

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eco-Enzyme

Eco-enzyme adalah produk yang dihasilkan dari fermentasi limbah rumahan organik seperti ampas buah, kulit buah, dan sayuran dengan cara menggilingnya menggunakan proses fermentasi. Ditandai dengan aroma dan rasa coklat yang kuat, khususnya fermentasi yaitu memiliki aroma asam manis yang menyengat. Rosukon Poompanvong, presiden pendiri Asosiasi Pertanian Organik Thailand, pertama kali memperkenalkan *Eco-enzyme* kepada publik (Arun dan Sivashanmugam, 2015)

Produk yang dikembangkan oleh Dr. Rosukon ini menggunakan limbah organik padat dengan cara menambahkan gula (gula merah, molase, gula aren, gula kelapa, gula pohan, gula lontar), dan air. Limbah organik padat juga dapat berupa sisa sayur atau sisa buah (Nazim, 2013). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Tang dan Tong pada tahun 2013, proses fermentasi untuk menghasilkan *eco-enzyme* membutuhkan waktu yang ideal selama tiga sampai empat bulan.

Menurut data, *Eco-enzyme* mengontrol reaksi biokimia di udara untuk menghasilkan enzim yang berguna dengan menggunakan sampah buah atau sayuran. Enzim yang dihasilkan dari fermentasi ini merupakan satu-satunya metode pengelolaan limbah yang memanfaatkan sisa-sisa sampah dapur untuk menghasilkan sesuatu yang sangat berguna. *Eco-enzyme* dapat digunakan untuk berbagai macam keperluan, termasuk yang berhubungan

dengan gaya hidup sehat, pertanian, peternakan, dan bahkan di rumah-rumah seperti sebagai cairan pembersih lantai, sabun cuci piring, kamar mandi, wc, dan sebagainya yang berkaitan dengan pekerjaan rumah tangga.

Selain itu pemanfaatan dari bahan organik sebagai bahan pembuatan *eco-enzyme* memberikan dampak yang baik untuk lingkungan. Selain itu kandungan dari *eco-enzyme* sendiri adalah asam asetat (H_3COOH), merupakan satu-satunya komponen *eco-enzyme* yang memiliki kemampuan untuk menetralkan bakteri, virus dan jamur. Namun, sebenarnya kandungan enzim yang sebenarnya meliputi Lipase, Tripsin, Amilase, dan Mampu membunuh/mencegah bakteri Patogen. Selain itu, NO_3 (Nitrat) dan CO_3 (Karbon trioksida) yang merupakan nutrisi yang dibutuhkan oleh tanah juga ditemukan. Menurut teori ekonomi, pembuatan enzim dapat mengurangi permintaan untuk membeli cairan pembersih lantai, pembersih sayuran atau buah atau bahkan pembasmi serangga (Indah Sari *et al.*, 2021).

Dengan demikian melihat dari banyaknya manfaat dan variable bahan dari *eco-enzyme*, penulis tertarik melakukan peneliti terkait dengan perbedaan jenis bahan pada pembuatan *eco-enzyme* seperti kulit lemon, kulit nanas dan sayuran kangkung terhadap daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Limbah yang dipakai bukan kulit buah yang busuk karena hanya sisa-sisa sayuran dan kulit buah yang layak yang dapat berdiferensiasi menjadi *eco-enzyme* (Nururrahmani *et al.*, 2021).

2.2 Kulit Lemon (*Citrus Limon* (L.))



Gambar 1. Kulit Lemon

(Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023))

1. Klasifikasi lemon

Klasifikasi tanaman lemon menurut Nurlaely (2016), dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Spermatophyta

Ordo: Sapindales

Family: Rutaceae

Genus: Citrus

Spesies: *Citrus limon* (L.) *Burm. fil*

2. Kandungan kulit lemon

Kulit lemon memiliki banyak kandungan didalamnya yang dapat dimanfaatkan oleh kesehatan. Meskipun biasanya kulit lemon tidak dikonsumsi secara langsung, tetapi berbagai komponen di dalamnya dapat diekstraksi atau digunakan dalam pembuatan *eco-enzyme*. Kulit

lemon mengandung beberapa senyawa didalamnya seperti flavonoid, serat, minyak terpenin, vitamin C, tannin, dan asam sitrat (Bashir *et al.*, 2020). Kulit lemon juga kaya kandungan senyawa sebagai antibakteri, sehingga kulit lemon dapat menghambat pertumbuhan pada mikroba.

3. Manfaat kulit lemon

Buah lemon memiliki manfaat sebagai berikut: meningkatkan fungsi sistem saraf pusat; meningkatkan pH darah; menghilangkan kolesterol dan meningkatkan kadar gula darah; mengurangi risiko stres dan kanker; dan meningkatkan tingkat kekebalan dalam darah. Selain itu kulit lemon dapat dimanfaatkan untuk kesehatan dan kecantikan. Kulit lemon mengandung senyawa flavonoid yang memiliki sifat antioksidan. Antioksidan membantu melawan radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan memicu berbagai penyakit, termasuk penyakit jantung, kanker, dan penuaan dini.

Ekstrak kulit lemon dapat digunakan dalam produk perawatan kulit untuk mengatasi berbagai masalah kulit. Kandungan vitamin C dan antioksidan dalam kulit lemon membantu mencerahkan kulit, mengurangi noda dan bintik hitam, serta merangsang produksi kolagen untuk mengurangi tanda-tanda penuaan. Serat yang terkandung dalam kulit lemon dapat membantu meningkatkan pencernaan dan mencegah sembelit. Serat juga dapat membantu mengurangi risiko penyakit pencernaan, seperti kanker usus.

Flavonoid dalam kulit lemon telah dikaitkan dengan penurunan risiko penyakit jantung. Senyawa ini dapat membantu meningkatkan kesehatan pembuluh darah, mengurangi peradangan, dan menurunkan tekanan darah. Kandungan vitamin C dalam kulit lemon dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Vitamin C dikenal memiliki efek imunomodulator dan membantu melawan infeksi, seperti flu dan pilek. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa dalam kulit lemon dapat memiliki sifat antikanker. Flavonoid dalam kulit lemon telah diteliti untuk melawan pertumbuhan sel kanker dan menghambat perkembangan tumor.

2.3 Kulit Nanas (*Ananas comosus*)

1. Klasifikasi Buah Nanas



Gambar 2. Kulit Nanas

(Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023))

Klasifikasi buah nanas menurut Collins, 1968 Surtiningsih (2008), dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Liliopsida

Ordo: Poales

Famili: Bromeliaceae

Genus: *Ananas*

Spesies: *Ananas comosus*

Kulit nanas memiliki tekstur kasar dan berbentuk seperti sisik. Permukaannya tidak rata dengan pola serat-serat kasar yang membentuk sisik-sisik yang teratur. Kulit nanas umumnya memiliki warna hijau atau kuning tergantung pada tingkat kematangan. Ketika nanas masih muda, kulitnya berwarna hijau, dan ketika matang, warnanya akan berubah menjadi kuning atau oranye. Beberapa varietas nanas juga dapat memiliki warna kulit yang lebih merah.

Kulit nanas tergolong tebal, yang membantu melindungi daging buahnya dari kerusakan mekanis dan infeksi. Pada permukaan kulit nanas, terdapat tonjolan-tonjolan yang disebut mata nanas atau "eyes". Mata nanas ini merupakan bagian dari struktur kelopak bunga nanas yang menyusun buah tersebut. Ukuran kulit nanas bervariasi tergantung pada jenis dan varietasnya. Namun, secara umum, kulit nanas cukup tebal dan melindungi buah di dalamnya. Kulit nanas dilapisi dengan lapisan lilin tipis yang disebut kutikula. Lapisan ini memberikan kilau pada kulit nanas dan membantu mengurangi kehilangan air. Permukaan kulit nanas

cukup padat dengan tonjolan-tonjolan yang rapat. Ini memberikan perlindungan ekstra dan membantu menjaga kelembapan buah.

2. Kandungan Kulit Nanas

Ampas kulit nanas merupakan bahan organik yang terdiri dari lignin, selulosa, dan hemiselulosa dengan kadar serat yang cukup tinggi. Kandungan asam yang relatif tinggi pada limbah nanas membuat aktivitas mikroba menjadi lebih sulit. Limbah nanas mengandung 6,41 persen karbohidrat, 0,6% protein mentah, dan 0,6% mineral yang berpotensi untuk digunakan sebagai substrat fermentasi (Asmiarti, 2019).

3. Manfaat Kulit Nanas

Enzim proteolitik yang dikenal sebagai bromelain ditemukan dalam kulit nanas. Enzim ini memiliki sifat anti-inflamasi dan dapat membantu pencernaan protein. Kulit nanas kaya akan serat, yang membantu meningkatkan pencernaan dan meningkatkan kesehatan saluran pencernaan. Vitamin C adalah komponen penting dari kulit nanas karena mendukung produksi kolagen dan anti-oksidan alami tubuh. Flavonoid memiliki sifat anti-oksidan dan anti-inflamasi yang dapat bermanfaat untuk menjaga kesehatan tubuh. Asam galat, asam kafeat, dan asam ferulat hanyalah beberapa contoh dari senyawa fenolik yang ditemukan dalam kulit nanas.

2.4 Kangkung

1. Klasifikasi Kangkung



Gambar 3. Kangkung

(Sumber: Dokumentasi Pribadi (2023))

Klasifikasi tanaman kangkung menurut Rukmana (2006), dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Liliopsida

Order: Alismatales

Family: Araceae

Genus: *Ipomoea*

Species: *Ipomoea aquatica*

2. Kandungan Kangkung

Kangkung mengandung fitokimia seperti flavonoid, karotenoid, dan polifenol. Fitokimia memiliki sifat antiinflamasi, antivirus, dan

antimikroba yang dapat membantu dalam menjaga kesehatan tubuh dan melawan penyakit. Kangkung mengandung berbagai vitamin dan mineral penting, termasuk vitamin A, vitamin C, vitamin K, vitamin E, vitamin B, kalsium, zat besi, kalium, magnesium, dan fosfor. Vitamin dan mineral tersebut penting untuk menjaga kesehatan tulang, sistem kekebalan tubuh, fungsi saraf, dan proses metabolik (Sharfina dan Fevria, 2022).

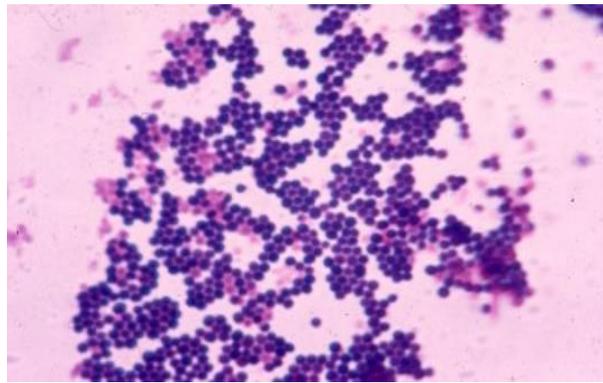
3. Manfaat Kangkung

Kangkung mengandung enzim-enzim yang dapat berkontribusi dalam proses fermentasi *eco-enzyme*. Enzim-enzim ini membantu dalam pemecahan bahan-bahan organik menjadi nutrisi yang lebih mudah diserap oleh tanaman. *Eco-enzyme* yang mengandung kangkung dapat membantu dalam pengendalian hama dan penyakit pada tanaman. Kandungan nutrisi yang baik dalam *eco-enzyme* dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan hama dan penyakit. Selain itu, penggunaan *eco-enzyme* secara teratur juga dapat membantu mempertahankan keseimbangan ekosistem tanah, yang dapat mengurangi risiko serangan hama dan penyakit.

Satu-satunya tanaman yang diketahui memiliki kandungan nutrisi yang bermanfaat bagi kesehatan adalah kangkung. Menurut penelitian, komponen utama kangkung meliputi kalsium, mangan, dan zat besi, yang dapat memenuhi kebutuhan semua jenis kelompok di dunia. Selain itu, kangkung juga mengandung magnesium yang dapat mengurangi gejala-gejala penuaan pada manusia, baik itu wanita yang sedang mengalami menopause maupun anak-anak. Selain itu, kangkung juga mengandung

serat, protein, dan kalium. Berdasarkan komponen nutrisi tersebut, kangkung dapat digunakan untuk mengobati anemia, meningkatkan kesehatan kulit dan rambut, meningkatkan kualitas otak, menyelidiki kesehatan jantung, menurunkan tekanan darah, kesehatan mendariawan, dan melindungi jantung (Suryaningsih et al., 2018).

2.5 Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 4. *Staphylococcus aureus*

(Sumber: Aryadi (2014))

Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Aryadi (2014), dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Domain: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Class: Bacilli

Order: Bacillales

Family: Staphylococcaceae

Genus: *Staphylococcus*

Species: *Staphylococcus aureus*

1. Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus* menghasilkan bahan ekstra-sonik dan polisakarida antigenetik. Bakteri *Staphylococcus* memiliki antigen yang mengandung peptida yang diperlukan untuk terjadinya proses fagositosis. Polisakarida tipe A, yang ditemukan pada bakteri, adalah polisakarida yang dapat tumbuh di dalam trikloroester serta menyusun dinding sel.

Peptidoglikan dapat dilepaskan oleh lisozim atau asam kuat. Peptidoglikan dan asam teikoat, yang berguna untuk menghubungkan peptidoglikan dengan antigen, yang menyebabkan dinding sel bakteri ini hancur. Bakteri *Staphylococcus* dapat menyebabkan penyakit karena bahan ekstraseluler seperti enzim dan toksin yang mereka hasilkan serta kemampuan untuk menyebarkan ke seluruh lingkungan (Husna, 2018)

Ada banyak jenis bakteri terkait *Staphylococcus* yang sama beragamnya. Setiap spesies *Staphylococcus* berbeda satu sama lain berdasarkan faktor virulensi yang unik dan plasmid yang mengkodekan protein untuk resistensi antibakteri.

Bakteri *Staphylococcus Aureus* adalah anggota kelompok bakteri gram positif yang diklasifikasikan sebagai patogen dan dapat menyebabkan infeksi. *Staphylococcus Aureus* merupakan jenis bakteri yang paling invasif karena memiliki enzim koagulase, yang dapat

mendegradasi bahan ekstraseluler. Dibandingkan dengan jenis bakteri lainnya, bakteri *Staphylococcus Aureus* sering memproduksi hemoglobin, toksin ekstraseluler, enzim, dan komponen seluler lainnya. Ciri-ciri dari bakteri ini adalah panjangnya 1 mm, nonmotil, piogenik (menginfeksi dengan peradangan lokal), nonmotil, hidup dalam keadaan kolonoid, dan tidak menghasilkan spora. Bakteri ini memiliki kemampuan merusak secara lokal, sehingga dapat menyebabkan kerusakan lokal (piogenik) pada sejumlah jaringan tubulus, termasuk kulit, tulang, dan katup jantung (Husna, 2018). *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan anaerob, yang berarti dapat hidup dalam kondisi dengan sedikit oksigen dan katalase (Roikhaitul , 2022).

2.6 Media

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk merawat bakteri yang dibuat dari campuran zat-zat hara. Media tersedia dalam berbagai bentuk yang dapat digunakan untuk transportasi sampel dari satu lokasi ke lokasi lain atau untuk mengisolasi, perbanyak, mengidentifikasi jenis dan jumlah mikroorganisme, dan menuliskan istilah dan definisi ilmiah yang relevan. Mikroorganisme memanfaatkan sumber makanan molekuler yang kecil dan tersedia sebagai sarana untuk melarutkan komponen sel. Dalam penelitian mikrobiologi, medium merupakan faktor penting untuk memastikan bahwa mikroba dapat hidup secara normal dan memahami bahwa mikroba yang sedang diteliti adalah mikroba yang sebenarnya yang telah diamati atau sedang diantisipasi.

Upaya pembiakan mikroorganisme memerlukan kondisi lingkungan yang sesuai agar bakteri dapat berkembang dengan baik. Dalam pertumbuhannya, mikroorganisme memerlukan bahan-bahan organik dan ion-ion pendukung sebagai sumber energi dan katalis (Morse & Meitzner, 2010). Faktor-faktor yang penting bagi proses pembiakan mikroorganisme yaitu nutrisi, oksigen dan gas lain, kelembaban, pH media, suhu, serta kontaminan. Media yang baik untuk pembiakan mikroorganisme harus mengandung unsur-unsur seperti karbon, nitrogen, fosfat inorganic, sulfur, logam, air, dan mineral (Zimbro *et al*, 2009).

1. *Nutrient agar*

Senyawa media yang dikenal sebagai Media *Nutrient Agar* (NA) adalah media yang mengandung nutrisi tingkat tinggi yang terdiri dari ekstrak daging, ekstrak ragi atau tumbuh-tumbuhan, atau protein yang terutama berasal dari sumber hewani. Zat-zat lain yang harus dibutuhkan bakteri untuk tumbuh dan berkembang. Media ini dapat digunakan untuk budidaya bakteri. Media NA adalah media dengan nutrisi minimum dan protein yang sangat terkonsentrasi. Praktik kolonisasi media hal ini mengindikasikan bakteri yang tidak berbahaya dan tidak dibutuhkan. NA sering digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri (Departemen Mikrobiologi Klinik, 2015).

2. *Brain Heart Infusion* (BHI)

Sebagai media nutrisi, medium BHI digunakan untuk menginkubasi dan merawat berbagai mikroorganisme, termasuk bakteri seperti aerob dan anaerob. Namun, media BHI paling sering digunakan untuk

mengobati bakteri seperti anaerob, sebagaimana dibuktikan oleh fakta bahwa medium digunakan untuk mentransfer jaringan otak ke larutan dekstrosa yang menunjukkan bahwa formula ini efektif sebagai media untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Kurniasih *et al.*, 2021).

3. *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media terbaik adalah MHA untuk mengukur sensitivitas bakteri dengan menggunakan metode *Kirby-Bauer* pada bakteri yang tidak sensitif, baik bakteri aerob maupun aerob fakultatif. Pada tahun 1941, Mueller dan Hinton menciptakan media ini, yang pada awalnya digunakan untuk mendiagnosis bakteri *Neisseria* sp. Ekstrak daging sapi (2 gram), hidrolisat asam kasein (17,5 gram), pati (1 gram), agar (17 gram), dan aquadest (1 liter) merupakan komposisi media *Mueller Hinton Agar* (Atmojo, 2019). Untuk menguji sensitivitas bakteri, MHA digunakan karena:

1. Semua bakteri dapat tumbuh karena media ini bukan merupakan media selektif dan media differensial.
2. Mengandung starch (tepung padi) yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan bakteri, sehingga tidak mengganggu antibiotik.
3. Rendah sulfonamide, trimethoprin dan tetracycline inhibitors.
4. Mendukung pertumbuhan bakteri non-fastidious yang patogen.
5. Banyak data penelitian yang telah dikumpulkan tentang uji sensitivitas menggunakan media ini (Atmojo, 2019).

2.7 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses yang dilakukan untuk tujuan membunuh atau menghilangkan mikroorganisme yang tidak diinginkan pada suatu objek atau specimen (Lase, 2019).

1. Autoklaf

Pensterilan dengan uap yang bertekanan menggunakan autoklaf. Proses sterilisasi dilakukan diakhir setelah membuat media. Kapas steril, aquadest 100 ml, gelas ukur, cawan petri yang berisikan media MHA, tabung reaksi yang berisi media BHI dan NA yang sudah dilapisi atau dibungkus dengan aluminium foil diletakan diatas angsang, sedangkan jarum ose disterilkan dengan alkohol 70% atau disekfektan dan dipanaskan diatas api bunsen sebentar sebelum digunakan memindahkan bakteri. Kemudian masukkan alat tersebut kedalam autoklaf, dalam autoklaf ini uap berada dalam keadaan jenuh dan peningkatan tekanan suhu didalamnya. Suhu dapat meningkat lebih dari 121⁰C, bila suhu dibiarkan terus meningkat maka uap yang dihasilkan lebih banyak dan memengaruhi proses sterilisasi. Maka sebab itu udara didalam autoklaf harus dikeluarkan sampai suhu menjadi 121⁰C dengan suhu tersebut semua mikroorganisme dapat dimusnakan dalam waktu 15- 20 menit.

Penurunan tekanan pada autoklaf berfungsi untuk meningkatkan temperatur dalam autoklaf sehingga mikroorganisme akan terbunuh. Autoklaf ditujukan untuk sterilisasi alat yang mengandung endospora, yaitu sel resisten yang diproduksi oleh bakteri yang tahan terhadap

pemanasan, kekeringan, dan antibiotik. Autoklaf yang sederhana menggunakan sumber uap dari pemanasan air yang ditambahkan ke dalam autoklaf. Pemanasan air dapat dilakukan menggunakan kompor atau api bunsen.

2.8 Metode Pengujian Bakteri Difusi Sumuran (CUP)

Metode difusi sumuran untuk menggambarkan aktivitas agen mikroba. Difusi sumuran merupakan metode dengan membuat lubang pada media agar padat atau MHA yang akan diinokulasi dengan bakteri. Selanjutnya setiap lubang diisi dengan sampel antibakteri. Langkah terakhir dari investigasi ini adalah mencari zona hama di sekitar daerah lubang yang mengindikasikan adanya agen mikroba di dalam media (Kurniasih *et al.*, 2021).

2.9 Kategori Zona Hambat

Di sekitar media pertumbuhan bakteri uji yang tidak mengandung bakteri atau terbentuknya lingkaran zona bening adalah zona yang dikenal sebagai zona hambat. Lebar diameter zona yang terdapat pada media diukur menggunakan jangka sorong.

Tabel 2. Kategori Zona Hambat

Diameter	Kekuatan Hambat
≤ 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat Kuat

Sumber Davis Dan Stout 1971

2.10 Hipotesis

1. Perbedaan jenis bahan organik pada *Eco-enzyme* dapat menghambat bakteri *staphylococcus aureus*
2. Semakin banyak jenis campuran bahan organik pada pembuatan *Eco-enzyme* dapat meningkatkan daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*