

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Eco-Enzyme*

Eco-enzyme merupakan cairan yang terbentuk dari hasil fermentasi bahan organik, gula, dan air yang mengandung senyawa organik kompleks. Penggunaannya bertujuan untuk meminimalkan ketergantungan terhadap bahan kimia sintetis serta mendukung upaya perlindungan lingkungan yang berkelanjutan dalam konteks penerapan kimia hijau (*Green Chemistry*). Fermentasi merupakan suatu proses yang terjadi tanpa kehadiran oksigen (secara anaerob) yang tanpa melibatkan aktivitas enzim membran dalam rantai transfer elektron, dan dapat menghasilkan fermentasi asam laktat, alkohol, maupun asam cuka (Fifendy, 2017).

Konsep *eco-enzyme* pertama kali dikenalkan oleh Dr. Rosukan Poompanvong, seorang ilmuwan berkebangsaan Thailand yang aktif dalam melakukan riset mengenai *enzyme*. Dr. Joean Oon, seorang peneliti Naturopathy dari Penang, Malaysia, turut berperan dalam memperkenalkan konsep ini ke masyarakat secara lebih luas. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Dr. Rosukan Poompanvong, *eco-enzyme* memiliki kemampuan untuk menekan aktivitas mikroorganisme merugikan, terutama bakteri patogen. Selain itu, *eco-enzyme* juga memberikan nutrisi yang bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman secara optimal. Hal ini disebabkan oleh kandungannya yang berupa senyawa organik hasil sintesis alami dari protein tumbuhan, mineral, dan hormon juvenil. Proses fermentasi *eco-enzyme* menghasilkan ekosistem yang stabil meskipun kompleks (Mugitsah, 2021).

Eco-enzyme memberikan beragam manfaat yang dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang kehidupan, yaitu sebagai cairan pembersih lantai karena dapat membunuh kuman dan bakteri di lantai dengan mencampurkan 5 ml cairan *eco-enzyme* ke dalam ember yang telah diisi setengah air; sebagai pupuk yang dapat menyuburkan tanaman dengan mencampurkan 20 ml cairan *eco-enzyme* ke dalam satu liter air; sebagai pembersih buah dan sayur karena cairan ini mampu menghilangkan residu pestisida, parasit, serta bahan kimia berbahaya dengan mencampurkan dua tutup botol *eco-enzyme* ke dalam satu liter air; untuk menjernihkan air dengan mencampurkan 50-100 ml *eco-enzyme* dapat ditambahkan ke dalam bak mandi; dalam konteks kesehatan mulut, *eco-enzyme* berfungsi sebagai obat kumur yang membantu membersihkan plak pada gigi, memperkuat gigi, dan menetralkan zat berbahaya di dalam mulut dengan mencampurkan satu tutup botol cairan *eco-enzyme* ke dalam gelas air kumur; *eco-enzyme* bisa dijadikan alternatif bagi individu yang memiliki alergi terhadap sabun berbahan kimia, sekaligus mengurangi penggunaan produk sintetis; *eco-enzyme* juga berpotensi sebagai agen sterilisasi alami dan pemurnian kandungan udara dengan mencampurkan *eco-enzyme* dan air dengan perbandingan 1:1000, seperti 1 liter air dicampur dengan 1 ml cairan *eco-enzyme* (Rizqi *et al.*, 2021).

Eco-enzyme adalah larutan yang diperoleh dari proses fermentasi yang dibuat dari campuran air, gula, serta limbah organik seperti sisa sayuran dan kulit buah, dengan perbandingan komposisi 10:1:3, yang berarti, untuk setiap 10 liter atau mililiter air digunakan 1 kilogram atau gram gula dan 3 kilogram atau gram limbah organik. Volume air yang digunakan tidak boleh melebihi 60% dari kapasitas total wadah fermentasi. Proses fermentasi dilakukan dalam wadah plastik, baik

berukuran besar maupun kecil, yang memiliki tutup lebar. Jenis air yang digunakan dalam pembuatan *eco-enzyme* meliputi air isi ulang, air sumur, air kondensasi dari AC, air dari galon, air hujan yang ditampung, serta air PAM yang diendapkan minimal 24 jam untuk mengurangi kandungan kaporit. Sementara itu, jenis gula yang dapat digunakan antara lain molase, gula merah dari tebu, gula aren, gula kelapa, dan gula lontar. Semua jenis sisa sayur dan buah dapat dimanfaatkan untuk bahan organiknya, dengan pengecualian pada bahan yang sudah dimasak, membusuk, berjamur, berulat, mengandung minyak, atau yang terlalu keras dan kering seperti batang kayu. (Nusantara, 2021).

Proses pembuatan *eco-enzyme* diawali dengan mengisi air hingga mencapai 60% dari kapasitas total wadah fermentasi yang digunakan. Kemudian gula ditambahkan sebanyak 10% dari berat air yang digunakan. Selanjutnya bahan organik seperti potongan sisa buah dan sayur dimasukkan sebanyak 30% dari berat air. Campuran tersebut kemudian diaduk hingga merata, lalu wadah ditutup rapat dan diberi label yang berisi tanggal pembuatan serta estimasi tanggal panen. Untuk mengeluarkan gas hasil fermentasi, wadah dibuka pada hari ke-1, ke-3, ke-7 dan ke-30. Setelah proses fermentasi berlangsung selama 90 hari, larutan *eco-enzyme* dapat dipanen (Posmaningsih *et al.*, 2021).

Durasi fermentasi *eco-enzyme* tidak bersifat mutlak selama tiga bulan, melainkan dapat disesuaikan tergantung pada kondisi lingkungan dan jenis bahan organik yang digunakan. *Eco-enzyme* sebagai desinfektan dibuat dengan waktu fermentasi 8-10 hari telah menghasilkan kadar alkohol sebesar 60-70% dan pH di bawah 4.0. Rendahnya nilai pH pada *eco-enzyme* mencerminkan tingginya kandungan asam organik, seperti asam asetat dan asam sitrat. Ketika digunakan

sebagai desinfektan, *eco-enzyme* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara signifikan dengan kisaran zona hambat antara 31,85 hingga 34,41 mm, yang tergolong dalam kategori sangat kuat. Kandungan utama *eco-enzyme* berupa asam asetat berperan dalam membunuh mikroorganisme seperti kuman, virus, dan bakteri, serta mengandung enzim-enzim aktif seperti lipase, tripsin, dan amilase (Muliarta and Darmawan, 2021). Hasil fermentasi *eco-enzyme* selama tiga bulan mengandung senyawa aktif sekunder, di antaranya *alkaloid*, *flavonoid*, *saponin*, dan *tanin*. Senyawa-senyawa tersebut dikenal memiliki aktivitas biologis yang bermanfaat, termasuk sebagai antioksidan, antibakteri, dan antijamur (Rusdianasari *et al.*, 2021).

B. Mekanisme Kerja *Eco-Enzyme* Sebagai Agen Antibakteri

Eco-enzyme mengandung metabolit sekunder, seperti *tanin*, *flavonoid*, dan *saponin*. Metabolit sekunder dikenal sebagai senyawa bioaktif yang dihasilkan dari proses fermentasi dan memiliki sifat antibakteri. Aktivitas antibakteri pada kandungan *tanin* dapat mengaktifkan enzim, pada lapisan sel bagian dalam bakteri terdapat transport protein yang dapat terganggu, mengganggu proses pembentukan dinding sel sehingga menjadi tidak optimal, karena dapat merusak struktur polipeptida pada dinding sel. Selain itu, juga menghambat aktivitas metabolisme bakteri, khususnya dalam produksi energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan, dengan cara menginterferensi proses fosforilasi oksidatif (Irianto *et al.*, 2023). Kandungan flavonoid merupakan senyawa baru yang dihasilkan dari proses fermentasi *eco-enzyme* (Ningrum *et al.*, 2024). Saponin yang terkandung dalam larutan *eco-enzyme* berperan sebagai faktor pertumbuhan yang dapat mempercepat

proses pembentukan kembali jaringan epidermis serta meningkatkan infiltrasi sel-sel inflamasi pada area luka (Handoko, 2022).

C. Jeruk (*Citrus x sinensis* (L.) Osbeck)

Citrus x sinensis (L.) Osbeck adalah jeruk yang kaya akan vitamin C, memiliki kandungan air yang tinggi, dan kulit tebal dengan aroma khas dan menyengat. Kulit jeruk diketahui mengandung *pektin* dalam jumlah yang cukup besar, yakni sekitar 15-25% dari berat keringnya, serta mengandung senyawa *limonene* hingga mencapai 90%, mengandung vitamin C, dan mengandung *flavonoid* seperti *hesperidin*, *narirutin*, dan *nobiletin* yang berperan sebagai antioksidan (Mutia and Sihotang, 2024). Bagian kulit dari buah jeruk mengandung beragam mineral seperti kalsium, selenium, mangan, dan seng, serta sejumlah vitamin seperti C, A, dan kelompok vitamin B dengan kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian daging buahnya. Secara umum, konsentrasi antioksidan juga lebih tinggi pada kulit jeruk dibandingkan dengan bagian dalam buah, meskipun kandungannya dapat bervariasi di setiap bagian buah (Caron and Markusen, 2016). Klasifikasi jeruk manis adalah sebagai berikut (Plantamor, 2024):

Kerajaan : *Plantae* (tumbuhan)
Subkerajaan : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi : *Spermatophyta* (penghasil biji)
Divisi : *Magnoliophyta* (berbunga)
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Rosidae*
Ordo : *Sapindales*
Famili : *Rutaceae*

Genus : *Citrus*

Spesies : *Citrus x sinensis (L.) Osbeck.*

D. Nanas (*Ananas comosus (L.) Merr*)

Kulit nanas (*Ananas comosus (L.) Merr*) diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti vitamin C, *karotenoid*, *flavonoid*, dan enzim *bromelain* yang memiliki potensi antibakteri (Waznah *et al.*, 2021). Selain itu, terdapat pula senyawa aktif lainnya seperti *saponin*, *tanin*, *alkaloid*, dan *steroid*. Enzim *bromelain* bekerja dengan memutus ikatan protein pada sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhannya. *Flavonoid* bekerja merusak membran yang melindungi sel bakteri melalui interaksi kompleks dengan protein yang larut serta protein di luar sel. Senyawa *tanin* berperan dalam menghambat aktivitas enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase* yang esensial dalam pembentukan sel bakteri. Senyawa *alkaloid* dapat mengganggu struktur utama pada dinding sel bakteri. Sementara itu, *steroid* dapat berikatan dengan membran fosfolipid yang cenderung permeabel terhadap senyawa bersifat lipofilik, sehingga mengganggu kestabilan membran dan mengubah struktur morfologi sel, yang pada akhirnya menyebabkan kerapuhan dan lisis sel (Al-Haq, Yuliawati and Lukmayani, 2022).

Berikut merupakan klasifikasi buah nanas (Elfianis, 2022b):

Kerajaan : *Plantae* (tumbuhan)

Subkerajaan : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)

Superdivisi : *Spermatophyta* (penghasil biji)

Divisi : *Magnoliophyta* (berbunga)

Kelas : *Liliopsida*

Subkelas : *Commelinidae*

Ordo : *Bromeliales*
Famili : *Bromeliaceae*
Genus : *Ananas*
Spesies : *Ananas comosus (L.) Merr.*

Buah nanas mengandung berbagai macam gizi, seperti protein, karbohidrat, lemak, kalori, zat besi, fosfor, vitamin A dan B, kalsium, natrium, magnesium, kalium, sukrosa, dekstrosa, dan enzim bromelin (Mizrotun, 2020).

E. Sawi (*Brassica juncea L.*)

Brassica juncea L. atau yang lebih dikenal sebagai sawi, termasuk dalam kelompok sayuran hortikultura yang banyak dikonsumsi, terutama bagian daun mudanya (Lestari, Zainabun and Arabia, 2017). Sawi memiliki sistem perakaran tunggang dengan cabang berbentuk silindris memanjang yang berfungsi dalam penyerapan air dan nutrisi dari tanah serta memberikan dukungan struktur bagi tanaman. Batangnya cenderung pendek dan beruas, berperan dalam menopang serta membentuk daun. Daun sawi sendiri berwarna hijau muda hingga hijau tua, berbentuk lonjong melebar, berkerut, dan tidak berbulu. Bunga pada tanaman sawi tumbuh memanjang tinggi pada tangkai bunga. Biji sawi memiliki bentuk bulat dengan ukuran kecil serta berwarna coklat atau coklat kehitaman (Tarigan, 2022). Sawi mengandung protein, karbohidrat, serat, kalsium, fosfor, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin C, antioksidan, magnesium, asam folat, dan kalsium (Ahmad, 2023). Berikut merupakan klasifikasi sawi (*Brassica juncea L.*) (Elfianis, 2022):

Kerajaan : *Plantae* (tumbuhan)
Subkerajaan : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)

Superdivisi : *Spermatophyta* (penghasil biji)
Divisi : *Magnoliophyta* (berbunga)
Kelas : *Dicotyledoneae*
Subkelas : *Dilleniidae*
Ordo : *Capparales*
Famili : *Brassicaceae (Cruciferae)*
Genus : *Brassica*
Spesies : *Brassica juncea L.*

F. Kubis (*Brassica oleracea L.*)

Brassica oleracea adalah tanaman sayuran penting di seluruh dunia yang menghasilkan banyak jenis morfologi yang beragam, seperti kembang kol, brokoli, kubis, kubis Brussel, kohlrabi, dan kangkung (Liu and Snowden, 2021). Beberapa spesies dari genus *Brassica*, seperti kubis, brokoli, dan lobak, menunjukkan kemampuan antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri, termasuk *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella typhi*, dan *Proteus vulgaris*. Kubis diketahui menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti *alkaloid*, *flavonoid*, dan *glukosinolat* yang memiliki kemampuan menghambat pembentukan dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan peningkatan tekanan osmotik di dalam sel, yang pada akhirnya mengakibatkan pecahnya sel (lisis). Senyawa-senyawa aktif yang diduga berperan sebagai antibakteri dalam genus *Brassica* meliputi *flavonoid*, *alkaloid*, *tanin*, *saponin*, dan *polifenol*. Mekanisme kerja *flavonoid* meliputi penghambatan sintesis DNA dan RNA, disrupti membran sitoplasma, serta gangguan terhadap

jalur metabolisme energi bakteri. *Alkaloid* berperan dengan mengganggu struktur peptidoglikan, komponen penting dalam dinding sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk secara sempurna dan mengakibatkan kematian sel. *Tanin* menghambat aktivitas enzim bakteri dengan membentuk ikatan dan mengendapkan protein pada mukosa dan sel epitel. *Saponin* berfungsi dengan berikatan pada membran sel melalui interaksi hidrogen, sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel yang akhirnya menyebabkan kematian bakteri. *Polifenol* bertindak sebagai senyawa toksik dalam protoplasma, mampu menembus dan merusak dinding sel, mengendapkan protein, menyebabkan denaturasi protein, menonaktifkan enzim, dan membuat sel bocor hingga rusak (Azhariani, Yulawati and Syafnir, 2022). Berikut merupakan klasifikasi kubis *Brassica oleracea L.* (Elfianis, 2022):

Kerajaan	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Subkerajaan	: <i>Tracheobionta</i> (tumbuhan berpembuluh)
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Subkelas	: <i>Dilleniidae</i>
Ordo	: <i>Capparales</i>
Famili	: <i>Brassicaceae (Cruciferae)</i>
Genus	: <i>Brassica</i>
Spesies	: <i>Brassica oleracea L.</i>

G. *Staphylococcus aureus*

Kata *Staphylococcus* berasal dari gabungan kata *staphylo*, yang berarti seperti tandan anggur, sedangkan *coccus* yang berarti berbentuk bulat. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat yang tersusun berkelompok menyerupai buah anggur. Bakteri ini termasuk flora normal yang umumnya ditemukan pada permukaan kulit dan selaput lendir manusia, namun dapat menimbulkan berbagai jenis infeksi, pembentukan nanah, abses, hingga kondisi septikemia yang berpotensi mengancam jiwa. Dinding sel *Staphylococcus aureus* tersusun atas komponen polisakarida dan protein yang memiliki peran sebagai antigen pemicu respons imun. Bakteri ini tidak memiliki flagela dan tidak membentuk spora (Kurniawan and Sahli, 2018). Dinding sel *Staphylococcus aureus* tersusun atas lapisan tebal peptidoglikan dan membran tunggal yang mengandung komponen protein, lipid, serta asam teikoat, yang berperan dalam menjaga fleksibilitas, daya pori, kekuatan tarik, dan sifat elektrostatis dinding sel (Sihombing and Mantri, 2022).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan berbagai gangguan kulit pada manusia, seperti luka lepuh dan furunkel, serta infeksi bernanah seperti jerawat dan borok yang timbul akibat peradangan pada folikel rambut, kelenjar minyak, atau kelenjar keringat (Kuswiyanto, 2017). Berbagai gejala klinis yang dapat muncul akibat infeksi *Staphylococcus aureus*, meliputi infeksi kulit (bisul, impetigo, luka bernanah, dan selulitis), infeksi saluran pernapasan (*pneumonia*), sindrom toksik syok *staphylococcal* (TSS), infeksi jantung yang mengakibatkan peradangan pada lapisan dalam jantung atau katup jantung, sindrom *pneumonia* berat (*Necrotizing Pneumonia*), dan infeksi darah (*Bakteremia*). Strain *Staphylococcus aureus* seperti

yang resisten terhadap metisilin (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus* atau MRSA) memiliki kemampuan resistensi terhadap antibiotik karena dapat membuat infeksi sulit diobati (Umarudin *et al.*, 2023). Pasien yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* umumnya mendapatkan penanganan dengan pemberian antibiotik seperti kloksasilin, dikloksasilin, dan eritromisin sebagai bagian dari terapi medis yang umum digunakan (Rini and Rochmah, 2020). *Staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan : *Bacteria*
Divisi : *Firmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

H. Uji Daya Hambat Bakteri

Penentuan tingkat sensitifitas bakteri terhadap senyawa antibakteri, umumnya digunakan dua pendekatan utama, yakni metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi meliputi teknik difusi cakram (*Kirby-Bauer*), teknik parit (*ditch plate*), dan teknik sumuran (*cup-plate*). Sementara itu, metode dilusi dilakukan dengan cara pengenceran dalam media cair (*broth dilution*) maupun padat (*solid dilution*).

1. Metode difusi

Menurut Anjani (2024), terdapat beberapa metode yang termasuk dalam teknik difusi untuk menguji kemampuan antibakteri dalam menghambat aktivitas bakteri, yaitu:

a. Metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*)

Metode ini bertujuan untuk mengukur efektivitas senyawa antimikroba dengan cara mengamati area bening di sekitar cakram yang menandakan terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan media agar.

b. Metode parit (*Ditch plate-technique*)

Pada metode ini, dibuat sebuah parit membujur di tengah media agar dalam cawan petri. Zat antibakteri dimasukkan ke dalam parit tersebut, kemudian bakteri uji dioleskan menuju arah parit guna mengamati respons antibakteri terhadap pertumbuhan mikroba.

c. Metode sumuran (*Cup-plate technique*)

Metode ini dilakukan dengan membuat lubang kecil atau sumur pada media agar yang sudah diinokulasi dengan bakteri. Setelah itu, zat antibakteri diteteskan ke dalam sumur dan diinkubasi untuk melihat zona hambat yang terbentuk.

2. Metode dilusi

Metode dilusi bertujuan untuk menentukan konsentrasi terendah suatu zat antibakteri yang masih efektif menghambat (Kadar Hambat Minimum/KHM) dan membunuh (Kadar Bunuh Minimum/KBM) bakteri. Menurut Susilowati (2022), metode ini terbagi menjadi dua jenis:

a. Metode dilusi cair (*broth dilution test*)

Pengujian dilakukan dengan membuat larutan antibakteri dalam berbagai tingkat pengenceran dalam media cair, lalu diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Konsentrasi terendah dari larutan antibakteri yang masih mampu menghambat pertumbuhan mikroba disebut sebagai KHM.

b. Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

Teknik ini digunakan untuk menentukan kadar minimum antibakteri dalam media padat. Keunggulan dari metode ini adalah kemampuannya untuk menguji berbagai jenis bakteri menggunakan satu tingkat konsentrasi dari agen antibakteri.

I. Zona Hambat Bakteri

Zona hambat merujuk pada area bening di sekitar sumur pada media pertumbuhan yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, menandakan bahwa larutan uji memiliki kemampuan menghambat bakteri. Zona ini terbentuk pada media agar seperti Nutrient Agar (NA) dan digunakan sebagai indikator efektivitas antibakteri dari suatu zat (Widiyani, 2021). Semakin luas diameter zona bening yang muncul, semakin besar potensi antibakteri dari senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Goetie, Sundu and Supriningrum, 2022). Berdasarkan kriteria yang dikemukakan oleh David dan Stout (1971), kekuatan aktivitas antibakteri dapat digolongkan menjadi empat kategori, yaitu: daya hambat lemah (≤ 5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (10–20 mm), dan sangat kuat (≥ 20 mm).