

**PRODUKSI, KARAKTERISASI, DAN PERHITUNGAN JUMLAH SEL
MIKROBA PADA EM4 (*Effective Microorganism 4*)**

(Skripsi)

**Oleh
KARTIKA PERMATA INSANI**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2023

ABSTRAK

PRODUKSI, KARAKTERISASI, DAN PERHITUNGAN JUMLAH SEL MIKROBA PADA EM4 (*Effective Microorganism 4*)

Oleh

KARTIKA PERMATA INSANI

Effective Microorganism (EM4) merupakan pupuk cair yang terkandung jenis mikroorganisme hidup yang memiliki manfaat serta menguntungkan. Mikroorganisme dominan yang terdapat dalam EM4 meliputi *Lactic acid bacteria* (LAB), *Saccharomyces* sp., *Streptomyces* sp., dan *Actinomycetes*. Kombinasi penambahan ragi dan EM4 yang diproduksi secara komersial dalam fermentasi limbah sayuran dan buah, ditambah dengan tambahan gula merah, diketahui mengandung mikroorganisme seperti *Azotobacter* sp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* sp., ragi, dan *Rhizopus* sp. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh umur simpan selama satu bulan terhadap jumlah mikroba dalam EM4 serta menentukan jumlah mikroba tertentu yang terkandung dalam EM4. Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei 2022 hingga Februari 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Lampung. Metode perhitungan TPC (*Total Plate Count*) dan karakterisasi berdasarkan studi pustaka. Hasil penelitian ini adalah sebagai berikut: 1) Umur simpan mempengaruhi jumlah *Bacillus* spp. dan *Phosphat solubilizing bacteria* (PSB), tetapi tidak mempengaruhi jumlah *Lactic acid bacteria* (LAB) dan *yeast*. 2) Setiap tipe EM4 yang diteliti menunjukkan perbedaan jumlah, yaitu jumlah BAL (0,69 sel/ml pada hari ke-7, 0,46 sel/ml pada hari ke-30), jumlah *Phosphat solubilizing bacteria* (PSB) (2,14 sel/ml pada hari ke-7, 1,73 sel/ml pada hari ke-30), dan jumlah *yeast* mengalami penurunan. Jumlah *Bacillus* spp. meningkat pada hari ke-30 umur simpan (0,53 sel/ml pada hari ke-7, 1,92 sel/ml pada hari ke-30).

Kata kunci : EM4 (*Effective Microorganism 4*)

**PRODUKSI, KARAKTERISASI, DAN PERHITUNGAN JUMLAH SEL
MIKROBA PADA EM4 (*Effective Microorganism 4*)**

Oleh

KARTIKA PERMATA INSANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2023

Judul Skripsi : **PRODUKSI, KARAKTERISASI DAN PERHITUNGAN JUMLAH SEL MIKROBA PADA EM4 (*Effective Microorganism 4*)**

Nama Mahasiswa : **Kartika Permata Insani**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1817021068**

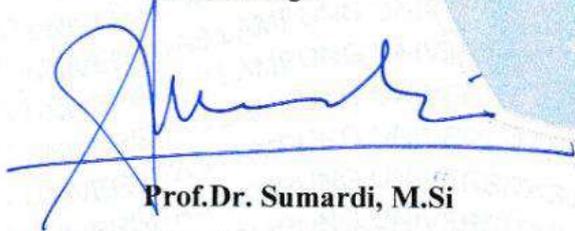
Program Studi : **Biologi/S1 Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



Prof. Dr. Sumardi, M.Si

NIP. 196503251991031003

Pembimbing II



Achmad Arifiyanto, S.Si., M.Si.

NIP. 199011302019031013

2. Ketua Jurusan Biologi



Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.

NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof.Dr.Sumardi, M.Si.

Sekretaris : Achmad Arifiyanto, S.Si.,M.Si.

Anggota : Dr. Kusuma Handayani, M.Si.

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr.Eng. Heri Satria, S.Si.,M.Si.

NIP. 19711001 200501 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 03 Agustus 2023

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Kartika Permata Insani

NPM : 1817021068

Dengan ini menyatakan apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, Agustus 2023

Yang menyatakan,



Kartika Permata Insani

NPM. 1817021068

RIWAYAT HIDUP



Kartika Permata Insani, dilahirkan di Kalianda, Lampung pada tanggal 09 Desember 1999. Putri Bungsu dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Edi Wahyudi dan Ibu Suyatmi. Penulis menyelesaikan pendidikan di Taman Kanak-kanak Negeri Pembina (TK Pembina) lulus pada tahun 2007, Sekolah Dasar Negeri 1 Kallianda lulus pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Negeri Kalianda lulus pada tahun 2015, dan Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Kalianda lulus pada tahun 2018. Tahun 2018 Penulis menempuh Pendidikan tinggi S1 (S.Si) pada Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Lampung dan berhasil meraih gelar Sarjana Sains (S.Si) pada tahun 2023.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, dan karunia-Nya.

Kupersembahkan karyaecilku ini untuk :

Keluargaku tercinta ayah Edi Wahyudi dan ibu Suyatmi yang telah mendidik, menyayangi, memberi dukungan moril maupun materi serta doa yang tiada henti untuk kesuksesanku.

Kakak tersayang yang juga selalu mendoakan dan memberikan kasih sayang, nasehat, dukungan dan semangat.

Bapak Ibu Guru dan Dosen yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat dan bimbingan selama ini.

Teman-teman dari satu lab Mikro Biologi 18 atas kebersamaan dan bantuan selama ini.

MOTTO HIDUP

“With love, you can change the world:

-My self-

“You Only Live Once (YOLO)”

-Unknown-

SANWACANA

Puji Syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas petunjuk dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyusun laporan Skripsi dengan judul:“ **PRODUKSI, KARAKTERISASI, DAN PERHITUNGAN JUMLAH SEL MIKROBA PADA EM4 (*Effective Microorganism 4*)**”. Salah satu tujuan dari penulisan naskah Skripsi ini adalah untuk memenuhi syarat kelulusan untuk menyelesaikan studi Strata-1 (Sarjana) di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Alla SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyang, atas berkat rahmat dan karunia-Nya Skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Ibu Prof. Lusmeilia Afriani, D.E.A.,I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Prof. Dr. Sumardi, M. Si. selaku Dosen Pembimbing utama, yang telah membimbing selama berlangsungnya penelitian dan penyusunan naskah skripsi.
5. Bapak Achmad Arifiyanto, S.Si.,M.Si.. selaku Dosen Pembimbing dua, yang selalu memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi selama penelitian dan penyusunan naskah skripsi.

6. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Sc. selaku Dosen Penguji, yang telah memberikan saran dan masukan untuk menyempurnakan naskah skripsi ini.
7. Bapak, Ibu, Kakak, dan Keponakan saya yang telah mendukung penulis dengan doa maupun semangat.
8. Teman-teman saya selama penelitian di Lab Mikrobiologi, Inah, Ulil, Dinda, Noni, Cika, Puput, Ayuni, dan Emil, terimakasih untuk bantuan, dukungan dan semangat yang telah diberikan kepada penulis.
9. Kakak Jo kakak tingkat satu bimbingan yang berjuang bersama untuk menghadap ketika bimbingan yang memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa terdapat kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini, namun besar harapan agar naskah skripsi ini dapat memberikan banyak manfaat bagi para pembaca.

Bandar Lampung, September 2023

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	i
PERSEMBAHAN	ii
SANWACANA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
1.4. Kerangka Pikir	3
1.5. Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Effective Microorganism 4 (EM4).....	6
2.2. Kandungan Mikroba pada EM4.....	6
2.3. Pembuatan EM4 (<i>Effective Microorganism 4</i>)	8
2.4. Karakteristik Isolat Mikroba	8
2.4.1. <i>Lactobacillus</i> spp.	8
2.4.2. <i>Bacillus</i> spp.	9
2.4.3. <i>Azotobacter</i>	10
2.4.4. <i>Pseudomonas</i> sp.	11

2.4.5. <i>Saccharomyces</i> sp.	11
2.4.6. <i>Actinomycetes</i>	12
III. METODE PENELITIAN	15
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3.3. Rancangan Penelitian.....	16
3.4. Prosedur Kerja	16
3.4.1. Proses pembuatan EM4 dari buah-buahan dan sayuran (E4KB)	16
3.4.2. Proses pembuatan EM4 dari buah-buahan dan sayur dengan penambahan ragi tape (E4RT)	17
3.4.3. Proses Pembuatan EM4 dari buah-buahan dan sayur dengan penambahan Limbah cair tanpa penambahan ragi tape (E4LH)	17
3.4.4. Perhitungan Jumlah Sel <i>Lactic acid bacteria</i> (LAB) (BAL)	17
3.4.5. Perhitungan Jumlah Sel <i>Bacillus spp.</i>	18
3.4.6. Perhitungan Jumlah Sel <i>Yeast</i>	19
3.4.7. Perhitungan Jumlah Mikroba pada Media <i>Pikovskaya Agar</i>	19
3.5. Analisis Data	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1. Hasil	25
V. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1. Kesimpulan	35
5.2. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Karakteristik Mikroba Pada Setiap Tipe EM4.....	25

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Effective microorganism 4</i>	6
Gambar 2. Tahapan penelitian	22
Gambar 3. Koloni bakteri yang tumbuh pada media GYP agar	26
Gambar 4. Koloni bakteri yang tumbuh pada media NA.....	27
Gambar 5. Koloni <i>Yeast</i> yang tumbuh pada media PDA.....	27
Gambar 6. Koloni bakteri pada media <i>Pikovskaya Agar</i>	27
Gambar 7. Jumlah hasil perhitungan mikroba <i>Lactic acid bacteria (LAB)</i> , <i>Bacillus</i> sp., dan <i>Yeast</i> pada waktu simpan 7 dan 30 hari.....	28
Gambar 8. Hasil pewarnaan Gram koloni bakteri media NA (kiri); Hasil pengecatan <i>Bacillus</i> sp. (kanan).....	31
Gambar 9. Hasil pewarnaan Gram koloni bakteri media GYP (kiri); Hasil pewarnaan Gram BAL (kanan)	31
Gambar 10. Hasil pewarnaan Gram koloni bakteri yang tumbuh pada media <i>pikovskaya agar</i>	32
Gambar 11. Zona bening koloni bakteri pada media <i>pikovskaya agar</i>	36
Gambar 12. Zona bening koloni bakteri pelarut fosfat pada media <i>pikovskaya agar</i>	36

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Effective Microorganism 4 (EM4) merupakan suatu cairan berwarna yang terkandung beberapa jenis campuran mikroorganisme hidup (Simarmata dkk., 2020). Mikroorganisme dominan yang terkandung di dalam EM4 yakni *Lactic acid bacteria* (LAB) salah satunya dari jenis bakteri *Lactobacillus spp.*, dan salah satu jenis yeast yakni *Saccharomyces* (Munawaroh dkk., 2013).

Mikroorganisme yang terkandung didalam EM4 seperti *Lactic acid bacteria* (LAB) dari jenis *Lactobacillus spp.* membantu untuk mempercepat penguraian bahan organik sehingga dapat mengkonversi laktosa menjadi asam-asam organik dan menghasilkan gas anaerobik. Keberadaan ragi pada EM4 berperan untuk memproduksi substansi bioaktif yang berguna bagi pertumbuhan sel, pembelahan akar sel tanaman, dan perkembangbiakan mikroorganisme seperti *Actinomycetes* dan *Lactic acid bacteria* (LAB). Yeast dari jenis *Saccharomyces sp.* mampu menghasilkan enzim yang mendegradasi bahan organik menjadi sumber gula yang dapat digunakan oleh mikroba lainnya. Gabungan antara proses fermentasi *Lactobacillus spp.* dengan *Saccharomyces sp.* akan menghasilkan enzim protease. Enzim ini berperan untuk memecah protein menjadi ammonia, nitrit, nitrat, karbon dioksida dan air (Munawaroh dkk., 2013)

Kelompok actinomycetes memainkan peran guna mengendalikan patogen seperti jamur dan bakteri berbahaya. Kitin pada patogen dihancurkan oleh

Actinomycetes , sehingga akan tercipta kondisi yang baik untuk perkembangan mikroorganisme lain. *Actinomycetes* dapat merombak senyawa pati, selulosa, gula dan protein yang terkandung pada limbah menjadi gula sederhana yang berperan sebagai nutrisi awal bagi mikroorganismenya yang hidup pada limbah agar dapat ikut serta aktif dalam mendegradasi senyawa organik yang ada (Dian Safitri dkk., 2017).

Konsorsia ini dapat diproduksi secara mandiri maupun dalam bentuk sediaan yang diperoleh dari pabrik. Produksi EM4 secara mandiri dapat dibuat menggunakan bahan-bahan yang terdapat di sekitar lingkungan seperti dari campuran buah-buahan, sayuran, gula serta dapat ditambahkan dengan ragi tape. Bagian buah-buahan yang digunakan terdiri dari kulit dan buah. Kulit dan buah yang digunakan dapat berasal dari buah pisang, pepaya, dan nanas. Sayuran yang digunakan terdiri dari kacang panjang dan sayuran hijau seperti bayam atau kangkung (Firdaus dkk., 2018).

Kombinasi ragi dan EM4 pada pemberian pupuk hayati cair (PHC) yang dibuat dari komposisi hasil fermentasi campuran limbah sayur, buah, jeroan ikan air tawar, air kelapa gula merah, dan ragi. Sayuran yang digunakan seperti kangkung, bayam, wortel, lobak, jeruk, kubis, dan kacang panjang. Buah yang digunakan yakni buah semangka dan buah nanas. Hasil penelitian menunjukkan pada kombinasi EM4 dengan PHC diketahui mengandung mikroba antara lain *Azotobacter*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas sp.*, khamir dan *Rhizopus sp* (Salmiyati Izeta dan Azmi., 2021).

Peneliti bermaksud untuk mengetahui jenis mikroba apa saja yang terkandung dalam masing-masing tipe EM4 yang dibuat di dalam penelitian ini dan untuk mengetahui apakah terdapat perubahan yang terjadi pada jumlah serta jenis mikroba pada masing-masing jenis EM4 yang akan dibuat setelah masa penyimpanan satu bulan. Maka penulis mengusung gagasan yang berjudul Produksi, karakterisasi, dan perhitungan jumlah sel mikroba pada EM4 (*Effective Microorganism 4*).

1.2. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah tersebut maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui karakteristik mikroba tertentu yang terkandung didalam tiap Tipe EM4.
2. Mengetahui pengaruh waktu simpan terhadap jumlah mikroba tertentu pada tiap Tipe EM4.

1.3. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapatkan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui karakteristik mikroba tertentu yang terkandung didalam tiap Tipe EM4.
2. Dapat mendeskripsikan pengaruh umur simpan dan jumlah mikroba tertentu pada *Effective microorganism 4* (EM4).

1.4. Kerangka Pikir

EM4 (Effective Microorganism 4) merupakan pupuk yang berbentuk cairan yang didalamnya terkandung berbagai macam mikroorganisme yang memiliki manfaat untuk menyuburkan tanah dan membantu mempercepat proses penguraian bahan organik yang ada. Mikroorganisme dominan yang terkandung dalam EM4 ini yakni, *Lactic acid bacteria (LAB)* jenis *Lactobacillus* sp, *Yeast* jenis *Saccharomyces* sp. serta kelompok *Actinomycetes*. EM4 diketahui dapat diproduksi secara mandiri maupun dapat diperoleh dalam bentuk kemasan (produksi pabrik). Produksi EM4 secara mandiri dapat dibuat menggunakan bahan-bahan yang terdapat di sekitar lingkungan seperti dari campuran buah-buahan, sayuran, gula, air kelapa serta dapat ditambahkan dengan ragi tape. Bagian buah-buahan yang digunakan terdiri dari kulit dan buah. Kulit dan buah yang digunakan yakni berasal dari buah pisang, papaya, dan nanas. Sayuran yang digunakan terdiri dari kacang panjang dan sayuran hijau seperti bayam atau kangkung.

Pembuatan EM4 dengan produksi mandiri diketahui memiliki umur simpan selama 6 bulan. Jenis mikroba yang terkandung didalam EM4 produksi mandiri diketahui sampai saat ini belum dapat diketahui dengan pasti apakah terdapat kesamaan jumlah mikroba tertentu yang tumbuh pada masing-masing EM4 yang dibuat secara mandiri dengan EM4 produksi pabrik (konvensional) serta apakah terdapat perubahan pada jumlah mikroba yang terkandung ada pada masing-masing EM4 setelah masa penyimpanan tujuh hari dan satu bulan.

1.5. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terdapat kesamaan karakteristik mikroba tertentu yang terdapat pada setiap tipe EM4.
2. Terdapat perbedaan jumlah mikroba pada masa simpan 7 hari dan 30 hari.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Effective Microorganism 4 (EM4)

EM4 (*Effective Microorganism 4*) pertama kali ditemukan oleh Prof.Dr. Teuro Higa dari Universitas Kyukyuu, Jepang. Larutan EM4 yang ditemukan terbentuk dari hasil fermentasi oleh sekitar 8 mikroorganisme, 5 golongan mikroorganisme yang terkandung didalam EM4 yakni bakteri fotosintetik, *Lactobacillus* spp., *Streptomyces* sp., yeast, *Actinomycetes*. EM4 dapat diperoleh dalam bentuk siap pakai yang dapat dibuat oleh pabrik dan EM4 ini dapat dibuat sendiri dengan menggunakan bahan-bahan yang terdapat disekitar lingkungan (Firdaus dkk., 2018).



Gambar 1. *Effective microorganism 4*.
Sumber : Dokumentasi Pribadi

2.2. Kandungan Mikroba pada EM4

Kumpulan mikroba yang terdapat didalam EM4 diketahui dapat digunakan untuk membantu memperbaiki keadaan serta kesehatan tanah dan sebagai inokulan untuk meningkatkan keragaman mikroba tanah (Rasmito dkk., 2019), bermanfaat untuk mempercepat proses dekomposisi dan

mendegradasi senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam limbah cair rumah makan (Simarmata dkk., 2020).

EM4 diketahui memiliki kandungan bakteri yang dominan yakni *Lactic acid bacteria (LAB)* yang mampu mengubah laktosa dengan cepat (Rahmadi, 2019). EM4 juga mampu menurunkan kadar COD dalam limbah cair karena aktivitas mikroorganisme anerobik yang terdapat didalamnya yang mampu menguraikan bahan organik yang mana sebagian besar COD sampel dapat tereliminasi tanpa tersisa pada proses metanogenesis. *Lactobacillus spp.* yang terkandung pada EM4 dapat menguraikan laktosa dengan cepat dengan menggunakan enzim laktase (Munawaroh dkk., 2013). *Lactobacillus sp.* dapat memproduksi asam laktat sebagai hasil penguraian gula dan karbohidrat. *Lactobacillus sp.* yang bekerja sama dengan bakteri fotosintesis dan ragi akan dapat melakukan penguraian. Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri ini dapat menekan mikroorganisme berbahaya karena asam laktat merupakan bahan sterilisasi yang kuat dan dalam kerjasama ini akan dapat menguraikan bahan organik dengan cepat.

Saccharomyces sp. yang terkandung dalam EM4 menghasilkan enzim *zymase* yang dapat mempercepat fermentasi bahan organik (Munawaroh dkk., 2013). *Streptomyces sp.* yang terdapat pada EM4 memiliki enzim *streptomycin* yang memiliki sifat yang beracun terhadap hama dan penyakit yang merugikan. Ragi (*yeast*) yang terkandung didalam EM4 dapat memproduksi substansi bioaktif yang berguna untuk pertumbuhan sel dan pembelahan akar tanaman, ragi ini juga berperan dalam pembelahan dan perkembangbiakan mikroorganisme menguntungkan (*Actinomycetes sp.* dan *Lactic acid bacteria (LAB)*) lainnya. *Actinomycetes sp.* yang terkandung didalam EM4 dapat menekan jamur dan bakteri berbahaya dengan cara menghancurkan *khitin* yang dimiliki oleh jamur dan bakteri berbahaya untuk menekan pertumbuhannya. *Actinomycetes sp.* dapat membantu menciptakan kondisi yang baik bagi perkembangan mikroorganisme lain (Hernaman dkk., 2019)

2.3. Pembuatan EM4 (*Effective Microorganism 4*)

EM4 dapat diperoleh dalam bentuk sudah jadi yang dikemas dalam bentuk botol yang diproduksi oleh pabrik maupun dapat dibuat secara mandiri dengan menggunakan bahan-bahan yang terdapat disekitar lingkungan. Pembuatan EM4 secara mandiri dapat dilakukan dengan menambahkan ragi tape kedalam adonan campuran pisang, kulit pisang, papaya, kulit papaya, nanas, kulit nanas, kacang panjang, sayuran hijau seperti kangkung atau bayam, dan gula pasir. Pembuatan EM4 secara mandiri ini membutuhkan waktu selama 7 hingga 8 hari (Firdaus dkk., 2018). EM4 juga dapat dibuat tanpa menambahkan ragi tape dengan menggunakan kulit buah buahan yakni buah nanas, pisang, papaya, batang pisang bagian dalam, kacang panjang, kangkung air, air tuak atau nira ataupun air kelapa dan gula pasir. Untuk pembuatan EM4 ini membutuhkan waktu selama 7 hari (Siswati dan Edahwati, 2017).

2.4. Karakteristik Isolat Mikroba

Mikroba pada EM4 dikarakterisasi berdasarkan morfologi (*Shape, margin, elevation, size*, tekstur permukaan koloni (*Apperance*), tekstur, warna koloni), pewarnaan gram, uji KOH, dan bentuk sel. Perhitungan jumlah sel mikroba dilakukan dengan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan alat bantu yakni *colony counter* (Amaliah dkk., 2018).

2.4.1. *Lactobacillus spp.*

Karakteristik yang dimiliki oleh bakteri genus *Lactobacillus* berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition (1994)*, marga *Lactobacillus* memiliki bentuk sel bakteri berbentuk batang dan pada umumnya memiliki bentuk yang teratur, berbentuk batang panjang dan terdapat juga yang berbentuk kokoid, termasuk kedalam bakteri Gram positif, memiliki sel yang tidak berspora, anaerob fakultatif. Pada media koloni memiliki bentuk morfologi yakni *elevasi convex, margin entire*, buram dan tidak berwarna. Tumbuh optimum pada suhu 30°C - 40°C. Bentuk

koloni *circular* dengan hasil uji katalase negatif dan hasil uji motilitas negatif (Sun *et al*, 2014). Berikut ini adalah klasifikasi dari *Lactobacillus spp.* berdasarkan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition, Volume Three: The Firmicutes* :

Kerajaan : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Bangsa : Lactobacillales
 Suku : Lactobacillaceae
 Marga : *Lactobacillus*
 Jenis : *Lactobacillus spp.*

2.4.2. *Bacillus spp.*

Karakteristik *Bacillus spp.* yakni, menurut buku berjudul *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition (1994)*, memiliki sel berbentuk batang dan lurus, termasuk bakteri Gram positif, uji motilitas positif, aerobik atau anaerobik fakultatif, hasil uji katalase positif. Hasil uji katalase menunjukkan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung oksigen setelah isolat diatas kaca objek ditetesi dengan larutan H₂O₂ (Puspita dkk., 2017). *Bacillus spp.* memiliki warna koloni berwarna krem keputihan, bentuk koloni bulat dan tidak beraturan. *Bacillus spp.* memiliki bentuk tepi koloni yang dari bentuk tepi rata hingga tidak beraturan, memiliki permukaan yang kasar serta tidak berlendir, bentuk permukaan datar hingga cembung, bentuk koloni besar dan tidak mengkilap. Berikut ini adalah klasifikasi dari *Bacillus spp.* berdasarkan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition, Volume Three: The Firmicutes* :

Kerajaan : Bacteria
 Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli
 Bangsa : Bacillales
 Suku : Bacillaceae
 Marga : *Bacillus*
 Jenis : *Bacillus spp.*

2.4.3. *Azotobacter*

Karakteristik yang dimiliki oleh *Azotobacter* yakni, memiliki bentuk koloni bulat, dengan permukaan koloni halus, elevasi convex (cembung), warna koloni dapat berwarna putih, keruh, coklat hingga bening, bentuk sel basil atau kokus, uji katalase positif, bentuk tepi koloni undulate atau crenate, tergolong kedalam Gram negatif, dan hasil uji motilitas positif (Yulitaasary dkk, 2017). Karakteristik ini sama dengan yang terdapat pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition (1994)*, marga *Azotobacter* memiliki bentuk sel bulat besar (*size large*), termasuk bakteri Gram negatif, motilitas positif, warna koloni dapat berwarna kuning ataupun tidak, aerobik, katalase positif. Berikut ini adalah klasifikasi dari *Azotobacter sp.* berdasarkan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition, Volume Two: The Proteobacteria* :

Kerajaan : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gammaproteobacteria
 Bangsa : Pseudomonadales
 Suku : Pseudomonadacei
 Marga : *Azotobacter*
 Jenis : *Azotobacter sp.*

2.4.4. *Pseudomonas* sp.

Karakteristik yang dimiliki oleh *Pseudomonas* sp. yakni memiliki bentuk koloni bulat, berwarna krem, permukaan koloni licin (mengkilat), termasuk bakteri Gram negatif, bentuk sel bakteri berbentuk batang, atau kokus (Rahmadian dkk., 2018), uji katalase positif (Suyono dan Farid, 2011), memiliki hasil uji motilitas positif (Parija, 2012). Menurut buku berjudul *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition (1994)*, marga *Pseudomonas* memiliki bentuk sel batang, lurus atau melengkung, aerobik, memiliki satu atau beberapa polar flagella. Berikut ini adalah klasifikasi dari *Azotobacter* sp. berdasarkan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition, Volume Two: The Proteobacteria* :

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Pseudomonadaceae
Marga	: <i>Pseudomonas</i>
Jenis	: <i>Pseudomonas</i> sp.

2.4.5. *Saccharomyces* sp.

Karakteristik yang dimiliki oleh *Saccharomyces* sp. yakni memiliki bentuk koloni sirkuler, memiliki warna koloni putih bening atau putih krem, elevasi cembung, tepian rata (*entire*), konfigurasi halus (licin), dan memiliki kenampakan koloni kusam (Nurcholis dkk., 2020). Berikut ini adalah klasifikasi dari *Azotobacter* sp. berdasarkan Integrated Taxonomic Information System Report (ITIS) :

Kerajaan	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Saccharomycetes
Bangsa	: Saccharomycetales
Suku	: Saccharomycetaceae
Marga	: <i>Saccharomyces</i>
Jenis	: <i>Saccharomyces</i> sp.

2.4.6. *Actinomycetes*

Karakteristik yang dimiliki oleh *Actinomycetes* yakni memiliki permukaan koloni tidak licin, bentuk koloni bulat, tepi koloni bergelombang, elevasi rata sampai cembung, memiliki warna koloni putih keabuan, putih kekuningan, Gram positif, hasil uji katalase positif dan hasil uji motilitas negatif (Rikhsan dkk., 2019). Lebih spesifik *Actinomycetes* terdapat *Streptomyces* sp. yang memiliki karakteristik yakni memiliki bentuk bulat, bentuk tepi yang berbeda-beda ada yang bertepi rata dan berfilamen, rantai spora rata-rata berbentuk *flexuous* (Fardiyanti, 2021) warna koloni putih, abu-abu, kuning, merah, biru, hijau (Hamidah, 2013) hasil pewarnaan Gram positif, hasil uji katalase positif (Kawuri, 2016). Berikut ini adalah klasifikasi dari *Actinomycetes*. berdasarkan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition, Volume Two: The Proteobacteria* :

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacteria
Bangsa	: Actinomycetales
Suku	: Actinomycetaceae
Marga	: <i>Actinomyces</i>
Jenis	: <i>Actinomyces</i> sp

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2022 sampai dengan Februari 2023 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan Petri (*Pyrex*), tabung reaksi (*pyrex*), rak tabung reaksi, ose bulat, ose runcing, gelas ukur (*Pyrex*), mikropipet (*Gilson*), mikro tip, neraca digital (*U.S. Solid analytical balance*), hotplate, *magnetic stirrer*, inkubator (*Heraeus*), *autoclave* (*Omron corporation*), *shaker incubator*, pisau, blender, alat saring, botol kaca dan penutupnya, timbangan, ember tertutup atau tong, sendok, pengaduk kayu, *aluminium foil*, kapas, tali kasur, kain kasa.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah, gula merah, buah serta kulit buahnya dan sayuran. Kulit serta buah yang digunakan yakni, kulit pisang 0,50 kg, kulit nanas 0,50 kg, kulit papaya 0,50 kg, batang pisang bagian dalam 1,50 kg, kacang Panjang 0,25 kg, kangkung air 0,25, gula pasir 2 kg, pisang beserta kulitnya 0,50 kg, papaya beserta kulitnya 0,50 kg, nanas beserta kulitnya 0,50 kg, kacang panjang segar 0,25 kg, sayuran hijau (kangkung, bayam) 0,25 kg, ragi tape 5 butir, air 1 liter, air nira/air kelapa 0,50 liter, akuades, media NA (*Nutrient agar*), media SNA (*Starch Nitrate Agar*), media PDA (*Potato Dextrose Agar*), media GSP (*Glutamate Sodium Phenol*), CaCO₃, kloramfenikol.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Rancangan penelitian merupakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL Faktorial) dengan dua variabel penelitian yakni waktu simpan dan tipe EM4). Tahapan dalam penelitian ini yaitu : (1) Pembuatan setiap tipe EM4 dengan setiap tipe nya diberi kode E4LH, E4RT, E4KB, dan E4PK, (2) Penyimpanan seluruh tipe EM4 (waktu simpan 7 dan 30 hari), (3) Perhitungan mikroba menggunakan rumus *Total Plate Count* (TPC) dilakukan sebanyak 4 kali ulangan, (4) Karakterisasi mikroba yang tumbuh pada media *Glucose yeast peptone agar* (GYP Agar), *Potato dextrose agar* (PDA), *Pikovskaya agar*, *Nutrient agar* (NA). Masing-masing tipe.

3.4. Prosedur Kerja

Adapun langkah – langkah yang dilakukan didalam penelitian ini terbagi menjadi 2 bagian yakni proses pembuatan masing-masing EM4, dan perhitungan jumlah mikroba pada setiap macam EM4 yang disesuaikan dengan umur simpan 7 dan 30 hari yang ditumbuhkan dalam jenis media agar tumbuh yang berbeda.

3.4.1. Proses pembuatan EM4 dari buah-buahan dan sayuran (E4KB)

EM4 dibuat dari kulit buah, batang pisang, dan sayuran. Langkah pertama yang harus dilakukan yakni menghaluskan kulit pisang 0,50 kg, kulit nanas 0,50 kg, kulit pepaya 0,50 kg, batang pisang bagian dalam 1,50 kg, kacang panjang 0,25 kg, sayuran hijau dengan menggunakan blender. Kemudian, ditambahkan 1,00 kg gula pasir dan 0,50 liter air tuk/air nira/air kelapa kedalam bahan yang telah dihaluskan dan diaduk rata didalam ember dan didiamkan selama 7 hari dan laurutan siap digunakan (Siswati dan Edahwati, 2017)

3.4.2. Proses pembuatan EM4 dari buah-buahan dan sayur dengan penambahan ragi tape (E4RT)

Proses pembuatan EM4 dengan penambahan ragi tape dilakukan dengan memotong kecil-kecil serta menghaluskan 0,50 kg pisang dan kulitnya, 0,50 kg pepaya dan kulitnya, 0,50 kg nanas dan kulitnya, 0,25 kg kacang Panjang dan 0,25 kg sayuran hijau. Kemudian semua bahan dimasukkan kedalam tong atau ember dan tambahkan 1,00 liter air, 1,00 kg gula pasir, dan 5 butir ragi tape kedalam tong atau ember yang telah berisi campuran semua bahan tersebut dan diaduk hingga semua bahan tercampur merata kemudian, ditutup rapat selama 7 hingga 8 hari (Firdaus dkk., 2018).

3.4.3. Proses Pembuatan EM4 dari buah-buahan dan sayur dengan penambahan Limbah cair tanpa penambahan ragi tape (E4LH)

Proses pembuatan EM4 Limbah dilakukan dengan mencampurkan limbah cair peternakan sapi dengan campuran kulit buah dan sayuran hijau tanpa ditambahkan ragi yang caranya diawali dengan memotong memotong kecil-kecil serta menghaluskan 0,50 kg pisang dan kulitnya, 0,50 kg pepaya dan kulitnya, 0,50 kg nanas dan kulitnya, 0,25 kg kacang Panjang dan 0,25 kg sayuran hijau. Kemudian semua bahan dimasukkan kedalam tong atau ember dan tambahkan 1,00 liter air, 1,00 kg gula pasir, dan 5 butir ragi tape kedalam tong atau ember yang telah berisi campuran semua bahan tersebut dan diaduk hingga semua bahan tercampur merata kemudian, ditutup rapat selama 7 hingga 8 hari

3.4.4. Perhitungan Jumlah Sel *Lactic acid bacteria* (LAB) (BAL)

Lactic acid bacteria (LAB) (BAL) dikarakterisasi dan dilakukan perhitungan dari masing-masing EM4 dengan cara diambil

sebanyak 1 ml masing-masing kemudian ditambahkan kedalam 9 ml aquades dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan EM4 dan aquades yang telah homogen kemudian dilakukan pengenceran secara bertingkat dari 10^{-0} hingga 10^{-2} . Larutan pada pengenceran 10^{-0} , 10^{-1} , dan 10^{-2} diambil dan dikulturkan pada media GYP menggunakan metode *spread plate* (Fallo *et al.*, 2021). Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada inkubator dengan suhu 37 derajat celcius. Setelah 48 jam kemudian isolat bakteri yang telah diinkubasi dilihat karakteristiknya dengan melakukan pengecatan Gram, morfologi koloni (warna, bentuk tepi, elevasi) dan uji katalase (Putri dkk., 2018). Koloni yang tumbuh kemudian dihitung jumlahnya dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) menggunakan alat bantu yakni *colony counter*.

3.4.5. Perhitungan Jumlah Sel *Bacillus spp.*

Bacillus spp. dikarakterisasi dan dilakukan perhitungan dari masing-masing EM4 dengan cara diambil sebanyak 1 ml EM4 dimasukkan kedalam 9 ml aquades dan dilakukan pengenceran sampai 10^{-2} . Pengenceran 10^{-0} , 10^{-1} , dan 10^{-2} diambil sebanyak 2 ml dan dipanaskan dengan suhu 80°C selama 30 menit dalam *waterbath*, kemudian disebar kedalam cawan Petri yang telah berisi media NA (Nutrient Agar) secara *spread* dan diinkubasi selama 24-48 jam. Setelah 24-48 kemudian koloni yang tumbuh dilakukan uji lanjutan dengan melihat karakterisasi morfologi, uji sifat Gram bakteri, uji katalase, dan uji motilitas. Pengujian sifat Gram bakteri dilakukan dengan penambahan uji dengan penambahan KOH 3% dengan hasil positif (Wulandari dkk., 2020). Koloni yang tumbuh dihitung dengan menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) menggunakan bantuan *colony counter*.

Keterangan media : *Nutrient Agar* (NA) merupakan media yang dapat digunakan untuk mengkultur *Bacillus spp.* yang memiliki

komposisi yakni, 10 gram peptone, 10 Gram Meat extract B, 5 gram sodium chloride, 12 gram agar dengan pH sekitar 7,3 dalam 1000 ml aquades (Himedia technical data, 2015).

3.4.6. Perhitungan Jumlah Sel *Yeast*

Yeast dikarakterisasi dan dilakukan perhitungan dari masing-masing EM4 dengan cara yakni masing-masing larutan EM4 diambil sebanyak 1 ml masing-kemudian ditambahkan kedalam 9 ml aquades dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan EM4 dan aquades yang telah homogen kemudian dilakukan pengenceran secara bertingkat dari 10^{-0} hingga 10^{-2} . Larutan pada pengenceran 10^{-0} , 10^{-1} , dan 10^{-2} diambil dan dikulturkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) ditambah dengan 150 mg/L kloramfenikol dan diinkubasi selama 48 jam dalam suhu sekitar 25°C (Nasir dkk., 2017). Setelah koloni tumbuh kemudian dilakukan pengamatan karakteristik. Koloni yang tumbuh dihitung jumlahnya dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) menggunakan alat bantu yakni *colony counter*.

Keterangan media : Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) memiliki komposisi yakni 200 gram kentang, 20 gram dextrose, 15 gram agar dengan pH 5,6, suhu 25°C dalam 1000 ml aquades (Himedia technical data, 2019). Kloramfenikol ditambahkan kedalam media PDA bertujuan dan memiliki fungsi yakni untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada media agar tersebut (Dewi dkk., 2014).

3.4.7. Perhitungan Jumlah Mikroba pada Media *Pikovskaya Agar*

Setiap larutan EM4 diambil sebanyak 1 ml masing-kemudian ditambahkan kedalam 9 ml aquades dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan EM4 dan aquades yang telah homogen kemudian dilakukan pengenceran secara bertingkat dari 10^{-0} hingga 10^{-2} . Larutan pada pengenceran 10^{-0} , 10^{-1} , dan 10^{-2} diambil dan dikulturkan pada media *Pikovskaya Agar*. Bahan-

bahan yang digunakan untuk membuat medium Pikovskaya yaitu: glukosa 10 g; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 25 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,5 g; NaCl 0,2 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g; yeast ekstrak 0,5 g; KCl 0,2 g; $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,002 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,002 g, dan ditambahkan 15 gram agar. Semua bahan dilarutkan dalam 1000 ml akuades dan dihomogenkan. Medium tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 20 menit dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-7 hari. Setelah diinkubasi selama 1-3 hari zona bening akan terbentuk disekitar koloni (jika mikroba tersebut dapat melarutkan fosfat) (Rani, 2017). Koloni yang tumbuh pada media *Pikovskaya Agar* kemudian dilakukan pengamatan karakteristik. Koloni yang tumbuh dihitung jumlahnya dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) menggunakan alat bantu yakni *colony counter*.

3.5. Analisis Data

Data penelitian yang akan diperoleh yakni berupa data jumlah mikroba tiap masing-masing jenis mikroba pada EM4 sebelum dan setelah masa penyimpanan tujuh hari dan satu bulan dianalisis secara statistic menggunakan Statistical Product and Service Solutions (SPSS) dengan metode uji Analysis of Variance (ANOVA) $\alpha = 0,05$. Jika terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji DUNCAN dengan selang kepercayaan 0,05.

Jumlah total mikroba yang terkandung dalam EM4 ini dapat diketahui dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). TPC merupakan sebuah metode yang digunakan untuk memperkirakan jumlah total mikroorganisme (kapang, ragi, bakteri) yang terkandung dalam suatu bahan (Arifan dkk., 2019). Berikut ini adalah rumus yang digunakan dalam perhitungan jumlah mikroba :

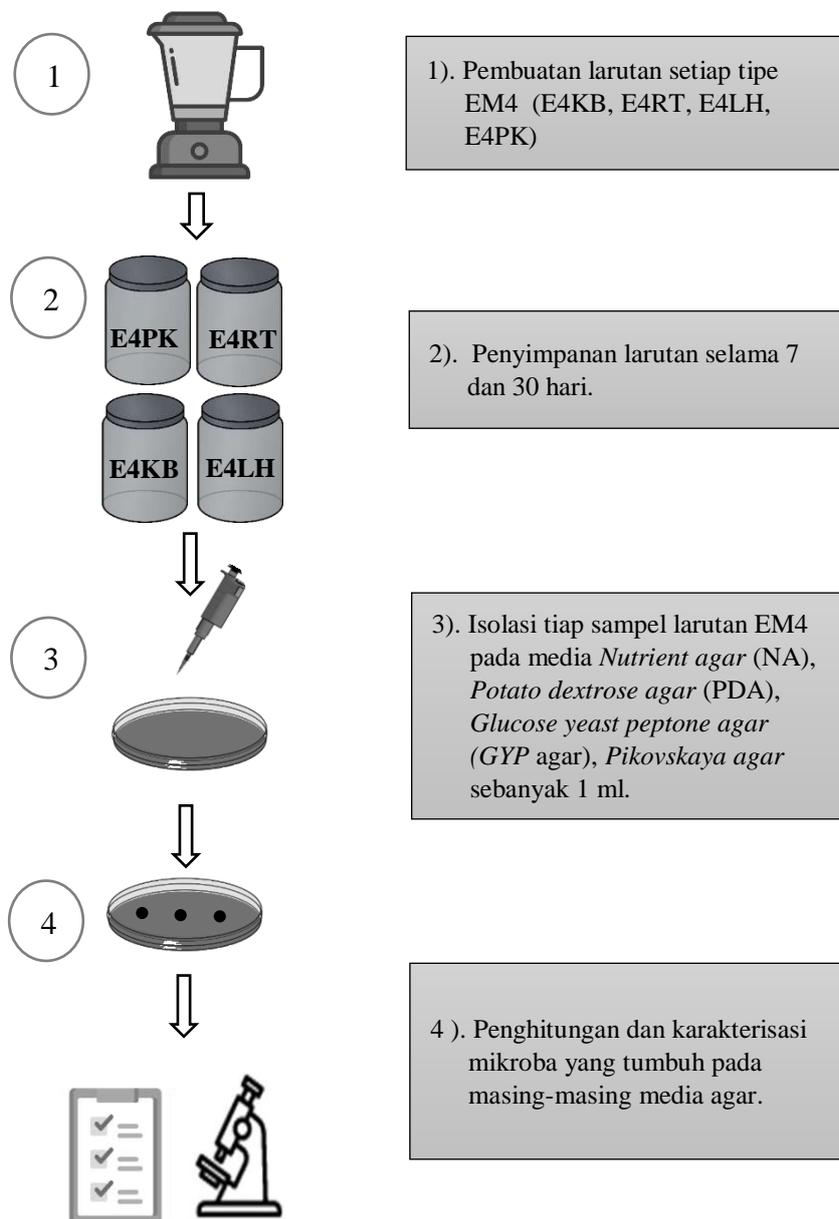
$$N = \frac{\sum C}{\{(1 \times n1) + (0,1 \times n2)\} \times (d)}$$

Keterangan :

- N = Jumlah koloni sampel (Kol/ml)
- $\sum C$ = Jumlah koloni yang dihitung pada seluruh cawan
- n1 = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
- n2 = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
- d = Pengenceran pertama yang dihitung

3.6 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang akan dilakukan tertera pada diagram alir berikut :



Gambar 2. Tahapan penelitian.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Karakteristik mikroba yang terdapat pada setiap tipe EM4 yakni, *Phosphat solubilizing bacteria (PSB) (BAL) Lactobacillus, Bacillus, yeast, Phosphat solubilizing bacteria (PSB)*.
2. Umur simpan memiliki pengaruh ($0,00 < \alpha$) terhadap jumlah *Bacillus spp.* dan *Phosphat solubilizing bacteria (PSB)* ($0,00 < \alpha$) tetapi, umur simpan tidak memiliki pengaruh ($0,306 > \alpha$) terhadap jumlah BAL serta *yeast* ($0,409 > \alpha$). Masing-masing macam EM4 yang diteliti memiliki perbedaan jumlah yakni jumlah BAL (hari ke-7 sebanyak 0,69 sel/ml, hari ke-30 sebanyak 0,46 sel/ml) , *Phosphat solubilizing bacteria (PSB)* (hari ke-7 sebanyak 2,14 sel/ml, hari ke-30 sebanyak 1,73 sel/ml), dan *yeast* mengalami penurunan jumlah dan *Bacillus spp.* mengalami pertambahan jumlah pada umur simpan hari ke-30 (hari ke-7 sebanyak 0,53 sel/ml, hari ke-30 sebanyak 1,92 sel/ml).

5.2. Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya melakukan uji karakterisasi yang lebih lengkap atau dapat juga dilakukan uji karakterisasi sampai pada tahap Biomolekuler menggunakan serangkain tes PCR untuk

memperoleh jenis kandungan bakteri yang lebih spesifik pada masing-masing macam sampel EM4 yang diuji

DAFTAR PUSTAKA

- A., . M., Hernaman, I., Susilawati, I., Indriani, N. P., Islami, R. Z., dan Dhalika, T. 2019. Karakteristik Fisik Limbah Padat Pembuatan Tepung Aren (*Arenga pinnata Merr*) Hasil Fermentasi Anaerob Dengan Aditif Molases, Lumpur Kecap dan Urea. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis Dan Ilmu Pakan*. 1 (1):1–5.
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., dan Amelia, P. 2018. Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Agroekoteknologi*. 5(1) : 253–257.
- Arifan, F., Winarni, S., Wahyuningsih, W., Pudjihastuti, I., dan Broto, R. W. 2019. *Total Plate Count (TPC) Analysis of Processed Ginger on Tlogowungu Village*. 167 : 377–379.
- Dewi, A. K., Utama, C. S., dan Mukodiningsih, S. 2014. Kandungan Total *Yeast* Serta Jenis Kapang dan Khamir pada Limbah Pabrik Pakan yang Difermentasi dengan Berbagai Aras Starter ‘Starfung.’ *Jurnal Agripet*. 14 (2) : 102–106.
- Dian Safitri, A., Linda, R., Studi Biologi, P., Mipa, F., Tanjungpura, U., dan Hadari Nawawi, J. H. 2017. Aplikasi Pupuk Organik Cair (POC) Kotoran Kambing Difermentasikan Dengan EM4 Terhadap Pertumbuhan Dan Produktivitas Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens L.*) Var. Bara. 6 (3).
- Fardiyanti, R. 2021. Ragam Jenis *Streptomyces Sp* pada Rizosfer Tanaman Suku Liliacea di Kawasan Desa Sumber Bening. *Konservasi Hayati*. 17 (1) : 29–34.
- Firdaus, M., Indarti, D., Wahyudi, F., dan Stie, D. 2018. Pkm Ternak Sapi Potong Di Desa Tanjung Rejo, Kecamatan Wuluhan, Kabupaten Jember, Provinsi Jawa Timur.
- Hamidah. 2013. Isolasi dan identifikasi isolat actinomycetes dari rizosfer padi. *Skripsi*.
- Kawuri, R. 2016. Isolasi Dan Identifikasi *Streptomyces Sp*. Pada Rhizosfer Tanaman Pisang (*Musa Paradisica*) Di Desa Pendem Jembrana Bali. *METAMORFOSA Journal of Biological Sciences*. 3 (2) : 140–148.

- Lavakush., Jarnadan Y., and Jay P.V. 2012. Isolation and Characterization of Effective Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Rice Rhizosphere of Indian Soil. *Asian Journal of Biological Sciences*. 5 : 294-303.
- Munawaroh, U., Sutisna, M., & Pharmawati, K. 2013. Penyisihan Parameter Pencemar Lingkungan pada Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan Efektif Mikroorganisme 4 (EM4) Serta Pemanfaatannya. *Jurnal Institut Teknologi Nasional*, 1 (2), 93–104.
- Narendrakumar G., Karthick Raja Namsivayam S., and Arvind Kumar J. 2011. Evaluation of Effective Microorganism (EM) for treatment of domestic sewage. *Journal of Experimental Sciences*. 2 (7) : 30-32.
- Nasir, A., Rahman, S. S., Hossain, M. M., and Choudhury, N. 2017. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* from pineapple and orange and study of metal's effectiveness on ethanol production. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 7 : 76 – 91.
- Nurcholis, M., Fernando, D., Zubaidah, E., Maligan, J. M., Teknologi, J., Pertanian, H., Universitas, F., Malang, B., Veteran, J., and Korespondensi, P. 2020. Isolasi dan Identifikasi khamir Thermotolerant dan Ethanol-Tholerant Pada Buah Lokal Indonesia Isolation and Identification of Thermotolerant and Ethanol-tolerant Yeast on Indonesian Local Fruits. 8 (3) : 122–133.
- Parija, S. C. 2012. *Textbooh of Microbiology and Imunnology 2nd Edition* (2nd ed.).
- Puspita, F., Ali, M., dan Pratama, R. 2017. Isolasi dan karakterisasi morfologi dan fisiologi bakteri *Bacillus* spp. endofitik dari tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Agrotek*. 6 (2) : 44–49.
- Putri, A. A., Studi, P., Dokter, P., Fakultas, H., Hewan, K., Syiah, U., Mikrobiologi, L., Kedokteran, F., Universitas, H., Kuala, S., dan Laktat, B. A. 2018. Isolasi *Lactic acid bacteria* (LAB) Marga *Lactobacillus* Dari Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*). *Jimvet*. 2 (1) : 170.
- Putri, A.L.O., dan Endang, K. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjual belikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*. 1(2) : 6-12.

- Rahmadi, A. 2019. *Lactic acid bacteria (LAB)* dan mandai cempedak. *Mulawarman University Press*. Samarinda.
- Rahmadian, C. A., Ismail, Abrar, M., Erina, Rastina, dan Fahrimal, Y. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas* sp pada ikan asin di tempat pelelangan ikan Labuan Haji Aceh Selatan. *Jimvet*. 2 (4) : 493–502.
- Rasmito, A., Hutomo, A., dan Hartono, A. P. 2019. Pembuatan Pupuk Organik Cair dengan Cara Fermentasi Limbah Cair Tahu, Starter Filtrat Kulit Pisang Dan Kubis, dan Bioaktivator EM4. *Jurnal IPTEK*. 23 (1) : 55–62.
- Rikhsan Kurniatuhadi, Sri Lestari, M. 2019. Identifikasi dan Deteksi Aktivitas Daya Hambat Bakteri Actinomycetes yang diisolasi dari Tanah Gambut di Desa Tajok Kayong Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont*. 8 (1) : 13–19.
- Salmiyati Izeta, H. F., dan Azmi. 2021. Pengaruh Kombinasi Bioaktivator Ragi Dan *Effective Microorganism* (Em4) Terhadap Kandungan Mikroba Dalam Pupuk Hayati Cair. *Jurnal Agrosains dan Teknologi*. 6(2) : 65–76.
- Simarmata, L., Harahap, S., dan Purwanto, E. 2020. Pengaruh Pemberian Em4 Pada Biofilter Untuk Menurunkan Bod5 Dan Cod Limbah Cair Rumah Makan. 1 (2) : 114–123.
- Siswati, N. D., dan Edahwati, L. 2017. Pengelolaan Sampah Rumah Tangga Di Lingkungan Rt.1 - Rt.14/Rw Iv Kelurahan Rungkut Menanggal Kecamatan Gununganyar Kota Surabaya. *JAST : Jurnal Aplikasi Sains Dan Teknologi*. 1 (1) : 37–43.
- Suyono, Y., dan Farid, S. 2011. *Pseudomonas* Pada Tanah Yang Terindikasi Kontaminasi Logam. *Jurnal Biopopral Industri*. 2 (1) : 8–13.
- Vos, P. De, George M. Garrity, Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Whitman, W. B. 2009. *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology Second Edition The Firmicutes (Second Edition)*. New York (US): Springer.
- Wibowo, R.H., Sipriyadi, Welly, D., Santi, N., Kamilah., Hizkia, P.P., Reza, P. 2020. Potensi Isolat *Bacillus* sp. ENG-4 yang Berasosiasi dengan Spons *Aplysina* sp. Penghasil Senyawa Antimikrob Asal Pulau Enggano. *Jurnal Enggano*. 5 (1):1-10.
- Wulandari, N., Irfan, M., dan Saragih, R. 2020. Isolasi Dan Karakterisasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria Dari Rizosfer Kebun Karet Rakyat. *Dinamika Pertanian*. 35 (3) : 57–64.

Yulitaasary, A. T., Asyiah, I. N., dan Iqbal, M. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Azotobacter Dari Rhizosfer Tanaman Kopi (*Coffea canephora*) yang Terserang Nematoda Parasit *Pratylenchus coffeae*. *Saintifika*. 19 (2) : 13–23.