

UJI ORGANOLEPTIK DAN MIKROBIOLOGI *CLASSIC ENZIM* BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*)

Utari Agustina^{1*}, Muhammad Iskandar Alhakim²

^{1,2}PT Kilang Pertamina Internasional Refinery Unit III Plaju

*e-mail: utari_agustina@yahoo.com

ABSTRACT

Indonesia is a rich in sources of medicinal plants that can be easily obtained. the belimbing wuluh through the fermentation to turn the raw material into a classic enzyme. the purpose of this research are to make classic enzyme and hand sanitizer, identify the lactic acid bacteria (BAL) from the fermentation of classic enzym belimbing wuluh, and to know the effectiveness of handsanitizer belimbing wuluh. The implementations of the research are preparation of raw materials, to make classic enzyme with anaerobic fermentation method, and laboratory analysis of organoleptic and microbiology tests. The results of the reseach are classic enzym and hand sanitizer products, the identification of lactic acid bacteria (BAL), and the effectiveness of hand sanitizer. from this research, it is known that the process of making the classic enzyme is done by fermentation for three months or 90 days with the composition 1:3:10. The results of this research are the lactic acid bacteria (BAL) is not identified. it because of pH 1,96 and the liquid has been convered into alcohol, the effectiveness of handsanitizer is quite good depend on morphology and ALT tests.

Keywords: Classic enzym, belimbing wuluh, bakteri asam laktat, hand sanitizer, fermentasi.

ABSTRAK

Indonesia adalah negara yang kaya sumber tanaman obat, salah satunya belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). Belimbing wuluh difermentasi untuk mengubah bahan baku menjadi *classic enzym*. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat *classic enzym* dan *handsanitizer* belimbing wuluh, mengidentifikasi bakteri asam laktat dari produk fermentasi *classic enzym* belimbing wuluh, dan mengetahui efektivitas *hand sanitizer* belimbing wuluh dalam deaktivasi bakteri atau kuman yang ada di telapak tangan. Pelaksanaan penelitian dilakukan tiga tahap yaitu persiapan bahan baku, pembuatan *classic enzym* dengan metode fermentasi anaerob, dan uji organoleptik dan mikrobiologi. Hasil dari penelitian ini yaitu produk *classic enzym* dan *hand sanitizer*, hasil identifikasi bakteri asam laktat, dan efektivitas *hand sanitizer* dalam membunuh kuman atau bakteri yang ada di tangan dengan pengamatan secara morfologi menggunakan mikroskop. proses fermentasi dilakukan selama 90 hari dengan perbandingan komposisi 1:3:10 yaitu 1 kg gula pasir, 3 kg belimbing wuluh, dan 10 liter air masak. Dari hasil pengamatan mikrobiologi, bakteri asam laktat dalam produk tidak teridentifikasi atau steril karena pH yang sangat rendah 1,96 dan waktu fermentasi yang cukup lama sehingga cairan sudah terkonversi menjadi alkohol, efektivitas *hand sanitizer* cukup baik secara morfologi dan secara pengujian Angka Lempeng Total (ALT).

Kata Kunci: Classic enzym, belimbing wuluh, bakteri asam laktat, hand sanitizer, fermentasi.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber tanaman obat. Dilansir dari *website* badan penelitian dan pengembangan kesehatan kementerian kesehatan republik Indonesia, belimbing wuluh adalah salah satu jenis tanaman obat yang sudah cukup populer di kalangan masyarakat Indonesia.

Belimbing wuluh digunakan sebagai obat tradisional diantaranya untuk sariawan, sakit perut, batuk rejan, hipertensi, radang rektum, gondongan, rematik, gusi berdarah, gigi berlubang, memperbaiki fungsi pencernaan, serta bahan kosmetik untuk mencegah penuaan dini atau *antiaging* (Saputra dan Anggraini, 2016).

Efek potensial yang diberikan belimbing wuluh antara lain sebagai antidiabetes (Pushparaj 2004), antioksidan (Chowdury *et al.* 2012), antitrombolitik (Siddique *et al.* 2013), antijamur (Rahayu 2013) dan antibakteri (Das *et al.* 2011; Zakaria *et al.* 2007).

Bagian pohon belimbing wuluh yang umum digunakan adalah daun, bunga, kulit batang, dan buah. Kandungan asam sitrat dan flavonoid pada buah belimbing wuluh membuat ekstrak belimbing wuluh dapat bermanfaat untuk perkembangan antimikroba (Qurrotu, 2008).

Belimbing wuluh di pekarangan rumah penduduk di kampung Mari kota Palembang cukup mudah ditemukan dan belum dimanfaatkan dengan optimal oleh masyarakat setempat. Oleh karena itu masyarakat binaan PT Kilang Pertamina Internasional Refinery Unit III Plaju dan peneliti tertarik untuk memanfaatkan buah belimbing wuluh menjadi *classic enzim*. Pada prosesnya, belimbing wuluh melalui tahap fermentasi untuk mengubah bahan baku menjadi *classic enzim*. Proses fermentasi bertujuan untuk mengembangkan bakteri baik yang disebut sebagai probiotik. Bakteri baik telah terbukti memiliki manfaat bagi

tubuh, yaitu untuk meningkatkan sistem imun hingga baik untuk pencernaan (hellosehat.com).

Berdasarkan informasi dari beberapa artikel, uji laboratorium mikrobiologi terkait produk fermentasi minuman dari belimbing wuluh masih sedikit ditemukan, sehingga peneliti tertarik untuk mengamati sifat fisik, dan mikrobiologi produk *classic enzim* dan *hand sanitizer* dari belimbing wuluh serta sejauh mana efektivitas penggunaan produk tersebut pada tubuh.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah dilakukan di Kampung Mari, talang bubuk Plaju yang merupakan lokasi binaan CSR PT. Kilang Pertamina Internasional Refinery Unit III Plaju pada Bulan Juli 2022 sampai dengan Februari 2023. Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen di laboratorium. Metode penelitian yang dilakukan adalah kualitatif. Menurut (Sugiyono, 2011) metode penelitian kualitatif adalah sebuah metode yang digunakan untuk meneliti objek dengan kondisi alami, dimana peneliti adalah instrumen kunci. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ember kapasitas 20 kg sebagai fermentor sederhana, blender, saringan, botol kaca, tabung reaksi, *biosafety*, labu Erlenmeyer, cawan petri, inkubator, kaca objek, *hot plate*, spoit, pinset, bunsen, cawan porselin, spatel logam, ose bulat, rak tabung, mikroskop elektron, dan *stirrer*. Bahan yang digunakan yaitu sebanyak 3 kg buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dibersihkan menggunakan air mengalir, selanjutnya dilakukan penghancuran menggunakan *blender* kemudian ditambahkan *gulaku* sebanyak 1 kg, dan air masak sebanyak 10 liter. Selanjutnya dilakukan pencampuran kedalam fermentor, dan



ditutup (fermentasi anaerob). Setelah kurang lebih 90 hari atau tiga bulan, kedalam botol. Kemudian sampel berupa *classic enzim* dan *hand sanitizer* dari belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dianalisis di UPT Laboratorium Lingkungan Dinas Lingkungan Hidup Kabupaten Musi Rawas untuk pengujian organoleptik, dan pH. Untuk uji mikrobiologi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Palembang Jl. Inspektur Yazid No.2 KM.2,5 Palembang 30126 dengan pendamping Ibu Nellyana. Pengujian sampel ditujukan untuk identifikasi Bakteri Asam Laktat dan uji angka lempeng total (ALT) untuk menghitung jumlah kuman dan mengetahui efektivitas produk *hand sanitizer*. Sampel uji bakteri yang digunakan adalah *classic enzim* dan *hand sanitizer* dari Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbii*). Isolasi Bakteri dilakukan di dalam *biosafety cabinet* dengan media *Brain Heart Infusion* (BHI) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya dilakukan Proses penanaman bakteri dilakukan di dalam *biosafety cabinet* kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C dan digunakan untuk pengujian pada umur 18-24 jam. Metode identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan morfologi sel. Identifikasi berdasarkan morfologi sel dilakukan melalui pemeriksaan mikroskopis untuk mengetahui bentuk, ukuran, kelompok bakteri (uji gram dan uji tahan asam), serta melihat struktur yang mencakup ada tidaknya flagel, kapsul, spora, granula, dan nukleus.

Pembuatan Classic Enzim Belimbing Wuluh

Pembuatan *classic enzim* belimbing wuluh menggunakan perbandingan komposisi 1:3:10 yaitu sebanyak 3 kilogram belimbing wuluh, 1 kilogram gula pasir, dan 10 liter air yang sudah dimasak. Ketiga bahan dicampur menjadi

classic enzim dipanen dan disaring satu didalam ember kapasitas 20 kg sebagai fermentor sederhana. Ember tersebut ditutup kemudian didiamkan selama kurang lebih 90 hari atau tiga bulan. *Classic enzim* siap dipanen.

Pembuatan Hand Sanitizer Belimbing Wuluh

Larutan induk *classic enzim* tanpa pengenceran ditambahkan minyak atsiri sereh wangi dengan perbandingan 60 ml atsiri: 10 liter induk. Pembuatan minyak atsiri 5 kg dalam 5 liter aquadest.

Uji Organoleptik

Uji organoleptik atau uji indra atau uji sensori merupakan cara pengujian dengan menggunakan indra manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap produk. Pengujian organoleptik adalah cara menilai dengan panca indera untuk mengetahui perubahan atau penyimpangan pada produk (Kartika dkk, 1988).

Bagian tubuh yang berperan dalam penginderaan adalah mata, telinga, lidah, hidung, dan kulit. Kemampuan alat indera memberikan kesan atau tanggapan yang dapat dianalisis atau dibedakan berdasarkan jenis kesan. Kemampuan memberikan kesan dapat dibedakan berdasarkan kemampuan alat indera memberikan reaksi atas rangsangan yang diterima. Kemampuan tersebut terdiri atas kemampuan mendeteksi (*detection*), mengenali (*recognition*), membedakan (*discrimination*), membandingkan (*scalling*), dan kemampuan menyatakan suka tau tidak suka (*hedonik*). (Saleh, 2004).

Terdapat tiga jenis pengujian organoleptik yaitu *Discriminative/Different test* (Tes Pembedaan), *Affective test* (Tes Afektif), dan *Descriptive test* (Tes Deskripsi). *Discriminative test* dilakukan untuk melihat berbagai perbedaan sifat



antara produk yang satu dengan yang lainnya, seperti perbedaan rasa, warna, aroma, dan atribut sensori lainnya. Selanjutnya yaitu *Affective test*. Tes ini dilakukan untuk melihat bagaimana sikap subjektif panelis (konsumen) terhadap sifat-sifat produk (Ayustaningwarno, 2014). Lalu yang terakhir adalah *Descriptive test*, tes ini dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi

dan mendeskripsikan produk dari bahan baku yang digunakan, mengidentifikasi proses produksi, atau menentukan atribut sensori produk yang dapat diterima oleh alat indera konsumen (Tarwendah, 2017).

Pengujian ini terdiri atas lima panelis, dan variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi aroma, warna dan rasa produk *classic enzim* belimbing wuluh.



Gambar 2. Uji organoleptik oleh panelis

Persiapan Sampel

Menyiapkan Tiga buah tabung reaksi bersih untuk sampel. Masing-masing diisi dengan media penyubur BHI (*Broth Heart Infussion*) 10 ml. kemudian tabung 1 diisi dengan 1 ml *classic enzim*, tabung 2 diisi dengan hasil *swab* tangan

menggunakan larutan *buffer* NaCl sebanyak 3-5 *swab*, tabung 3 diisi dengan *swab* tangan yang sudah disemprot *handsanitizer* sebanyak tujuh semprot. Kemudian ketiga sampel diinkubasi selama 24 jam dengan temperatur 37°C.



Gambar 3. *Swab* tangan dan penyemprotan *handsanitizer*

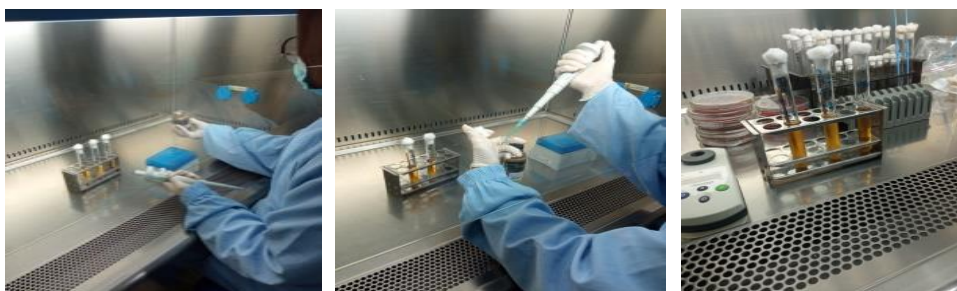
Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan tiga buah tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan 10 ml *Broth Heart Infussion* (BHI). Sampel pertama 1 ml *classic enzim*, sampel kedua *swab* tangan ditambah larutan *buffer*

NaOH, dan sampel ketiga adalah *swab* tangan yang sudah disemprot *handsanitizer* belimbing wuluh sebanyak tujuh semprot. Cairan fermentasi belimbing wuluh sebanyak 1 ml dipindahkan ke media BHI (*Broth Heart Infussion*) untuk melihat pertumbuhan



bakteri. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan temperatur 37 °C .



Gambar 4. Isolasi Bakteri

Inkubasi Bakteri

Setelah diisolasi, bakteri diinkubasi selama 24 jam, masing-masing koloni yang tumbuh disekitarnya akan berwarna

bening kemudian dimurnikan. Berikut ini merupakan proses inkubasi bakteri dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Inkubasi Bakteri

Pewarnaan Gram

Langkah-langkah yang dilakukan yaitu membuat sediaan oles bakteri, menuang zat warna Kristal violet pada sediaan tersebut, membiarkan 1 menit, membuang zat warna lalu mencuci dengan air mengalir, memberi larutan lugol, membiarkan 1 menit, membuang lugol, dan mencuci sediaan dengan air, selanjutnya mencuci dengan alkohol 96% sampai tidak ada lagi zat warna yang terlarut, mencuci dengan air sampai bersih, menuangkan larutan safranin dan membiarkan 1 menit, lalu mencuci dengan air bersih, mengeringkan dengan kertas saring, mengamati secara mikroskopik di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x (menggunakan minyak imersi).

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

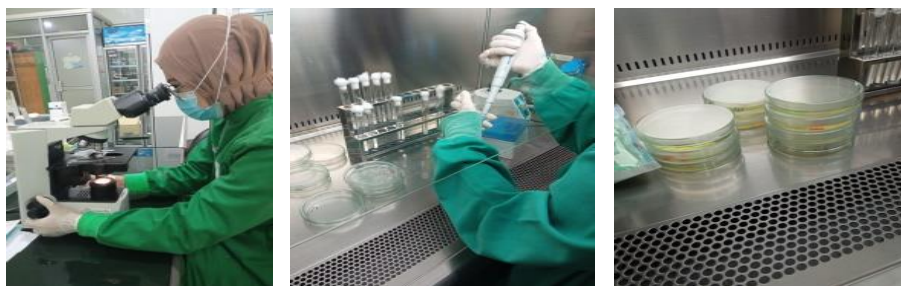
Pengujian Angka Lempeng Total adalah untuk menentukan jumlah bakteri dalam suatu sampel. Dalam test tersebut diketahui perkembangan banyaknya bakteri dengan mengatur sampel, di mana total bakteri tergantung atas formasi bakteri di dalam media tempat tumbuhnya dan masing-masing bakteri yang dihasilkan akan membentuk koloni yang tunggal. Sampel dipipet secara aseptik sebanyak 10 ml ke dalam botol steril yang didalamnya telah berisi 90 ml NaCl 0,9% steril lalu menghomogenkan dengan cara memipet keluar masuk sebanyak 25 kali, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . memipet 1 ml dari pengenceran 10^{-1} lalu memasukkan kedalam tabung pertama yang berisi 10



ml NaCl 0,9% steril dan menghomogenkan dengan cara memipet keluar masuk sebanyak 25 kali dan tabung pertama disebut pengenceran 10^{-2} . keluar masuk sebanyak 25 kali dan tabung kedua disebut pengenceran 10^{-3} . memipet 1 ml tabung pertama dan memasukkan kedalam tabung kedua dan menghomogenkan dengan cara memipet keluar masuk sebanyak 25 kali dan tabung kedua disebut pengenceran 10^{-4} . Perlakuan yang sama dilakukan pada tabung ke dua. memipet sebanyak 1 ml dari pengenceran 10^{-1} dan memasukkan kedalam cawan petri. Perlakuan yang sama dilakukan pemipetan dari 10^{-2} sampai pengenceran 10^{-4} . menuang media

memipet 1 ml tabung pertama dan memasukkan kedalam tabung kedua dan menghomogenkan dengan cara memipet

PCA (*Plate Count Agar*) sebanyak 15-25 ml pada cawan petri yang telah berisi *suspense* sampel. menuang PCA (*Plate Count Agar*) pada cawan petri yang kosong sebagai *control* negatif. Setiap cawan petri tersebut diputar sedemikian rupa hingga membentuk angka delapan untuk menghomogenkan sampel dengan media. Setelah memadat, menginkubasi cawan pada 37°C selama 18-24 jam di dalam incubator dengan posisi terbalik dan jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.



Gambar 6. Persiapan uji ALT

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati karakteristik produk *classic enzyme* dari belimbing wuluh. Karakteristik yang diamati adalah aroma, rasa, tekstur, dan warna. Berikut data pengamatan uji organoleptik dapat dilihat pada tabel 1. Dari tabel 1 diketahui bahwa produk *classic enzyme* memiliki

aroma asam khas fermentasi seperti aroma madu dan tapai. Aroma asam yang dihasilkan berasal dari asam asetat yang terdapat dalam cairan *classic enzyme* tersebut. Asam asetat umumnya akan memberikan rasa asam dan aroma asam pada cairan atau makanan (Buckle, 2009).

Tabel 1. Aroma Produk *Classic Enzim* Belimbing Wuluh

Variabel	Aroma
P1	Seperti tapai
P2	Asam, bau khas fermentasi tumbuhan
P3	Bau madu
P4	Bau madu
P5	Bau asam

Asam asetat dihasilkan dari proses metabolisme bakteri secara alami yang

terdapat dalam sisa buah dan sayur. Proses metabolisme anaerobik atau



disebut sebagai proses fermentasi merupakan suatu upaya bakteri untuk memperoleh energi dari karbohidrat dalam kondisi *anaerob* (tanpa oksigen) dan dengan produk samping berupa alkohol atau asam asetat (tergantung dari jenis mikroorganismenya). Pada produk *classic enzim* yang dihasilkan, aroma

yang mirip seperti madu menunjukkan indikasi keberhasilan proses fermentasi yang terjadi. Artinya pada saat fermentasi berlangsung terdapat sedikit kontaminan, atau bahkan tidak ada sama sekali atau dapat diabaikan. Untuk pengujian rasa produk *classic enzim* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rasa Produk *Classic Enzim* Belimbing Wuluh

Variabel	Rasa
P1	Seperti air tapai sedikit manis
P2	Asam pekat manis
P3	Asam
P4	Asam, manis
P5	Asam

Dari tabel 2 dapat diketahui bahwa *classic enzim* belimbing wuluh memiliki rasa asam manis. Berdasarkan penelitian (Essa dan Prima, 2022) Lama waktu fermentasi dapat mempengaruhi aroma dan rasa *classic enzim* yang disebabkan

oleh adanya aktivitas bakteri asam laktat yang bisa mendegradasi glukosa menjadi asam laktat. Semakin lama maka rasa asam semakin meningkat dan terdapat gas serta alkohol. Untuk tekstur *classic enzim* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Tekstur Produk *Classic Enzim* Belimbing Wuluh

Variabel	Tekstur
P1	Cair
P2	Cair
P3	Cair
P4	Cair
P5	Cair

Dari tabel 3 dapat diketahui bahwa *classic enzim* belimbing wuluh memiliki tekstur cair. Berdasarkan standar mutu minuman fermentasi, penampakan atau

tekstur minuman fermentasi berbentuk cair. Artinya, produk yang dihasilkan sesuai dengan syarat minuman fermentasi yang sesuai dengan SNI 7552 : 2009.

Tabel 4. Warna Produk *Classic Enzim* Belimbing Wuluh

Variabel	Warna
P1	Kuning kehijauan
P2	Kuning kecoklatan
P3	Kuning kecoklatan
P4	Coklat
P5	Keruh

Dari tabel 4 diketahui bahwa setelah proses fermentasi selama 90 hari terjadi

perubahan pada warna produk dari coklat bening menjadi kecoklatan dan agak



keruh. Menurut kajian literatur, fermentasi pada *classic enzyme* dapat dikatakan berhasil jika terbentuk larutan berwarna kecoklatan dan memiliki bau seperti

buah-buahan dan memiliki pH dibawah 4 atau pH asam (Win, 2011). Berikut ini merupakan syarat mutu minuman fermentasi.

Tabel 5. Syarat Mutu Minuman Fermentasi

Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
		Tanpa Perlakuan Panas	Dengan Perlakuan Panas
Penampakan	-	Cair	Cair
Bau	-	Normal	Normal
Rasa	-	Asam	Asam
Homogenitas	-	Homogen	Homogen
Lemak (b/b)	%	Min. 0,6	Min. 0,6
Protein (b/b)	%	Min. 1,0	Min. 1,0
Abu (b/b)	%	Max. 1,0	Max. 1,0
Keasaman tertitrasi (b/b)	%	0,2 – 0,9	0,2 – 0,9
Bakteri coliform	APM/mL	Max. 10	Max. 10
Kultur starter	Koloni/mL	Min. 1 x 10 ⁶	-

Sumber: SNI 7552 : 2009

Pada Tabel 5 standar baku mutu minuman fermentasi memiliki penampakan cair, bau yang normal khas fermentasi, dan rasa asam. Ketiga parameter tersebut sudah memenuhi standar mutu minuman fermentasi SNI 7552 : 2009.

Handsantitizer

Pada tabel 6 diketahui bahwa *handsantitizer* dari belimbing wuluh memiliki aroma sereh wangi dikarenakan terdapat penambahan minyak atsiri sereh wangi pada proses pembuatan *handsantitizer*. Sereh wangi ditambahkan sebagai bahan pewangi produk *handsantitizer*, namun sereh wangi juga memiliki sifat antibakteri yang bisa membunuh kuman. Minyak atsiri dari beberapa tanaman bersifat aktif biologis sebagai antijamur dan antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai antimikroba alami. Berdasarkan

penelitian yang telah dilakukan dengan metode cawan tebar, diketahui bahwa minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.Rendle) memiliki aktivitas antijamur dan antibakteri. Senyawa aktif pada minyak sereh wangi yang berfungsi sebagai antibakteri adalah *sitronelal*, *geraniol*, dan *sitronelol* yang mampu menghambat aktivitas bakteri (Luangnarumitchai, 2007).

Kandungan kimia utama yang terdapat dalam tanaman sereh wangi antara lain mengandung minyak atsiri dengan komponen yang terdiri yaitu sitronelal (27,87%), sitronellol (11,85%), geraniol (22,77%), geranial (14,54%), neral (11,21%) (Luciani, 2016). Untuk tekstur belimbing wuluh dapat dilihat pada tabel 7.

Pada tabel 7 diketahui bahwa *hand sanitizer* belimbing wuluh memiliki tekstur cair. Komposisi hand sanitizer adalah *classic enzyme* ditambah minyak



atsiri sereh wangi tanpa ada tambahan zat lain. Sehingga tekstur *hand sanitizer* mengikuti larutan induk yaitu cair. *Handsanitizer* berbentuk cair dapat membersihkan kuman lebih cepat dibandingkan jenis gel. Selain itu, mudah kering ketika disemprotkan ke benda lain.

Berdasarkan penelitian ini, *handsanitizer* telah diuji secara morfologi dibawah mikroskop elektron dan uji ALT. Hasil pengamatan selama tiga menit setelah pemakaian, mampu mengurangi mikroorganismenya yang ada di telapak tangan.

Tabel 6. Aroma Produk *hand sanitizer* Belimbing Wuluh

Variabel	Aroma
P1	Bau minyak sereh
P2	<i>Citronella</i> /sereh
P3	Sereh
P4	Sereh
P5	Sereh wangi

Tabel 7. Tekstur Produk *hand sanitizer* Belimbing Wuluh

Variabel	Tekstur
P1	Cair dan lengket
P2	Cair dan lengket
P3	Cair
P4	Cair
P5	Cair

Pada tabel 8 berikut ini diketahui bahwa *handsanitizer* belimbing wuluh memiliki warna coklat keemasan. Sedikit berbeda dengan larutan induk *classic*

enzim yang berwarna coklat yang lebih pekat sebagai bahan bakunya dikarenakan terdapat penambahan minyak atsiri sereh wangi.

Tabel 8. Warna Produk *hand sanitizer* Belimbing Wuluh

Variabel	Warna
P1	coklat muda
P2	kuning keemasan
P3	coklat
P4	kuning keemasan
P5	Keruh



pH *Classic Enzim* Belimbing Wuluh

Tabel 9. pH *Classic Enzim* Belimbing Wuluh

<i>Classic Enzim</i>	Satuan	pH
Pengukuran 1	-	2,03
Pengukuran 2	-	1,88
pH rata-rata	-	1,96

Dari Tabel 9. dapat diketahui pH *classic enzim* belimbing wuluh sangat rendah yaitu 1,88-2,03 dan diperoleh rata-rata 1,96. Proses fermentasi berlangsung cukup lama yaitu 90 hari. Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa penurunan pH seiring lama fermentasi. Penurunan pH merupakan salah satu akibat dari proses fermentasi yang terjadi karena adanya akumulasi asam laktat sebagai produk utama dari bakteri homofermentatif (Fanworth, 2005). Semakin lama waktu fermentasi, semakin banyak asam-asam organik yang terakumulasi akan meningkatkan derajat keasaman produk (Pranayanti, 2015). pH yang rendah dapat menghambat kontaminasi mikroba pembusuk dan juga membunuh mikroba patogen terutama yang ada didalam tubuh (Aditya Fridayati, 2015). Hal ini berkaitan dengan identifikasi bakteri asam laktat secara morfologi di laboratorium. Dari hasil pengamatan laboratorium dengan mikroskop, *classic enzim* belimbing wuluh steril dari bakteri. Baik gram positif maupun negatif. Salah satu penyebabnya adalah pH cairan yang sangat rendah. Penurunan pH dapat disebabkan oleh salah satunya aktivitas BAL. namun, kondisi ini jug bermanfaat untuk memberikan daya awet yang baik pada produk akhir karena dapat

menghambat pertumbuhan bakteri perusak atau pathogen.

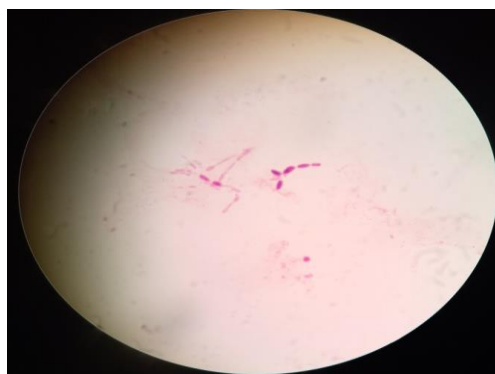
Menurut (Essa dan Prima, 2022) penurunan pH disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat dan asam lemak rantai pendek atau *short chain fatty acid* (SCFA) seperti asam butirat, propionate, dan asam asetat. Senyawa SCFA ini bermanfaat bagi usus yaitu menaikkan mikroflora usus.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Dari hasil penelitian *classic enzim* belimbing wuluh diperoleh data pengamatan bakteri pada gambar 1.

Pada gambar 1, setelah dilakukan isolasi bakteri, dan inkubasi bakteri selama 24 jam tidak terbentuk endapan putih yang mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri. Pada hari kedua (inkubasi 48 jam) dilanjutkan dengan melakukan penanaman atau kultur bakteri. Dari pengamatan yang dilakukan di laboratorium dinyatakan bahwa produk *classic enzim* tidak ada pertumbuhan dan dinyatakan steril dari bakteri. Termasuk bakteri asam laktat. Belimbing wuluh merupakan sejenis tanaman yang banyak mengandung asam, yang berfungsi sebagai antimikroba. Berikut ini adalah gambar kontaminasi jamur.

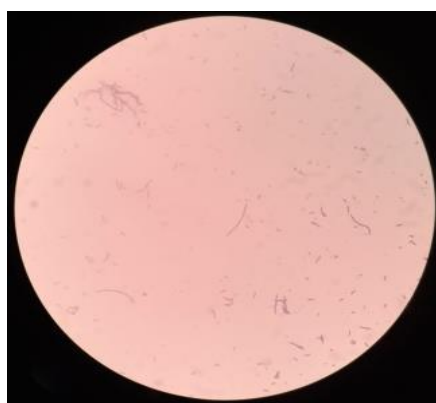




Gambar 1. Kontaminasi jamur pada *classic enzim* belimbing wuluh setelah 7 hari.

Zat asam pada *classic enzim* dapat membuat metabolisme bakteri menjadi terganggu. Kondisi asam membuat banyak bakteri tidak bermetabolisme (tidak beradaptasi dengan baik pada suasana asam) sehingga tidak terjadi pertumbuhan bakteri (Sulistiyo dan Mujiburrohman, 2019). Beberapa asam organik antara lain, asam asetat, sitrat, format, laktat, dan oksalat. Selain itu, belimbing wuluh mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai

penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit. Akan tetapi, setelah pengamatan hari ke-7 terdapat pertumbuhan. Kemudian dilakukan pewarnaan gram dan uji morfologi menggunakan mikroskop. Hasil dari pengamatan tersebut dinyatakan terdapat kontaminan jamur. Selanjutnya identifikasi bakteri pada telapak tangan sebelum dan sesudah penggunaan *hand sanitizer* belimbing wuluh dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Bakteri di telapak tangan sebelum menggunakan *hand sanitizer*

Pada Gambar 2 secara morfologi dapat diketahui bahwa Kulit manusia tidak steril dari bakteri. Terdapat bakteri yang menetap pada kulit berkisar $10^2 - 10^6$ CFU/cm². Flora normal dapat diklasifikasikan menjadi 2, yaitu: flora residen dan flora transien. Flora residen merupakan bakteri yang berada di lapisan dalam kulit. Letaknya dibawah sel

superfisial lapisan *stratum korneum* dan dapat ditemukan di lapisan permukaan kulit, karena letaknya yang dalam itu flora jenis ini lebih sulit dihilangkan secara mekanik. Mikrobiota residen memiliki fungsi sebagai kompetitor nutrisi pada ekosistem dan antagonis mikroba. Potensial patogenik yang lebih rendah dibanding dengan flora transien



merupakan hal yang penting untuk mencegah kolonisasi bakteri yang memiliki kemampuan menimbulkan penyakit lebih besar pada kulit. Flora jenis ini terdiri dari mayoritas *staphylococcus* koagulase negatif dan

corynebacterium, dengan kepadatan populasi antara 10² dan 10³ CFU/cm². Flora transien mengolonisasi lapisan permukaan kulit dengan waktu yang singkat yang biasanya didapat dari lingkungan yang terkontaminasi.



Gambar 3. Bakteri di tangan sesudah menggunakan *hand sanitizer*

Pada gambar 3 secara morfologi dapat diketahui bahwa penggunaan *handsanitizer* belimbing wuluh telah mengurangi bakteri yang ada di tangan. Bakteri yang dapat dikurangi dengan penggunaan *hand sanitizer* adalah flora transien yang berada di lapisan permukaan kulit. Organisme yang termasuk dalam flora transien mudah dihilangkan dengan kegiatan mekanis seperti mencuci tangan, pH rendah, *fatty acid* pada sekresi sebacea, dan adanya enzim lisozim adalah beberapa faktor penting dalam eliminasi flora non-residen dari kulit. Flora transien, diantaranya *Staphylococcus aureus*, basil gram negatif, atau *Candida species*, merupakan penyebab infeksi nosokomial paling tinggi dan berperan dalam penyebaran resistensi mikroba. Dari hasil pengukuran, bahan baku *handsanitizer* memiliki pH yang sangat rendah yaitu 1,98. Dari hasil pengukuran pH tersebut dapat disimpulkan bahwa *hand sanitizer*

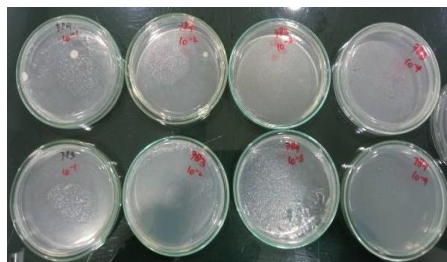
belimbing wuluh dapat mengurangi bakteri yang ada di telapak tangan.

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel (BPOM, 2008).

Dari hasil pengamatan, diperoleh pengamatan sebagai berikut:





Gambar 4. Uji ALT, Pengamatan jumlah koloni yang tumbuh pada *hand sanitizer* belimbing wuluh

Pada Gambar 4 setelah inkubasi selama 48 jam dapat diketahui terdapat pertumbuhan koloni pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} pada pengenceran 10^{-1} terdapat 2 koloni bakteri dan pada pengenceran 10^{-2} terdapat 1 koloni. Dari pengamatan yang telah dilakukan,

jumlah koloni yang ditemukan pada pengamatan ini < 30 , sehingga ALT koloni yang dihitung adalah dari koloni yang ada pada tingkat pengenceran terendah yaitu 10^{-1} . ALT (Angka Lempeng Total) koloni bakteri dapat dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{ALT Koloni} = \text{jumlah koloni yang tumbuh} \times 1/\text{tingkat pengenceran} \times 10$$
$$\text{ALT Koloni} = 2 \times 1/10^{-1} \times 10 = 2 \times 10^2 \text{ cfu/ml}$$

Pada dasarnya perhitungan dilakukan pada media agar yang memiliki jumlah populasi mikroba antara 30–300 koloni. Bila jumlah populasi kurang dari 30 koloni maka akan menghasilkan penghitungan yang kurang teliti secara statistik, namun bila lebih dari 300 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan antarkoloni.

Prinsip pengujian Angka Lempeng Total menurut Metode Analisis Mikrobiologi (MA PPOM 61/MIK/06) yaitu pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah cuplikan diinokulasikan pada media lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Pada pengujian ALT (Angka Lempeng Total) digunakan PDF (*Pepton Dilution Fluid*) sebagai pengencer sampel dan menggunakan PCA (*Plate Count Agar*) sebagai media padat.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian yang telah dilakukan adalah produk

classic enzim belimbing wuluh secara organoleptik memenuhi syarat baku mutu yang dapat diminum. Secara mikrobiologi *classic enzim* steril dari bakteri asam laktat dikarenakan pH yang sangat rendah yaitu 1,96. Untuk *hand sanitizer* koloni bakteri yang terbentuk sebelum menggunakan *hand sanitizer* adalah 2 koloni pada pengenceran 10^{-1} dan setelah menggunakan *hand sanitizer* tidak terdapat koloni bakteri dari pengenceran 10^{-1} - 10^{-4} itu artinya penggunaan *hand sanitizer* cukup efektif untuk digunakan. Dari perhitungan secara statistik jumlah ALT sebesar 2×10^2 cfu/ml walaupun tidak teliti namun secara morfologi terlihat perubahan yang signifikan. Adapun saran dari pengamatan ini yaitu kegunaan *classic enzim* sebagai minuman perlu dikaji ulang terkait dosis pemakaian dikarenakan pH yang sangat rendah. Kemudian perlu penelitian lebih lanjut terkait khasiat *classic enzim* bagi tubuh ditinjau dari segi kesehatan.



DAFTAR PUSTAKA

- Bahri, Syamsul., Ginting, Zainuddin., Vanesa, Shella., dan ZA, Nurul. 2021. Formulasi Sediaan Gel Minyak Atsiri Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) Sebagai Antiseptik Tangan (hand sanitizer). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal 10:1 (Mei 2021)* 87-99
- BPOM. (2008). Pengujian Mikrobiologi Pangan. Jakarta: Pusat Pengujian Obat Dan Makanan Badan Pengawasan Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Buckel, K. A. 2009. Ilmu Pangan. Jakarta: UI-Press.
- Chowdury SS, Uddin GM, Mumtahana N, Hossain M, Hasan SMR, 2012, In-Vitro Antioxidant and Cytotoxic Potential Of Hydromethanolic Extract Of *Averrhoa Bilimbi* L. Fruits, Int. J. Pharm. Sci. Res.3(7): 2263- 2268.
- Das SC, Sultana S, Sumon R, Hasan SS. 2011. Antibacterial and cytotoxic activities of methanolic extracts of leaf and fruit parts of the plant *Averrhoa bilimbi* (Oxalidaceae), Am. J. Sci. Ind. Res. 2(4):531- 536.
- Farnworth, E.D.R. (2005). Handbook of Fermented Functional Foods. CRC Press LLC. Florida
- Febricia, Gede Pracheta., Nocianitri, Komang Ayu., dan Pratiwi, I Desak Putu Kartika. 2020. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav) Dengan *Lactobacillus* sp F213. *Jurnal Itepa*, 9 (2) Juni 2020, 170-180 ISSN : 2527-8010.
- Firmansyah, Ferdy., dan Wismi, Dian Novita. 2021. Formulasi dan Evaluasi Hand Sanitizer Spray Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). *Volume 5, Nomor 2. ISSN 2623-1581.*
- Hapsari, Annisa. 2021. 5 Manfaat Kesehatan Belimbing Wuluh apa saja?. *Http://www.hellosehat.com.* Diakses 2 Februari 2023.
- Khalisa., Lubis, Yanti Meldasari., dan Agustina, Raida. 2021. Uji Organoleptik Minuman Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*.L). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian E-ISSN: 2614-6053.*
- Larasati, Destyana., Astuti, Andari Puji., dan Maharani, Endang Triwahyuni. 2020. Uji Organoleptik Produk Eco-Enzyme dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus di Kota Semarang). *Seminar Nasional Edusainstek ISBN :978-602-5614-35-4 FMIPA UNIMUS.*
- Luciani Gaspar De Toledo, e., 2016. Essential Oil of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle: A Strategy to Combat Fungal Infections Caused by *Candida* Species. *International Journal of Molecular Sciences*, Issue 17, pp. 2-3.
- Moleong, L. J. 2010. Metodologi Penelitian Kualitatif. Bandung: Remaja Rosda Karya.
- Mulyani, Sri. 2016. Petunjuk Praktikum Mata Kuliah Pengendalian Mutu. Universitas Udayana Bali.
- Mursalim.2018. Pemeriksaan Angka Lempeng Total Bakteri Pada Minuman Sari Kedelai yang Diperjualbelikan di Kecamatan



- Manggala Kota Makassar. Jurnal Media Analisis Kesehatan, Vol. 1, e-ISSN : 2621-9557.
- Pebriana, Essa., dan Wikandari, RP. 2022. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Tomat dengan Kultur pertumbuhan *Candidaalbicans*, skripsi sarjana, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanudin. Makassar.
- Saleh, E. 2004. Dasar Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak. Program Studi Produksi Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Siddique KI, Uddin MMN, Islam MS, Parvin S, Shahriar M, 2013, Phytochemical screenings, thrombolytic activity and antimicrobial properties of the bark extracts of *Averrhoa bilimbi*, J. App. Pharm.
- Sitompul, Yamima Maria LR., Wartini NM., dan Sughita, I Made. 2022. Karakteristik Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Pada Perlakuan Pelarut etanol dan Suhu Ekstraksi. JOSR: Journal of Social Research Agustus 2022, 1 (9): 931-938
- Sugiyono. 2011. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. Bandung: Alfabeta.
- Sukandar, Elin Yulinah., Fidriyanni, Irda., dan Triani, Rizka. 2014. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak EtanolBuah Belimbing Wuluh Starter *L. plantarum* B1765. *UNESA Journal of Chemistry* 11(2): 5-10.
- Rahayu, P. 2013. Konsentrasi hambat minimum Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap (*Averrhoa Bilimbi* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, MRSA dan MRCNS. Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10 Bandung, 40132
- Sulistiyo, Sakti, & Mujiburrohman, M. (2019). Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Pelarut Terhadap Rendemen Ekstrak Flavonoid Daun Sawo Duren (*Cryosophillum cainito* L.) Dengan Metode Maserasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sumardilan., Retnowaty, Sri Fitria., Fitri, Yulia., dan Suroso, Aji. 2015. Uji Karakteristik Fisis, pH, dan Organoleptik Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Penambahan Pengawet Sintetis dan Pengawet Alami. Jurnal Photon Vol. 5 No.2 Fakultas MIPA dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Riau.
- Utami, Cahyaning Rini. 2018. Karakteristik Minuman Probiotik Fermentasi *Lactobacillus casei* Dari Buah Salak. *Jurnal Teknologi Pangan Vol 9 (1): 1-9 e-ISSN: 2597-436X*
- Rahayu, Endang S., Margino, S. 1997. Bakteri Asam Laktat: Isolasi dan Identifikasi. Yogyakarta.

