Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 3(2), 132–142. <https://doi.org/10.20414/spin.v3i2.4101>
- Basir, B., Kariyanti, K., & Isnansetyo, A. (2023). Aktivitas antibakteri tumbuhan darat dan pesisir dari Sulawesi Selatan terhadap penyakit *Vibrio*. *Marlin*, 4(1), 49–56. <https://doi.org/10.15578/marlin.v4.i1.2023.49-56>
- Herawati, E., & Royani, M. (2022). Proses fermentasi anaerob daun gamal terhadap laju perubahan kadar asam, laju produksi asam laktat, dan amonia. *Jurnal Ilmu Peternakan*, 7(1), 49–57.
- Ilmiati, Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji fitokimia buah dengan. *Jurnal Dinamika*, 8, 274–282.
- Itsa, N. S., Sukohar, A., & Anggraini, D. I. (2018). Pemanfaatan cuka sari apel sebagai terapi antifungi terhadap infeksi *Candida albicans* (Kandidiasis). *Majority*, 11(2), 290–295.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2008). *Mikrobiologi kedokteran* (Terjemahan Ratna Pratiwi & Silvy T.). Erlangga.
- Kartikasari, N., & Purwestri, Y. A. (2021). Kemampuan antibakteri metabolit sekunder bakteri endofit tanaman purwoceng terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Hayat*, 5(1), 17–24. <https://doi.org/10.17977/um061v5i12021p17-24>
- Mahyuni, S., & Trirakhma, S. (2018). Kadar saponin dan aktivitas antibakteri ekstrak daun *Filicium decipiens* (Wight & Arn.) Thwaites terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(2), 1–9.
- Nugraha, A. C., Agung, T. P., & Sri, M. (2017). Isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2), 1–6.
- Nurdianti, L., Hidayat, T., & Bastian, R. (2022). Formulasi dan evaluasi sediaan suppositoria ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi*, 2, 113–122.
- Pertiwi, F. D., Firman, R., & Ranny, P. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis*, 7(2), 57–68.

- Rasit, N., Hwe Fern, L., & Ghani, A. W. A. K. (2019). 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*, 10(3), 967–980.
- Ramadani, A. H., Rosalina, R., & Ningrum, R. S. (2019). Pemberdayaan kelompok tani Dusun Puherejo dalam pengolahan limbah organik kulit nanas sebagai pupuk cair eco-enzyme. *Prosiding Seminar Nasional HAYATI*, 7, 222–227. <https://doi.org/10.29407/hayati.v6i1.328>
- Rochyani, N., Utpalasari, R. L., & Dahliana, I. (2020). Analisis hasil konversi eco-enzyme menggunakan nanas (*Ananas comosus*) dan pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Redoks*, 5(2), 135–140. <https://doi.org/10.31851/redoks.v5i2.5060>
- Widiasari, S. (2018). Mekanisme inhibisi angiotensin converting enzyme oleh flavonoid pada hipertensi. *Collaborative Medical Journal*, 1(2).
- Yuhernita, Y., & Juniarti, J. (2011). Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak. *Makara Journal of Science*, 15(1), 27–52.
- Yulistia, E., & Chimayati, R. L. (2021). Pemanfaatan limbah organik menjadi eco-enzyme. *Unbara Environmental Engineering Journal*, 2(1), 1–6.