

Aktivitas Antimikroba Larutan Antiseptik Dari *Garbage Enzyme* Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Antimicrobial Activity of Antiseptic Solution From Garbage Enzyme Against Escherichia coli and Staphylococcus aureus

Mellissa Erlyn Stephanie Ledo^{1*}, Anggreini D.N Rupidara¹, Hartini R.L Solle¹,
Merpiseldin Nitsae¹, dan Fransina T. Nomleni¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Kristen Artha Wacana, Kupang, Indonesia

Abstrak

Pengolahan sampah yang belum optimal menimbulkan berbagai masalah pencemaran lingkungan yang belum dapat diatasi. Berbagai upaya pengolahan sampah, terutama dari jenis organik dilakukan untuk menghasilkan produk baru yang memiliki nilai ekonomi yang lebih tinggi. Istilah *garbage enzyme* (GE) mengacu kepada hasil fermentasi sisa sayuran dan buah yang memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai purifikator air yang tercemar, pupuk organik, dan mengurangi bau tidak sedap pada timbunan sampah. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antimikroba larutan antiseptik dari GE terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan variasi konsentrasi larutan antiseptik GE yaitu 0%, 15%, 30%, 45% dan 60%. Metode uji aktivitas antimikroba adalah metode difusi agar yang mengukur diameter zona bening yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan terdapat aktivitas antimikroba pada larutan antiseptik GE dengan rata-rata diameter zona bening adalah 14-21,3 mm untuk *E. coli*, dan 14,3-25,9 mm untuk *S. aureus*. Aktivitas antimikroba larutan antiseptik GE terhadap *E. coli* dan *S. aureus* meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi larutan antiseptik GE, dimana konsentrasi 45 % dan 60% memiliki aktivitas antimikroba yang kuat dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.

Kata kunci: *Garbage enzyme*, larutan antiseptik, aktivitas antimikroba, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Waste management that has not been optimised has caused various environmental pollution problems that have not been resolved. Various waste processing efforts, especially of the organic type, are carried out to produce new products that have higher economic value. Garbage enzymes (GE) is the result of fermentation of vegetables and fruit waste. GE has many advantages for example water purificator, organic fertilizer, and reduce unpleasant odors in landfills. The aim of this research to analyze the antimicrobial activity of antiseptic solution from GE against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. This research used experimental methods with variation of GE concentration i.e. 0, 15%, 30%, 45% and 60%. The method of antimicrobial assay was agar diffusion method which measure clear zone representing inhibition of bacterial growth. The result showed that GE antiseptic solution made average clear zone diameter 14-21,3 mm for *E. coli* and 14,3-25,9 mm for *S. aureus*. The antimicrobial activity of GE antiseptic solution against *E. coli* and *S. aureus* was increased by increasing GE concentration, in which 45% and 60% had strong antimicrobial activity to inhibit the growth of *E. coli* and *S. aureus*.

Keywords: *Garbage enzymes*, antiseptic solution, antimicrobial activity, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

* Corresponding author:

Mellissa Erlyn Stephanie Ledo
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Kristen Artha Wacana,
Jalan Adisucipto, Oesapa, Kupang
Email : mellissa.ukaw@gmail.com

Pendahuluan

Penerapan protokol kesehatan dan pembatasan aktivitas masyarakat di sebagian besar wilayah Indonesia termasuk kota Kupang menjadi strategi pencegahan penyakit Covid-19. Berbagai inovasi dilakukan untuk mendukung gaya hidup baru, diantaranya pembuatan sabun cuci tangan, cairan antiseptik dan cairan disinfektan sebagai produk yang diyakini dapat membersihkan tangan dan lingkungan dari virus corona. Konsumsi sayuran dan buah-buahan adalah salah satu upaya untuk meningkatkan sistem imun di masa pandemi Covid-19, namun hal ini dapat berdampak pada penghasilan sampah dari sisa sayuran dan buah di kota Kupang.

Tingginya produksi sampah di wilayah Kota Kupang sebesar 64 ton/hari (Tamunu *et al.*, 2020) perlu diperhatikan secara serius karena berdampak besar terhadap lingkungan tanah, udara, air dan seluruh makhluk hidup yang terkait. Sampah organik sebagai jenis dari sampah domestik, berpotensi menjadi sumber pencemar air dan udara yang menimbulkan aroma tidak sedap dan mengotori perairan. Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengolah sampah organik dengan salah satu metode yang digunakan berupa metode fermentasi.

Fermentasi adalah metode bioteknologi yang digunakan untuk menghasilkan berbagai produk dengan memanfaatkan mikroba atau enzim. Produk pangan, kosmetik, pertanian dan farmasi serta bidang lainnya dihasilkan melalui metode fermentasi. Fermentasi sampah organik buah dan sisa sayuran dapat menghasilkan produk *eco enzyme* (EE) atau *garbage enzyme* (GE). Dua produk sejenis tersebut merujuk pada cairan hasil fermentasi sampah organik yang memiliki berbagai fungsi, termasuk sebagai pembersih lantai, pembersih sayur dan buah, penangkal serangga serta penyubur tanaman (Larasati *et al.*, 2020). Produk fermentasi EE atau GE juga memiliki aktivitas antimikroba tinggi yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Arifin *et al.*, 2009).

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa EE dengan bahan dasar campuran bahan kulit buah naga, kulit pepaya, kulit

jeruk, dan bonggol nanas mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan fenol.

Penelitian Abdullah *et al.* (2022) yang menggunakan metode zona hambat sebagai uji antibakteri ekoenzim menunjukkan bahwa konsentrasi 50%, 75%, dan 100% ekoenzim dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat berturut-turut 0,450 mm, 2,133 mm, dan 4,367 mm; menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan diameter zona hambat berturut-turut 1,483 mm, 4,733 mm, dan 6,083 mm; tetapi tidak menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Penelitian tentang pembuatan GE menggunakan Nanas (*Ananas comosus* L.) dan Pepaya (*Carica papaya* L.) menunjukkan bahwa parameter pH untuk kedua buah cenderung asam yaitu pada 3,15 dan 3,29 sedangkan nilai *total dissolved solid* (TDL) relatif dekat yaitu, 1132 mg/L untuk nanas dan 1188 mg/L untuk pepaya (Mavani *et al.*, 2020).

GE kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* dengan nilai daya hambat minimum sebesar 50% dan efektif pada konsentrasi 100% (v/v) untuk menghambat bakteri *S.aureus* namun tidak cukup efektif untuk menghambat *P.acnes* (Rammadani *et al.*, 2022). Residu GE dapat dimanfaatkan sebagai pupuk organik, sedangkan cairan nya sebagai disinfektan, insektisida, pembersih lantai dan selokan selain itu larutan GE bermanfaat untuk berbagai kegiatan rumah tangga sekaligus dalam pengolahan air limbah (Rochyani *et al.*, 2020).

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat bersifat patogen dalam tubuh organisme. Pengolahan sampah organik yang berasal dari sisa sayuran dan buah melalui proses fermentasi menjadi GE diharapkan dapat menghasilkan produk larutan antiseptik.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antimikroba larutan antiseptik dari GE terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil dari penelitian ini diharapkan

dapat memberikan informasi tentang aktivitas antimikroba larutan antiseptik GE terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923.

Materi dan Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan melakukan variasi konsentrasi Garbage Enzyme (GE) dalam larutan antiseptik, dilakukan 3 kali pengulangan dengan variasi konsentrasi GE 0%, 15%, 30%, 45%, dan 60% pada aquades yang ditambahkan 0,5 % ekstrak Aloe vera, 0,01% Vitamin E (*Nature's Health* 400 IU), 0,5% *tea tree oil* (*The Body Shop*), dan 0,1% parfum essence (*Herborist*), total volume larutan antiseptik GE adalah 100 mL.

Tabel 1. Perlakuan variasi konsentrasi GE

Perlakuan	Ulangan		
	U1	U2	U3
P0 : 0%	P0U1	P0U2	P0U3
P1 : 15%	P1U1	P1U2	P1U3
P2 : 30%	P2U1	P2U1	P2U3
P3 : 45%	P3U1	P3U1	P3U3
P4 : 60%	P4U1	P4U1	P4U3

Keterangan:

P0 : Larutan antiseptik tanpa GE
 P1 : Larutan antiseptik dengan penambahan GE 15%
 P2 : Larutan antiseptik dengan penambahan GE 30%
 P3 : Larutan antiseptik dengan penambahan GE 45%
 P4 : Larutan antiseptik dengan penambahan GE 60%
 U1 : Ulangan pertama
 U2 : Ulangan kedua
 U3 : Ulangan ketiga

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2020 sampai dengan Januari 2021. Pembuatan larutan antiseptik GE dilakukan di Laboratorium Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Kristen Artha Wacana, sedangkan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, oven, inkubator, gelas beker, cawan petri, tabung reaksi, mikropipet, bunsen, batang L, jangka sorong, wadah fermentasi, media nutrient agar, isolat bakteri

E. coli ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923 dari Laboratorium BPOM Kupang, campuran sisa sayuran dan kulit buah-buahan (kangkung, bayam, sawi, terong, jeruk, anggur, apel, dan semangka), larutan gula merah lontar.

Fermentasi Garbage Enzyme

Fermentasi GE dilakukan dengan cara menambahkan 6 Kg sisa sayuran dan sisa buah (kangkung, bayam, sawi, terong, jeruk, anggur, apel, dan semangka) kedalam campuran 2 L larutan gula merah dan 12 L air dengan perbandingan 3:1:10, kemudian wadah fermentasi ditutup rapat untuk memastikan kondisi anaerob. Pada minggu pertama campuran bahan dalam wadah bisa diaduk atau tekan ke bawah agar sampah organik yang mengapung terendam dengan air dan fermentasinya lebih sempurna, apabila sampah organik sudah terendam rata dengan air, maka tidak perlu diaduk lagi, dan diinkubasi selama 3 bulan (Anonim, 2020).

Uji Aktivitas Antimikroba Larutan Antiseptik Garbage Enzyme

Uji aktivitas antimikroba larutan antiseptik GE menggunakan media Nutrien Agar (NA) dan suspensi biakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan kekeruhan Mc Farland 0,5. Kultur *E. coli* dan *S. aureus* dituang 1 ml pada media NA yang masih dalam proses pendinginan dan belum mengeras. Selanjutnya, campuran dihomogenkan untuk memastikan bakteri terdistribusi merata dan dibiarkan memadat, biarkan media selama 15-30 menit di dalam inkubator agar terserap seluruhnya ke dalam agar (Sadheli et al., 2021)

Larutan antiseptik GE dengan konsentrasi 0%, 15%, 30%, 45% dan 60% diuji aktivitasnya dengan cara membuat lubang pada medium NA $\pm$ 8 mm untuk memasukkan 100 μ L larutan antiseptik GE dengan konsentrasi 0%, 15%, 30%, 45% dan 60% ke dalam lubang pada medium NA kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, taraf perlakuan secara duplo, selanjutnya dilakukan pengamatan terbentuknya zona hambat larutan antiseptik GE terhadap

Tabel 2. Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) larutan antiseptik GE terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi larutan antiseptik GE	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Bening (mm)	Standar Deviasi (sd)
15%	13.1	16	12.9	14.28	1.70
	12.6	14.2	15.8		
	17.4	13.3	13.2		
	14.8	14.7	17.2		
30%	18.7	18.1	18.5	17.3	1.52
	17.6	18.4	17.7		
	24.5	25.6	25.8		
	25.6	19.1	21.8		
45%	18.3	19.1	19.2	22.11	3.26
	28.4	29.6	30.8		
	24.7	24	22.1		
	24.4	26.6	22.6		
60%				25.91	3.10

pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* dengan mengukur diameter zona bening menggunakan jangka sorong. Analisis data secara deskriptif kuantitatif dengan membandingkan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran.

Analisis data

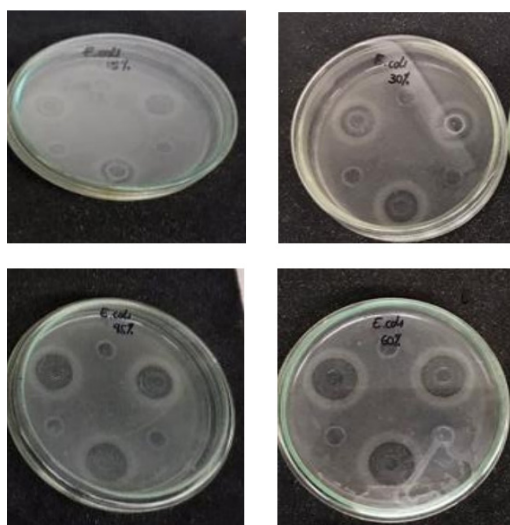
Data uji aktivitas antibakteri dianalisis dengan menghitung rata-rata diameter zona bening setiap perlakuan serta standar deviasinya. Kategori aktivitas antibakteri sesuai kategori penghambatan bakteri oleh

(David & Stout, 1971).

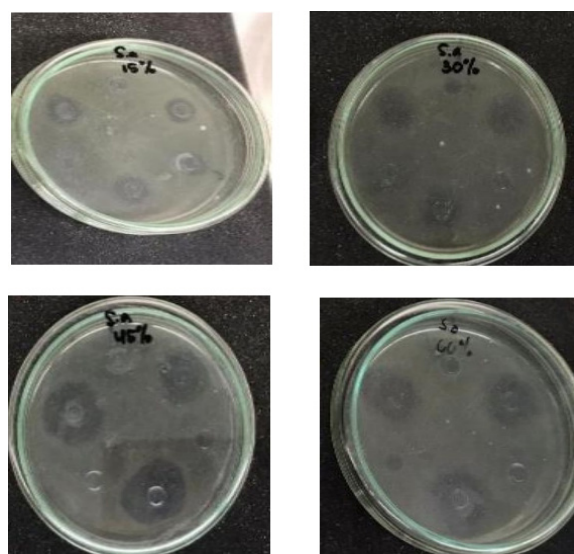
Hasil

Uji daya hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Daya hambat larutan antiseptik garbage enzyme (GE) dengan konsentrasi 0 %, 15%, 30%, 45% dan 60% terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan terbentuknya zona bening disekitar lubang yang berisi larutan antiseptik GE, semakin tinggi konsentrasi larutan antiseptik GE semakin luas diameter zona beningnya seperti yang



Gambar 1. Zona hambat di sekitar larutan antiseptik GE dengan variasi konsentrasi 15%, 30%, 45% dan 60% pada media NA yang ditumbuhkan *E.coli*



Gambar 2. Zona hambat di sekitar larutan antiseptik GE pada media NA yang ditumbuhkan *S. aureus*

Tabel 3. Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) larutan antiseptik GE terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*

Konsentrasi larutan antiseptik GE	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Standar Deviasi (sd)
15%	13.3	14.2	14.1	13.98	0.75
	15	14.8	14.4		
	13.7	12.6	13.7		
	15.8	16.5	17.4		
30%	17	16.8	16.2	16.83	0.59
	17.3	17.6	16.9		
	22.2	20.8	21.8		
	20.5	18.3	18.3		
45%	20.1	19.8	19.8	20.18	1.35
	20.3	19.8	19.8		
	21.1	23.6	24		
	21.3	21.3	20.5		
60%				21.3	1.53

Tabel 4. Kategori daya hambat larutan antiseptik GE (David & Stout, 1971)

Konsentrasi larutan antiseptik GE	Rerata Diameter Zona Hambat larutan antiseptik GE (mm)		Kategori Daya Hambat larutan antiseptik GE
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	
15%	14.28	13.98	Kuat
30%	17.30	16.83	Kuat
45%	22.11	20.18	Sangat Kuat
60%	25.91	21.30	Sangat Kuat

disajikan dalam Gambar 1 dan 2. Nilai diameter zona hambat GE terhadap bakteri patogen uji disajikan dalam Tabel 2 dan 3.

Pembahasan

Vitamin E dan *tea tree oil* yang ditambahkan dalam formulasi *garbage enzyme* (GE) bertujuan untuk menambahkan senyawa antioksidan dan menimbulkan aroma segar pada larutan antiseptik. Penambahan kedua komponen ini sesuai dengan komposisi pembuatan larutan antiseptik yang dapat digunakan pada kulit manusia. Komponen berupa *tea tree oil* dalam formulasi GE dapat membunuh bakteri disebabkan adanya komposisi minyak atsiri yang mempunyai struktur hidrokarbon yang masuk kedalam membran bakteri dan mengganggu fungsi membran bakteri (Susanti, 2017). Larutan antiseptik GE memiliki pH berkisar 3-4, rendahnya pH larutan antiseptik GE diduga karena terbentuknya produk fermentasi berupa asam organik seperti asam asetat

atau asam sitrat mengakibatkan terjadinya penurunan pH larutan GE (Etienne, 2013).

Derajat keasaman (pH) yang rendah diakibatkan karena produk asam organik yang terbentuk selama fermentasi yang memiliki kemampuan menghambat dan membunuh mikroba dengan mekanisme disosiasi dan ionisasi molekul yang mengalir melalui membran sel mikroba, keseimbangan pH intraseluler dilakukan dengan melepaskan ion hidrogen namun pH yang rendah dapat menghambat oksidasi NADH sehingga mengganggu proses perolehan energi dalam sistem transport elektron. Selain itu menyebabkan terjadinya perubahan bentuk sel, kerusakan struktur membran sel dan denaturasi enzim sehingga proses metabolisme menjadi terhambat dan mengakibatkan kematian sel (In *et al.*, 2012).

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan aktivitas antimikroba larutan antiseptik GE dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang termasuk

dalam kelompok bakteri gram negatif dengan ketebalan dinding sel yang relatif lebih tipis dibandingkan bakteri gram positif. Produk utama fermentasi seperti alkohol, asam asetat, asam organik lainnya berperan dalam penghambatan bakteri dengan merusak struktur dinding sel bakteri.

Larutan antiseptik GE juga memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* Fermentasi GE menghasilkan asam organik yaitu asam asetat yang dapat membunuh kuman, virus dan bakteri. Selain itu dalam fermentasi GE terbentuk enzim lipase, tripsin, dan amilase yang dapat menyebabkan kerusakan struktur sel mikroba (Eviati & Sulaeman, 2009).

Bakteri *S.aureus* termasuk dalam kelompok bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang relatif lebih tebal dibandingkan bakteri gram negatif, hal ini selaras dengan hasil uji aktivitas antimikroba yang didapatkan dalam penelitian ini, kemampuan larutan atiseptik GE dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* relatif lebih rendah daripada kemampuannya menghambat pertumbuhan *E. coli*. Garbage enzyme yang dibuat dari kulit buah-buahan seperti pepaya, srikaya, nenas, jeruk dan buah lainnya memiliki senyawa bioaktif yang berperan penting untuk aktivitas antimikroba yaitu flavanoid, tanin, saponin, asam laktat yang akan menggunakan mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, menghambat metabolisme energi bakteri dan masuk ke dalam membran sel bakteri karena perbedaan pH yang menyebabkan aktivitas metabolisme sel terganggu (Permataananda *et al.*, 2023)

Larutan antiseptik GE memiliki aktivitas antimikroba kuat dan sangat kuat sesuai kategori David & Stout (1971). Aktivitas antimikroba GE dari kulit buah jeruk terhadap *Bacillus* sp dengan diameter zona hambat 18 mm, sedangkan untuk *Pseudomonas* sp. dan *E. coli* diameter zona hambat yang terbentuk adalah 11 mm dan 5 mm, sedangkan aktivitas enzim lipase, amilase dan protease secara kualitatif juga terdeteksi pada media agar (Vama & Cherekar, 2020).

Kesimpulan

Larutan antiseptik *garbage enzyme* (GE) memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang termasuk dalam kategori aktivitas antimikroba kuat dan sangat kuat namun perlu dilakukan uji proksimat dan uji pembeda larutan antiseptik GE dengan produk antiseptik lainnya.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian, Universitas Kristen Artha Wacana Kupang yang telah mendanai kegiatan ini.

Daftar Pustaka

- Anonim, (2021). Modul belajar pembuatan ekoenzim. Ekoenzim Nusantara Indonesia.
- Abdullah, R., Malik, A., Puspitasari, N., Hayun, (2022). Uji Aktivitas Antimikroba Ekoenzim terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, dan *Candida albicans* secara In Vitro. Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.
- Arifin LW, Syambarkah A, Purbasari HS, Ria R, Puspita VA. 2009. Introduction of Eco-enzyme to support organic
- Bernadin Dwi M, Desmintari, Yuhaniyaya. (2017). Pemberdayaan Masyarakat Desa Citeras Rangkasbitung melalui Pengolahan Sampah dengan Konsep Ecoenzyme dan Produk Kreatif yang Bernilai Ekonomi. Sendimas Maranatha Vol. 2 No. 1:1-6.
- Davis, W. W. dan Stout, T. R. (1971). Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. Microbiology 22: 659-665.
- Etienne, A., Genard, M., Lobit, P., Mbeguie-Ambeguie, D. & Bugaud, C. (2013). What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 64 No. 6 : 1451-1469.
- Eviati & Sulaeman. (2009). Analisa Kimia Tanah, Tanaman, Air Dan Pupuk. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian :

- Bogor.
- Farabee, M.J. (2001). *Enzyme: Organic catalyst*. W.H-Freeman & Co. USA.
- Hames B.D and Hooper N.M. (2000). *Biochemistry. The instant Notes*. Ed ke-2. Springer, Verlag: 83-84.
- In, Ye Won, Kim, Jung-Ji, Kim, Hyun-Jung, Se-Wook Oh. (2012) ; Antimicrobial activities of acetic acid, citric acid and lactic acid against *Shigella* species. *Journal of Food Safety*:79-83
- Larasati, D, Astuti, A.P, Maharani, E,T. (2020). Uji Organoleptik Produk Ecoenzyme Dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus Di Kota Semarang). Seminar Nasional Edusainstek ISBN :978-602-5614-35-4 FMIPA, UNIMUS:Semarang.
- Lehninger, A.L. (1982). *Dasar-Dasar Biokimia*, Erlangga: Jakarta.
- L.G. Harris, S.J. Foster , and R.G. Richards. (2002). An Introduction to *Staphylococcus aureus*, and Techniques for Identifying and Quantifying *S. aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials: Review L.G.Harris *European Cells and Materials* Vol. 4. :39-60.
- Mavani, H. A. K., Tew, I. M., Wong, L., Yew, H. S. A., Ghazali, R. A., Nang, P. E. H., (2020). Antimicrobial Efficacy of Fruit Peels Eco-Enzyme againts *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Study, *Int J Environ Res Public Health*; 17(14): 5107.doi: 10.3390/ijerph17145107.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., (2008), *Lehninger Principles of Biochemistry*, W.H. Freeman and Company: New York.
- Palmer, T. (1991). *Understanding enzyme*. Springerlink : New York.
- Permatananda, P.A.N.K, Pandit, I.G.S, Cahyawati, P.N, Aryastuti, A.A.S.A. (2023). Antimicrobial Properties of Eco Enzyme: A Literature Review, *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine & Translational Research*, Vol. 7. No.6.
- Rachmawati, J. T. (2008). Perbandingan Angka Kuman pada Cuci Tangan dengan Beberapa Bahan Sebagai Standarisasi Kerja di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Islam Indonesia. *Jurnal logika*. Vol 5. No.1 :6 1-13.
- Ramadani, A. H., Karima, R., & Ningrum, R. S. (2022). Antibacterial Activity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Eco-enzyme Against Acne Bacterias (*Staphylococcus aureus* and *Prapionibacterium acnes*). *Indonesian Journal Chemistry and Research*. 9(3):201-207. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2022.9-nin>
- Rochyani, N., Utpalasari, R.L., Dahliana, I., (2020). Analisis Hasil Konversi Eco Enzyme menggunakan Nenas (*Ananas comosus*) dan Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Redoks*, Program Studi Teknik Kimia, Universitas PGRI : Palembang. Vol.5.No.2: 135-140
- Sadheli, S., K, L. R. (2021). Perbandingan Efektivitas Produk Tisu Basah Antiseptik Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Dengan Metode Replika. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. Vol 6 (2):20-28.
- Sayrani, L. P., & Tamunu, L. M. (2020). Kewargaan dan Kolaborasi Pemecahan Masalah Publik : Studi Isu di Kota Kupang. *Timorese Journal of Public Health*, 2 (1), 1-13. <https://doi.org/10.35508/tjph.v2il.2191>.
- Suhartono MT.(1989). *Enzim dan Bioteknologi*. PAU Bioteknologi IPB : Bogor.
- Susanti, M., (2017). Efektivitas Tisu Basah Antiseptik untuk menurunkan Jumlah Bakteri Tangan, *Jurnal Bio Educatio*. Vol. 2, No.2, 79-82.
- Vama, L.Cherekar, M.N. (2020). Production, Extraction and Uses Of Ecoenzyme Using Citrus Fruit Waste: Wealth From Waste. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.* Vol. 22 .No.2 : 346-351
- Warsa, U.C. (1994). *Staphylococcus* dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara. hal. 103-110.