

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan Kesehatan di Masyarakat yang tidak pernah dapat diatasi secara tuntas. Penyakit infeksi dapat ditularkan ke manusia. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh beberapa mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur (Wiertsema *et al.*, 2021). Penyakit karena bakteri sering terjadi di lingkungan sekitar, salah satunya adalah jerawat yang umumnya ditemukan pada masa remaja. *Staphylococcus epidermidis* umumnya dapat menimbulkan penyakit pembengkakan (abses) seperti jerawat, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, dan infeksi ginjal (Hasanah *et al.*, 2021)

*Staphylococcus epidermidis* merupakan salah satu bakteri gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti anggur dan bersifat anaerob fakultatif (Qomar *et al.*, 2018). Bakteri ini tidak pathogen pada kondisi normal, tetapi bila terjadi perubahan kondisi kulit, maka bakteri tersebut berubah menjadi invasive. (Hasanah *et al.*, 2021).

Pengobatan jerawat di klinik kulit biasanya menggunakan antibiotic yang dapat menghambat inflamasi dan membunuh bakteri, contohnya tetrasiklin, eritromisin, doksisisiklin, dan klindamisin. Selain dari itu sering juga digunakan benzolin peroksida, asam azelat dan retinoid, namun obat-obat ini memiliki efek samping dalam penggunaannya sebagai anti jerawat antara lain iritasi. Sementara penggunaan antibiotic jangka Panjang selain dapat menimbulkan resistensi juga dapat menimbulkan kerusakan organ dan imunohipersensitivitas. Adanya masalah yang timbul akibat penggunaan antibiotic dan bahan kimia sintetis, memungkinkan perlunya alternatif lain dalam mengobati jerawat (Qomar *et al.*, 2018)

Solusi lain yang dapat dilakukan untuk mengobati penyakit kulit disamping penggunaan antibiotic adalah dengan pengobatan herbal. Dalam kultur dan budaya, Masyarakat banyak menggunakan beberapa tanaman herbal untuk membersihkan kulit dan mengobati penyakit kulit karena mengandung beberapa zat secara alami

yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit yang diderita. Penggunaan obat herbal didasari atas fungsi obat untuk dikonsumsi ataupun sebagai luar (Purwoko *et al.*, 2020).

Ekoenzim merupakan produk fermentasi limbah organik seperti kulit buah dan sayuran yang kaya akan enzim, asam organik, dan senyawa bioaktif lainnya yang mampu mengatasi hal tersebut (Ismail *et al.*, 2023),(Ismail *et al.*, 2024). Ekoenzim menunjukkan aktivitas antimikroba yang tinggi dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Selain itu produk ekoenzim telah diaplikasikan sebagai pembersih kaca, pembersih pakaian, pengolahan air limbah, pupuk, dan pestisida organik (Annisa Lorenza, 2021).

Salah satu herbal yang penggunaannya sebagai obat luar yaitu ekoenzim. Ekoenzim atau *garbage enzyme* merupakan cairan hasil fermentasi alami limbah kulit buah-buahan ataupun sayuran yang memiliki banyak manfaat (Larasati *et al.*, 2020). Ekoenzim dapat mengatasi berbagai permasalahan kulit seperti luka nanah pada penderita diabetes dan jerawat pada wajah (Annisa Lorenza, 2021). Ekoenzim menunjukkan aktivitas antimikroba yang tinggi dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Selain itu produk ekoenzim telah diaplikasikan sebagai pembersih kaca, pembersih pakaian, pengolahan air limbah, pupuk, dan pestisida organik (Annisa Lorenza, 2021).

Bahan yang dapat digunakan dalam pembuatan ekoenzim adalah kulit semangka, jeruk, nenas, pisang dan pepaya yang mengandung berbagai senyawa aktif seperti papain, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki potensi sebagai antibakteri (Kong *et al.*, 2021). Ekoenzim merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sampah organik, gula, dan air. Kandungan enzim dalam ekoenzim yaitu enzim lipase, tripsin, dan amilase. Salah satu kandungan dalam ekoenzim adalah asam asetat ( $H_3COOH$ ) yang dapat membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel dengan gradien pH, dan menyebabkan gangguan aktivitas metabolisme sel. (Rochyani *et al.*, 2020).

Selain potensinya dalam menghambat bakteri patogen, ekoenzim merupakan produk yang ramah lingkungan. Umumnya ekoenzim dibuat dari limbah kulit buah. Limbah kulit buah merupakan bahan buangan yang biasanya

dibuang secara open dumping tanpa pengolahan lebih lanjut sehingga akan menyebabkan gangguan lingkungan dan bau tidak sedap. Selain itu limbah yang dibuang secara sembarangan akan menimbulkan berbagai dampak Kesehatan yang serius (Marjenah *et al.*, 2018). Melalui pembuatan ekoenzim, limbah kulit buah yang tidak berguna dapat menjadi produk yang bermanfaat dan ramah lingkungan serta bernilai ekonomis (Larasati *et al.*, 2020).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah campuran kulit buah ekoenzim efektif dalam menghambat *S. Epidermidis*?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Menganalisis kegunaan ekoenzim sebagai antimikroba.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- a. Menganalisis fitokimia campuran kulit buah ekoenzim.
- b. Menganalisis efektivitas antimikroba ekoenzim terhadap pertumbuhan *S. Epidermidis* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% secara in vitro.
- c. Membandingkan perbedaan efek antimikroba ekoenzim terhadap pertumbuhan *S. Epidermidis* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% secara in vitro.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

- a. Diharapkan dapat menambah dan memperluas wawasan pembaca tentang kegunaan ekoenzim sebagai antimikroba khususnya pada bakteri *Staphylococcus Epidermidis*
- b. Dapat menjadi bacaan yang menambah wawasan dan pengetahuan peneliti tentang manfaat dari ekoenzim
- c. Diharapkan hasil penelitian dapat menjadi referensi dan acuan untuk penelitian selanjutnya

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Ekoenzim**

*Eco enzyme* merupakan cairan organik yang dihasilkan melalui proses fermentasi sederhana dari zat sisa kulit buah dengan menambahkan gula dan air dengan perbandingan 3:1:10. Pada dasarnya semua sisa kulit buah dapat menjadi bahan baku untuk membuat *eco enzyme*. Dalam hal ini kulit buah yang dipakai yaitu kulit buah pisang, pepaya, dan nanas. Alasan menggunakan buah tersebut yaitu karena dalam penelitian-penelitian sebelumnya hasil yang diperoleh menunjukkan hasil yang cukup baik khususnya dalam kandungan unsur hara makro (Rochyani *et al.*, 2020).

Limbah organik berasal Dari makhluk hidup, baik manusia, hewan, maupun tumbuhan. Limbah organik dapat terurai melalui proses biologis. Limbah organik kering adalah limbah yang mempunyai kandungan airnya relative sedikit sedangkan limbah organik basah yaitu limbah yang mempunyai kandungan air yang cukup tinggi, contohnya kulit buah dan sisa sayuran (Annisa Lorenza, 2021).

Ekoenzim atau biasa dikenal sebagai enzim ramah lingkungan ini ditemukan oleh DR. Rosuko Poompanvong dari Thailand sejak lebih dari 30 tahun yang lalu. Dikatakan sebagai ekoenzim karena dibuat dari residu atau limbah rumah tangga seperti limbah sayuran ataupun kulit buah yang banyak dibuang oleh masyarakat (Mahmudah *et al.*, 2021).

Cairan ekoenzim merupakan produk yang sangat fungsional, mudah digunakan, dan mudah untuk diproduksi. Hal ini dikarenakan bahan-bahan yang digunakan sederhana dan mudah diperoleh. Pembuatan produk ini hanya membutuhkan air, gula sebagai sumber karbon, serta limbah organik. Ekoenzim dapat diproduksi dengan menggunakan kulit buah yang mudah didapati. Beberapa buah yang umum digunakan sebagai bahan dasarnya diantaranya adalah kulit jeruk, digunakan karna kaya akan kandungan vitamin C, memiliki aroma yang kuat dan nilai keasaman yang tinggi dan terdapat enzim lipase (Gumilar, 2023).

Nanas juga banyak digunakan karena mengandung bromelain yang diklasifikasikan sebagai enzim protease. Buah lain yang dapat digunakan dalam membuat ekoenzim adalah pepaya, pisang, dan semangka (Gumilar, 2023). Dari reaksi yang terjadi di ekoenzim, diketahui senyawa yang dihasilkan dari ekoenzim dapat membantu mengurangi jumlah karbondioksida di atmosfer dan dapat mengurangi pemanasan global (Sayali *et al.*, 2019).

Adapun proses pembuatan ekoenzim tergolong sederhana dan mudah di aplikasikan. Limbah organik tersedia dalam jumlah banyak dan molase atau gula merah yang digunakan mudah didapat. Untuk produksi ekoenzimnya dibutuhkan kira-kira tiga bulan untuk persiapan. Pemberian ekoenzim terhadap air limbah sangat ramah lingkungan bagi Sungai (Deepak *et al.*, 2019). Berikut adalah beberapa jenis kulit buah yang mengandung ekoenzim menurut (Rochyani *et al.*, 2020):

#### 1. Nanas

Kulit nanas banyak mengandung flavonoid dan bromelin. Selain itu kulit nanas mengandung senyawa tanin, oxalat, dan pitat. Flavonoid dapat menyebabkan penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Selain itu flavonoid juga menghambat metabolisme energi dari bakteri. Oleh karena itu flavonoid merupakan komponen antibakteri yang potensial. Bromelin merupakan enzim proteolitik yang dapat memecah molekul protein. Bromelin dapat memutus ikatan protein pada bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Aktivitas, spesifisitas dan produksi dari enzim bromelin lebih banyak pada bagian kulit nanas dibandingkan dengan buah dan batang. Kulit buah nanas memiliki senyawa flavonoid yang bersifat desinfektan dan sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Hal ini disebabkan karena flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri gram positif dari pada lapisan lipid yang non polar. Pada dinding sel bakteri gram positif mengandung polisakarida (asam

trikoat) yang merupakan polimer larut dalam air, yang berfungsi sebagai transfer ion positif untuk keluar masuk.

## 2. Jeruk Purut

Jeruk purut memiliki banyak senyawa antibakteri yang terkandung di dalamnya. Kandungan senyawa yang dimiliki diantaranya minyak atsiri, citronellal, citronellol yang bermanfaat sebagai antioksidan, antimikroba, antileukimia, antitusif, insektisida, ilarvasida dan senyawa fenolik seperti flavonoid, flavanone, flavon, flavonol dan gliserolipida yang berfungsi sebagai sumber antioksidan, antiradang, antivirus, anti alergi, anti karsinogenik, anti aging. Kandungan senyawa tersebut terdistribusi pada beberapa bagian jeruk purut dan mempunyai kemampuan hambat yang berbeda dari bagian satu dengan bagian yang lainnya. Antibakteri jeruk purut dinilai mampu menghambat bakteri gram positif lebih kuat dibandingkan dengan bakteri gram negative.

## 3. Mentimun

Mentimun (*Cucumis sativus* L.) merupakan salah satu jenis sayuran yang sangat bermanfaat bagi tubuh manusia dan secara empiris digunakan sebagai obat jerawat. Mentimun (*Cucumis sativus* L.) mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, glikosida, steroid, saponin, flavonoid, tannin, terpenoid, resin, polifenol, fenol, glikosida sianogenik dan antosianin.

## 4. Tomat

Kandungan kimia pada tomat antara lain alkaloid solanin, saponin, asam folat, asam sitrat, bioflavonoid, klorin sulfur, alkaloid, dan senyawa tomatin yang berfungsi sebagai anti inflamasi dan anti radang. Studi tentang tomat dapat bermanfaat untuk pengobatan herbal, kandungan kimia pada tomat diketahui dapat mengatasi radang kulit, infeksi jamur, jerawat, luka yang sukar sembuh dan mengurangi rasa nyeri pada kulit akibat terbakar sinar matahari, sembelit, diare, radang usus buntu, radang saluran

nafas, radang hati, wasir, sesak nafas, dan darah tinggi.

#### 5. Lemon

Ekstrak lemon memiliki kandungan saponin, tanin, fenol, alkaloid dan flavanoid. Kandungan saponin yang ditemukan di dalam jeruk lemon bertanggung jawab atas rasa pahit yang ada pada jeruk lemon dan sebagai sifat antijamur dari tanaman ini. Kehadiran tanin dan senyawa fenolik menunjukkan bahwa tanaman jeruk lemon memiliki sifat antimikroba karena fenol dan senyawa fenolik banyak digunakan di dalam pencegahan penyakit dan tetap menjadi standar yang membandingkan bakterisida atau fungisida lain. Fenolik membentuk kelompok besar senyawa alami, beragam dan tersebar luas yang bertanggung jawab atas sifat antijamur atau bakterisida.

#### 1. Buah Naga

Kandungan kimia yang terdapat pada buah naga (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) diantaranya flavonoid, alkaloid, terpenoid, thiamin, niacin, pyridoxine, kobalamin, fenolik, polifenol, karoten, dan betalain. Bagian kulit buah naga mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri. Flavonoid yang terdapat pada kulit buah naga bekerja dengan cara menghambat fungsi DNA gyrase bakteri sehingga menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Terpenoid bekerja dengan cara merusak membran sitoplasma. Tanin bekerja dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri.

Ekoenzim dapat diaplikasikan diberbagai bidang, fungsinya dibagi menjadi empat kelompok utama yaitu menguraikan, Menyusun, mengubah dan mengkatalisis. Pertama, ekoenzim dapat digunakan untuk keperluan rumah tangga seperti pembersih lantai karena kondisinya asamnya. Selanjutnya, dapat digunakan sebagai pemurnian udara atau menghilangkan bau dan udara beracun terlarut. Selain itu, ekoenzim juga dapat digunakan sebagai pengawet komoditas pertanian seperti tomat karena kandungan

asam propionatnya yang efektif dalam mencegah pertumbuhan mikroba sehingga memperlama proses pembusukan. Asam asetat dalam ekoenzim juga dapat menghancurkan organisme, sehingga dapat digunakan sebagai insektisida atau pestisida (Mahmudah *et al.*, 2021) (Nazim & Meera, 2007).

Menurut (Putu *et al.*, 2023) Pada proses fermentasi ekoenzim, mikroorganisme yang berperan adalah jamur dan bakteri seperti *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacteri*, *Lactobacillus* dan *Pseudomonas*. Pada proses fermentasi, terjadi dua jenis fermentasi asam laktat yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Fermentasi asam laktat homofermentatif adalah fermentasi yang terjadi karena adanya bakteri asam laktat homofermentatif dan produk yang dihasilkan adalah asam laktat. Sedangkan fermentasi heterofermentatif adalah fermentasi yang terjadi karena adanya bakteri heterofermentatif dan fakultatif yang akan menghasilkan produk asam laktat, asam asetat, dan/atau etanol. Namun tidak hanya menghasilkan asam organik dan etanol, proses fermentasi ekoenzim juga dapat mengeluarkan enzim seperti amilase, lipase dan papain.

Ekoenzim yang dihasilkan dari fermentasi kulit buah dapat bersifat antibakteri. Mekanisme penghambatan bakteri ini disebabkan karena terdapat kandungan flavonoid dan tanin yang berfungsi sebagai bioseptik. Flavonoid yang terkandung memiliki kemampuan untuk mengambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, serta menghambat metabolisme energi. Tanin merupakan salah satu bahan kimia fenolik, merupakan senyawa yang berfungsi menekan pertumbuhan bakteri.

Tanin memiliki gugus hidroksil dan ikatan  $-\alpha\beta$  yang berperan dalam sifat antimikrobanya. Mekanisme penghambatan kimiawi ini melibatkan interaksi yang membentuk kompleks protein-fenol, yaitu hubungan kimia yang tidak spesifik. Efektivitas penghambatan ini tergantung pada kadar fenol yang terkandung. Pada konsentrasi tanin yang rendah, terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan lemah yang cepat terurai, merusak membran sitoplasma, dan menyebabkan kebocoran pada

sel. Sementara itu, pada konsentrasi yang tinggi, zat ini mampu menggumpalkan protein di dalam sel dan membran sitoplasma, yang pada akhirnya menyebabkan sel mengalami lisis.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Rahayu *et al.* (2021), senyawa tanin terbukti dapat menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sel, serta menghambat produksi energi metabolik. Mekanisme kerja tanin sebagai agen antibakteri adalah dengan menghalangi enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase, yang mengakibatkan terbentuknya sel bakteri yang terhambat. Aktivitas antibakteri tanin terkait dengan kemampuannya untuk memfasilitasi adhesi sel mikroba, mengaktifkan enzim-enzim tertentu, serta mengganggu proses transportasi protein di bagian dalam sel.

Dalam proses fermentasi untuk membentuk *eco-enzyme*, gas akan dihasilkan sebagai produk sampingan. Selama fermentasi, karbohidrat di dalam bahan limbah diubah menjadi asam volatil. Selain itu, asam organik yang terkandung dalam limbah juga larut dalam larutan fermentasi karena pH enzim limbah yang bersifat asam. Glukosa dalam proses ini diubah menjadi asam piruvat. Dalam kondisi anaerob, asam piruvat dipecah oleh enzim piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehida. Selanjutnya, asetaldehida diubah menjadi etanol dan karbon dioksida melalui aksi enzim alkohol dehidrogenase. Proses ini menyebabkan kerusakan membran pada bakteri asetobacter, yang akhirnya membuat bakteri mati. Alkohol yang dihasilkan kemudian diubah menjadi asetilen dan air, lalu diubah lagi menjadi asam asetat (Permatananda *et al.*, 2023).

Setelah fermentasi berlangsung sempurna, *eco enzyme* akan terbentuk dan dapat digunakan. Asam asetat yang dihasilkan dari fermentasi alami kulit buah memiliki peran penting dalam sifat antimikroba. Seiring dengan bertambahnya durasi fermentasi, konsentrasi asam asetat akan meningkat. Peningkatan ini terjadi karena proses hidrolisis senyawa organik kompleks menjadi senyawa sederhana melalui fermentasi anaerob, yang menghasilkan akumulasi asam asetat berat dengan molekul rendah. Asam asetat mampu melewati membran sel bakteri berkat adanya perbedaan

gradien pH, yang kemudian mengganggu proses metabolisme dalam sel bakteri. Selain itu, tekanan osmotik yang lebih tinggi di dalam sel bakteri mendorong masuknya air, yang pada akhirnya menyebabkan pecahnya sel atau osmolisis (Permatananda *et al.*, 2023).

## 2.2 Kandungan Ekoenzim

Ekoenzim dapat dibuat menggunakan beberapa jenis buah-buahan. Kulit buah-buahan yang dapat digunakan adalah pepaya (*Carica Papaya*), semangka (*Citrullus lanatus*), jeruk (*Citrus* sp), Pisang (*Musa* sp) dan naga (*Hylocereus* sp) Limbah kulit buah adalah baku yang murah dan mudah didapat serta dapat dimanfaatkan dengan baik dalam pengembangan produk ekoenzim dengan biaya yang sangat rendah. Limbah kulit buah kaya akan nutrisi (serat makanan, vitamin, dan mineral), fitokimia, antioksidan, bahan makanan seperti pektin, pewarna alami, senyawa antijamur, dan senyawa antimikroba. Kulit buah telah menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap berbagai jenis mikroorganisme, contohnya *Enterococcus faecalis*. Setelah fermentasi, sifat antibakteri kulit buah semakin meningkat karena zat organik terurai dan menghasilkan metabolit sekunder yang dikenal sebagai senyawa bioaktif atau fitokimia (Mavani *et al.*, 2020).

Adapun buah-buahan yang digunakan dalam pembuatan ekoenzim adalah sebagai berikut. Papaya adalah buah yang umum ditanam di daerah tropis dan digunakan untuk berbagai manfaat Kesehatan. Kulit buah papaya dikenal dengan aktivitas proteolitiknya dan merupakan sumber enzim papain yang sangat baik dikenal sebagai komponen utama kulit papaya. Kandungan gizi lengkap papaya adalah terdiri dari : energi, serat, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, magnesium, natrium, zat besi, karoten, vitamin, air (Chaubey *et al.*, 2018).

Kandungan gizi kulit pisang cukup lengkap diantaranya seperti karbohidrat, lemak, protein, kalsium, fosfat, zat besi, vitamin B, vitamin C dan air. Kulit pisang masak yang berwarna kuning kaya akan senyawa kimia yang bersifat antioksidan, baik

senyawa flavonoid maupun senyawa fenolik (Ode Ermawati *et al.*, 2016).

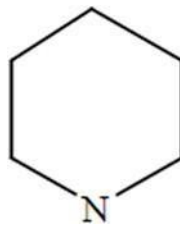
Kulit buah semangka juga kaya akan vitamin, mineral, enzim, dan klorofil. Vitamin yang terdapat pada kulit buah semangka meliputi vitamin A, vitamin B, vitamin B6, vitamin E, dan vitamin C. kandungan betakaroten dan likopen yang terdapat pada kulit buah semangka dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan (Annisa Lorenza, 2021). Kulit jeruk berdasarkan kandungan nutriennya, ternyata kulit buah jeruk mengandung karbohidrat dan gula yang cukup tinggi. Kulit jeruk mengandung 81,72% air, 20,87% serat kasar, 17,53% karbohidrat, 4,41% protein, 0,02% lemak, 0,48% abu, 1,66% serat basah, dan 13,65% gula reduksi (Sangkharak *et al.*, 2016). Ekoenzim yang berasal dari kulit jeruk memiliki sifat antimikroba serta anti-inflamasi. Kandungan senyawa polifenol dan flavonoid yang tinggi dalam ekstrak nanas diketahui memiliki antimikroba yang sangat baik dan antioksidan (Mavani *et al.*, 2020). Kulit apel mengandung total senyawa phenol yang lebih kaya daripada daging buahnya. Kulit apel mengandung senyawa-senyawa flavonoid seperti: Catechin, procyanidin, phloridzin, phloretin glycoside, caffeic acid, chlorogenic acid, quercetin glycosides dan cyanidin glycoside (Yus *et al.*, 2018).

Kandungan nutrisi limbah kulit jeruk (*Citrus sinensis*) cukup tinggi yaitu bahan kering 90,01%, abu 7,70%, protein kasar 6,50%, serat kasar 12,76%, lemak kasar 3,40% dan Total Digestible Nutrient 79,00%. Disamping itu juga mengandung senyawa aktif yang terdiri atas minyak atsiri 0,91%, tanin 0,95%, flavonoid 0,46% dan saponin 0,84% (Fadila *et al.*, 2016). Ekoenzim dapat dibuat menggunakan beberapa jenis buah-buahan. Kulit buah-buahan yang dapat digunakan adalah pepaya (*Carica papaya*), semangka (*Citrullus lanatus*), jeruk (*Citrus sp.*), pisang (*Musa sp.*) (Yus *et al.*, 2018).

Proses pembuatan ekoenzim memerlukan waktu sekitar tiga bulan. Ekoenzim mengandung enzim-enzim yang bermanfaat, seperti protease, amilase, dan lipase. Enzim-enzim ini memiliki sifat antimikroba, karena kemampuannya dalam mengendalikan bakteri gram negatif maupun positif. Selain enzim-enzim yang

terkandung, ekoenzim juga mempunyai sejumlah asam organik seperti asam asetat, asam laktat, asam malat, asam oksalat, dan asam sitrat, namun saat matang, konsentrasi asam asetat akan meningkat akibat produksi anaerobik (Ginting & Prayitno, 2022). Selain asam organik, Buah yang digunakan dalam membuat ekoenzim juga memiliki kandungan seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. (Trisna & Nizar, 2018) (Widara & Handayani, 2024) (Mappa *et al.*, 2021) (Sari *et al.*, 2022).

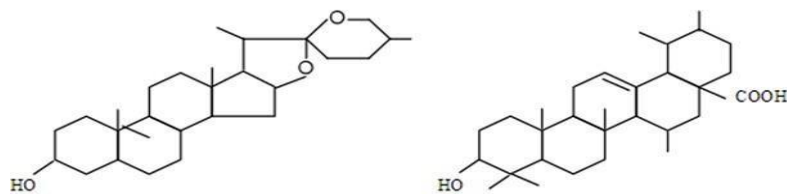
### 2.2.1 Alkaloid



**Gambar 2.1.** Senyawa umum alkaloid.

Alkaloid adalah senyawa kimia yang banyak ditemukan diberbagai jenis tumbuhan. Senyawa ini dapat ditemukan diberbagai bagian tumbuhan, seperti biji, buah, daun, ranting, dan kulit kayu. Kandungan alkaloid dalam tumbuhan biasanya berkisara antara 10-15%. Meskipun beberapa alkaloid bersifat beracun, banyak yang memiliki manfaat penting dalam bidang pengobatan. Alkaloid umumnya tidak berwarna, sering kali bersifat optis aktif, dan sebagian besar berbentuk kristal. Peranan alkaloid salah satunya adalah sebagai antimikroba, yang bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Danila & Rawar, 2022) (Alzanando *et al.*, 2022).

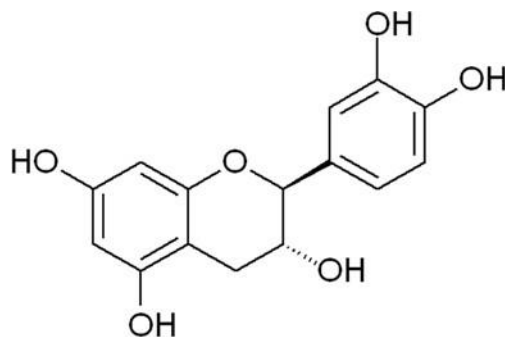
### 2.2.2 Saponin



**Gambar 2.2.** Saponin steroida dan saponin triterpenoida

Saponin berfungsi sebagai antimikroba, dan juga antifungi yang bekerja dengan cara membentuk senyawa dengan membran sel melalui ikatan hidrogen. Proses ini menggunakan permeabilitas dinding sel, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel.

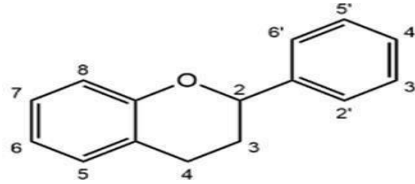
### 2.2.3 Tanin



**Gambar 2.3.** Tanin

Tanin termasuk kedalam senyawa fenolik yang ditemukan pada bagian daun, buah, kulit batang dan batang tumbuhan. Tanin adalah senyawa organik kompleks dengan berat molekul lebih dari 400. Senyawa ini termasuk kelompok fenolik yang sulit dipisahkan dan sulit mengkristal, serta memiliki kemampuan untuk mengendapkan protein dari larutannya. Senagai senyawa polifenol, tanin memiliki beragam manfaat dalam bidang kesehatan, di antaranya berfungsi sebagai astrigen, anti diare, antibakteri, dan antioksidan (Farmasi, 2021).

### 2.2.4 Flavonoid



**Gambar 2.4** struktur umum Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa yang dapat ditemukan di hampir semua bagian tumbuhan, termasuk akar, daun, bunga, buah, dan biji. Senyawa fenol, yang juga tersebar luas pada tumbuhan, terutama ditemukan pada tanaman yang mengandung senyawa aromatik dengan struktur khas berupa cincin benzena dan gugus hidroksil. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dan antibakteri karena flavonoid akan menyebabkan rusaknya susunan dan perubahan mekanisme permeabilitas dari dinding sel bakteri (Hakim & Saputri, 2020).

### 2.3 Bakteri *Staphylococcus epidermidis*



**Gambar 2.5** Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Bakteri ini memiliki ciri-ciri morfologi yaitu koloni berwarna putih susu atau agak krem, bentuk koloni bulat, tepian timbul, serta sel bentuk bola, diameter 0,5 –

1,5um dan bersifat anaerob fakultatif. *S. epidermidis* merupakan bakteri gram positif tidak berspora, tidak motil dan kemoorganotrofik (Annisa Lorenza, 2021). Bakteri anaeroba merupakan bakteri yang tidak dapat tumbuh dalam suasana O<sub>2</sub> (ruang terbuka) karena akan terbentuk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang bersifat toksik terhadap bakteri (Agustiningtyas, 2020), sehingga aman jika bakteri yang diuji dalam kondisi terbuka. Kedudukan *S. epidermidis* dalam sistematika klasifikasi bakteri adalah sebagai berikut:

*Kingdom* : *Bacteria*  
*Phylum* : *Firmicutes*  
*Class* : *Bacili*  
*Ordo* : *Bacillales*  
*Family* : *Staphylococcaceae*  
*Genus* : *Staphylococcus*  
*Species* : *Staphylococcus epidermidis*

Bakteri *S. epidermidis* merupakan flora normal pada kulit maka hampir setiap orang mempunyai bakteri ini pada kulit, hidung atau tenggorokan. Akan tetapi, kini bakteri ini menjadi patogen oportunistik infeksi nosokomial. Infeksi oleh *S. Epidermidis* biasanya sulit disembuhkan karena beberapa strainnya telah menjadi resistensi terhadap sebagian besar antibiotik (multiresisten) (Amelia & Burhanuddin, 2018). *S. epidermidis* umumnya dapat menimbulkan penyakit pembengkakan (abses) seperti jerawat, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, dan infeksi ginjal (Annisa Lorenza, 2021). *Staphylococcus epidermidis* termasuk bakteri gram positif yang lebih peka terhadap senyawa antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding selnya yang relatif lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal, berlapis tunggal, serta mengandung lipid dalam jumlah rendah. Struktur dinding selnya tersusun atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk lapisan tebal dan kaku, serta mengandung senyawa bernama asam

teikoat (Widiawati *et al.*, 2022).

Asam teikoat terbagi menjadi dua jenis. Pertama, asam teikoat dinding sel, yang terikat secara kovalen dengan peptidoglikan dan berperan dalam mengikat serta menyediakan ion magnesium bagi sel, selain itu juga berfungsi sebagai pelindung sel. Kedua, asam teikoat membran (lipoteikoat), yang berikatan secara kovalen dengan glikolipid membran dan terakumulasi di mesosom, berfungsi untuk menghubungkan dinding sel dengan membran sel. *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang banyak terdapat di udara, air, dan tanah. Enzim lipase yang dimiliki oleh

*S. epidermidis* memiliki kemampuan dapat menghidrolisis trigliserida di unit sebasea menjadi asam lemak bebas yang dapat menyebabkan terjadinya keratinisasi dan inflamasi. Tingkat peradangan dan keratinisasi yang berlebihan inilah yang dapat memicu munculnya jerawat. Jerawat yang disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis* umumnya terkait dengan peradangan pada folikel rambut wajah dan pori-pori kulit wajah. (Widiawati *et al.*, 2022).

Tabel 2. 1. Tabel CLSI

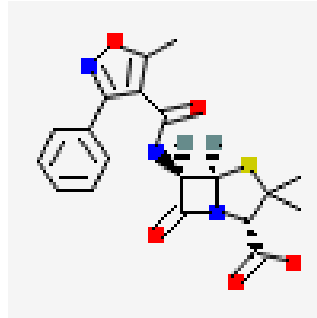
Table 2C. *Staphylococcus* spp. (Continued)

Test/ Report Group	Antimicrobial Agent	<i>Staphylococcus</i> spp. Indications	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm				Interpretive Categories and MIC Breakpoints, µg/mL				Comments
				S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
PENICILLINASE-STABLE PENICILLINS (Continued)												
A	Oxacillin	<i>S. aureus</i> and <i>S. lugdunensis</i>	-	-	-	-	-	≤2 (oxacillin)	-	-	≥4 (oxacillin)	(13) Oxacillin disk testing is not reliable for <i>S. aureus</i> and <i>S. lugdunensis</i> .
			30 µg cefoxitin (surrogate test for oxacillin)	≥22	-	-	≤21	≤4 (cefoxitin)	-	-	≥8 (cefoxitin)	(14) For isolates of <i>S. aureus</i> that do not grow well on CAMHB or unsupplemented MHA (eg, small-colony variants), testing on other media (eg, BMHA) does not reliably detect <i>mecA</i> -mediated resistance. Testing for PBP2a using induced growth (ie, growth taken from the zone margin surrounding a cefoxitin disk on either BMHA or a blood agar plate after 24 hours incubation in 5% CO <sub>2</sub> ) or <i>mecA</i> should be done.  See general comments (5) and (6) and comments (8), (11), and (12).
A	Oxacillin	<i>S. epidermidis</i>	1 µg oxacillin	≥18 (oxacillin)	-	-	≤17 (oxacillin)	≤0.25 (oxacillin)	-	-	≥0.5 (oxacillin)	See general comments (5) and (6) and comments (8), (11), and (12).
			30 µg cefoxitin (surrogate test for oxacillin)	≥25 (cefoxitin)	-	-	≤24 (cefoxitin)	-	-	-	-	(15) Cefoxitin MIC testing is not reliable for detecting <i>mecA</i> -mediated resistance in <i>S. epidermidis</i> .

Sumber: (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024)

Pada tabel 2.1 dapat dilihat pada 1 µg Oxacilin pada *S. Epidermidis* memiliki diameter zona hambat sebesar ≥18mm dan tergolong sensitif terhadap *S. Epidermidis*, dan tergolong resisten pada hasil ≤17mm. Konsentrasi terendah Oxacillin untuk menghambat *S.Epidermidis* yang tergolong sensitif adalah (<0,25 µg/mL) dan tergolong resisten pada (≥0,5 µg/mL).

### 2.3.1 Oxacillin



**Gambar 2.6** Struktur umum Oxacillin

Oxacillin (ox" a sil' in) adalah penisilin generasi kedua yang sangat resistan terhadap inaktivasi oleh penisilinase dan digunakan untuk mengobati infeksi bakteri sedang hingga berat yang disebabkan oleh bakteri penghasil penisilinase, khususnya infeksi stafilokokus. Oxacillin disetujui untuk digunakan di Amerika Serikat pada tahun 1989 dan masih umum digunakan. Oxacillin diindikasikan untuk infeksi bakteri sedang hingga berat yang disebabkan oleh agen sensitif termasuk osteomielitis akut atau kronis dan endokarditis katup. Oxacillin tersedia dalam sediaan oral dan parenteral dalam beberapa formulasi generik (Widiawati *et al.*, 2022).

Oxacillin parenteral direkomendasikan dalam dosis 250 atau 500 mg secara intramuskular atau intravena setiap 4 hingga 6 jam setiap hari hingga 1 hingga 8 minggu tergantung pada jenis dan tingkat keparahan infeksi. Oxacillin oral direkomendasikan dalam dosis 500 mg setiap 4 hingga 6 jam, tetapi sekarang jarang digunakan. Efek samping yang umum termasuk kelelahan, kecemasan, pusing, diare, mual, demam, dan reaksi hipersensitivitas. Efek samping yang jarang terjadi tetapi berpotensi parah meliputi anafilaksis, diare *Clostridium difficile*, dan neutropenia (Widiawati *et al.*, 2022).

### 2.3.2 Mekanisme Kerja Oxacillin

Oxacillin adalah antibiotik  $\beta$ -laktam dari kelompok penisilin yang tahan

terhadap  $\beta$ -laktamase (Widiawati *et al.*, 2022). Mekanisme kerja utamanya adalah:

1. Menghambat Sintesis Dinding Sel Bakteri

- Oxacillin berikatan dengan penicillin-binding proteins (PBPs) yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan, komponen utama dinding sel bakteri.
- Dengan menghambat PBPs, sintesis dinding sel terganggu, menyebabkan kelemahan struktural pada bakteri.

2. Menginduksi Lisis Sel Bakteri

- Akibat dinding sel yang tidak sempurna, tekanan osmotik internal bakteri meningkat, sehingga menyebabkan lisis sel dan kematian bakteri.

3. Resistensi terhadap  $\beta$ -laktamase

- Tidak seperti penisilin biasa (misalnya, penisilin G), oxacillin lebih stabil terhadap enzim  $\beta$ -laktamase yang diproduksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Oleh karena itu, oxacillin efektif terhadap *Staphylococcus aureus* yang tidak resisten terhadap metisilin (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* atau MSSA).

### 2.3.3 Antibakteri

Antibakteri adalah substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain (Hamtni *et al.*, 2017). Antibakteri digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta bahan oleh mikroorganisme (Isnaini Marfiah Eko Nurcahya Dewi, 2017).

Senyawa antibakteri berupa asam lemak, asam lemak jenuh dan tidak jenuh dengan rantai Panjang memiliki aktivitas bakterisida. Selain itu, asam lemak yang memiliki atom karbon lebih dari sepuluh juga diketahui dapat menyebabkan lisis protoplasma pada bakteri yang dapat mengakibatkan kematian bakteri (Wayan *et al.*, 2017). Senyawa bioaktif antibakteri biasanya merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan pada akhir fase pertumbuhan akhir atau pada fase stationer. Senyawa antibakteri dapat berspektrum luas, yaitu mampu menghambat bakteri Gram positif, bakteri Gram negative dan fungi, sedangkan antibakteri berspektrum sempit hanya menghambat pertumbuhan kelompok tertentu saja (Evita *et al.*, 2020).

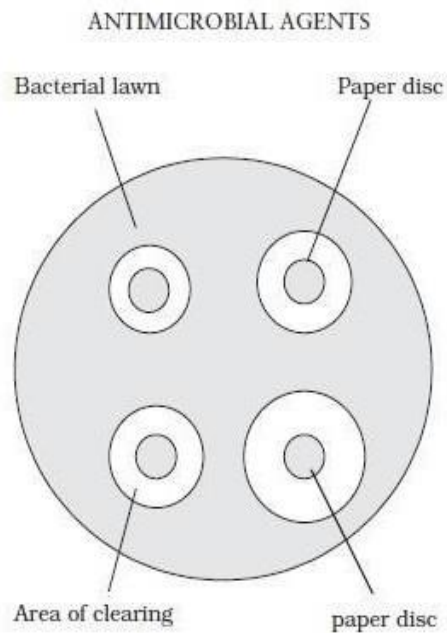
Zat-zat aktif yang berfungsi sebagai antibakteri diantaranya seperti saponin, tannin, minyak atsiri dan flavonoid. Saponin merupakan zat alkaloid yang dapat merusak asam (DNA dan RNA) bakteri. Tannin sebagai antibakteri bekerja dengan menginaktivasi adhesin sehingga bakteri tidak dapat menempel pada sel epitel hospes. Kandungan flavonoid akan mengakibatkan lisis dan menghambat proses pembentukan dinding sel (Suryati *et al.*, 2018).

Mekanisme antibakteri minyak atsiri karena pengikat senyawa fenol dengan sel bakteri, sehingga mengganggu permeabilitas membrane dan proses transportasi. Hal tersebut mengakibatkan hilangnya kation dan makromolekul sel, menyebabkan terganggunya pertumbuhan sel. Atau kematian. Pada konsentrasi rendah, senyawa

fenol akan menyebabkan denaturasi dan pada konsentrasi tinggi akan menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati (Annisa Lorenza, 2021).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa *eco-enzyme* memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen. *Eco-enzyme* yang berasal dari kulit buah nanas mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat, yaitu *S.epidermidis*, *S.aureus* dan *P.acnes* dengan nilai KHM 50% karena mengandung tanin dan saponin. *Eco-enzyme* yang berasal dari limbah buah nanas, pisang, dan papaya dapat digunakan sebagai disinfektan alami pada kendang babi karena memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.epidermidis* dengan perbandingan larutan *eco-enzyme* 1:30 dalam air (Ramadani *et al.*, 2022).

Disinfektan alami juga dapat berasal dari *eco-enzyme* kombinasi limbah organik (kulit rambutan, tongkol jagung dan kulit labu siam) dan bunga kamboja (*Plumeria alba*). *Eco-enzyme* kombinasi limbah dan bunga tersebut memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat terhadap *S.aureus*, dengan zona hambat 31,85 – 34,41mm (Rahayu *et al.*, 2021). Senyawa antimikroba berdifusi secara radial ke dalam media. Zona hambat terbentuk ketika pertumbuhan mikroba uji tidak ada di sekitar kertas cakram. Zona bening yang besar menunjukkan bahwa senyawa antimikroba tersebut memiliki kesensitifan yang baik dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen (Hogg, 2005).



**Gambar 2.7** Pengujian senyawa antimikroba metode difusi cakram (Hogg, 2005)

Metode difusi cakram disebut juga metode Kirby-Bauer merupakan metode yang pertama kali digunakan pada pengujian senyawa antibiotik. Pengujian dengan metode Kirby-Bauer tidak hanya terbatas pada pengujian kesensitifan antibiotik terhadap mikroba patogen, namun dapat digunakan dalam pengujian kesensitifan senyawa antimikroba lainnya. Banyak faktor yang mempengaruhi kesensitifan metode difusi cakram yaitu jumlah inokulum, penyebaran inokulum, masa inkubasi, ketebalan agar media, laju difusi senyawa antimikroba, konsentrasi senyawa antimikroba pada cakram dan laju pertumbuhan dari mikroba (Hogg, 2005).

**Tabel 2.2 Klasifikasi Respon Zona Bening Bakteri**

No	Kategori	Diameter zona bening (mm)
1	Sangat Kuat	$\geq 20$
2	Kuat	10-20
3	Sedang	5-10
4	Lemah	$\leq 5$

(sumber: Davis dan Stout, 1997)

#### A. Metode disc diffusion (tes Kirby & Bauer)

Digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroba. Piringan yang mengandung agen antimikroba ditempatkan pada media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme. Agen antimikroba akan berdifusi ke dalam media agar, dan area yang jernih menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme akibat agen tersebut. Metode ini adalah salah satu yang paling sering digunakan. Namun, hasilnya dipengaruhi oleh berbagai faktor fisika dan kimia, serta faktor antara obat dan organisme, seperti sifat medium, kemampuan difusi, ukuran molekul, dan stabilitas obat. Meskipun demikian, dengan standarisasi faktor-faktor ini, uji kepekaan dapat dilakukan dengan baik. Dalam difusi agar, terdapat tiga metode, yaitu metode silinder, metode perforasi, dan metode cakram kertas (Safitri & Yenita, 2020).

#### B. E-tes Metode

Adalah teknik untuk menentukan MIC (Minimum Inhibitory Concentration) atau kadar hambat minimum (KHM) dari suatu agen antimikroba. MIC merupakan konsentrasi terkecil dari agen tersebut yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Prosesnya menggunakan strip plastik yang telah diberikan berbagai konsentrasi agen antimikroba, mulai dari yang paling rendah hingga paling tinggi. Strip ini kemudian ditempatkan di atas media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme. Hasilnya diamati dengan melihat area bening di sekitar strip, yang menunjukkan konsentrasi agen antimikroba yang efektif menghambat pertumbuhan

mikroorganisme pada media tersebut (Safitri & Yenita, 2020).

#### C. Gradient-plate technique

Adalah metode yang mengatur konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga konsentrasi maksimum. Media agar yang telah dicairkan dicampur dengan larutan uji, lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan dalam posisi miring. Setelah itu, lapisan nutrisi kedua dituangkan di atasnya. Cawan petri tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam agar agen antimikroba dapat berdifusi dan permukaan media mengering. Selanjutnya, mikroba uji (maksimal jenis) digoreskan dengan pola dari konsentrasi tertinggi menuju konsentrasi terendah (Safitri & Yenita, 2020).

#### D. Ditch-plate technique

Merupakan pengujian sampel dengan menggunakan beberapa agen mikroba yang akan diletakkan di parit yang dibuat dari pemotongan media agar cawan petri membujur pada bagian tengah dan digoreskan (maksimal 6 jenis) mikroba uji ke cawan petri yang telah berisi agen mikroba (Safitri & Yenita, 2020).

#### E. Cup-plate technique

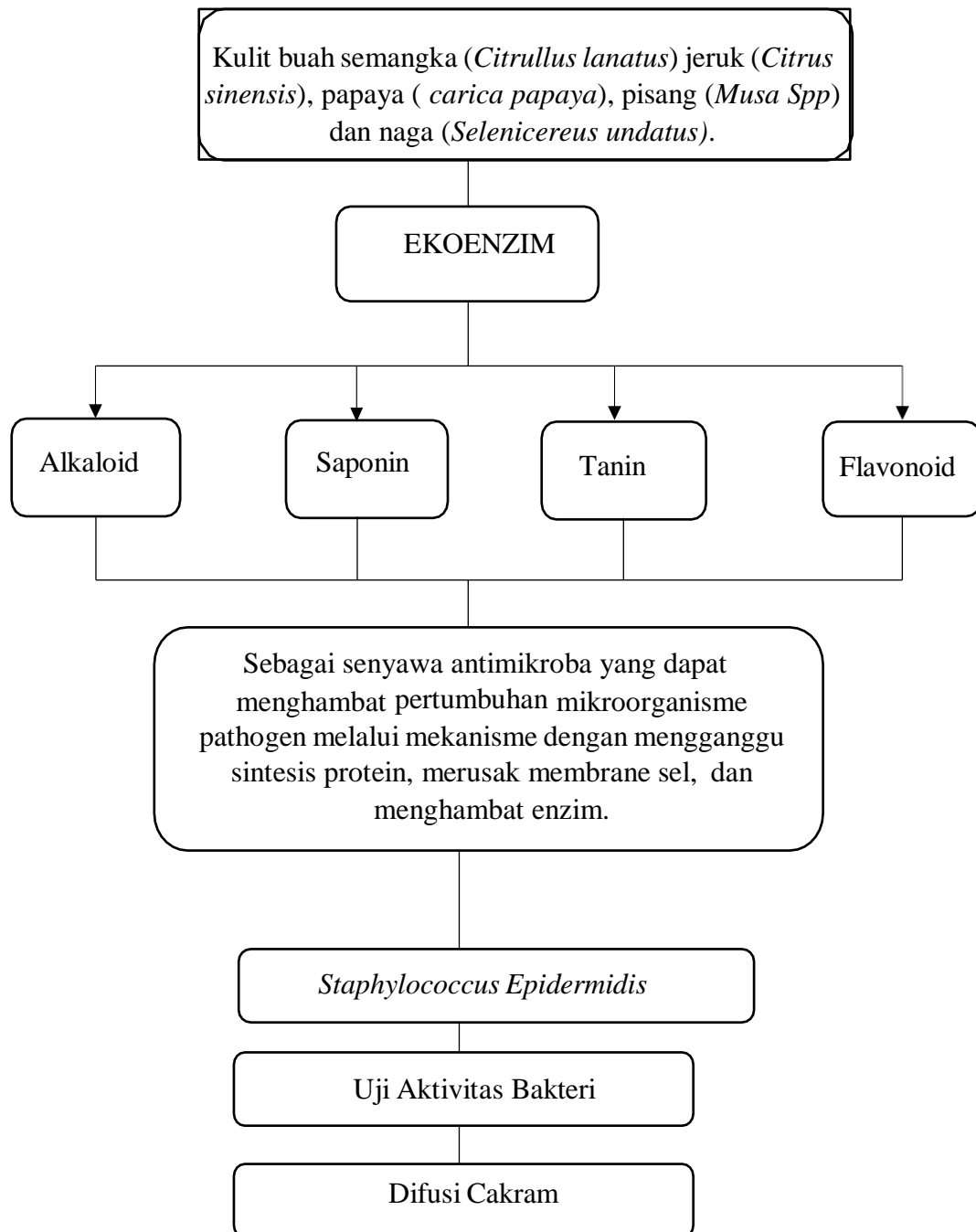
Adalah metode yang mirip dengan teknik disc-diffusion, namun dilakukan dengan membuat sumur pada media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme. Agen antimikroba yang akan diuji kemudian dimasukkan ke dalam sumur tersebut untuk mengevaluasi aktivitasnya (Safitri & Yenita, 2020). Metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu dilusi cair dan padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (kadar hambat minimum) sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (kadar bakterisidal minimum). Keuntungan metode dilusi ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Fitriana et al., 2020).

#### F. Metode dilusi cair (*broth dilution*)

Merupakan metode yang digunakan untuk mengukur MIC (*Minimum*

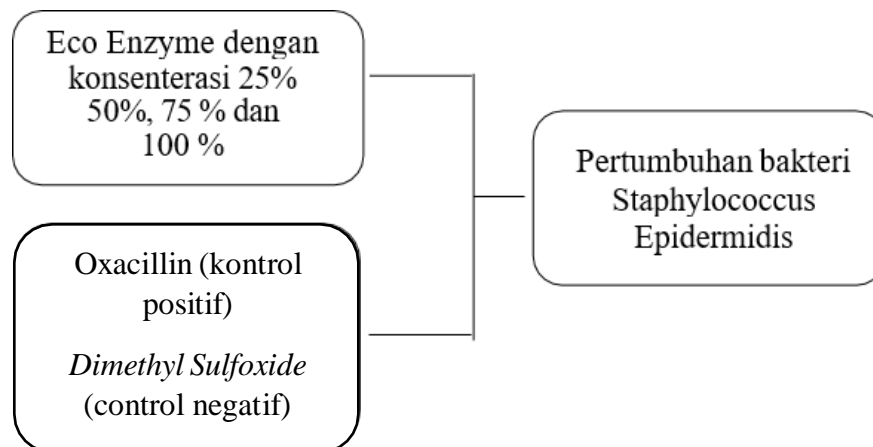
*Inhibitory Concentration*) atau Kadar Hambat Minimum dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau Kadar Bunuh Minimum (KBM). Metode ini dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang diberikan mikroba uji. Media yang jernih akan ditetapkan sebagai KBM (Safitri & Yenita, 2020). Metode dilusi padat (*solid dilution*) merupakan metode yang hampir sama dengan dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode dilusi padat adalah suatu agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Safitri & Yenita, 2020).

## 2.4 Kerangka Teori



**Gambar 2.8** Kerangka Teori

## 2.5 Kerangka Konsep



**Gambar 2.9** Kerangka Konsep

## 2.6 Hipotesis

H0:

1. Tidak didapatkan produk ekoenzim dari campuran limbah kulit buah.
2. Tidak terdapat produk ekoenzim kulit buah mampu menghambat bakteri *S. epidermidis*

H1:

1. Didapatkan produk ekoenzim dari campuran limbah kulit buah.
2. Produk ekoenzim kulit buah mampu menghambat bakteri *S. epidermidis*