

**UJI KOEFISIEN FENOL EKOENZIM SEBAGAI
DISINFEKTAN TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**PHENOL COEFFICIENT TEST OF ECOENZYME AS
DISINFECTANT AGAINST *Staphylococcus aureus***

Disusun dan diajukan oleh

NOOR AISYAH HARRIS

N011 18 1049



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI KOEFISIEN FENOL EKOENZIM SEBAGAI DISINFECTAN
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**PHENOL COEFFICIENT TEST OF ECOENZYME AS DISINFECTANT
AGAINST *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

NOOR AISYAH HARRIS

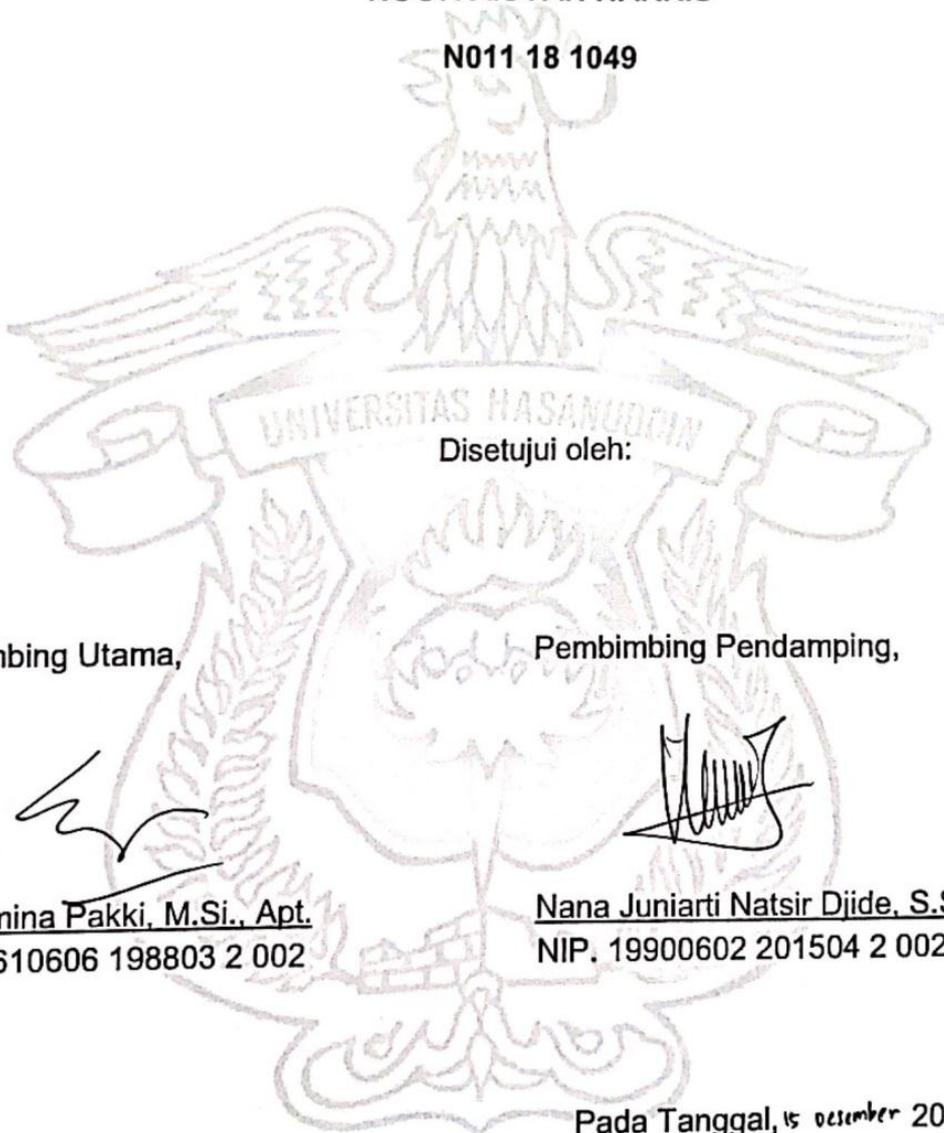
N011 18 1049

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI KOEFISIEN FENOL EKOENZIM SEBAGAI DISINFEKTAN
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

NOOR AISYAH HARRIS

N011 18 1049



Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.
NIP. 19610606 198803 2 002

Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002

Pada Tanggal, 15 Desember 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI KOEFISIEN FENOL EKOENZIM SEBAGAI DISINFECTAN
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**PHENOL COEFFICIENT TEST OF ECOENZYME AS DISINFECTANT
AGAINST *Staphylococcus aureus***

Disusun dan diajukan oleh:

**NOOR AISYAH HARRIS
N011 18 1049**

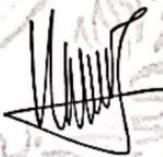
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal _____ 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.
NIP. 19610606 198803 2 002


Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19880116 201012 2 009



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Noor Aisyah Harris
Nim : N011 18 1049
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Koefisien Fenol Ekoenzim sebagai Disinfektan terhadap *Staphylococcus aureus*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 15 Desember 2022

Yang menyatakan,



Noor Aisyah Harris

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah *Subhanahu Wata'ala* karena atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam tercurahkan kepada Rasulullah *Shallallahu 'Alaihi Wassalam*, keluarga beliau, dan para sahabat beliau. Skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada:

1. Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktunya dan memberikan bimbingan, ilmu, saran, motivasi, dan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Prof. Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt. dan Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saran untuk perbaikan skripsi ini.
3. Bapak Anshar Saud, S.Si., M.Farm., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan banyak nasehat dan motivasi kepada penulis selama menempuh studi.

4. Seluruh Bapak/Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya yang berharga dan membimbing penulis serta seluruh staf akademik atas fasilitas dan pelayanan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Ibu Haslia, S.Si. selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi dan Ibu Sumiati, S.Si. selaku laboran Laboratorium Farmasetika Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan serta saran kepada penulis selama penelitian.
6. Orang-orang terdekat penulis yaitu Sri Rahmayanti, Husnul Afifah, Farhanah Rahmah, Isra Rizka Utami, Nurul Khalisah Maisuri, Rahyunita, Nurfadila, Fitri, dan Rahma Syaharuddin yang senantiasa memberikan semangat serta menemani penulis selama menyelesaikan skripsi ini
7. Seluruh Korps. Asisten Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan masukan, menjadi tempat bertukar informasi, dan berbagi ilmu kepada penulis.
8. Teman-teman Angkatan 2018 “Gemf18rozil” yang senantiasa memberikan kebersamaan selama menjalani perkuliahan di Farmasi
9. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Skripsi ini tiada artinya tanpa dukungan dari kedua orang tua tercinta.

Yang terhormat ayahanda Abdul Harris Alam dan Ibunda Sukmawaty

Makmur yang senantiasa memberikan kasih sayang, nasehat, serta doa untuk setiap langkah penulis. Adik-adik penulis yang senantiasa membantu serta menemani penulis. Atas segala hal penulis ucapkan terima kasih.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak memiliki kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi.

Makassar, 15 Desember 2022



Noor Aisyah Harris

ABSTRAK

NOOR AISYAH HARRIS. *Uji Koefisien Fenol Ekoenzim sebagai Disinfektan terhadap Staphylococcus aureus* (dibimbing oleh Ermina Pakki dan Nana Juniarti Natsir Djide).

Ekoenzim merupakan produk akhir hasil fermentasi buah, kulit buah, sayuran yang mengandung senyawa organik kompleks dengan aktivitas antimikroba. Ekoenzim dapat digunakan sebagai disinfektan dan aktivitasnya dipengaruhi oleh komponen bahan baku. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sumber ekoenzim (kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, serta kombinasi kulit buah-sayur) terhadap nilai koefisien fenol disinfektan. Ekoenzim diperoleh melalui fermentasi kulit buah, sayur, dan kombinasi buah-sayur selama 3 bulan pada suhu ruang. Bagian filtratnya diambil dan dilanjutkan pada pengujian organoleptik, pH, penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi serta penentuan koefisien fenol. Hasil penelitian menunjukkan ekoenzim yang dihasilkan bersifat asam, memiliki aroma asam khas fermentasi, dan memiliki warna yang berbeda. Nilai KHM ekoenzim kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, serta kombinasi kulit buah-sayur terhadap *S. aureus* ATCC 25923 di atas 40%. Hasil penentuan nilai koefisien fenol ekoenzim (konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, serta 60%) tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikroba (nilai koefisien fenol 0). Hasil yang sama juga diperoleh pada pengujian menggunakan fenol, terdapat dugaan bahwa bakteri uji telah mengalami resistensi. Dapat disimpulkan bahwa ekoenzim kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, dan kombinasi kulit buah-sayur tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kata Kunci: ekoenzim, disinfektan, koefisien fenol, buah dan sayur

ABSTRACT

NOOR AISYAH HARRIS. *Phenol Coefficient Test of Ecoenzyme as Disinfectant against Staphylococcus aureus* (supervised by Ermina Pakki and Nana Juniarti Natsir Djide).

Eco-enzyme is the end product of the fermentation of fruit and vegetable which contain complex organic substances with antimicrobial activity. Eco-enzyme can be used as a disinfectant, and the raw material highly influences antimicrobial activity. This study aims to determine the influence of eco-enzyme substrates (fruit peels, vegetables, and combinations of fruit peels-vegetables) on the phenol coefficient. Eco-enzymes were obtained through fermentation of various substrates for three months at room temperature. The fermentation broths were subjected to organoleptic testing, pH, determination of minimum inhibitory concentration (MIC) using microdilution method, and phenol coefficient assay. The results showed that the eco-enzymes produced were acidic, had a distinctive sour fermentation aroma, and had different colors. The MIC value of the eco-enzymes of fruit peels, vegetables, and combinations of fruit peels-vegetables against *S. aureus* ATCC 25923 was above 40%. The results of the phenol coefficient assay of eco-enzymes (concentrations of 100%, 90%, 80%, 70%, and 60%) did not show any antimicrobial activity (phenol coefficient value is 0). No activity was also observed in phenol, suggesting that the test bacteria might develop resistance. In conclusion, the eco-enzymes of fruit peels, vegetables, and fruit peels-vegetables combination did not have antimicrobial activity against *S. aureus* ATCC 25923.

Keywords: eco-enzyme, disinfectant, phenol coefficient, fruit and vegetable

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Ekoenzim	5
II.2 Disinfektan	7
II.3 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	11
II.4 Koefisien Fenol	12
II.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
BAB III METODE PENELITIAN	17
III.1 Alat dan Bahan	17
III.2 Pembuatan Ekoenzim	17

	halaman
III.3 Evaluasi Disinfektan	19
III.3.1 Uji Organoleptik	19
III.3.2 Uji pH	19
III.4 Uji Koefisien Fenol	19
III.4.1 Penyiapan Medium NA dan NB	19
III.4.2 Peremajaan Bakteri	20
III.4.3 Pembuatan Suspensi Mikroba	20
III.4.4 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	20
III.4.5 Pembuatan Larutan Fenol 5%	21
III.4.6 Pengujian Koefisien Fenol	21
III.5 Pembahasan dan Penarikan Kesimpulan	22
BAB IV Hasil Dan Pembahasan	23
BAB V PENUTUP	31
V.1 Kesimpulan	31
V.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Kombinasi bahan ekoenzim	18
2. Hasil pengamatan organoleptik dan pH ekoenzim	24
3. Hasil penentuan KHM menggunakan metode mikrodilusi	26
4. Hasil uji penegasan	26
5. Hasil penentuan nilai koefisien fenol	28
6. Hasil penentuan nilai koefisien fenol larutan ekoenzim	28
7. Hasil uji pH	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme fermentasi	6
2. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
3. Pengujian organoleptik	49
4. Pengukuran pH	49
5. Hasil penentuan KHM	50
6. Hasil uji penegasan	51
7. Hasil uji koefisien fenol	52

DAFTAR SINGKATAN

CFU	= <i>Colony Forming Unit</i>
KHM	= Konsentrasi Hambat Minimum
NA	= <i>Nutrient Agar</i>
NB	= <i>Nutrient Broth</i>
<i>S. aureus</i>	= <i>Staphylococcus aureus</i>
TSST	= <i>Toxic Shock Syndrome Toxin</i>
TTC	= <i>Triphenyl Tetrazolium Chloride</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja umum	37
2. Pengujian KHM	38
3. Skema pengujian koefisien fenol	39
4. Perhitungan pengenceran ekoenzim dan baku fenol	40
5. Tabel hasil uji	46
6. Dokumentasi penelitian	47

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kontaminasi mikroorganisme pada permukaan benda berperan dalam rantai penularan infeksi (Kramer & Assadian, 2014). Sehingga, proses disinfeksi diperlukan untuk mencegah transmisi mikroorganisme patogen. Umumnya digunakan disinfektan sebagai zat untuk menghambat dan membunuh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, dan jamur pada permukaan benda (Exner *et al.*, 2004).

Disinfektan yang ideal memiliki aktivitas yang efektif terhadap berbagai patogen pada konsentrasi rendah (Parija, 2009). Salah satu metode yang digunakan untuk menilai efektivitas disinfektan yaitu dengan menentukan nilai koefisien fenol (Aneja, 2007). Koefisien fenol merupakan perbandingan daya bunuh suatu disinfektan dengan fenol terhadap bakteri uji dalam waktu 10 menit, tetapi tidak mematikan dalam waktu 5 menit (John & Alicia, 2004). Fenol digunakan sebagai pembanding karena fenol dianggap sebagai salah satu disinfektan yang diketahui kekuatan serta telah lama digunakan (Lestari dkk., 2021).

Namun, penggunaan disinfektan dari bahan sintetik dilaporkan menimbulkan masalah terhadap kesehatan dan lingkungan. Bahan sintetik membutuhkan waktu yang lebih lama untuk terdegradasi sehingga akumulasi bahan ini menyebabkan efek toksik (Vama & Cherekar, 2020).

Pemakaian disinfektan dari bahan sintetik yang tidak tepat dan terlalu sering menyebabkan penyakit paru obstruktif kronis, asma, iritasi kulit dan mata, alergi, serta kualitas udara memburuk (Rai *et al.*, 2020).

Salah satu bahan yang berpotensi sebagai disinfektan yaitu ekoenzim. Ekoenzim merupakan zat organik kompleks dari rantai protein (enzim), asam organik, dan garam mineral yang dihasilkan melalui fermentasi buah atau sayuran, gula, serta air (Saramanda & Kaparapu, 2017). Cairan ekoenzim ini berwarna coklat dan memiliki bau asam manis yang kuat (Verma *et al.*, 2019).

Pembuatan ekoenzim mudah dan murah; produk yang dihasilkan juga bersifat ramah lingkungan dan tidak toksik pada manusia (Vama & Cherekar, 2020). Pembuatan ekoenzim juga dapat menjadi salah satu alternatif untuk mengatasi penumpukan sampah organik (Gu *et al.*, 2021). Berdasarkan berbagai hasil penelitian, ekoenzim memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, dan fungi. (Vama & Cherekar, 2020; Arun & Sivashanmugam, 2015; Saramanda & Kaparapu, 2017). Potensi ekoenzim sebagai disinfektan juga telah diuji menggunakan metode koefisien fenol. Penelitian Arun and Sivashanmugam (2015) melaporkan bahwa ekoenzim (tomat, kembang kol, nanas, jeruk, mangga) efektif membunuh *Salmonella typhi* dengan nilai koefisien fenol yaitu 4.

Perbedaan komponen buah dan sayur sebagai bahan ekoenzim menunjukkan perbedaan aktivitas antimikroba. Hasil penelitian Neupane

and Khadka (2019) melaporkan bahwa ekoenzim campuran buah dapat menghambat *S. aureus*, *Bacillus sp.*, *Shigella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*, sedangkan ekoenzim sayuran hanya menghambat *S. aureus* (ATCC 25923) dan *E. coli* (ATCC 25922). Sehingga, dalam penelitian ini akan dibandingkan potensi antimikroba ekoenzim dengan perbedaan komponen yaitu dari kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, serta kombinasi kulit buah dan sayur melalui metode koefisien fenol.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang diperoleh yaitu:

1. Berapa nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekoenzim (kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, serta kombinasi kulit buah-sayur)?
2. Berapa nilai koefisien fenol ekoenzim (kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, serta kombinasi kulit buah-sayur)?

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan penelitian yang diperoleh yaitu:

1. Mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekoenzim (kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, serta kombinasi kulit buah-sayur).
2. Mengetahui nilai koefisien fenol ekoenzim (kombinasi kulit buah, kombinasi sayur, serta kombinasi kulit buah-sayur).

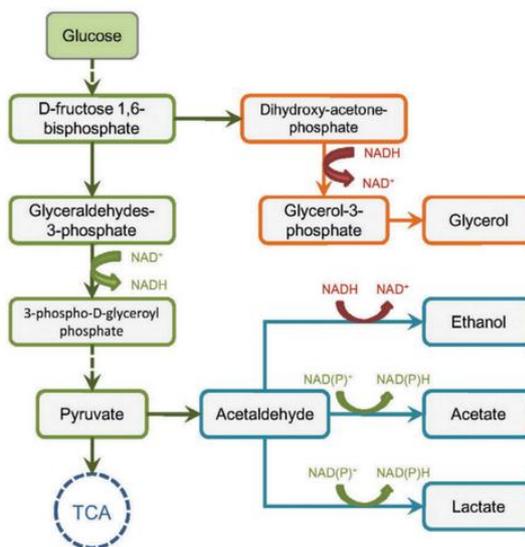
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Ekoenzim

Eco-enzyme merupakan produk ramah lingkungan (*natural* dan *eco-friendly*) yang pertama kali dikembangkan oleh peneliti dari Thailand yaitu Dr. Rosukon Poompanvong. Ekoenzim adalah zat organik kompleks yaitu rantai protein (enzim), asam organik, dan garam mineral yang dihasilkan dari proses fermentasi buah atau sayur dengan penambahan gula (gula merah atau molase), dan air (Arun & Sivashanmugam, 2015; Jain, 2021).

Buah dan sayur digunakan sebagai bahan baku dalam fermentasi karena mengandung karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral, dan senyawa bioaktif lainnya (Garg *et al.*, 2021; Panda *et al.*, 2016). Dalam pembuatan ekoenzim dapat juga ditambahkan bunga atau dedaunan aromatik. Gula berfungsi sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri, semakin tinggi kandungan sukrosa maka semakin banyak hasil fermentasi yang diperoleh. Proses fermentasi ekoenzim terjadi selama 3 bulan. Selama bulan pertama menghasilkan alkohol, kemudian bulan kedua menghasilkan asam, dan bulan ketiga menghasilkan enzim (Nazim & Meera, 2015; Rusdianasari *et al.*, 2021). Fermentasi berlangsung dengan reaksi sebagai berikut:



Gambar 1. Mekanisme Fermentasi (Jozala, 2017)

Selama fermentasi, glukosa dirombak untuk menghasilkan asam piruvat. Dalam kondisi anaerob, asam piruvat dikarboksilasi oleh piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehid, kemudian asetaldehid diubah oleh alkohol dehidrogenase menjadi etanol. Selain itu, asetaldehid juga akan diubah menjadi asam asetat dan asam laktat tergantung dari jenis mikroorganisme yang terlibat pada fermentasi (Rusdianasari, 2021).

Pemanfaatan ekoenzim merupakan salah satu cara untuk mengurangi penumpukan limbah organik dengan memanfaatkan limbah buah dan sayur sebagai bahan baku (Gu *et al.*, 2021). Proses fermentasi ekoenzim melibatkan proses katalitik yang menghasilkan gas O₃. Gas ini berperan mengurangi efek pemanasan global (Nazim & Meera, 2015). Ekoenzim juga dapat digunakan sebagai pembersih, insektisida, pupuk organik, dan antibakteri (Rochyani dkk., 2020; Novianti & Muliarta, 2021).

Ekoenzim memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, dan fungi. Pemanfaatan ekoenzim sebagai antibakteri disebabkan adanya kandungan enzim (protease, amilase, dan lipase) yang memperkuat substrat untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen (Ginting *et al.*, 2021). Selain itu, kandungan asam asetat dan etanol dalam ekoenzim juga dapat membunuh bakteri dan virus (Rochyani dkk., 2020; Nazim & Meera, 2015).

II.2 Disinfektan

Disinfektan adalah bahan kimia yang digunakan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme (bakteri, virus, atau fungi) pada permukaan benda, tetapi umumnya tidak dapat membunuh spora bakteri. (Deshmukh *et al.*, 2019). Beberapa bahan kimia yang digunakan sebagai disinfektan yaitu golongan alkohol, biguanid, aldehid, klorin, iodin, fenol, ammonium kuartener, dan agen pengoksidasi (Sopyan *et al.*, 2020).

Disinfektan yang ideal memiliki kriteria yaitu aktivitas antimikroba berspektrum luas dan mampu menginaktivasi mikroorganisme dalam waktu singkat, aktivitas tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan atau adanya bahan organik, toksisitas rendah, tidak korosif, mudah digunakan, tidak berbau atau baunya tidak mengganggu, stabil selama penyimpanan, larut dalam air, tidak mudah terbakar, dan ekonomis (Parija, 2009; Rutala & Weber, 2014).

Aktivitas agen antimikroba bergantung pada beberapa faktor, antara lain (Artasensi *et al.*, 2021):

1. Jumlah dan tipe mikroorganisme

Setiap jenis mikroorganisme memiliki kepekaan yang berbeda terhadap disinfektan. Semakin banyak jumlah mikroorganisme, maka semakin lama waktu pemaparan disinfektan yang diperlukan.

2. Konsentrasi zat antimikroba

Semakin besar konsentrasi zat antimikroba, maka semakin besar juga kemampuan untuk membunuh mikroorganisme. Disinfektan sebaiknya digunakan dalam konsentrasi yang cukup untuk menonaktifkan mikroorganisme, sehingga meminimalkan paparan bahan kimia yang dapat bersifat toksik.

3. Waktu kontak

Aktivitas antimikroba umumnya meningkat dengan lamanya waktu kontak. Waktu kontak disinfektan terhadap mikroorganisme bervariasi tergantung dari jenis disinfektan yang digunakan.

4. Suhu

Suhu tinggi mempengaruhi protein dan enzim mikroba. Suhu tinggi dapat meningkatkan dan mempercepat aktivitas germisidal zat antimikroba. Disisi lain, kenaikan suhu juga mempercepat penguapan bahan kimia.

5. pH

Tingkat keasaman yang optimal tergantung dari jenis disinfektan.

Ada yang bekerja secara optimal pada pH asam atau pH basa.

6. Proses pembersihan

Perlakuan sebelum disinfeksi, seperti proses pembersihan merupakan hal mendasar untuk memastikan atau meningkatkan efektivitas disinfektan.

Disinfektan merusak sel mikroba dengan cara koagulasi atau denaturasi protein protoplasma sel atau menyebabkan sel lisis dengan mengubah struktur membran sitoplasma. Mekanisme kerja senyawa disinfektan terdiri dari sebagai berikut (Djide & Sartini, 2016):

1. Penginaktifan enzim tertentu

Senyawa yang bekerja dengan mekanisme penginaktifan enzim tertentu yaitu turunan aldehid, amida, karbanilida, etilen-oksida, halogen, senyawa-senyawa merkuri, dan amonium kuartener. Aldehid dan etilen oksida mengalkilasi secara langsung pada gugus nukleofil (gugus amino, karboksil, fenol, dan tiol) sehingga menyebabkan pemblokatan sisi aktif dan perubahan konformasi enzim bakteri. Klorin dan senyawa terklorinasi mengikat protein sel menghasilkan asam klorida (HCl) dan oksigen (O) yang selanjutnya mengoksidasi gugus SH enzim tertentu atau konstituen sel bakteri.

Iodin bekerja secara langsung pada rantai polipeptida protein sel bakteri, mengoksidasi gugus tirosin dan sulfhidril protein, dan menyebabkan penginaktifan protein atau enzim tertentu.

2. Denaturasi protein

Senyawa yang menyebabkan denaturasi protein yaitu turunan alkohol, halogen, senyawa merkuri, peroksida, turunan fenol, dan senyawa amonium kuartener. Turunan alkohol menimbulkan denaturasi protein dan proses ini membutuhkan air. Selain itu, turunan alkohol juga menghambat sistem fosforilasi sel bakteri dan efeknya terlihat pada mitokondria, yakni pada hubungan substrat Nikotinamida Adenin Dinukleotida (NAD).

Senyawa merkuri membentuk ion $R-Hg^+$, kemudian bereaksi membentuk ikatan kovalen dengan gugus tion enzimatik sel. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Fenol dengan kadar yang rendah membentuk kompleks dengan protein dengan ikatan yang lemah, lalu fenol berpenetrasi ke dalam sel menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Sedangkan fenol dengan kadar tinggi menyebabkan koagulasi protein dan membran sitoplasma lisis.

Senyawa amonium kuartener merupakan kation aktif yang dapat membentuk kompleks yang stabil dengan gugus anion sel bakteri sehingga menyebabkan denaturasi protein dan penghambatan enzim.

3. Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri

Senyawa yang bekerja dengan mekanisme ini yaitu turunan amin dan guanidin, turunan fenol, dan senyawa amonium kuartener. Senyawa-senyawa tersebut menyebabkan kebocoran konstituen sel sehingga bakteri mengalami kematian. Klorheksidin merupakan kation aktif yang berinteraksi dengan gugus anion pada dinding sel bakteri sehingga menghasilkan netralisasi muatan. Antimikroba kemudian diabsorpsi dan menyebabkan kerusakan dinding sel.

4. Interkalasi ke dalam DNA

Senyawa yang termasuk kelompok ini yaitu turunan trifenilmetan dan turunan akridin yang bekerja dengan mengikat asam nukleat secara kuat, menghambat sintesis DNA, dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

5. Pembentukan khelat

Senyawa yang bekerja dengan pembentukan khelat yaitu beberapa turunan fenol, seperti heksoklorofen dan oksikuinolin. Senyawa-senyawa ini dapat membentuk khelat dengan ion Fe dan Cu yang akan masuk ke dalam sel dan dengan kadar yang tinggi menyebabkan gangguan fungsi enzim mikroorganisme.

II.3 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi hambat minimum merupakan konsentrasi terendah dari suatu antimikroba yang dapat menghambat mikroba uji (Balouiri *et al.*,

2016). Adapun metode yang digunakan untuk menentukan nilai KHM yaitu:

a. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang paling tepat untuk menentukan nilai KHM zat antimikroba secara kuantitatif. Prosedur ini melibatkan pengenceran dua kali lipat dari bahan antimikroba. Setelah diencerkan, larutan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media minimal 2 mL (makrodilusi) atau ke dalam *microplate* (mikrodilusi). Kemudian, setiap tabung atau *microplate* diinokulasi dengan mikroba uji. Nilai KHM ditentukan dengan mengamati secara visual ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba setelah inkubasi. (Balouiri *et al.*, 2016).

b. Metode gradien antimikroba (E-test)

Metode gradien antimikroba menggabungkan prinsip metode dilusi dan metode difusi dengan menggunakan strip yang berisi agen antimikroba dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (peningkatan gradien konsentrasi) pada permukaan media agar yang sebelumnya diinokulasi mikroba uji. Nilai KHM ditentukan dengan mengamati perpotongan antara strip dan elips hambatan pertumbuhan mikroba (Balouiri *et al.*, 2016).

II.4 Koefisien Fenol

Koefisien fenol merupakan perbandingan efektivitas atau kemampuan suatu antiseptik atau disinfektan dengan fenol (Vasanthakumari, 2016).

Nilai Koefisien fenol dinyatakan sebagai nilai perbandingan pengenceran tertinggi suatu antimikroba dengan pengenceran baku fenol 5% yang dapat mematikan bakteri uji dalam waktu kontak 10 menit, tetapi tidak mematikan dalam waktu kontak 5 menit. Disinfektan dengan nilai koefisien fenol lebih dari 1 menunjukkan bahwa disinfektan lebih efektif dibanding fenol, sedangkan jika nilai koefisien fenol kurang dari 1 maka disinfektan tersebut kurang efektif dibandingkan fenol (Black & Black, 2018).

Menurut FDA, mikroorganisme yang digunakan yaitu *Salmonella typosa* dan *Staphylococcus aureus* (Djide & Sartini, 2016). Nilai koefisien fenol disinfektan dapat berbeda jika menggunakan mikroorganisme yang berbeda juga (Black & Black, 2018).

Fenol atau asam karbolat (C_6H_5OH) merupakan standar disinfektan yang telah lama digunakan. Senyawa ini pertama kali digunakan sebagai antimikroba oleh Joseph Lister pada tahun 1867 untuk mencegah infeksi setelah operasi (Ghosh, 2006). Potensi senyawa golongan fenol sebagai antimikroba bekerja dengan merusak membran sel, mendenaturasi protein, dan menginaktifkan enzim (Black & Black, 2018).

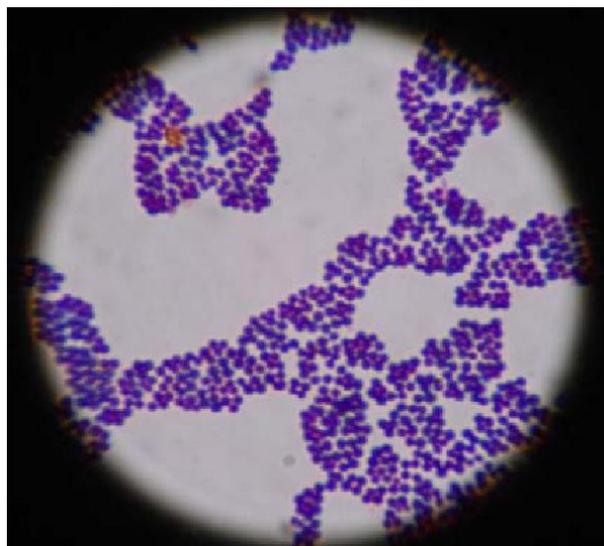
Fenol termasuk agen bakterisida dan fungisida yang ampuh dan berspektrum luas, sehingga dijadikan sebagai zat pembaku untuk pengujian antimikroba (Ghosh, 2006). Namun, fenol tidak lagi digunakan sebagai antiseptik karena bersifat korosif dan toksik. Selain itu, senyawa ini memiliki bau yang menyengat (Vasanthakumari, 2016). Oleh karena itu, derivat fenol telah banyak dikembangkan dengan efek toksik yang lebih

rendah dan efek germisidal yang lebih besar. Contoh turunan fenol yaitu kresol, timol, kloroxilenol, klorokresol, heksaklorofen, dan klorheksidin (Ghosh, 2006).

II.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus berasal dari bahasa Yunani yaitu kata *staphyle* yang berarti sekelompok buah anggur, *kokkos* berarti benih bulat, dan *aureus* (*aurum*) berarti emas (Moise and Sakoulas, 2008). Klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut (Sails & Tang, 2014):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2. Morfologi *S. aureus* (Joshi et al., 2014)

S. aureus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat yang tersusun secara berkelompok seperti anggur, berdiameter 0,5-1,5 μm , tidak bergerak, tidak membentuk spora, dan bersifat fakultatif anaerob, namun tumbuh lebih cepat pada kondisi aerob. Bakteri ini tumbuh optimum pada suhu 37°C, pH 7.4, serta relatif resisten terhadap panas (tahan pada suhu 60°C selamat 30 menit) dan fenol 1% selama 15 menit. Koloni pada media *nutrient agar* berwarna kuning keemasan, menonjol, halus, dan berkilau. *S. aureus* bersifat katalase-positif, oksidatif-negatif, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan memfermentasikan manitol (Bhunia, 2007; Vasanthakumari, 2016).

S. aureus adalah flora normal yang terdapat di kulit, mukosa, hidung (*anterior nares*), nasofaring, dan perineum. Bakteri ini termasuk strain paling patogen dari genus *Staphylococcus* yang merupakan penyebab utama bakteremia, endocarditis infeksi, infeksi kulit dan jaringan lunak, osteomyelitis, artritis septik, pneumonia, *Toxic Shock Syndrome*, infeksi saluran kemih, dan meningitis (Ziad *et al.*, 2020; Tong *et al.*, 2015). Penularan infeksi *Staphylococcus* dapat melalui kontak langsung antar individu, permukaan benda yang terkontaminasi, dan udara (Tille, 2021).

S. aureus memproduksi enzim dan toksin yang dapat menimbulkan penyakit pada organisme. Enzim yang dihasilkan yaitu koagulase, fosfatase, hyaluronidase, staphylokinase, lipase, dan deoksiribonuklease. Adapun toksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* adalah haemolisin (Alpha,

Beta, Gamma, dan Delta), leukosidin, enterotoxin, *toxic shock syndrome toxin* (TSST), dan *exfoliative toxin* (Vasanthakumari, 2016).