

Aktivitas Antibakteri *Eco-Enzyme* Limbah *Citrus sinensis*, *Musa paradisiaca* L. var *Bluggoe*, dan Kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus*

Antibacterial activity of eco-enzyme waste of Citrus sinensis, Musa paradisiaca L. var bluggoe, and their combination against Staphylococcus aureus

Iramie Duma Kencana Irianto, Krestanto Purnomo, Arfiana Amanati, Dhea Savila, Ana Mardiyarningsih*

DIII Farmasi Politeknik Kesehatan Bhakti Setya Indonesia, Yogyakarta

Corresponding author: Ana Mardiyarningsih: Email: mardiyarningsihana@gmail.com

Submitted: 09-11-2022

Revised: 27-12-2023

Accepted: 27-12-2023

ABSTRAK

Pengendalian penularan COVID-19 pada fase transmisi lokal dapat dilakukan dengan penyemprotan cairan disinfektan. *Eco-enzyme* memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah sebagai disinfektan sehingga dapat menangani masalah pengolahan limbah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari *eco-enzyme* limbah *Citrus sinensis*, *Musa paradisiaca* L. var *bluggoe*, dan kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus*. Preparasi *eco-enzyme* dilakukan dengan mencampur limbah, molase dan air pada perbandingan 3:1:10. Fermentasi dilakukan selama 90 hari. Evaluasi berupa organoleptik, nilai pH, skrining fitokimia, dan uji aktivitas antibakteri. *Eco-enzyme* yang dihasilkan berwarna coklat tua beraroma khas menyengat dan lebih asam dibanding bahan segarnya. *Eco-enzyme C.sinensis* mengandung alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin. *Eco-enzyme M.paradisiaca* var. *bluggoe* mengandung tanin, polifenol, flavonoid dan saponin. Ketiga *eco-enzyme* yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Urutan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dari yang lebih kuat adalah (1) *eco-enzyme M.paradisiaca*; (2) *eco-enzyme C.sinensis*; (3) *eco-enzyme* kombinasi *C.sinensis* dan *M.paradisiaca* var. *bluggoe*.

Kata Kunci: antibakteri; *Citrus sinensis*; *eco-enzyme*; *Musa paradisiaca*

ABSTRACT

Control of COVID-19 transmission in the local transmission phase can be done by spraying disinfectant liquid. *Eco-enzyme* has many benefits, one of which is used as a disinfectant so that it can handle waste treatment problems. This study aims to determine the antibacterial activity of *eco-enzyme* from *Citrus sinensis* waste, *Musa paradisiaca* L. var *bluggoe*, and their combination against *Staphylococcus aureus*. Preparation of *eco-enzyme* was done by mixing waste, molasses and water in the ratio of 3:1:10. Fermentation was carried out for 90 days. Evaluation included organoleptic, pH value, phytochemical screening, and antibacterial activity test. *Eco-enzyme* produced was dark brown in colour with a pungent aroma and more acidic than the fresh material. The *C.sinensis* *eco-enzyme* contained alkaloids, polyphenols, flavonoids and saponins. *M.paradisiaca* var. *bluggoe* *eco-enzyme* contains tannins, polyphenols, flavonoids and saponins. All three *eco-enzymes* produced were able to inhibit the growth of *S.aureus* bacteria. The order of antibacterial activity against *S.aureus* from the stronger is (1) *eco-enzyme M.paradisiaca*; (2) *eco-enzyme C.sinensis*; (3) *eco-enzyme* combination of *C.sinensis* and *M.paradisiaca* var. *bluggoe*.

Keywords: antibacterial; *Citrus sinensis*; *eco-enzyme*; *Musa paradisiaca*

PENDAHULUAN

Suatu sindrom pernapasan akut CoV-2, SARS-CoV-2, yang lebih dikenal dengan COVID-19, ditularkan melalui kontak dan semburan *droplets* pernapasan dari pasien (Lotfinejad et al., 2020; Tartari et al., 2019; WHO, 2020). Hasil berbagai tes laboratorium menunjukkan bahwa virus ini mampu bertahan 3 hingga 72 jam pada permukaan benda mati, seperti plastik, *stainless steel*, tembaga, kardus, terutama pada area toilet bangsal isolasi (Subpiramanyam, 2021). Penelitian Liu et al. (Yuan Liu et al., 2020) mengungkapkan bahwa virus COVID-19 terdapat pada area publik yang ramai dan air limbah yang berasal dari bandara dengan persentase positif COVID-19 hingga 77,5% (Subpiramanyam, 2021).

Penularan virus COVID-19 diklasifikasikan menjadi empat fase. Fase I adalah kemunculan orang pertama yang positif COVID-19 dan membawa virus dari satu tempat ke tempat lain. Fase II yaitu terjadinya penularan lokal (transmisi lokal). Pada fase kedua ini virus menular dari pasien terinfeksi (sumber virus) ke orang lain yang memiliki kontak terdekat. Fase III yaitu terjadinya penularan tingkat komunitas. Pada fase ini akan sulit mengidentifikasi sumber virus. Fase IV yakni terjadinya wabah yang meluas sehingga disebut sebagai tahap pandemi dan penyebaran yang tidak terkendali (ICMR, 2020). Disinfektan sering disemprotkan di dalam ruangan selama fase II. Namun beberapa kota menerapkan penyemprotan disinfektan di lingkungan (luar ruangan) pada tingkat komunitas (fase III) dan tahap pandemi (fase IV) (Subpiramanyam, 2021).

Disinfektan yang dapat digunakan antara lain natrium hipoklorit (0,05 – 0,1%), deterjen, etanol (62 – 71%), hidrogen peroksida ($\geq 0,5\%$), benzalkonium klorida (0,05 – 0,2%), klorheksidin diglukonat (0,02%), senyawa fenol dan ammonium (ECDC, 2021). Namun disinfektan tersebut dapat menjadi racun bagi organisme akuatik seperti makroinvertebrata, zooplankton yang merupakan sumber makanan utama biota air. Limbah yang dihasilkan dari penggunaan hidrogen peroksida dan hipoklorit secara luas dapat mencemari lingkungan air (Subpiramanyam, 2021). Penelitian tentang evaluasi paparan inhalasi benzalkonium klorida selama 14 hari menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat menyebabkan iritasi pada rongga hidung dan paru-paru karena kerusakan oksidatif (Choi et al., 2020). Selain itu, penggunaan disinfektan tersebut secara simultan juga dapat menyebabkan resistensi bakteri (Mc Carlie et al., 2020). Jika paparan disinfektan sintetik tersebut tidak digunakan secara bijak maka dapat berdampak buruk pada lingkungan. Oleh karena itu peneliti mencari alternatif disinfektan alami untuk meminimalisir efek samping tersebut.

Eco-enzyme mampu berperan sebagai agen anti-fungi, anti-bakteri, insektisidal dan pembersih rumah tangga (Vama & Cherekar, 2020). *Eco-enzyme* dapat menetralkan polutan dan penghilang bau di atmosfer, badan air atau tanah (Low et al., 2021). Aplikasi lain dari *eco-enzyme* digunakan sebagai pengawet makanan karena mengandung asam propionat yang efektif dalam pencegahan pertumbuhan mikroba. *Eco-enzyme* juga dapat digunakan sebagai pupuk organik alami karena kandungan nitrat dan karbonat. Kandungan tersebut mampu meningkatkan kesuburan tanah karena bertindak sebagai katalisator. Sifat katalisator ini digunakan untuk mempercepat dekomposisi, komposisi dan transformasi bahan organik menjadi zat yang lebih sederhana dan aman (Rasit et al., 2019). Pemanfaatan *eco-enzyme* ini selain bermanfaat juga mudah diperoleh, murah, tidak berbahaya dan alami (Janarthanan et al., 2020).

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.aureus* dan *P.acnes* dengan nilai KHM 50% karena mengandung tanin dan saponin (Ramadani et al., 2022). *Eco-enzyme* yang berasal dari limbah buah nanas, pisang, dan papaya dapat digunakan sebagai disinfektan alami pada kandang babi karena memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dengan perbandingan larutan *eco-enzyme* 1:30 dalam air (Ginting et al., 2021). 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 – 34,41 mm (Rahayu et al., 2021).

Kulit buah jeruk kaya akan manfaat, diantaranya sebagai *corigen odoris*, *corigen saporis*, sumber vitamin C, berkhasiat dalam pengobatan serta memiliki tingkat keasaman yang tinggi. *Eco-enzyme* kulit buah jeruk (lemon, jeruk nipis dan jeruk manis) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas spp.*, *E.coli*, dan *Bacillus spp* (Vama & Cherekar, 2020). Ekstrak etanol kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.aeruginosa*, *K.pneumonia*, *E.coli*, *S.aureus*, dan *S.typhimurium*. Ekstrak ini mengandung saponin, tanin, terpenoid, alkaloid, steroid, dan flavonoid yang merupakan golongan senyawa dengan aktivitas menghambat pertumbuhan dan/atau membunuh bakteri (Mehmood et al., 2015; Purwanto & Irianto, 2022).

Ekstrak hidroetanol kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca*) pada konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (Loyaga-Castillo et al., 2020). Ekstrak eter kulit *M.paradisiaca* mampu menghambat *B.atrophaeus* (zona hambat $18 \pm 0,6$ mm) sedangkan ekstrak airnya menghambat *S.typhimurium* (zona hambat $14 \pm 0,8$ mm) (Butt et al., 2022). Hasil analisis HPLC, ekstrak metanol kulit buah *M.paradisiaca* mengandung fenolik (asam galat, katekol, asam ferulat,



Gambar 1. Preparasi larutan *eco-enzyme*

asam elagat, asam *o*-kumarat, asam salisilat, dan asam sinamat) serta flavonoid (rutin, mirissetin, dan naringenin)(Behiry et al., 2019).

Pemanfaatan limbah kulit buah *Citrus sinensis* dan *Musa paradisiaca* L. var *blugoe* yang difermentasi menjadi *eco-enzyme* merupakan peluang alternatif disinfektan alami dalam pengendalian penularan infeksi COVID-19. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari *eco-enzyme* *Citrus sinensis*, *Musa paradisiaca* serta kombinasi keduanya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian ini akan menjadi bukti ilmiah dari pemanfaatan limbah rumah tangga menuju *zero waste lifestyle*.

METODE

Berisi rancangan penelitian, dilengkapi dengan keterangan mengenai jenis penelitian, lokasi, waktu, populasi, sampel, metode sampling, instrumen, teknik pengumpulan data, analisis, dan Ethical Consideration (apabila penelitian melibatkan manusia sebagai subjek).

Preparasi *eco-enzyme*

Pengumpulan limbah kulit buah pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* L. var *blugoe*) dan kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) dilakukan pada pagi hari di Pasar Giwangan, Yogyakarta. Sortasi basah dilakukan terhadap limbah yang masih segar. Pencucian dilakukan dengan air mengalir dengan sumber PDAM. Perbandingan limbah, molase dan air adalah 3:1:10. Limbah yang digunakan dari *M.paradisiaca* var. *blugoe*, *C.sinensis* dan kombinasi keduanya. Perbandingan limbah kombinasi *M.paradisiaca* var. *blugoe* dan *Citrus sinensis* adalah 1:1. Campuran tersebut selanjutnya disimpan pada tempat yang sejuk, terhindar dari sinar matahari langsung selama 90 hari (Gambar 1). Selama proses fermentasi botol dibuka setiap hari untuk 2 minggu pertama, 3 hari untuk minggu ke- 3, dan satu minggu sekali untuk minggu-minggu berikutnya. Setelah 90 hari larutan *eco-enzyme* dipisahkan dari ampasnya. *Eco-enzyme* yang dihasilkan diamati karakteristik organoleptik dan nilai pH.

Skrining fitokimia *eco-enzyme*

Analisis Alkaloid

Eco-enzyme sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Perubahan yang terjadi selama 30 menit dan hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk jingga/orange.

Analisis Tanin

Eco-enzyme sebanyak 2 mL ditambahkan dengan gelatin 1%. Perubahan yang terjadi adanya endapan berwarna putih.

Analisis Polifenol

Eco-enzyme sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 1 tetes FeCl_3 gojok hingga homogen. Hasil dinyatakan positif jika berwarna hijau biru kehitaman.

Analisis Flavonoid

Eco-enzyme diteteskan pada kertas saring sebanyak 3 tetes. Kemudian kertas saring tersebut diuapkan dengan ammonia. Hasil positif ditunjukkan dengan warna kuning.

Analisis Saponin

Eco-enzyme sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 2 tetes HCl 2N. Kemudian campuran ditambahkan air panas dan gojok kuat-kuat selama 10 detik. Dinyatakan positif jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm tidak kurang dari 10 menit.

Analisis Triterpenoid

Eco-enzyme sebanyak 2 mL ditambahkan 2 tetes larutan CHCl_3 . Selanjutnya campuran ditambahkan 3 tetes pereaksi *Lieberman Burchard*. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna merah ungu yang menunjukkan kandungan senyawa triterpenoid.

Uji aktivitas antibakteri *eco-enzyme*

Uji antibakteri dilakukan terhadap *eco-enzyme C.sinensis*, *M.paradisiaca var. bluggoe* dan kombinasi keduanya. Variasi konsentrasi yang digunakan adalah 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% dalam akuades. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol 30mg dalam 10mL akuades. Kontrol negatif adalah akuades steril. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dalam media *Nutrient Broth* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Metode uji antibakteri yang digunakan adalah difusi cakram dengan media pertumbuhan *Nutrient Agar*. Diameter cakram sebesar 5,34mm. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 18 – 20jam. Aktivitas antibakteri ditunjukkan melalui parameter diameter zona hambat (zona jernih) pada keliling kertas cakram dalam satuan milimeter. Pengambilan data dilakukan sebanyak tiga kali.

Menurut Purba *et al.* (Purba *et al.*, 2022), kekuatan antibakteri dibedakan menjadi empat kategori berdasarkan diameter zona hambat. Aktivitas antibakteri sangat kuat jika diameter zona hambat ≥ 20 mm. Aktivitas antibakteri kuat jika diameter zona hambat diantara 10 mm hingga < 20 mm. Aktivitas antibakteri sedang jika diameter zona hambat antara 5 mm hingga < 10 mm, sedangkan lemah jika diameter zona hambat < 5 mm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik *eco-enzyme*


Eco-enzyme merupakan cairan multifungsi yang diproduksi dari hasil fermentasi limbah organik, molase, dan air. Proses fermentasi tersebut membutuhkan waktu 3 bulan (Rahayu *et al.*, 2021). Komposisi dan *eco-enzyme* yang dihasilkan pada penelitian ini terdapat pada Tabel I. Fermentasi ini menghasilkan alkohol dan asam asetat (Rusdianasari *et al.*, 2021). Kandungan asam asetat tersebut menjadikan *eco-enzyme* sebagai insektisida atau pestisida alami. Sifat asam dari *eco-enzyme* ini dimanfaatkan sebagai pembersih lantai, toilet, dan keperluan rumah tangga lainnya (Rasit *et al.*, 2019; Vama & Cherekar, 2020). Fermentasi dari limbah organik menghasilkan cairan *eco-enzyme* yang mengandung enzim protease, amilase, dan lipase (Galintin *et al.*, 2021; Vama & Cherekar, 2020).

Fermentasi sampah organik ini merupakan jenis dekomposisi anaerobik. Mikroba yang terlibat dalam fermentasi tersebut membantu memecah karbohidrat yang terkandung dalam sampah organik tanpa oksigen menjadi bahan organik yang lebih sederhana, yakni alkohol dan asam asetat (Rasit *et al.*, 2019; Rusdianasari *et al.*, 2021). Hasilnya menjadi kurang berbau dibanding sebelumnya (Rasit *et al.*, 2019). Semakin lama proses tersebut maka pH *eco-enzyme* yang dihasilkan

Tabel I. Komposisi dan hasil *eco-enzyme*

Perlakuan	Penimbangan				Hasil <i>Eco-enzyme</i>
	Limbah <i>C.sinensis</i>	Limbah <i>M.paradisiaca</i> <i>var. bluggoe</i>	Molase	Air	
P1	300 g	-	100 g	1000 mL	850 mL
P2	-	300 g	100 g	1000 mL	850 mL
P3	150 g	150 g	100 g	1000 mL	850 mL

Tabel II. Organoleptik dan pH *eco-enzyme*

Perlakuan	Organoleptik			Nilai pH
	Aroma	Warna	Penampakan	
P1	Khas jeruk menyengat	Coklat tua kehitaman		2
P2	Khas pisang matang	Coklat tua		3
P3	Khas aroma asam menyengat	Coklat tua kehitaman		3

juga akan semakin rendah (Rusdianasari et al., 2021). Penelitian Rahayu *et al.* (Rahayu et al., 2021) membuktikan bahwa cairan *eco-enzyme* mengandung alkohol sebanyak 60-70% dan pH di bawah 4,0. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kandungan etanol namun nilai pH telah sesuai dengan penelitian sebelumnya. Baik *eco-enzyme C.sinensis* dan *M.paradisiaca var. bluggoe* secara tunggal maupun kombinasi memiliki tingkat keasaman yang tinggi (Tabel II). Hasil ini sesuai dengan teori yang ada bahwa hasil fermentasi anaerob dari limbah organik berupa asam asetat. Kandungan asam ini berpengaruh terhadap aroma *eco-enzyme* yang dihasilkan, yakni aroma asam yang menyengat (Tabel II).

Nilai pH *eco-enzyme C.sinensis* lebih rendah dibanding *eco-enzyme M.paradisiaca var. bluggoe* maupun kombinasinya. Keasaman yang rendah dari *eco-enzyme C.sinensis* tentu berhubungan dari kandungan kimia bahan baku kulit buah *C.sinensis* yang bersifat asam. Kandungan yang dimaksud adalah asam fenolat serta asam organik (asam laktat, asam sitrat, asam L-malat, asam kojat dan asam askorbat) (Liew et al., 2018).

Kandungan kimia *eco-enzyme*

Eco-enzyme C.sinensis mengandung alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin (Tabel III). Kandungan tersebut berasal dari bahan baku kulit buah *C.sinensis*. Analisis kuantitatif oleh Liew *et al.* menggunakan *ultra performance liquid chromatography* (UPLC) membuktikan bahwa kulit buah dari *C.sinensis* mengandung enam senyawa flavonoid, diantaranya katekin, epigalokatekin, viteksi, rutin, luteolin dan apigenin (Liew et al., 2018). Selain itu, berdasarkan analisis *high performance liquid chromatography* (HPLC) kulit buah dari *C.sinensis* juga mengandung lima asam fenolat, diantaranya asam galat, asam protokatekuat, asam 4-hidroksibenzoat, asam kafeat dan asam ferulat.

Tabel III. Kandungan kimia *eco-enzyme C.sinensis* dan *M.paradisiaca var. bluggoe*

Golongan senyawa	<i>Eco-enzyme C.sinensis</i>	<i>Eco-enzyme M.paradisiaca var. bluggoe</i>
Alkaloid	+	-
Tanin	-	+
Polifenol	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Triterpenoid	-	-

Keterangan: (+) golongan senyawa teridentifikasi; (-) golongan senyawa tidak teridentifikasi

Penelitian Shetty *et al.* menunjukkan bahwa fraksi air kulit buah *C.sinensis* mengandung alkaloid, tanin, polifenol, flavonoid dan saponin (Shetty *et al.*, 2016).

Tanin tidak lagi terkandung dalam *eco-enzyme* dikarenakan terdegradasi pada proses fermentasi. Walau tanin mampu menghambat pertumbuhan mikroba, beberapa mikroba resisten bahkan mampu mendegradasi tanin menjadi oligomer atau turunan lain, seperti asam galat atau pyrogallol. Enzim yang dapat mendegradasi tanin adalah tanase. Enzim ini dapat berasal dari *Staphylococcus lugdunensis*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Enterobacter sp* (Jiménez *et al.*, 2014). Namun keberadaan enzim tanase maupun mikroba pendegradasi tanin tersebut dalam proses fermentasi *eco-enzyme* perlu dilakukan studi lebih lanjut pada tingkat molekuler.

Eco-enzyme M.paradisiaca var. bluggoe mengandung tanin, polifenol, flavonoid dan saponin (Tabel III). Analisis fitokimia yang dilakukan oleh Uzairu dan Kano menunjukkan bahwa ekstrak air dari kulit buah *M.paradisiaca var. bluggoe* yang telah matang mengandung tanin dan saponin (Uzairu & Kano, 2021). Keberadaan kandungan polifenol dan flavonoid pada *eco-enzyme* yang dihasilkan (Tabel III) karena proses fermentasi pada preparasi *eco-enzyme* dapat menghasilkan senyawa baru. Hal ini juga terjadi pada penelitian terdahulu, yakni fermentasi sayuran segar seperti pakcoy dan sawi mengandung lebih banyak polifenol dan flavonoid dibanding bahan segarnya (Šalić & Šamec, 2022).

Aktivitas antibakteri *eco-enzyme* terhadap *S.aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram berdasarkan kemampuan senyawa aktif dalam berdifusi dari cakram menuju media pertumbuhan bakteri. Kemampuan difusi tersebut dipengaruhi oleh polaritas senyawa aktif dan media pertumbuhan bakteri, serta kemampuan senyawa aktif menghambat pertumbuhan bakteri selama inkubasi berlangsung. Keberhasilan pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan kekeruhan pada media pertumbuhan. Berbeda dengan kemampuan difusi senyawa aktif, ditunjukkan dengan zona jernih di sekitar cakram yang berisi sampel. Kemampuan difusi tersebut selanjutnya diukur dan dinyatakan sebagai diameter zona hambat (mm). Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk maka makin besar aktivitas antibakterinya. Tabel IV memperlihatkan bahwa metode yang digunakan sudah tepat berdasarkan diameter zona hambat kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif yang merupakan pelarut akuades tidak memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan kontrol positif memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kuat terhadap *S.aureus*.

Eco-enzyme ketiga perlakuan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan diameter zona hambat yang semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi yang digunakan (Tabel IV). Aktivitas antibakteri *eco-enzyme C.sinensis* pada konsentrasi 60-80% tergolong lemah dan meningkat mulai konsentrasi 90% menjadi kategori sedang. Aktivitas antibakteri tersebut dapat dikarenakan fitokimia dalam *eco-enzyme C.sinensis*, yakni alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin (Tabel III). Metabolit sekunder tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri melalui beberapa mekanisme. Alkaloid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri karena mampu merubah permeabilitas membran sel bakteri; menghambat metabolisme bakteri; serta menghambat asam nukleat dan sintesis protein bakteri (Yan Liu *et al.*, 2019).

Tabel IV. Aktivitas antibakteri *eco-enzyme* terhadap *S.aureus*

Perlakuan	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)	Kategori antibakteri
Kontrol negatif	100%	0	Tidak memiliki aktivitas
Kontrol positif	30mg/10mL	21,00±0,57	Sangat kuat
P1 (<i>eco-enzyme</i> <i>C.sinensis</i>)	60%	1,06±0,31	Lemah
	70%	1,94±0,62	Lemah
	80%	2,33±0,57	Lemah
	90%	8,51±2,74	Sedang
	100%	6,93±1,63	Sedang
P2 (<i>eco-enzyme</i> <i>M.paradisiaca</i> var. <i>bluggoe</i>)	60%	4,99±2,05	Lemah
	70%	6,76±0,52	Sedang
	80%	9,52±2,91	Sedang
	90%	7,26±0,34	Sedang
	100%	8,42±0,85	Sedang
P3 (<i>eco-enzyme</i> kombinasi)	60%	1,76±0,63	Lemah
	70%	2,09±0,47	Lemah
	80%	2,38±0,49	Lemah
	90%	3,48±0,35	Lemah
	100%	3,82±0,11	Lemah

Keterangan: Pengukuran menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05mm; Hasil zona hambat sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram (5,34mm).

Aktivitas antibakteri dari polifenol karena kemampuannya menurunkan konsentrasi ATP intraseluler bakteri; depolarisasi membran sel bakteri; menurunkan kandungan protein bakteri; serta menyebabkan kebocoran sitoplasma bakteri (Guo et al., 2020). Flavonoid sebagai antibakteri karena mampu menghambat sintesis dan merusak membran sel; menghambat sintesis asam nukleat; menghambat pergerakan bakteri; menghambat jalur transport elektron dan sintesis ATP; menghambat pengeluaran toksin bakteri; menghambat pembentukan biofilm; menghambat enzim yang terlibat pada sifat virulensi bakteri; menghambat *efflux pump*; serta menghambat terbentuknya *quorum sensing* bakteri (Purwanto & Irianto, 2022). Saponin dapat menyebabkan kerusakan parah pada bakteri karena kemampuannya mendegradasi dinding sel yang diikuti oleh gangguan membran sitoplasma dan protein membran. Kemampuan saponin tersebut menyebabkan kebocoran isi sel bakteri sehingga terjadi kematian sel (Dong et al., 2020).

Mekanisme keempat metabolit sekunder yang terkandung dalam *eco-enzyme C.sinensis* (Tabel III) saling melengkapi (efek komplementer) dalam membunuh bakteri. Hal ini juga terjadi pada *eco-enzyme M.paradisiaca* var. *bluggoe* yang mengandung tanin, polifenol, flavonoid, dan saponin (Tabel III). Tanin memiliki aktivitas antibakteri karena kemampuannya untuk mengaktifkan enzim; mengganggu transport protein pada lapisan sel bagian dalam bakteri; serta merusak polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna (Pakadang, 2018). Selain itu, tanin juga menghambat fosforilasi oksidatif sehingga mengganggu metabolisme bakteri yang berguna untuk menghasilkan energi dalam tumbuh kembang bakteri (Sutanti et al., 2020).

Aktivitas antibakteri dari *eco-enzyme M.paradisiaca* var *bluggoe* paling tinggi dibandingkan *eco-enzyme C.sinensis* maupun kombinasi keduanya. Hal ini dibuktikan dari aktivitas antibakteri yang tergolong aktivitas sedang mulai konsentrasi 70% (tabel IV). Jika konsentrasi yang lebih kecil sudah dapat menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar maka berpotensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri lebih lanjut. Aktivitas antibakteri dari zat aktif tidak banyak tergantung dari jenis, tapi juga dari jumlah/konsentrasi zat aktif yang terkandung dalam sampel. Pada penelitian ini tidak dilakukan analisis kuantitatif zat aktif yang terkandung dalam ketiga *eco-enzyme*. Keterbatasan

penelitian ini tentu menjadi peluang penelitian lanjutan sehingga bukti ilmiah dari *eco-enzyme*, khususnya dari limbah *C.sinensis* dan *M.paradisiaca var bluggoe*, semakin banyak dan menyeluruh.

Eco-enzyme kombinasi *C.sinensis* dan *M.paradisiaca var bluggoe* memiliki aktivitas antibakteri paling rendah dibandingkan dengan *eco-enzyme* dalam bentuk tunggalnya. Fenomena ini dapat terjadi mengingat zat aktif merupakan beberapa jenis metabolit sekunder hasil dari fermentasi. Beberapa metabolit sekunder tersebut dapat berinteraksi secara antagonis sehingga aktivitas antibakteri dari kombinasi dua *eco-enzyme* menjadi lebih rendah dibandingkan *eco-enzyme* dalam bentuk tunggalnya.

KESIMPULAN

Ketiga *eco-enzyme* yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Urutan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dari yang lebih kuat adalah (1) *eco-enzyme* *M.paradisiaca*; (2) *eco-enzyme* *C.sinensis*; (3) *eco-enzyme* kombinasi *C.sinensis* dan *M.paradisiaca var. bluggoe*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Politeknik Kesehatan Bhakti Setya Indonesia atas dukungannya dalam penyediaan sarana dan prasarana sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Behiry, S. I., Okla, M. K., Alamri, S. A., El-Hefny, M., Salem, M. Z. M., Alaraidh, I. A., Ali, H. M., Al-Ghtani, S. M., Monroy, J. C., & Salem, A. Z. M. (2019). Antifungal and antibacterial activities of *Musa paradisiaca* L. peel extract: HPLC analysis of phenolic and flavonoid contents. *Processes*, 7, 215.
- Butt, K. Y., Nadeem, N., Ghorri, M. I., Zain, H., & Kanwal, N. (2022). Analysis of *Trigonella foenum-graecum* Seeds, *Musa paradisiaca*, and *Citrus sinensis* peels as a poultry feed supplement. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences*, 20(1), 45–51.
- Choi, H. Y., Lee, Y. H., Lim, C. H., Kim, Y. S., Lee, I. S., Jo, J. M., Lee, H. Y., Cha, H. G., Woo, H. J., & Seo, D. S. (2020). Assessment of respiratory and systemic toxicity of Benzalkonium chloride following a 14-day inhalation study in rats. *Particle and Fibre Toxicology*, 17(1), 1–19.
- Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Hou, Z., & Xue, P. (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*, 149, 112350.
- ECDC. (2021). *Infection prevention and control for COVID-19 in healthcare settings Infection prevention and control and preparedness for COVID-19 in healthcare settings* (6 ed.). European Centre for Disease Prevention and Control.
- Galintin, O., Rasit, N., & Hamzah, S. (2021). Production and characterization of eco enzyme produced from fruit and vegetable wastes and its influence on the aquaculture sludge. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(3), 10205–10214.
- Ginting, N., Hasnudi, H., & Yunilas, Y. (2021). Eco-enzyme Disinfection in Pig Housing as an Effort to Suppress *Esherechia coli* Population. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(3), 283–287.
- Guo, L., Gong, S., Wang, Y., Sun, Q., Duo, K., & Fei, P. (2020). Antibacterial Activity of Olive Oil Polyphenol Extract Against *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*: Possible Mechanisms. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(6), 396–403.
- ICMR. (2020). The Grants Register 2021. *The Grants Register 2021*, 445.
- Janarthanan, M., Mani, K., & Raja, S. R. S. (2020). Purification of Contaminated Water Using Eco Enzyme. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 955(1).
- Jiménez, N., Esteban-Torres, M., Mancheño, J. M., De las Rivas, B., & Muñoz, R. (2014). Tannin degradation by a novel tannase enzyme present in some *Lactobacillus plantarum* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), 2991–2997.
- Liew, S. S., Ho, W. Y., Yeap, S. K., & Bin Sharifudin, S. A. (2018). Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of *Citrus sinensis* peel extracts. *PeerJ*, 2018(8), e5331.
- Liu, Yan, Liu, J., & Zhang, Y. (2019). Research Progress on Chemical Constituents of *Zingiber officinale* Roscoe. *BioMed Research International*, 2019.

- Liu, Yuan, Ning, Z., Chen, Y., Guo, M., Liu, Y., Kumar Gali, N., Sun, L., Duan, Y., Cai, J., Westerdahl, D., Liu, X., Xu, K., Ho, K., Kan, H., Fu, Q., & Lan, K. (2020). Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. *Nature*, 582.
- Lotfinejad, N., Peters, A., & Pittet, D. (2020). Hand hygiene and the novel coronavirus pandemic: the role of healthcare workers. *Journal of Hospital Infection*, 105(4), 776–777.
- Low, C. W., Ling, R. L. Z., & Teo, S.-S. (2021). Effective microorganisms in producing eco-enzyme from food waste for wastewater treatment. *Applied Microbiology: Theory & Technology*, 2(1), 28–36.
- Loyaga-Castillo, M., Calla-Poma, R. D., Calla-Poma, R., Requena-Mendizabal, M. F., & Millones-Gómez, P. A. (2020). Antifungal activity of peruvian banana peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Candida albicans*: an in vitro study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 21(5), 509–514.
- Mc Carlie, S., Boucher, C. E., & Bragg, R. R. (2020). Molecular basis of bacterial disinfectant resistance. *Drug Resistance Updates*, 48(October 2019), 100672.
- Mehmood, B., Dar, K. K., Ali, S., Awan, U. A., Nayyer, A. Q., Ghous, T., & Andleeb, S. (2015). In vitro assessment of antioxidant, antibacterial and phytochemical analysis of peel of *Citrus sinensis*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(1), 231–239.
- Pakadang, S. R. (2018). Potential of Miana Leaves (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth) As an Antibacterial *Streptococcus Pneumonia*, *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Klebsiella Pneumonia* from Sputum Cough Patients in Makassar City. *Proceeding 1st International Conference Health Polytechnic of Kupang*, 122-131. Retrieved from <http://proceeding.poltekakupang.ac.id/index.php/ichpk/article/view/45,1,122-131>.
- Purba, P. Y., Yoswaty, D., & Nursyirwani. (2022). Antibacterial Activity of *Avicennia alba* Leaves and Stem Extracts Against Pathogenic Bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas salmonicida*, *Staphylococcus aureus*). *Journal of Coastal and Ocean Sciences*, 3(2), 144–151.
- Purwanto, & Irianto, I. D. K. (2022). *Senyawa Alam sebagai Antibakteri dan Mekanisme Aksinya*. Gadjah Mada University Press.
- Rahayu, M. R., Muliarta, I. N., & Situmeang, Y. P. (2021). Acceleration of Production Natural Disinfectants from the Combination of Eco-Enzyme Domestic Organic Waste and Frangipani Flowers (*Plumeria alba*). *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, 5(1), 15–21.
- Ramadani, A. H., Karima, R., & Ningrum, R. S. (2022). Antibacterial Activity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Eco-enzyme Against Acne Bacterias (*Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes*). *Indo. J. Chem. Res.*, 9(3), 201–207.
- Rasit, N., Fern, L. H., & Ghani, A. W. A. K. (2019). Production and characterization of eco enzyme produced from tomato and orange wastes and its influence on the aquaculture sludge. *International Journal of Civil Engineering and Technology*, 10(3), 967–980.
- Rusdianasari, R., Syakdani, A., Zaman, M., Zaman, M., Sari, F. F., Nasyta, N. P., & Amalia, R. (2021). Utilization of Eco-Enzymes from Fruit Skin Waste as Hand Sanitizer. *AJARCDE | Asian Journal of Applied Research for Community Development and Empowerment*, 5(3), 1–5.
- Šalić, A., & Šamec, D. (2022). Changes in the content of glucosinolates, polyphenols and carotenoids during lactic-acid fermentation of cruciferous vegetables: a mini review. *Food Chemistry: X*, 16(September), 100457.
- Shetty, S. B., Mahin-Syed-Ismail, P., Varghese, S., Thomas-George, B., Thajuraj, P. K., Haleem, S., Sreedhar, S., & Devang-Divakar, D. (2016). Antimicrobial effects of *Citrus sinensis* peel extracts against dental caries bacteria: an in vitro study. *Journal section: Community and Preventive Dentistry*, 8(1), e70–e77.
- Subpiramanyam, S. (2021). Outdoor disinfectant sprays for the prevention of COVID-19: Are they safe for the environment? *Science of the Total Environment*, 759, 144289.
- Sutanti, V., Fuadiyah, D., Hidayat, L. H., Agnizarridlo, T., & Anggiarta, K. S. (2020). Analysis of the effect of extracted yellow kepok banana peels (*Musa paradisiaca* l.) on the size and morphology of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Physics: Conference Series*, 1665(1), 1–6.
- Tartari, E., Fankhauser, C., Masson-Roy, S., Márquez-Villarreal, H., Moreno, I. F., Navas, M. L. R., Sarabia, O., Bellissimo-Rodrigues, F., Mezerville, M. H. De, Lee, Y. F., Aelami, M. H., Mehtar, S., Agostinho, A., Camilleri, L., Allegranzi, B., Pires, D., & Pittet, D. (2019). Train-the-Trainers in hand hygiene: A standardized approach to guide education in infection prevention and control. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8, 206.

- Uzairu, S. M., & Kano, M. A. (2021). Assessment of phytochemical and mineral composition of unripe and ripe plantain (*Musa paradisiaca*) peels. *African Journal of Food Science*, 15(3), 107–112.
- Vama, L., & Cherekar, M. N. (2020). Production, extraciton and uses of eco enzyme using citrus fruit waste: Wealth from waste. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc*, 22(2), 346–351.
- WHO. (2020). *Modes of transmission of virus causing COVID-19: Implications for IPC precaution recommendations*. World Health Organization.