Jurnal Biologi Tropis

Original Research Paper

Antibacterial Activity of Three Eco-Enzyme Formulations against *Escherichia coli* Isolates from Rivers in Ambon City

Nur Tasmiah Sirajuddin[1], Novianty C Tuhumury [1*], Mahriyana Hulopi[1], Meysy De Fretes[2]

[1]Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Pattimura, Ambon, Indonesia;
[2]Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Pattimura, Ambon, Indonesia;

Article History
Received : September 29th, 2026
Revised : October 15th, 2026
Accepted : October 27th, 2026

*Corresponding Author:
Novianty C Tuhumury, Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Pattimura, Ambon, Indonesia;
Email: julijurnal123@gmail.com

Abstract: Contamination by *Escherichia coli* in aquatic environments indicates microbiological pollution and potential risks to water quality and public health. Eco-enzyme derived from organic waste has potential as a natural antibacterial agent while supporting environmentally friendly waste management. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of three eco-enzyme formulations against *Escherichia coli* isolates from the Wai Batu Gantung (WBG), Wai Batu Merah (WBM), and Wai Tomu (WTM) rivers in Ambon City. The formulations differed in both the number and identity of ingredients, comprising one-, three-, and five-ingredient formulations. Antibacterial activity was assessed using the disc diffusion method. The one-ingredient formulation produced the highest mean inhibition zone diameter (8.50 ± 7.66 mm), followed by the five-ingredient formulation (4.28 ± 4.22 mm) and the three-ingredient formulation (2.33 ± 3.56 mm). However, the Friedman test showed no statistically significant difference in antibacterial activity among the formulations. The effect size, expressed as Kendall's W, was 0,298. Inhibitory responses also varied among isolates. These findings indicate that the formulations differed descriptively in their observed inhibition zones, but the differences were not statistically significant. Because the formulations varied in both ingredient number and composition, the individual contribution of either factor cannot be determined. Further research should evaluate ingredient composition systematically and account for isolate-level variability to clarify factors associated with antibacterial activity against *Escherichia coli.*

Keywords: Antibacterial activity; Aquatic pollution; Eco-enzyme; *Escherichia coli*; Inhibition zone.

Pendahuluan

Escherichia coli digunakan sebagai indikator kontaminasi fekal pada lingkungan perairan dalam pemantauan kualitas air. Keberadaannya di sungai dapat menunjukkan masuknya bahan buangan yang berpotensi menimbulkan risiko kesehatan apabila air digunakan tanpa pengolahan yang memadai. Penelitian di Sungai Maruasey, Sulawesi Utara, melaporkan kontaminasi *Escherichia coli* pada ekosistem sungai (Lukas *et al*., 2024). Aktivitas manusia di daerah aliran sungai dapat memengaruhi kualitas air, termasuk kondisi mikrobiologisnya (Ngatia *et al*., 2023). *Escherichia coli* memiliki sejumlah strain patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, sehingga keberadaannya dalam air yang digunakan masyarakat perlu dipantau (Naidoo & Zishiri, 2025).

Lukas *et al.*, (2024) melaporkan kontaminasi *Escherichia coli* di Sungai Maruasey, Sulawesi Utara; angka 54.000 MPN/100 mL yang dibahas dalam artikel tersebut merujuk pada pengukuran tahun 2020. Tuhumury *et al.,* (2024) melaporkan total coliform sebesar 16.000 MPN/100 mL pada empat sungai yang bermuara ke Teluk Ambon, yaitu Wai Batu Gantung, Wai Tomu, Wai Batu Merah, dan Wai Ruhu, serta mengevaluasi perubahan parameter kualitas air setelah pemberian eco-enzyme. Di pesisir Maluku Tengah, Sirajuddin dan Mamesah (2026) melaporkan keberadaan total coliform di

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

© 2026 The Author(s). This article is open access

perairan Pantai Liang. Temuan-temuan tersebut memberikan konteks mengenai pencemaran mikrobiologis di perairan lokal dan mendukung pentingnya penelitian mengenai alternatif pengendalian mikroorganisme. Kajian aktivitas antibakteri eco-enzyme terhadap isolat *Escherichia coli* dari Sungai Wai Batu Gantung (WBG), Wai Batu Merah (WBM), dan Wai Tomu (WTM) di Ambon dapat melengkapi informasi tersebut, khususnya terkait variasi respons antibakteri antarformulasi dan antarisolat.

Eco-enzyme yang dihasilkan melalui fermentasi bahan organik berpotensi menunjukkan aktivitas antibakteri, tetapi mekanisme penghambatannya perlu dikaji secara hati-hati. Keasaman dan pH rendah dapat menjadi salah satu faktor yang berkontribusi terhadap zona hambat, sehingga aktivitas yang diamati belum tentu semata-mata berasal dari senyawa bioaktif hasil fermentasi. Untuk membedakan kontribusi keasaman dari faktor lain, penelitian lanjutan perlu menyertakan kontrol larutan asam dengan pH setara dan/atau menguji aktivitas eco-enzyme setelah pH dinetralkan. Perbandingan tersebut perlu disertai kontrol yang sesuai karena netralisasi dapat mengubah aktivitas atau stabilitas senyawa tertentu. Dengan demikian, penelitian ini terutama mengevaluasi aktivitas antibakteri in vitro dari tiga formulasi eco-enzyme, bukan menetapkan mekanisme antibakteri atau membuktikan efektivitasnya untuk pengolahan air sungai.

Eco-enzyme merupakan produk fermentasi bahan organik, gula, dan air selama beberapa bulan. Produk dari bahan kulit buah dalam penelitian terdahulu dilaporkan memiliki kondisi asam dan aktivitas penghambatan terhadap bakteri tertentu, sementara pemanfaatan kulit buah juga memberi nilai guna pada limbah organik (Benny *et al.,* 2023; Suliestyah *et al.,* 2022; Hendri *et al.,* 2023). Septiani dan Sundari (2023) melaporkan penurunan jumlah *Escherichia coli* pada permukaan yang diuji setelah penggunaan cairan pembersih eco-enzyme dari limbah organik kantin. Kandungan senyawa bioaktif dan aktivitas antibakteri dapat berbeda menurut bahan baku serta kondisi fermentasi (Irianto *et al.,* 2023; Cindana *et al.,* 2025). Karena itu, aktivitas produk yang dibuat dalam penelitian ini perlu diuji secara langsung dan dikontrol terhadap pengaruh keasamanterhadap isolat *Escherichia coli.*

Variasi komposisi bahan dalam pembuatan eco-enzyme, yaitu satu jenis bahan (lemon cina), tiga jenis bahan (pepaya, jambu biji, dan buah naga), serta lima jenis bahan (pepaya, pisang, lemon cina, wortel, dan buah naga). Penelitian ini bertujuan membandingkan diameter zona hambat ketiga formulasi eco-enzyme tersebut terhadap *Escherichia coli* yang diisolasi dari beberapa sungai di Kota Ambon.

Bahan dan Metode

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Juni–September 2026 dengan sumber sampel air berasal dari Sungai Wai Batu Gantung (WBG), Sungai Wai Batu Merah (WBM), dan Sungai Wai Tomu (WTM), Kota Ambon. Pengambilan sampel dilakukan secara purposif pada ketiga sungai berdasarkan pertimbangan keterwakilan lokasi penelitian dan aksesibilitas titik pengambilan sampel. Suhu dan pH air diukur pada setiap lokasi saat pengambilan sampel sebagai parameter pendukung untuk menggambarkan kondisi perairan. Titik pengambilan sampel, koordinat geografis, kedalaman, waktu pengambilan, dan jarak antarulangan perlu dicantumkan berdasarkan catatan lapangan yang sebenarnya. Setiap sungai diwakili oleh tiga sampel air sehingga diperoleh sembilan sampel, yang diberi kode WBG1–WBG3, WBM1–WBM3, dan WTM1–WTM3.

Sampel air selanjutnya digunakan untuk isolasi dan identifikasi presumtif Escherichia coli. Untuk memperoleh sembilan isolat yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri, setiap sampel perlu diproses secara terpisah. Koloni yang memenuhi kriteria morfologi koloni dan karakteristik identifikasi presumtif *Escherichia coli* dipilih untuk pemurnian melalui penanaman ulang hingga diperoleh kultur murni. Satu isolat kemudian ditetapkan sebagai isolat uji dari setiap sampel berdasarkan kriteria yang ditentukan dalam prosedur laboratorium. Dengan demikian, sembilan isolat yang digunakan mewakili sembilan sampel air secara operasional, tetapi belum dapat dinyatakan berbeda secara genetik atau tidak berasal dari klon yang sama apabila tidak dilakukan pengujian molekuler atau metode penentuan kekerabatan isolat.

Pembuatan eco-enzyme dilaksanakan di Laboratorium Manajemen Sumberdaya Perairan, Universitas Pattimura. Pengujian aktivitas antibakteri eco-enzyme terhadap isolat

Escherichia coli dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Maluku pada September 2026. Aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk pada pengujian difusi cakram.

Pembuatan Eco-enzyme

Setelah fermentasi, produk eco-enzyme dipisahkan dari bahan padat melalui penyaringan, kemudian filtrat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Secara visual, produk akhir berwarna cokelat hingga cokelat kehitaman dan memiliki aroma asam segar. Produk juga dilaporkan memiliki pH di bawah 4. Setiap formulasi difermentasi dalam satu wadah terpisah, sehingga terdapat tiga wadah untuk tiga formulasi, dengan perbandingan bahan yang sama. Perbedaan keasaman berpotensi memengaruhi diameter zona hambat terhadap *Escherichia coli*. Jika tersedia, keasaman tertitrasi (*titratable acidity*) juga dapat dilaporkan untuk melengkapi karakterisasi produk.

Isolasi Bakteri *Escherichia coli*

Pemeriksaan mikrobiologis diawali dengan uji pendugaan menggunakan media *Lauryl Sulfate Broth* (LSB). Sampel air dihomogenkan, kemudian diinokulasikan secara aseptik ke dalam media dan diinkubasi sesuai prosedur pemeriksaan. Pertumbuhan mikroba dan pembentukan gas pada tabung Durham diamati serta dicatat sebagai hasil positif atau negatif. Tabung LSB yang menunjukkan hasil positif selanjutnya digunakan untuk uji penegasan *Escherichia coli* menggunakan media EC-MUG. Setelah inkubasi sesuai prosedur, tabung diamati di bawah sinar ultraviolet untuk mendeteksi fluoresensi sebagai indikator presumtif keberadaan *Escherichia coli.* Kultur yang menunjukkan hasil positif selanjutnya diinokulasikan ke media isolasi yang sesuai dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Koloni dengan karakteristik yang sesuai dipilih dan dimurnikan melalui penanaman ulang hingga diperoleh kultur murni. Isolat yang telah dikonfirmasi berdasarkan prosedur identifikasi yang digunakan kemudian dijadikan bakteri uji dalam pengujian aktivitas antibakteri eco-enzyme.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri eco-enzyme diuji menggunakan metode difusi cakram terhadap sembilan isolat *Escherichia coli*. Suspensi bakteri disiapkan dalam larutan NaCl 0,9% dengan kekeruhan 0,50–0,63 McFarland, kemudian diinokulasikan secara merata pada permukaan media agar. Cakram yang telah diberi masing-masing formulasi eco-enzyme diletakkan pada permukaan media yang telah diinokulasi. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan NaCl steril digunakan sebagai kontrol negatif. Setelah inkubasi sesuai prosedur pengujian, diameter zona bening di sekitar cakram diukur dalam milimeter (mm) sebagai indikator aktivitas penghambatan bakteri.

Setiap isolat diuji menggunakan tiga formulasi eco-enzyme, dengan tiga pengulangan teknis (P1, P2, dan P3) untuk setiap kombinasi isolat dan formulasi. Hasil pengukuran ketiga pengulangan teknis dirata-ratakan sehingga diperoleh satu nilai diameter zona hambat untuk setiap kombinasi isolat dan formulasi. Nilai 0 mm dicatat apabila tidak terbentuk zona hambat yang dapat diukur dan dipertahankan sebagai bagian dari respons pengamatan. Pengulangan teknis tersebut tidak dianggap sebagai replikasi biologis yang independen. Apabila setiap formulasi hanya dibuat dalam satu batch, hasil penelitian menggambarkan aktivitas dari batch yang diuji dan belum memperhitungkan variasi antarbatch produksi eco-enzyme.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan rata-rata tiga ulangan teknis (P1–P3) untuk setiap kombinasi isolat dan formulasi eco-enzyme. Analisis deskriptif meliputi rerata, simpangan baku, median, rentang nilai zona hambat, serta jumlah isolat yang menunjukkan zona hambat terukur. Karena ketiga formulasi diuji pada isolat *Escherichia coli* yang sama, perbedaan zona hambat antarformulasi dianalisis menggunakan uji Friedman dengan taraf signifikansi $\alpha = 0{,}05$ Kendall's W dihitung sebagai ukuran efek untuk menggambarkan kekuatan perbedaan antarformulasi dan diinterpretasikan secara hati-hati dengan mempertimbangkan jumlah isolat yang terbatas (n=9). Perbedaan berdasarkan asal sungai disajikan secara deskriptif karena setiap sungai hanya diwakili oleh tiga isolat, sehingga tidak memadai untuk mendukung inferensi yang kuat mengenai perbedaan antar-sungai.

Hasil dan Pembahasan

Parameter Lingkungan

Hasil pengukuran saat pengambilan sampel menunjukkan nilai pH sebesar 7,55 di Wai Batu Gantung, 7,54 di Wai Batu Merah, dan 7,45 di Wai Tomu. Suhu air masing-masing lokasi adalah 26 °C, 27 °C, dan 27 °C (Tabel 1). Data tersebut digunakan untuk mendeskripsikan kondisi perairan pada saat sampling dan tidak dimasukkan sebagai variabel dalam analisis aktivitas antibakteri. Rentang pH 7,45–7,55 dan suhu 26–27 °C menunjukkan bahwa nilai kedua parameter yang terukur relatif berdekatan pada ketiga lokasi. Namun, karena pengukuran hanya dilakukan pada saat pengambilan sampel, data ini tidak cukup untuk menggambarkan variasi kondisi lingkungan dari waktu ke waktu atau menjelaskan perbedaan respons antibakteri antar-isolat.

Tabel 1. Parameter Lingkungan

Lokasi Sungai	Kode	pH	Suhu (°C)
Wai Batu Gantung	WBG	7,55	26
Wai Batu Merah	WBM	7,54	27
Wai Tomu	WTM	7,45	27

Diameter Zona Hambat Eco-Enzyme terhadap Isolat *Escherichia coli*

Uji daya hambat formulasi eco-enzyme dengan satu jenis bahan terhadap sembilan isolat *Escherichia coli* menunjukkan respons yang bervariasi. Zona hambat terukur pada enam isolat, dengan nilai tertinggi pada WBG3 sebesar 18,67 mm, diikuti WBG2 dan WBM3 yang masing-masing sebesar 17,00 mm. Isolat WBG1, WTM1, dan WTM3 menunjukkan zona hambat masing-masing sebesar 8,17; 6,50; dan 9,17 mm. Sementara itu, isolat WBM1, WBM2, dan WTM2 tidak menunjukkan zona hambat yang terukur. Variasi ini mengindikasikan adanya perbedaan respons antar-isolat terhadap formulasi yang diuji. Perbedaan tersebut mungkin berkaitan dengan heterogenitas karakter biologis isolat, tetapi mekanisme yang mendasarinya belum dapat dipastikan karena penelitian ini tidak mencakup karakterisasi genetik, virulensi, atau profil resistensi isolat.

Tabel 2. Rata-rata diameter zona hambat eco enzyme terhadap isolat *E. coli* (Nilai merupakan rata-rata P1, P2, dan P3)

Kode isolat	Komposisi 1 jenis bahan (mm)	Komposisi 3 jenis bahan (mm)	Komposisi 5 jenis bahan (mm)
WBG1	8,17	8,50	9,50
WBG2	17,00	0,00	0,00
WBG3	18,67	0,00	6,33
WBM1	0,00	0,00	9,50
WBM2	0,00	0,00	0,00
WBM3	17,00	0,00	0,00
WTM1	6,50	6,17	6,33
WTM2	0,00	0,00	0,00
WTM3	9,17	6,33	6,83
Rerata ± SD	**8,50 ± 7,66**	**2,33 ± 3,56**	**4,28 ± 4,22**
Kontrol positif (kloramfenikol)		26,50	
Kontrol negatif (NaCl steril)		0,00	

Keterangan: WBG = Wai Batu Gantung; WBM = Wai Batu Merah; WTM = Wai Tomu. Nilai 0,00 mm menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat terukur.

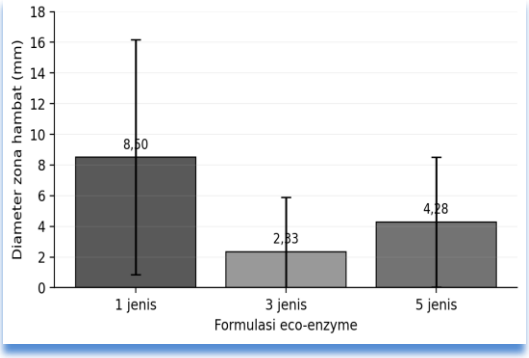
Formulasi 3 jenis bahan, zona hambat hanya pada WBG1, WTM1, dan WTM3, masing-masing 8,50; 6,17; dan 6,33 mm. Formulasi 5 jenis bahan menghasilkan zona hambat yaitu WBG1, WBG3, WBM1, WTM1, dan WTM3. Nilai tertinggi pada Formulasi jenis 5 bahan terdapat pada WBG1 dan WBM1, masing-masing 9,50 mm. Pola tersebut memperlihatkan bahwa penambahan variasi komposisi bahan tidak diikuti peningkatan diameter zona hambat secara konsisten.

Secara deskriptif, formulasi eco-enzyme dengan satu jenis bahan menunjukkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi, yaitu 8,50 ± 7,66 mm, dengan median 8,17 mm dan rentang 0–18,67 mm. Formulasi tiga jenis bahan memiliki rata-rata 2,33 ± 3,56 mm, median 0 mm, dan rentang 0–8,50 mm. Sementara itu, formulasi lima jenis bahan memiliki rata-rata 4,28 ± 4,22 mm, median 6,33 mm, dan rentang 0–9,50 mm. Zona hambat terukur (>0 mm) ditemukan pada 6 dari 9 isolat (66,7%) untuk formulasi satu jenis bahan, 3 dari 9 isolat

(33,3%) untuk formulasi tiga jenis bahan, dan 5 dari 9 isolat (55,6%) untuk formulasi lima jenis bahan. Simpangan baku yang relatif besar serta keberadaan nilai nol menunjukkan heterogenitas respons antar-isolat. Meskipun formulasi satu jenis bahan memiliki rata-rata zona hambat tertinggi secara deskriptif, temuan ini belum cukup untuk menyatakan bahwa formulasi tersebut lebih efektif secara statistik. Selain itu, jumlah dan identitas bahan berbeda secara bersamaan, sehingga perbedaan respons tidak dapat diatribusikan semata-mata pada jumlah bahan penyusun.

Tabel 3. Ringkasan deskriptif diameter zona hambatberdasarkan sembilan isolatpada setiap formulasi

Variasi Komposisi Bahan	Rerata (mm)	Simpangan Baku (mm)	Rentang (mm)	Isolat dengan zona terukur
1 jenis bahan	8,50	7,66	0,00-18,67	6 dari 9 (66,7%)
3 jenis bahan	2,33	3,56	0,00-8,50	3 dari 9 (33,3%)
5 jenis bahan	4,28	4,22	0,00-9,50	5 dari 9 (55,6%)



Gambar 1. Rata-rata diameter zona hambat eco-enzyme terhadap isolat *E. coli.*

Secara deskriptif, komposisi 1 jenis bahan menghasilkan zona hambat pada 66,7% isolat, lebih tinggi daripada komposisi 5 jenis bahan (55,6%) dan 3 jenis bahan (33,3%). Kontrol positif kloramfenikol membentuk zona hambat 26,5 mm, sedangkan NaCl steril sebagai kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat. Karena itu, nilai 0 mm pada perlakuan eco-enzyme ditafsirkan sebagai tidak terbentuknya zona hambat yang terukur pada kondisi uji, bukan sebagai data hilang atau kegagalan identifikasi *Escherichia coli.*

Tabel 4. Statistik deskriptif dan uji normalitas Shapiro-Wilk

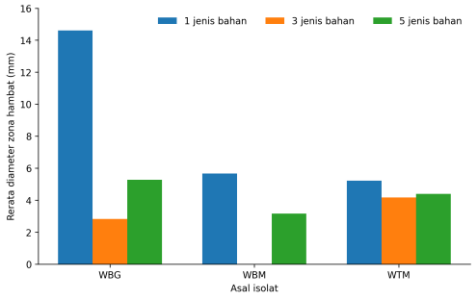
Komposisi bahan	SD	Median	Min	Maks	W	p
1 jenis bahan	7,66	8,17	0,00	18,67	0,863	0,104
3 jenis bahan	3,56	0,00	0,00	8,50	0,676	0,001
5 jenis bahan	4,22	6,33	0,00	9,50	0,792	0,016

Uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa formulasi satu jenis tidak menunjukkan penyimpangan normalitas yang signifikan (p=0,104), sedangkan formulasi tiga jenis (p=0,001) dan lima jenis (p=0,016) tidak memenuhi asumsi normalitas. Karena ketiga formulasi diuji pada isolat yang sama dan data mengandung banyak nilai 0 mm, perbandingan antarformulasi dianalisis menggunakan uji Friedman. Nilai 0 mm tetap dipertahankan.

Tabel 5. Hasil Uji Friedman

n isolat	df	χ^2 Friedman	p	Kendall's W
9	2	5,36	0,069	0,298

Uji Friedman menghasilkan $\chi^2(2)=5,36$; p=0,069; Kendall's W=0,298. Dengan $\alpha=0,05$, perbedaan diameter zona hambat antarformulasi belum signifikan secara statistik. Oleh karena itu, tidak dilakukan uji lanjut berpasangan sebagai analisis konfirmatori. Secara deskriptif, formulasi 1 jenis bahan tetap menunjukkan rerata dan proporsi isolat dengan zona hambat tertinggi. Gambar 2 memperlihatkan rerata diameter zona hambat eco-enzyme terhadap *E. coli* berdasarkan asal isolat dan variasi komposisi bahan, dengan setiap sungai diwakili tiga isolat untuk menunjukkan heterogenitas respons.



Gambar 2. Rerata diameter zona hambat eco-enzyme terhadap *E. coli* berdasarkan asal isolat dan variasi komposisi bahan (n = 3 isolat per sungai).

Pembahasan

Secara deskriptif, eco-enzyme dengan satu jenis bahan menghasilkan rata-rata zona hambat tertinggi, diikuti komposisi lima dan tiga jenis bahan. Namun, uji Friedman tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf 5% (p=0,069). Hasil ini belum membuktikan keunggulan salah satu komposisi ataupun kesetaraan aktivitas ketiganya. Selain jumlah jenis bahan, komposisi kimia bahan juga berbeda antarperlakuan, sehingga pengaruh jumlah jenis bahan tidak dapat dipisahkan dari pengaruh komposisinya.

Irianto *et al.,* (2023) melaporkan bahwa eco-enzyme berbahan pisang menghasilkan penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* yang lebih besar daripada campuran pisang dan jeruk. Umayah dan Sugiharto (2026) melaporkan zona hambat terhadap *Escherichia coli* sebesar 9,6 mm pada eco-enzyme kulit nanas dan 3,7 mm pada campuran kulit nanas dan kulit buah naga. Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan campuran bahan tidak selalu menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Perbedaan bahan dan kondisi pengujian membatasi perbandingan langsung besarnya zona hambat dengan penelitian ini.

Eco-enzyme dalam penelitian ini memiliki pH <4 setelah fermentasi sekitar tiga bulan. Permatananda dan Pandit (2023) meneliti eco-enzyme kulit jeruk pada lama fermentasi 10, 30, 60, dan 90 hari. Mereka melaporkan penurunan TSS, TDS, BOD, dan COD seiring lamanya fermentasi, sementara pH tidak berubah. Temuan tersebut menunjukkan bahwa pH saja belum cukup untuk menggambarkan seluruh perubahan karakter produk selama fermentasi. Karena penelitian ini tidak membandingkan lama fermentasi, hubungan antara durasi fermentasi dan aktivitas antibakteri tidak dapat disimpulkan.

Cindana *et al.*, (2025) melaporkan perbedaan profil asam asetat, asam laktat, dan asam sitrat pada eco-enzyme kulit semangka, pepaya, dan sitrus, serta aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji, termasuk *Escherichia coli*. Lestari *et al.,* (2026) melaporkan alkaloid, flavonoid, dan tanin pada eco-enzyme campuran limbah kopi dan kulit nanas. Tinjauan Agustin dan Widyaningrum (2026) juga membahas potensi asam organik dan senyawa bioaktif dalam aktivitas antibakteri eco-enzyme. Temuan tersebut memberi dasar bagi karakterisasi kimia lanjutan, tetapi belum membuktikan senyawa yang menentukan zona hambat dalam penelitian ini karena kandungan dan kadarnya belum dianalisis.

Respons penghambatan bervariasi antar-isolat, sebagian menunjukkan zona hambat pada formulasi tertentu, sedangkan sebagian lain tidak menunjukkan zona yang terukur. Aktivitas eco-enzyme terhadap *Escherichia coli* juga dilaporkan oleh Gayanti *et al.*, (2023) dan Jamilah *et al.,* (2026), meskipun bahan baku dan kondisi pengujian kedua penelitian tersebut berbeda. Karakter isolat mungkin turut berkaitan dengan variasi respons, tetapi belum diuji dalam penelitian ini.

Nilai 0 mm dipertahankan sebagai hasil pengamatan pada uji difusi cakram. Tidak terbentuknya zona hambat, tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan ketiadaan seluruh aktivitas antibakteri dengan metode lain. Penelitian lanjutan dapat melengkapi difusi cakram dengan pengujian konsentrasi hambat minimum (MIC) dan konsentrasi bunuh minimum (MBC).

Secara deskriptif, ketiga variasi formulasi bahan menunjukkan adanya pola penghambatan yang berbeda, tetapi uji Friedman belum menunjukkan perbedaan yang signifikan. Konteks penggunaan isolat sungai relevan karena *Escherichia coli* dan coliform telah dilaporkan pada lingkungan sungai dan pesisir (Lukas *et al.*, 2024; Tuhumury *et al*., 2024; Sirajuddin & Mamesah, 2026). Penelitian lanjutan memerlukan lebih banyak isolat independen dan karakterisasi kimia eco-enzyme untuk menilai hubungan antara jenis bahan dan aktivitas antibakteri.

Kesimpulan

Formulasi 1 jenis bahan menghasilkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi (8,50 ± 7,66 mm), diikuti formulasi 5 jenis bahan (4,28 ± 4,22 mm) dan 3 jenis bahan (2,33 ± 3,56 mm). Uji Friedman menunjukkan bahwa perbedaan variasi komposisi belum signifikan secara statistik ($\chi^2(2)=5,36$; p=0,069; Kendall's W=0,298). Zona hambat terukur ditemukan pada 66,7% isolat untuk formulasi 1 jenis bahan, 33,3% untuk 3 jenis bahan, dan 55,6% untuk 5 jenis bahan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan jenis bahan tidak diikuti

peningkatan aktivitas antibakteri secara konsisten.

Penelitian selanjutnya disarankan melibatkan jumlah isolat biologis independen yang lebih besar dari setiap sungai serta menggunakan beberapa batch produksi eco-enzyme yang dibuat secara independen untuk setiap formulasi. Pendekatan ini diperlukan agar hasil penelitian dapat menggambarkan variasi antar-isolat dan antar-batch, sehingga inferensi tidak terbatas pada isolat dan batch yang diuji. Karakterisasi setiap formulasi juga perlu dilengkapi melalui pengukuran pH, total keasaman tertitrasi, kadar asam asetat, serta identifikasi atau kuantifikasi senyawa bioaktif yang relevan. Selain itu, pengujian *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan *minimum bactericidal concentration* (MBC) disarankan untuk melengkapi hasil metode difusi cakram, karena diameter zona hambat tidak hanya dipengaruhi oleh aktivitas antibakteri, tetapi juga oleh kemampuan senyawa dalam berdifusi melalui media agar. Penggunaan kontrol asam dengan pH yang sesuai dan pengujian eco-enzyme yang pH-nya telah dinetralkan juga dapat dipertimbangkan untuk mengevaluasi kontribusi keasaman terhadap aktivitas antibakteri yang teramati.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan penelitian melalui skema PKDP Tahun 2026, dan pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

Referensi

Agustin, R., & Widyaningrum, D. (2026). From organic waste to eco-enzyme: A systematic review of raw materials, antibacterial activity, and applications. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1580(1), 012021. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1580/1/012021

Benny, N., Shams, R., Dash, K. K., Pandey, V. K., & Bashir, O. (2023). Recent trends in utilization of citrus fruits in production of eco-enzyme. *Journal of Agriculture and Food Research,* 13, 100657. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100657

Cindana, J., Widyaningrum, D., & Karmagatri, M. (2025). Comparative profile of organic acid composition and antibacterial activity of eco-enzymes derived from fruit peels. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1564 (1), 012006. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1564/1/012006

Gayanti, A. N. S., Suartha, I. N., & Sudipa, P. H. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekoenzim terhadap bakteri Escherichia coli yang diisolasi dari kulit anjing. *Buletin Veteriner Udayana*, 15(4), 667–673. https://doi.org/10.24843/bulvet.2023.v15.i04.p19

Hendri, H., Zakiah, Z., & Kurniatuhadi, R. (2023). Antibacterial activity of pineapple peel eco-enzyme (Ananas comosus L.) on growth Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis. *Jurnal Biologi Tropis,* 23(3), 464–474. https://doi.org/10.29303/jbt.v23i3.5272

Irianto, I. D. K., Purnomo, K., Amanati, A., Savila, D., & Mardiyaningsih, A. (2023). Aktivitas antibakteri eco-enzyme limbah Citrus sinensis, Musa paradisiaca L. var bluggoe, dan kombinasinya terhadap Staphylococcus aureus. *Majalah Farmaseutik,* 19(4), 504–513. https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v19i4.79019

Jamilah, Badui, D., & Samputri, S. (2026). Preliminary antibacterial activity of eco-enzymes derived from Maluku spice-plant residues against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Biosel: Biology Science and Education,* 15(2), 230–235. https://doi.org/10.33477/bs.v15i2.13953

Lestari, A., Haryono, N. Y., Berlianny, A., & Juwita, R. (2026). Phytochemical analysis and antibacterial activity of eco-enzyme produced from mixed coffee pulp and pineapple peel waste. Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi, 14(1), 391–400. https://doi.org/10.33394/bioscientist.v14i1.17246

Lukas, G. R. N., Riogilang, H., & Riogilang, H. (2024). Analisis kontaminan bakteri Escherichia coli di Sungai Maruasey. TEKNO, 22(89), 1625–1633. https://doi.org/10.35793/jts.v22i89.57705

Naidoo, N., & Zishiri, O. T. (2025). Presence, pathogenicity, antibiotic resistance, and virulence factors of Escherichia coli: A review. Bacteria, 4(1), 16. https://doi.org/10.3390/bacteria4010016

Ngatia, M., Kithiia, S. M., & Voda, M. (2023).

Effects of anthropogenic activities on water quality within Ngong River Sub-Catchment, Nairobi, Kenya. *Water,* 15(4), 660. https://doi.org/10.3390/w15040660

Permatananda, P. A. N. K., & Pandit, I. G. S. (2023). Characteristic of orange peel waste-based oneco-enzymeat different fermentation duration. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA,* 9(6), 4289–4293. https://doi.org/10.29303/jppipa.v9i6.3527

Septiani, R., & Sundari, S. (2023). Pengelolaan limbah organik kantin menjadi eco enzyme subtitusi cairan pembersih di PT. XX. *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi,* 2(6), 1137–1146. https://doi.org/10.55123/insologi.v2i6.2862

Sirajuddin, N. T., & Mamesah, J. A. B. (2026). Analisis total bakteri coliform di Perairan Pantai Liang Kabupaten Maluku Tengah. *Biocaster: Jurnal Kajian Biologi*, 6(2), 847–854. https://doi.org/10.36312/biocaster.v6i2.1182

Suliestyah, S., Aryanto, R., Palit, C., Yulianti, R., Suudi, B. C., & Meitdwitri, A. (2022). Eco enzyme production from fruit peel waste and its application as an anti-bacterial and TSS reducing agent. *International Research Journal of Engineering, IT and Scientific Research*, 8(6), 270–275. https://doi.org/10.21744/irjeis.v8n6.2199

Tuhumury, N. C., Tuahatu, J., & Manuputty, G. D. (2024). Effect of eco-enzyme on water quality parameters in some rivers disembogued at Ambon Bay. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan,* 14(4), 824–835. https://doi.org/10.29244/jpsl.14.4.824

Umayah, A., & Sugiharto, B. (2026). Comparative analysis of antibacterial activity of eco-enzyme from fruit peel waste against Gram-positive and Gram-negative bacteria using the Kirby–Bauer method. *Biodidaktika: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya,* 21(1), 41–53. https://doi.org/10.62870/biodidaktika.v21i1.38574