

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Pupuk Organik Cair

Pupuk organik adalah pupuk yang berperan dalam meningkatkan aktivitas biologi, kimia, dan fisik tanah sehingga tanah menjadi subur dan baik untuk pertumbuhan tanaman (Indriani, 2004). Saat ini sebagian besar petani masih tergantung pada pupuk anorganik karena pupuk anorganik mengandung beberapa unsur hara dalam jumlah yang banyak. Pupuk anorganik digunakan secara terus-menerus dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kondisi tanah yaitu dapat menyebabkan tanah menjadi cepat mengeras, kurang mampu menyimpan air dan cepat menjadi asam yang pada akhirnya menurunkan produktivitas tanaman (Ramadhani, 2010).

Pupuk organik terdapat dalam bentuk padat dan cair. Kelebihan pupuk organik cair adalah unsur hara yang terdapat di dalamnya lebih mudah diserap tanaman (Murbando, 1990). Pupuk organik cair adalah larutan hasil dari pembusukan bahan-bahan organik yang berasal dari sisa tanaman, kotoran hewan dan manusia yang kandungan unsur haranya lebih dari satu unsur. Pada umumnya pupuk cair organik tidak merusak tanah dan tanaman meskipun digunakan sesering mungkin. Selain itu, pupuk cair juga dapat dimanfaatkan sebagai aktivator untuk membuat kompos (Lingga dan Marsono, 2003).

Pupuk organik cair dapat dibuat dari beberapa jenis sampah organik yaitu sampah sayur baru, sisa sayuran basi, sisa nasi, sisa ikan, ayam, kulit telur, sampah buah seperti anggur, kulit jeruk, apel dan lain-lain (Hadisuwito,

2007). Bahan organik basah seperti sisa buah dan sayuran merupakan bahan baku pupuk cair yang sangat bagus karena selain mudah terdekomposisi, bahan ini juga kaya akan hara yang dibutuhkan tanaman. Semakin tinggi kandungan selulosa dari bahan organik, maka proses penguraian akan semakin lama (Purwendro dan Nurhidayat, 2006).

Pupuk organik cair merupakan salah satu jenis pupuk yang banyak beredar di pasaran. Pupuk organik cair kebanyakan diaplikasikan melalui daun yang mengandung hara makro dan mikro esensial (N, P, K, S, Ca, Mg, B, Mo, Cu, Fe, Mn, dan bahan organik). Pupuk organik cair mempunyai beberapa manfaat diantaranya dapat mendorong dan meningkatkan pembentukan klorofil daun sehingga meningkatkan kemampuan fotosintesis tanaman dan penyerapan nitrogen dari udara, dapat meningkatkan vigor tanaman sehingga tanaman menjadi kokoh dan kuat, meningkatkan daya tahan tanaman terhadap kekeringan, merangsang pertumbuhan cabang produksi, meningkatkan pembentukan bunga dan bakal buah, mengurangi gugurnya dan, bunga, dan bakal buah (Huda, 2013).

Pada pembuatan pupuk organik cair, perlu diperhatikan persyaratan atau standar kadar-kadar bahan kimia serta pH yang terkandung di dalam pupuk organik tersebut. Berikut adalah persyaratan teknis minimal pupuk organik yang ditetapkan oleh Departemen Pertanian Republik Indonesia, lihat Tabel 1.

Tabel 1. Standar Kualitas Mutu Pupuk Organik

Parameter	Standar
Total N	<2 %
C organik	>4 %
Rasio C/N	15-25%
P ₂ O ₅	<2 %
K ₂ O	<2 %
pH	4-8

Sumber: (Peraturan Menteri Pertanian No.28/Permentan/OT.140/2/2009)

Unsur hara makro dan mikro sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman. Fungsi unsur hara makro diantaranya Nitrogen (N), yang berfungsi merangsang pertumbuhan tanaman secara keseluruhan, untuk sintesis asam amino dan protein dalam tanaman, merangsang pertumbuhan vegetatif (warna hijau daun, panjang daun, lebar daun) dan pertumbuhan vegetatif batang (tinggi dan ukuran batang) (Kloepper, 1993). Fosfat (P) berfungsi untuk pengangkutan energi hasil metabolisme dalam tanaman, merangsang pertumbuhan akar, merangsang pembentukan biji, merangsang pembelahan sel tanaman dan memperbesar jaringan sel, merangsang pembungaan serta pematangan buah. Kalium (K) berfungsi dalam proses fotosintesa, pengangkutan hasil asimilasi, enzim dan mineral termasuk air. Meningkatkan kapasitas tukar kation (KTK) tanah dan membentuk senyawa kompleks dengan ion logam yang meracuni tanaman seperti aluminium, besi, dan mangan. Selain itu dapat meningkatkan daya tahan/kekebalan tanaman terhadap penyakit (Kloepper, 1993).

Selain unsur makro, tanaman juga memerlukan unsur mikro. Adapun peranan Kalsium (Ca) dalam tanaman sebagai penguat dinding sel, memperbaiki vigor tanaman dan kekuatan daun, mendorong perkembangan

akar, berperan dalam perpanjangan sel, sintesis protein dan pembelahan sel (Leiwakabessy dan Sutandi, 2004). Magnesium merupakan bagian dari klorofil yang berfungsi dalam proses fotosintesis, terlibat dalam pembentukan gula, mengatur serapan unsur hara yang lain, sebagai *carrier* fosfat dalam tanaman, translokasi karbohidrat, dan aktivator dari beberapa enzim transforforilase, dehidrogenase, dan karboksilase (Leiwakabessy dan Sutandi, 2004).

Tanaman mengambil besi dalam bentuk Fe^{2+} , Fe^{3+} , dan NaFeEDTA. Peranan Fe dalam tanaman yaitu mempertahankan klorofil dalam daun, merupakan bagian penting dari hemaglobin, sebagai protein ferredoxin dalam metabolisme seperti fiksasi N_2 , fotosintesis, dan transfer elektron dalam kloroplas tanaman. Mangan berperan dalam proses reduksi dan oksidasi, meningkatkan penyerapan cahaya, sintesis protein, dan berperan sebagai katalis dalam reaksi tanaman (Amilia, 2011).

Nisbah C/N adalah perbandingan kadar karbon (C) dan kadar nitrogen (N) dalam suatu bahan. Nisbah C/N dapat digunakan sebagai indikator proses fermentasi yaitu jika jumlah perbandingan antara karbon dan nitrogen masih berkisar antara 20 sampai 30% maka hal tersebut mengindikasikan bahwa pupuk yang difermentasi sudah bisa untuk digunakan. Perbedaan kandungan C dan N tersebut akan menentukan kelangsungan proses fermentasi pupuk cair yang pada akhirnya mempengaruhi kualitas pupuk cair yang dihasilkan (Pancapalaga, 2011).

Pada umumnya bahan organik yang segar mempunyai nisbah C/N tinggi, seperti jerami padi sebesar 50-70%. Prinsip pembuatan pupuk adalah menurunkan nisbah C/N bahan organik, sehingga sama dengan nisbah C/N tanah ($< 20\%$) (Sundari dkk., 2012) dalam (Rahmah dkk., 2014). Semakin tinggi nisbah C/N bahan maka proses pembuatan pupuk akan semakin lama karena nisbah C/N harus diturunkan. Nisbah C/N merupakan perbandingan dari pasokan energi mikroba yang digunakan terhadap nitrogen untuk sintesis protein (Sundari dkk., 2012) dalam (Rahmah dkk., 2014).

B. Mikroorganisme Lokal (MOL)

Mikroorganisme lokal (MOL) adalah mikroorganisme yang dimanfaatkan sebagai starter dalam pembuatan pupuk organik padat maupun pupuk cair (Budiyani dkk., 2016). Pemanfaatan limbah pertanian seperti buah-buahan tidak layak konsumsi untuk diolah menjadi MOL dapat meningkatkan nilai tambah limbah, serta mengurangi pencemaran lingkungan (Juanda dkk., 2011)

Larutan mikroorganisme lokal (MOL) merupakan larutan hasil fermentasi yang berbahan dasar dari berbagai sumber daya yang tersedia setempat. Unsur hara mikro dan makro pada larutan MOL mengandung bakteri yang berpotensi sebagai perombak bahan organik, perangsang pertumbuhan, dan sebagai agen pengendali hama dan penyakit tanaman. sehingga MOL dapat digunakan baik sebagai pupuk hayati, dekomposer, dan pestisida organik terutama sebagai fungisida (Nappu dkk., 2011). Adapun bakteri yang termasuk perombak bahan organik adalah *Trichoderma reesei*,

T. harzianum, *T. koningii*, *Phanerochaeta crysosporium*, *Cellulomonas*, *Pseudomonas*, dan *Aspergillus niger* (Nisa dkk., 2016)

Terdapat 3 komponen utama dalam pembuatan MOL menurut Mulyono (2014) yaitu:

1. Karbohidrat dapat diperoleh dari air tajin (air cucian beras), sisa gandum, kentang, jagung, singkong, dan nasi yang telah basi.
2. Glukosa dapat diperoleh dari bahan-bahan yang mengandung gula seperti molase (ampas tebu), gula merah, gula pasir cair, air kelapa, dan seluruh bahan yang mengandung gula.
3. Sumber mikroorganisme dapat diperoleh dari sisa-sisa buah busuk, sisa ikan, terasi, berenuk, rebung bambu, rumen (cairan isi perut hewan) dan bonggol pisang.

Air cucian beras mengandung vitamin dan gizi yang diperlukan dalam metabolisme sel mikrobial (Hidayatullah, 2012). Hasil analisis unsur hara air limbah cucian beras mengandung hara NH_4 14,09 ppm, NO_3 194,18 ppm, P 114,6 ppm, K 60 ppm, Ca 13,4 ppm, Mg 40,9 ppm, Fe 0,07 ppm, Al 0,27 ppm, dan Mn 0,23 ppm (Elfariha dkk., 2014). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa air cucian beras yang disimpan 2 minggu pada beberapa jenis tanaman dapat menggantikan pupuk kimia/organik. Tanaman-tanaman tersebut antara lain anggrek *Dendrobium* sp. pada fase vegetatif maupun generatif, Anggrek Bulan, Selada, Bayam, Kedelai Edamame, dan Bawang daun (Elfariha dkk., 2014).

Molase mengandung asam-asam organik sebagai sumber C bagi pertumbuhan mikroorganisme dan mengandung sukrosa yang cukup tinggi (45-55%). Fermentasi molase oleh mikroorganisme fermentatif yang berasal dari buah-buahan menghasilkan asam organik lainnya misalnya asam sitrat, sehingga pH MOL umumnya cenderung asam karena semakin lama waktu fermentasi nilai pH akan semakin menurun. Kondisi asam ini baik untuk produksi fitohormon (auksin, giberelin, dan sitokinin) yang diketahui berperan dalam meningkatkan pertumbuhan vegetatif, generatif, dan pemasakan buah (Salma dan Purnomo, 2015). Batas minimum pH yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah 3 (Amaral, 2013).

Mikroorganisme lokal (MOL) bonggol pisang merupakan larutan yang paling sering digunakan sebagai dekomposer bahan organik. Jenis mikroorganisme yang telah diidentifikasi pada MOL bonggol pisang antara lain *Bacillus* sp., *Aeromonas* sp., *Aspergillus niger*, *Azospirillum*, *Azotobacter* dan mikroba selulolitik (Wanapat, 2001) dalam (Budiyani dkk., 2016). Larutan MOL biasanya tidak hanya mengandung satu jenis mikroorganisme tetapi beberapa mikroorganisme di antaranya *Rhizobium* sp, *Azospirillum* sp, *Azotobacter* sp, *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp dan bakteri pelarut fosfat (Lindung, 2015) dalam (Yeremia, 2016).

Larutan MOL yang telah mengalami proses fermentasi dapat digunakan sebagai dekomposer dan pupuk cair untuk meningkatkan kesuburan tanah dan sumber unsur hara bagi pertumbuhan tanaman. Mikroorganisme merupakan makhluk hidup yang sangat dan harus

menggunakan alat bantu berupa mikroskop untuk melihatnya. Mikroorganisme digolongkan ke dalam golongan protista yang terdiri dari bakteri, fungi, protozoa, dan alga (Darwis dkk., 1992). Semua mikroorganisme yang tumbuh pada bahan-bahan tertentu membutuhkan bahan organik untuk pertumbuhan dan proses metabolisme. Mikroorganisme yang tumbuh dan berkembang pada suatu bahan dapat menyebabkan berbagai perubahan pada fisik maupun komposisi kimia, seperti adanya perubahan warna, kekeruhan, dan bau asam (Fardiaz, 1989).

Fermentasi merupakan proses mikrobiologi yang dikendalikan oleh manusia untuk memperoleh produk yang berguna, dimana terjadi pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerob. Peruraian dari kompleks menjadi sederhana dengan bantuan mikroorganisme sehingga menghasilkan energi (Amaral, 2013). Pada proses fermentasi terjadi dekomposisi terhadap bentuk fisik padatan dan pembebasan sejumlah unsur penting dalam bentuk senyawa-senyawa kompleks maupun senyawa-senyawa sederhana ke dalam larutan fermentasi (Handayani dkk., 2015).

Fermentasi terjadi karena adanya aktivitas mikroorganisme penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai, proses ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan tersebut. Lama fermentasi dipengaruhi oleh faktor-faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh dalam proses fermentasi. Waktu fermentasi MOL berbeda-beda antara satu jenis bahan MOL dengan yang lainnya dan tergantung dari ketersediaan makanan

yang digunakan sebagai sumber energi dan metabolisme dari mikroorganisme (Suhastyo, 2011).

Agar mendapatkan hasil yang optimal, dapat dilakukan fermentasi selama 2 minggu karena setelah fermentasi 3 minggu diduga jumlah karbondioksida (CO_2) hasil fermentasi sudah sedemikian besarnya sehingga mulai mengambat perkembangan mikroorganisme yang diinginkan. Selain itu, ketersediaan nutrisi sudah sangat terbatas dan dari kurva pertumbuhan mikroorganisme mulai memasuki fase menuju kematian (Juanda dkk., 2011).

Larutan MOL harus mempunyai kualitas yang baik sehingga mampu meningkatkan kesuburan tanah, dan pertumbuhan tanaman secara berkelanjutan. Kualitas merupakan tingkat yang menunjukkan serangkaian karakteristik yang melekat dan memenuhi ukuran tertentu. Faktor-faktor yang menentukan kualitas larutan MOL antara lain medium fermentasi, kadar bahan baku atau substrat, dan sifat mikroorganisme yang aktif di dalam proses fermentasi, pH, temperatur, lama fermentasi, dan nisbah C/N dalam bahan (Fitriani dkk., 2015).

C. Buah Dalam Pembuatan MOL

Buah-buahan merupakan bahan pangan sumber vitamin. Buah cepat sekali rusak oleh pengaruh mekanik, kimia dan mikrobiologi sehingga mudah menjadi busuk (Dewi, 2014). Pada dasarnya buah-buahan memiliki kadar air yang sangat tinggi yaitu sekitar 70-95% sehingga mudah sekali mengalami kerusakan (*perishable*) setelah dilakukannya pemanenan, seperti mudah busuk dan mudah susut bobotnya. Kandungan air yang tinggi pada buah dapat

memacu aktivitas enzim dan mikroba yang menyebabkan buah tersebut sangat mudah mengalami kerusakan (Harahap dkk., 2015).

Buah-buahan yang sudah busuk biasanya sudah tidak laku jika dijual dan akan dibuang begitu saja. Buah-buahan yang sudah busuk daripada menjadi limbah dapat dimanfaatkan sebagai bahan dalam pembuatan pupuk cair. Adapun buah-buahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

1. Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Jambu biji (*Psidium guajava*) termasuk buah-buahan yang bernilai komoditas tinggi dan salah satu buah yang terjangkau oleh seluruh lapisan masyarakat. Jambu biji merupakan buah klimaterik. Ciri buah klimaterik adalah adanya peningkatan respirasi yang tinggi dan mendadak (*respiration burst*) yang menyerupai atau mendahului pemasakan, melalui peningkatan CO₂ dan etilen. Masa simpan buah klimaterik yang pendek menjadikan kerusakan pascapanen yang cepat (Widodo dkk, 2013) dalam (Sitorus dkk., 2014).

Menurut Wirakusumah (1998), daging buah jambu biji merah berwarna merah hingga merah muda dengan rasa yang lebih manis dan segar dibandingkan dengan jambu biji putih sehingga jambu biji merah lebih banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Kandungan vitamin C buah jambu biji lebih tinggi dua kali lipat lebih banyak daripada jeruk manis. Kandungan gizi pada buah jambu biji merah per 100 gram, lihat Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan gizi buah jambu biji per 100 gram.

Besi (Fe)	1,10 mg
Kalsium (Ca)	14,00 mg
Magnesium (Mg)	10 mg
Fosfor ((P)	28,00 mg
Karbohidrat	12,20 gram
Protein	0,90 gram
Lemak	0,30 gram
Serat	5,60 gram

Sumber: Wirakusumah, 1998.

2. Pisang Mas (*Musa paradisiaca* L. var.mas)

Pisang mas merupakan buah yang mempunyai kandungan gizi sangat baik dan menyediakan energi dari karbohidrat cukup tinggi dibandingkan dengan buah-buahan lain. Pisang mas kaya mineral seperti kalium, magnesium, fosfor, besi, dan kalsium. Selain itu, pisang juga mengandung vitamin, yaitu C, B kompleks, B6, dan serotonin yang aktif sebagai neurotransmitter dalam kelancaran fungsi otak (Triyono, 2010).

Pisang mas termasuk buah klimaterik yaitu suatu periode dimana proses ini terjadi serangkaian perubahan biologis yang diawali dengan pembuatan etilen. Proses ini ditandai dengan mulainya proses kematangan buah. Kematangan pada pisang dapat dilihat pada perubahan warna kulit. Bersamaan dengan perubahan warna yang terjadi maka sifat fisikokimia juga akan mengalami perubahan baik itu mengalami penurunan maupun kenaikan (Sari, 2011).

Selama ini, pemanfaatan buah pisang belum optimal dan masih terbatas sebagai buah konsumsi segar dan produk olahan tradisional baik dari buah masih mentah maupun dari buah yang sudah masak. Hal yang perlu diantisipasi adalah lonjakan produksi pada saat panen raya disentra-

sentra produksi pisang sedangkan serapan pasar yang tidak berimbang menyebabkan banyaknya buah yang terbuang (Triyono, 2010).

Pisang mas merupakan buah yang mudah busuk karena kadar airnya yang cukup tinggi yaitu sekitar 75%. Selain itu ketika pisang masak maka teksturnya akan lembut dan umur simpanya sekitar 7-8 hari. Selama pengangkutan yang kurang baik akan terjadi benturan, dan kemudian terjadi pelepasan etilen dalam ruangan. Etilen akan memicu pematangan buah dalam pengangkutan sehingga membuatnya lebih cepat busuk sebelum mencapai tujuannya (Surendranathan, 2003) dalam (Triyono, 2010). Buah pisang juga mengandung hormon alami auksin dan giberelin yang dapat merangsang atau menstimulir pertumbuhan tanaman (Arditti dan Ernst, 1992) dalam (Yeremia, 2016).

Menurut Sulusi dkk. (2008), buah pisang mas mempunyai kandungan gizi yang baik antara lain menyediakan energi yang cukup tinggi dibandingkan dengan buah-buahan yang lain. Kandungan gizi yang ada pada buah pisang mas setiap 100 gram daging buah dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan gizi buah pisang mas per 100 gram daging buah.

Besi (Fe)	0,80 mg
Kalsium (Ca)	7 mg
Fosfor ((P)	25,00 mg
Protein	1,40 gram
Lemak	0,2 gram
Karbohidrat	33,60 gram
Kalori	127 Kal
Air	64,2 gram

Sumber: Dinagunata, 2009.

3. Pepaya (*Carica papaya* L.)

Buah pepaya (*Carica papaya* L.) tergolong buah klimaterik berdaya simpan singkat, sehingga dapat matang selama dalam penyimpanan dan puncak klimaterik dicapai 6 hari setelah dipanen (Suyanti, 2011). Buah pepaya mempunyai nilai ekonomi yang cukup tinggi dan termasuk dalam lima besar jenis buah-buahan yang berpotensi di Indonesia. Buah pepaya merupakan buah yang penting untuk pasar lokal serta sebagai lahan bisnis yang sangat menguntungkan baik bagi petani maupun pedagang (Sunarjono, 1998).

Salah satu faktor yang mempengaruhi selera konsumen adalah kualitas buah. Buah pepaya yang berkualitas baik akan berasa manis, tidak lembek, warna daging buah merah segar, dan kulit buah licin atau tidak ada kecacatan fisik seperti layu, terluka, memar, tergores, dan terbelah (Aisyah, 2002). Buah pepaya yang disukai konsumen adalah buah yang segar, manis, daging buah tebal, penampakan buah menarik, buah tidak terlalu besar dan warnanya menarik.

Menurut Kalie (2008), selain rasanya yang enak pepaya juga digemari orang karena banyak mengandung zat gizi, di antaranya yang paling banyak adalah vitamin dan mineral. Nilai energinya adalah 200 kJ/100 gram. Kandungan gula utama pepaya yaitu 48,3% sukrosa, 29,8% glukosa dan 21,9% fruktosa. Kandungan vitamin dalam 100 gram bagian pepaya yang dapat dimakan adalah 365 SI vitamin A, 78 mg vitamin C,

sedangkan kandungan mineral dalam 100 gram pepaya dapat dilihat Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan gizi buah pepaya per 100 gram daging buah.

Besi (Fe)	1,7 mg
Kalsium (Ca)	23 mg
Magnesium (Mg)	0,25 mg
Fosfor (P)	12 mg
Kalium	0,204 gram
Karbohidrat	12,2 gram
Protein	0,5 gram
Serat	0,7 gram
Air	86,7 gram

Sumber: Astuti, 2008.

D. Karakterisasi Bakteri

Mikroba secara alamiah terdapat dalam bentuk campuran dari berbagai jenis, misalnya seperti mikroba didalam makanan, tanah, air, udara, sampah dan sebagainya. Masing-masing mikroba harus dipisahkan satu dengan yang lainnya untuk mempelajari sifat-sifat pertumbuhan, morfologi dan sifat fisiologis mikroba, sehingga terbentuk kultur murni yaitu suatu biakan yang terdiri dari sel-sel satu spesies atau satu galur mikroba (Fardiaz 1987). Untuk mendapatkan isolat bakteri dari suatu bahan yang mengandung campuran mikroba dapat dilakukan isolasi dengan beberapa metode, tergantung dari jenis mikroorganismenya (Fardiaz 1988).

Isolasi dengan menggunakan teknik agar sebar (*spread plate*) dilakukan dengan cara menyebarkan suspensi bakteri yang telah diencerkan sebelumnya pada permukaan nutrisi agar dengan menggunakan alat penyebar yang terbuat dari gelas yaitu trigalski. Adapun keuntungan dari teknik ini adalah

pertumbuhan koloni akan menyebar, sehingga memudahkan dalam pengambilan koloni bakteri untuk tahap uji selanjutnya (Lay, 1994).

Tahap selanjutnya setelah diperoleh biakan murni yaitu mengidentifikasi jenis mikroba tersebut berdasarkan sifat-sifat yang dimilikinya. Ciri-ciri utama suatu mikroorganisme yang perlu diketahui dalam mengkarakterisasi mikroba, meliputi ciri morfologi, sifat biakan, metabolisme, sifat antigenik, sifat genetik dan patogenisitas (Lay dan Hastowo, 1992). Untuk menentukan ciri-ciri mikroorganisme tersebut, maka diperlukan serangkaian uji, yang meliputi uji morfologi koloni, morfologi sel (sifat motilitas, bentuk sel, pengecatan Gram) dan uji biokimia (fermentasi karbohidrat, uji indol, uji katalase, uji reduksi nitrat) (Lay, 1994).

Pengecatan Gram merupakan identifikasi awal terhadap bakteri sehingga akan diketahui bakteri tersebut termasuk ke dalam golongan Gram negatif atau positif. Perbedaan dari kedua bakteri ini adalah dari struktur dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan homogen dengan ketebalan sekitar 20-80 nm yang terletak di luar lapisan membrane plasma. Sementara dinding sel bakteri gram negatif ketebalan lapisan peptidoglikannya antara 2-7 nm dan dilapisi oleh membran luar dengan ketebalan 7-8 nm. Maka dari itu, bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Hal ini menjadikan bakteri ini akan terlihat berwarna ungu dibandingkan dengan bakteri Gram negatif yang akan menghasilkan warna merah muda jika dilakukan pewarnaan Gram (Michael, 2008).

Pada pewarnaan Gram digunakan beberapa larutan seperti kristal violet, iodine, alkohol dan safranin. Ketika sediaan dilarutkan dengan kristal violet lalu kemudian iodin, warna ungu dari larutan kristal violet ini akan ditahan oleh struktur peptidoglikan bakteri ditambah dengan penahanan oleh larutan iodin. Kemudian ketika sediaan disirami alkohol yang bisa menghapus zat warna ungu dari kristal violet tadi, oleh karena pori-pori peptidoglikan yang sempit ditambah dengan adanya iodin maka zat warna ungu tersebut sulit untuk terhapus oleh alkohol sehingga akan tetap terlihat berwarna ungu. Sementara oleh karena struktur pori peptidoglikan dari bakteri Gram negatif yang lebih besar, maka akan lebih mudah bagi larutan alkohol untuk menetralkan atau menghapus zat warna ungu yang ada di peptidoglikan sehingga akan terlihat warna merah muda setelah pemberian safranin (Fardiaz, 2007).

Uji motilitas bertujuan untuk mengetahui ada atau tidak ada pergerakan bakteri. Motilitas bakteri terlihat ketika adanya pertumbuhan pada medium yang tidak terbatas pada *stab line* inokulasi, sedangkan pertumbuhan bakteri nonmotil terbatas pada garis inokulasi (Usman, 2015). Pada uji motilitas positif maka akan terbentuk pelebaran pertumbuhan disekitar tusukan pada medium (Fatimawali, 2013).

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktivitas katalase pada isolat (Hadioetomo, 1993). Uji positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen yang menunjukkan bahwa organisme yang bersangkutan

menghasilkan enzim katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Yulvizar dkk., 2015).

Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H_2O_2 yang dihasilkannya sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen. Bakteri katalase negatif tidak menghasilkan gelembung-gelembung. Hal ini berarti H_2O_2 yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri katalase negatif sehingga tidak menghasilkan oksigen. Bakteri katalase negatif tidak memiliki enzim katalase yang mengurai H_2O_2 (Anggreni dkk., 2015).

Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Uji lain dapat dilakukan dengan cara melihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi. Uji-uji biokimia ditujukan untuk memastikan bakteri yang dianalisis benar-benar bakteri yang kita harapkan. Uji biokimia bertujuan untuk memperkecil kesalahan, karena beberapa spesies memiliki sifat-sifat yang hampir sama (MacFaddin, 1980 dalam Haryani dkk., 2012).

Uji fermentasi karbohidrat bertujuan untuk menentukan kemampuan isolat uji dalam mendegradasi dan memfermentasikan karbohidrat tertentu

dengan produksi suatu asam atau asam dan gas (Dundu, 2000). Pembentukan asam terlihat melalui perubahan warna media karbohidrat dari merah menjadi kuning artinya bakteri ini membentuk asam dari fermentasi glukosa. Pembentukan gas terlihat dalam tabung Durham (Saraswati, 2012).

Uji reduksi nitrat bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri yang mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit. Ion nitrat dapat diubah menjadi bahan organik oleh mikroba melalui proses asimilasi reduksi nitrat (Aminullah dkk., 2015). Proses ini membutuhkan enzim nitrat dan nitrit reduktase. Nitrat diubah menjadi nitrit oleh enzim nitrat reduktase. Nitrit kemudian diubah menjadi ammonium oleh enzim nitrit reduktase. Ammonium kemudian disintesis menjadi protein agar bisa digunakan oleh bakteri dalam proses metabolisme (Aminullah dkk., 2015).

Uji indol bertujuan mengidentifikasi kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim tryptophanase (Leboffe dan Pierre, 2011). Produksi indol di dalam media dimungkinkan karena adanya tryptophan. Bakteri yang memiliki enzim tryptophanase menghidrolisis tryptophan menjadi indol, piruvat dan amonia (Leboffe dan Pierre, 2011).

Tryptophan adalah asam amino esensial, yang teroksidasi oleh beberapa bakteri yang mengakibatkan pembentukan indol, asam piruvat dan amonia. Uji indol dilakukan dengan inokulasi organisme uji ke dalam *tryptophan broth*, yang mengandung *tryptophan*. Indol yang dihasilkan dideteksi dengan menambahkan reagen Kovac's yang menghasilkan cincin berwarna merah (Sridhar, 2006 dalam Nutriana, 2014). Hasil indol positif dinyatakan dengan

adanya cincin merah hal ini disebabkan karena Indol bereaksi dengan aldehida (Sridhar, 2006 dalam Nutriana, 2014).

E. Hipotesis

1. Larutan MOL dari berbagai macam limbah buah jambu biji, pisang mas, pepaya mengandung unsur hara makro dan mikro yang baik sebagai pupuk cair yang memenuhi kualitas Standar Nasional Indonesia (SNI).

