

Antibacterial Activity of Pineapple Peel *Eco-enzyme* (*Ananas comosus* L.) on Growth *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*

Hendri, Zulfa Zakiah*, Rikhsan Kurniatuhadi

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia;

Article History

Received : May 26th, 2023

Revised : June 24th, 2023

Accepted : July 14th, 2023

*Corresponding Author:

Zulfa Zakiah, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia; Email:

zulfazakiah@gmail.com

Abstract: Eco-enzyme is a fermented product from an organic waste substrate, molasses, and water. Eco-enzyme can be used as antibacterial because it produces organic compounds such as alcohol and acetic acid. Pineapple peel waste (*Ananas comosus* L.) can be used as an eco-enzyme. This study aimed to test the antibacterial activity of pineapple peel eco enzyme against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. The study used the method of determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Killing Concentration (MBC) of pineapple peel eco-enzyme with 8 treatment levels namely negative control (aquadest), positive control (ciprofloxacin 5 mg/mL), 3.125%, 6.25 %, 12.5%, 25%, 50%, and 100% eco-enzymes. Based on the research results, it was known that the MIC value of pineapple peel eco-enzyme against *P. aeruginosa*, and *S. epidermidis* was 12.5% and 3.125%, respectively. Eco-enzymes from pineapple peel did not show minimum killing concentrations. Eco-enzyme of pineapple peel is only bacteriostatic towards the growth of *P. aeruginosa* and *S. epidermidis* bacteria.

Keywords: Antibacterial, *eco-enzyme*, pineapple peel, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*.

Pendahuluan

Kalimantan Barat merupakan sentra penghasil buah nanas (*Ananas comosus* L.) khususnya di Kabupaten Mempawah dan Kabupaten Kubu Raya (Utomo, 2011). Data terbaru dari Badan Pusat Statistik (BPS) 2020 menunjukkan bahwa produksi nanas di Kalimantan Barat mencapai 208.463 ton. Varietas yang umumnya ditanam dan terdistribusi ke pasar-pasar di Kota Pontianak merupakan jenis nanas ratu raya (*queen*) dan *cayenne* dengan rata-rata produksi sebesar 7,9 ton/hektar. Pemanfaatan buah nanas di Kalbar terbatas pada daging buah sebagai produk olahan makanan sedangkan kulit nanas tidak dimanfaatkan secara langsung (Utomo, 2011).

Buah nanas memiliki proporsi bagian kulit sebesar 21,9% dan merupakan limbah organik yang tidak digunakan. Kurangnya pemanfaatan limbah kulit buah nanas di Kalimantan Barat khususnya di Kota Pontianak

menyebabkan limbah organik meningkat sehingga perlu dilakukan upaya untuk mengubah limbah kulit nanas tersebut menjadi produk yang lebih bermanfaat yaitu *eco-enzyme*. *Eco-enzyme* adalah hasil biokonversi limbah bahan organik yang memiliki aroma yang khas dengan menghasilkan alkohol, asam asetat, asam laktat, dan beberapa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri (Rohmah *et al.*, 2020; Ramadani *et al.*, 2022). *Eco-enzyme* dari berbagai limbah organik seperti kulit rambutan, bonggol jagung, dan kulit labu siam dapat digunakan sebagai antibakteri yang menghasilkan daya hambat sangat kuat pada *Staphylococcus aureus* (Rahayu *et al.*, 2021).

Pembuatan *eco-enzyme* kulit buah yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa bioaktif dalam pembuatan sabun cair (Saifuddin *et al.*, 2021). Kulit nanas merupakan substrat organik yang mengandung karotenoid, flavonoid, enzim bromealin, antosianin, dan vitamin C yang bersifat antibakteri (Suerni *et al.*, 2013). Kulit

nanas mengandung karbohidrat 17,53%, protein 4,41%, gula pereduksi 13,65%, dan serat kasar 20,87% (Munir *et al.*, 2010). Senyawa-senyawa tersebut merupakan bahan baku dalam pembuatan *eco-enzyme*. Hasil penelitian Ramadani *et al.*, (2022) *eco-enzyme* limbah kulit nanas (*Ananas comosus* L.) memperlihatkan aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri penyebab jerawat yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Daya hambat terbesar pada konsentrasi 100% (v/v) dengan diameter daya hambat masing-masing $12,33 \pm 1,37$ mm untuk *S. aureus* dan $8,67 \pm 0,52$ mm untuk *P. acnes*. Berdasarkan penelitian tersebut, *eco-enzyme* limbah kulit nanas dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba khususnya pada bakteri infeksius pada jaringan kulit.

Staphylococcus epidermidis dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan jenis mikroba patogen yang menyerang kulit dan dapat menyebabkan infeksi oportunistik dan infeksi nosokomial pada kulit manusia khususnya penderita luka atau ulkus (Refdanita *et al.*, 2004; Aydin *et al.*, 2005). *S. epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang ditemukan pada luka, kulit, maupun selaput lendir. Bakteri *S. epidermidis* yang menginfeksi kulit dapat menyebabkan pembengkakan pada kulit (abses) seperti jerawat. Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif dan merupakan bakteri patogen infeksius dari rumah sakit (nosokomial) (Nugroho, 2010). Bakteri *P. aeruginosa* pada kulit yang terluka dapat menyebabkan infeksi lanjutan seperti dermatitis, otitis eksterna, dan infeksi luka bakar (Todar, 2004).

Pengujian antimikroba dari *eco-enzyme* kulit nanas dapat menggunakan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan menentukan konsentrasi sampel atau ekstrak terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pengujian dilanjutkan dengan mengukur konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak untuk menentukan konsentrasi perlakuan yang mampu membunuh bakteri uji sehingga dapat bersifat bakterisida. Belum ada informasi yang diperoleh tentang penelitian mengenai potensi antibakteri *eco-enzyme* kulit nanas dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis*. Berdasarkan pemaparan di atas perlu dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan *eco-enzyme*

kulit nanas (*Ananas comosus* L.) sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis* yang menginfeksi kulit manusia berdasarkan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).

Bahan dan Metode

Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain autoklaf, bunsen, alat-alat gelas, cutter, gunting, *hot plate*, jarum ose, inkubator, klem, mikroskop, mikropipet, pH meter, pinset, pisau, rak tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis, shaker, statif, spatula, spuit 5 mL, timbangan analitik, dan *vortex*.

Bahan yang digunakan yaitu alkohol, akuades steril, aluminium foil, plastik kaca, plastik wrap, kapas, kertas label, *Ciprofloxacin*, etanol, gula merah tebu, indikator PP 1%, isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari Laboratorium Kesehatan Kota Pontianak, isolat bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari Laboratorium Mikrobiologi BRIN, kulit buah nanas (*Ananas comosus* L.), media NA (*Nutrient Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), NaOH, dan sabun pembersih.

Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang terdiri atas 8 perlakuan dan dilakukan sebanyak 3 kali (triplo) dengan rujukan literatur Ramadani *et al.* (2022) yaitu:

- Kontrol Positif (*Ciprofloxacin* 5 mg/mL)
- Kontrol Negatif (Akuades steril)
- Perlakuan 1 (*Eco-enzyme* konsentrasi 3,125%)
- Perlakuan 2 (*Eco-enzyme* konsentrasi 6,25%)
- Perlakuan 3 (*Eco-enzyme* konsentrasi 12,5%)
- Perlakuan 4 (*Eco-enzyme* konsentrasi 25%)
- Perlakuan 5 (*Eco-enzyme* konsentrasi 50%)
- Perlakuan 6 (*Eco-enzyme* konsentrasi 100%)

Preparasi dan pembuatan *Eco-enzyme*

Kulit nanas dalam keadaan segar dicuci bersih dengan air kemudian dipotong-potong hingga berukuran kecil. Kulit nanas sebanyak 300 gram dimasukkan dalam wadah plastik, selanjutnya ditambahkan 100 gram gula merah tebu dan dilarutkan dalam 1000 mL air. Wadah

tersebut kemudian ditutup dan difermentasikan selama 3 bulan. *Eco-enzyme* yang telah difermentasikan selama 3 bulan kemudian dilakukan penyaringan bahan organik dan sisa larutan disimpan dalam wadah steril (Galintin *et al.*, 2021).

Pembuatan media

Media yang digunakan dalam penelitian adalah Nutrient Agar dan Nutrient Broth sintetik. Pembuatan media NB dilakukan dengan menimbang 13 gram serbuk media NB dan dilarutkan dalam 1 liter akuades steril. Setelah larut kemudian diukur pH-nya sampai angka 6,8-7. Pembuatan media NA dilakukan dengan cara melarutkan 20 gram serbuk media NA dengan 1000 mL akuades di dalam erlenmeyer sambil dipanaskan. Setelah larut, media tersebut diukur pH-nya hingga 7, kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Yulinar *et al.*, 2013). Media NB digunakan untuk penentuan KHM sedangkan media NA digunakan untuk perbanyakan isolat kultur, penentuan KBM, dan menghitung jumlah bakteri melalui metode Total Plate Count (TPC).

Peremajaan bakteri uji

Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil biakan murni bakteri uji sebanyak satu ose. Jarum ose kemudian digoreskan pada media NA di dalam cawan petri, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Peremajaan atau regenerasi bakteri bertujuan untuk memulai kembali metabolisme pada bakteri uji yang disimpan (Wijayanti *et al.*, 2014).

Pembuatan suspensi bakteri uji

Botol steril ukuran 150 mL sebanyak 2 botol digunakan untuk masing-masing bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Botol steril tersebut kemudian dimasukkan media *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 50 mL dan dimasukkan 2-3 ose bakteri uji secara steril untuk kultur suspensi. Setelah itu, botol yang berisi kultur suspensi diinkubasi dan dihomogenkan dengan shaker pada suhu ruang selama 6-18 jam. Kultur suspensi yang telah diinkubasi kemudian diukur kekeruhannya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm sampai

angka *Optical Density* (OD) sebesar 0,8-1. Serapan yang diujikan setara dengan standar Mc Farland 0,5 dengan estimasi jumlah sel sebesar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Claudia *et al.*, 2021). Nilai OD bakteri *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis* sesuai standar terjadi pada inkubasi 18 jam dengan angka 0,81.

Uji aktivitas antibakteri

Penentuan nilai KHM menggunakan metode dilusi cair dengan mengukur nilai absorbansi untuk melihat pertumbuhan bakteri yang diuji. Pengukuran absorbansi dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi 24 jam menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Lennette *et al.*, 1991). Sebanyak 5 mL media *Nutrient Broth* (NB) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2,5 mL larutan uji *eco-enzyme* dan 2,5 mL suspensi bakteri uji untuk setiap konsentrasi perlakuan. Kontrol positif menggunakan *Ciprofloxacin* 5 mg/mL dan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Pengamatan kekeruhan dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi (24 jam, suhu 37°C) dengan melihat nilai *Optical Density* (OD) pada gelombang 600 nm menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis (Mawea *et al.*, 2019). Menurut Astutiningsih *et al.* (2014), bakteri dikatakan terhambat pertumbuhannya saat nilai absorbansi (*optical density*) konstan atau lebih rendah dari sebelum inkubasi.

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan menggunakan larutan uji KHM yang memiliki nilai *Optical Density* (OD) 1 x 24 jam dari semua perlakuan yang diujikan. Penentuan nilai KBM dilakukan dengan menggoreskan larutan uji (*Streak plate method*) dengan goresan sinambung pada cawan petri yang berisi media NA kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C dengan inkubasi 48, 72, dan 96 jam. Nilai KBM ditentukan oleh ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media NA (Rollando *et al.*, 2019).

Pengujian KBM dilanjutkan dengan penentuan populasi bakteri pada setiap perlakuan uji. Sampel yang digunakan berasal dari larutan uji KHM dengan rentang waktu inkubasi 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam dan dihitung secara terpisah. Penentuan jumlah koloni bakteri dilakukan dengan metode tuang (*pour plate method*). Penentuan jumlah koloni bakteri melalui TPC dilakukan dengan dilusi atau

pengenceran bertingkat yaitu mengambil 1 mL larutan uji KHM kemudian dimasukkan dalam 9 mL NaCl fisiologis 0,9% pada tabung reaksi, setelah itu dihomogenkan menggunakan vortex (Pengenceran 10^{-1}). Dilusi dilakukan berlanjut hingga pengenceran 10^{-5} sehingga terbentuk sampel yang digunakan yaitu pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} dan dilakukan duplo (Sukmawati dan Hardianti, 2018).

Pengukuran konsentrasi alkohol, asam asetat, dan pH pada *Eco-enzyme*

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan kertas pH (Rahayu *et al.*, 2021). Pengukuran kadar asam asetat dan alkohol dilakukan melalui uji kuantitatif menggunakan titrasi alkalimetri dengan NaOH sebagai titer. Pembakuan NaOH yang digunakan yaitu dengan konsentrasi 0,1 N. Prosedurnya pengujian dilakukan menurut Dewi *et al.*, (2016) yaitu dengan mengambil sebanyak 10 mL *eco-enzyme* kemudian diberikan 3 tetes indikator fenolftalein (PP) 1%, selanjutnya dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga berubah warna dan dicatat volume yang digunakan. Konsentrasi alkohol dan asam asetat dihitung menggunakan persamaan 1.

$$\text{Persentase} = \frac{M \text{ NaOH} \times V \text{ NaOH} \times Mr}{V \text{ Sampel} \times 1000} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

M NaOH = Molaritas NaOH yang digunakan (N)

V NaOH = Volume NaOH untuk titrasi (mL)

Mr = Massa relatif senyawa

V Sampel = Volume *eco-enzyme* yang digunakan

Hasil dan Pembahasan

Penentuan nilai pH, konsentrasi alkohol, dan konsentrasi asam asetat

Hasil uji penentuan nilai pH menunjukkan angka 3,00 sehingga *eco-enzyme* kulit nanas bersifat asam. Hasil pengukuran dengan titrasi alkalimetri menunjukkan nilai konsentrasi asam asetat pada *eco-enzyme* kulit nanas lebih besar dibandingkan konsentrasi alkohol (Tabel 1). *Eco-enzyme* kulit nanas merupakan produk fermentasi dengan bahan dasar limbah organik yang diketahui menghasilkan alkohol dan asam asetat. Adanya alkohol pada *eco-enzyme* kulit nanas dikarenakan substrat mengandung senyawa organik berupa karbohidrat yang digunakan dalam proses fermentasi. Selain itu,

kandungan protein pada kulit nanas mendukung aktivitas mikroba dalam penguraian karbohidrat menjadi etanol. Menurut Munir *et al.* (2010) kulit nanas mengandung karbohidrat dan protein sebanyak 17,53% dan 4,41%. Menurut Yudiantara *et al.* (2022); Naufal dan Warmadewanthi (2015), karbohidrat merupakan sumber karbon yang digunakan dalam proses fermentasi sedangkan protein merupakan sumber nitrogen untuk pembentukan protein fungsional sehingga dapat meningkatkan aktivitas mikroba dalam menguraikan gula menjadi etanol.

Tabel 1. Konsentrasi alkohol, asam asetat, dan nilai pH

No.	Jenis Pengujian	Hasil
1.	Alkohol	5,75 ± 0,2%
2.	Asam Asetat	7,50 ± 0,1%
3.	pH	3,00

Proses fermentasi yang terjadi dibantu oleh *yeast* yang akan mengubah glukosa menjadi asam piruvat (Madigan, 2002). Asam piruvat akan diuraikan menjadi asetaldehid oleh piruvat karboksilase dalam kondisi anaerob. Fermentasi dilanjutkan dengan bantuan alkohol dehidrogenase untuk mengubah asetaldehid menjadi alkohol/etanol dan karbondioksida. Konsentrasi alkohol yang dihasilkan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan Yudiantara *et al.*, (2022) dimana *eco-enzyme* kulit nanas dengan fermentasi menggunakan gula merah aren diperoleh konsentrasi alkohol sebesar 6,83%. Penelitian Samriti *et al.* (2019) menyebutkan bahwa *eco-enzyme* gabungan limbah kulit buah pepaya, pisang, sapodilla, dan pomegrana dengan campuran molase menghasilkan persentase alkohol sebesar 18%.

Adanya perbedaan konsentrasi alkohol pada *eco-enzyme* dapat terjadi karena jenis substrat organik (limbah) yang digunakan berbeda. Penelitian ini menggunakan satu jenis limbah yaitu kulit nanas sedangkan penelitian Samriti *et al.* (2019) menggunakan berbagai jenis limbah kulit buah yang dapat memengaruhi jumlah senyawa organik seperti karbohidrat yang dibutuhkan dalam proses fermentasi. Selain itu, perbedaan jenis gula sebagai sumber glukosa pada fermentasi *eco-enzyme* dapat menyebabkan perbedaan persentase alkohol. Hal ini dikarenakan keberadaan gula sederhana pada gula merah tebu (molase) lebih rendah

dibandingkan gula merah aren. Menurut Heryani (2016); Hasanah (2017) gula merah tebu memiliki kandungan sukrosa 11- 16% dan gula pereduksi 0,4-2% sedangkan gula merah aren memiliki sukrosa 84,31% dan gula pereduksi 0,53%. Susijahadi *et al.* (1997) menyebutkan konsentrasi gula awal berpengaruh terhadap jumlah alkohol yang dihasilkan.

Adanya asam asetat dikarenakan perubahan alkohol menjadi asam organik dengan bantuan bakteri asam asetat selama fermentasi berlangsung. Menurut Salle (1974), asam asetat pada proses fermentasi dikarenakan adanya bakteri *Acetobacter* yang merubah alkohol menjadi asetaldehid dan air, kemudian asetaldehid diubah menjadi asam asetat. Pembentukan asam organik seperti asam asetat terjadi setelah pembentukan alkohol pada fermentasi *eco-enzyme*. Menurut Rohmah *et al.* (2020), terbentuknya asam organik dikarenakan alkohol bereaksi dengan oksigen dan menghasilkan senyawa asam karboksilat seperti asam asetat. Penelitian Samriti *et al.* (2019) pada *eco-enzyme* gabungan limbah kulit buah pepaya, pisang, sapodilla, dan pomegrana menunjukkan konsentrasi asam asetat sebesar 4,2%.

Pengujian aktivitas antibakteri Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi hambat minimum (KHM) *eco-enzyme* kulit nanas terhadap *P. aeruginosa* adalah 12,5%, sedangkan pada *S. epidermidis* yaitu 3,125% (Tabel 2). Berdasarkan pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM), *eco-enzyme* kulit nanas memiliki kemampuan

menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Hambatan diketahui dengan penurunan nilai *Optical Density* (OD) yang merupakan jumlah bakteri setelah inkubasi 24 jam. Menurut Benson (2002), nilai absorbansi/OD yang diujikan menunjukkan hubungan sebanding dengan jumlah sel bakteri. Aktivitas antibakteri *eco-enzyme* kulit nanas yang diperoleh berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* perlakuan ketiga sehingga 24 ditetapkan nilai KHMnya yaitu 12,5%. Bakteri *S. epidermidis* diketahui *eco-enzyme* kulit nanas menunjukkan penghambatan pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% sehingga ditetapkan nilai KHMnya yaitu 3,125%.

Masing-masing konsentrasi *eco-enzyme* memberikan pengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri uji dengan nilai yang berbeda. Penghambatan bakteri terjadi dikarenakan aktivitas senyawa antibakteri yang terkandung pada *eco-enzyme* kulit nanas berupa alkohol, asam asetat, dan senyawa metabolit sekunder. Menurut Talaro (2008); Russell dan Gonzalez (1997), alkohol memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas yang menghambat pertumbuhan bakteri dan asam asetat mempunyai efek antimikroba. Menurut McDonnell *et al.* (1999) alkohol dapat bersifat menghambat dengan cara merusak membran sel bakteri sehingga komponen intrasel keluar. Mekanisme lain dari alkohol bekerja dengan cara mendenaturasi protein-protein di dalam sel, sehingga kinerja enzim yang dihasilkan bakteri terhambat dan mengganggu metabolisme seluler.

Tabel 2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum *Eco-enzyme* Kulit Nanas terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	Rerata Nilai <i>Optical Density</i> (OD)			Rerata Nilai <i>Optical Density</i> (OD)		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Persentase Penurunan	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		Persentase Penurunan
	Sebelum Inkubasi (0 jam)	Sesudah Inkubasi (24 jam)		Sebelum Inkubasi (0 jam)	Sesudah Inkubasi (24 jam)	
Kontrol Negatif	0,870 ± 0,028	0,850 ± 0,008	-	0,716 ± 0,003	0,713 ± 0,001	-
Kontrol Positif	1,128 ± 0,001	0,877 ± 0,024	22,25%	0,820 ± 0,059	0,551 ± 0,014	32,8%
3,125% (P1)	0,879 ± 0,006	0,900 ± 0,057	-	0,707 ± 0,005	0,608 ± 0,013	14%
6,25% (P2)	0,877 ± 0,003	0,911 ± 0,028	-	0,702 ± 0,001	0,568 ± 0,015	19,08%

12,5% (P3)	0,880 ± 0,014	0,874 ± 0,038	0,68%	0,705 ± 0,003	0,639 ± 0,022	9,36%
25% (P4)	0,855 ± 0,003	0,888 ± 0,033	-	0,714 ± 0,007	0,644 ± 0,007	9,80%
50% (P5)	0,879 ± 0,016	0,904 ± 0,039	-	0,730 ± 0,002	0,642 ± 0,006	12,05%
100% (P6)	0,924 ± 0,003	0,953 ± 0,046	-	0,726 ± 0,017	0,693 ± 0,045	4,54%

Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa penghambatan aktivitas pertumbuhan bakteri semakin besar jika konsentrasi larutan uji yang digunakan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan kandungan metabolit yang bersifat sebagai antibakteri di dalam larutan uji semakin besar. Namun hal tersebut tidak sesuai hasil penelitian ini, yaitu pada perlakuan konsentrasi 25%, 50%, dan 100% *eco-enzyme* kulit nanas terhadap *P. aeruginosa* terlihat adanya kenaikan nilai OD setelah inkubasi 24 jam. Peningkatan nilai OD menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri masih terjadi setelah diberi perlakuan. Hasil yang sama didapatkan oleh Dewi (2010) dan Wiharningtias *et al.* (2016) dimana pada konsentrasi 25% dan 50% mengalami kenaikan nilai OD dibandingkan konsentrasi terendah pengujian yang ditetapkan sebagai KHM.

Penyebabnya karena pada saat analisis spektrofotometri, konsentrasi perlakuan yang lebih tinggi secara visual terlihat lebih keruh dibandingkan konsentrasi lebih rendah sehingga sebagian cahaya yang diserap tidak diteruskan. Peningkatan nilai OD tidak sepenuhnya disebabkan oleh pertumbuhan bakteri, hal ini bisa terjadi dikarenakan masih terdapatnya residu ekstrak pada konsentrasi tinggi (pekat) yang memengaruhi analisis spektrofotometri serta besarnya cahaya yang diserap oleh sel

bakteri yang telah mati (Dewi, 2010; Purwoko, 2009).

Hasil penelitian terlihat bahwa *S. epidermidis* lebih sensitif terhadap *eco-enzyme* kulit nanas dibandingkan dengan *P. aeruginosa*. Hal ini diduga karena adanya perbedaan struktur penyusun dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif menyebabkan terjadinya perbedaan aktivitas penghambatan oleh senyawa antibakteri. Menurut Paustian (1999), bakteri gram positif tidak mempunyai membran luar (*outer membrane*) yang mengakibatkan senyawa antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel. Menurut Rini dan Rohmah (2020), membran luar pada bakteri gram negatif tersusun atas lipoprotein dan fosfolipid yang menyebabkan lebih tahan atau kuat terhadap senyawa antibakteri dibandingkan bakteri gram positif. Selanjutnya Siswandono dan Soekardjo (2000) menjelaskan bahwa bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang relatif kompleks sehingga senyawa antibakteri lebih sulit masuk ke dalam sel.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Hasil pengujian nilai konsentrasi bunuh minimum ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil penentuan estimasi jumlah bakteri setelah perlakuan ditunjukkan pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 3. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum *Eco-enzyme* Kulit Nanas terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Staphylococcus epidermidis</i>		
	48 Jam	72 Jam	96 Jam	48 Jam	72 Jam	96 Jam
Kontrol Negatif	+	+	+	+	+	+
Kontrol Positif	+	+	-	-	-	-
3,125% (P1)	+	+	+	+	+	+
6,25% (P2)	+	+	+	+	+	+
12,5% (P3)	+	+	+	+	+	+
25% (P4)	+	+	+	+	+	+
50% (P5)	+	+	+	+	+	+
100% (P6)	+	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = Bakteri uji tumbuh; (-) = Bakteri uji tidak tumbuh

Tabel 4. Nilai Estimasi Jumlah Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah Perlakuan dengan *Total Plate Count* (TPC)

Perlakuan	Jumlah Bakteri (CFU/mL)				
	0 jam ($\times 10^8$)	24 jam ($\times 10^5$)	48 jam ($\times 10^5$)	72 jam ($\times 10^5$)	96 jam ($\times 10^5$)
Kontrol Negatif	1,5 \pm 0,00	6,75 \pm 0,03	20,25 \pm 0,03	28,02 \pm 0,03	23,8 \pm 0,03
Kontrol Positif	1,5 \pm 0,00	1,30 \pm 0,04	0,16 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0
3,125% (P1)	1,5 \pm 0,00	11,0 \pm 0,11	16,62 \pm 0,01	19,55 \pm 0,01	14,14 \pm 0,01
6,25% (P2)	1,5 \pm 0,00	6,46 \pm 0,09	6,50 \pm 0,02	10,71 \pm 0,01	23,43 \pm 0,01
12,5% (P3)	1,5 \pm 0,00	6,30 \pm 0,09	7,17 \pm 0,02	14,21 \pm 0,03	23,50 \pm 0,02
25% (P4)	1,5 \pm 0,00	8,82 \pm 0,01	12,6 \pm 0,01	25,89 \pm 0,05	13,55 \pm 0,03
50% (P5)	1,5 \pm 0,00	9,55 \pm 0,01	20,15 \pm 0,01	24,59 \pm 0,02	20,99 \pm 0,02
100% (P6)	1,5 \pm 0,00	5,00 \pm 0,01	15,30 \pm 0,01	23,25 \pm 0,01	23,28 \pm 0,02

Tabel 5. Nilai Estimasi Jumlah Bakteri *Staphylococcus epidermidis* setelah Perlakuan dengan *Total Plate Count* (TPC)

Perlakuan	Jumlah Bakteri (CFU/mL)				
	0 jam ($\times 10^8$)	24 jam ($\times 10^6$)	48 jam ($\times 10^6$)	72 jam ($\times 10^6$)	96 jam ($\times 10^6$)
Kontrol Negatif	1,5 \pm 0,00	8,63 \pm 0,03	8,93 \pm 0,02	9,93 \pm 0,01	11,5 \pm 0,02
Kontrol Positif	1,5 \pm 0,00	0	0	0	0
3,125% (P1)	1,5 \pm 0,00	2,23 \pm 0,01	3,95 \pm 0,01	5,01 \pm 0,01	11,01 \pm 0,02
6,25% (P2)	1,5 \pm 0,00	2,66 \pm 0,07	2,85 \pm 0,02	8,10 \pm 0,01	10,28 \pm 0,01
12,5% (P3)	1,5 \pm 0,00	7,16 \pm 0,01	5,84 \pm 0,01	7,72 \pm 0,01	10,85 \pm 0,03
25% (P4)	1,5 \pm 0,00	3,51 \pm 0,01	4,40 \pm 0,03	7,53 \pm 0,02	8,54 \pm 0,01
50% (P5)	1,5 \pm 0,00	5,62 \pm 0,01	2,99 \pm 0,04	9,56 \pm 0,02	9,67 \pm 0,08
100% (P6)	1,5 \pm 0,00	5,24 \pm 0,01	3,13 \pm 0,03	8,86 \pm 0,05	10,82 \pm 0,09

Pengujian nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) dilakukan secara kualitatif dengan melihat pertumbuhan bakteri pada media NA dengan metode goresan. Hal ini terlihat dengan adanya pertumbuhan bakteri uji pada media NA dalam rentang waktu inkubasi tersebut. Menurut Radji (2014), konsentrasi bunuh minimum merupakan kadar atau konsentrasi terendah antimikroba yang dapat membunuh 99,9% mikroorganisme setelah inkubasi 18 jam. Berdasarkan hal ini, diketahui bahwa *eco-enzyme* kulit nanas hanya bersifat bakteristatik terhadap pertumbuhan bakteri dan tidak memiliki sifat bakterisida atau membunuh bakteri secara keseluruhan.

Perhitungan nilai TPC *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis* dengan waktu inkubasi 24-96 jam terhadap semua konsentrasi menunjukkan jumlah bakteri yang bervariasi dibandingkan kontrol negatif. Pertumbuhan kedua bakteri uji pada inkubasi 24 jam menunjukkan jumlah bakteri yang lebih rendah dibandingkan sebelum inkubasi. Hal ini disebabkan aktivitas antibakteri *eco-enzyme* kulit nanas berupa senyawa asam asetat dan alkohol terhadap *Pseudomonas*

aeruginosa dan *Staphylococcus epidermidis*. Menurut Nagoba *et al.* (2013) konsentrasi asam asetat yang dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* pada rentang 0,5-5%. Konsentrasi minimal asam asetat yang dapat menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* yaitu 1% (Bjarnsholt *et al.*, 2014). Pemberian asam organik pada media mengubah derajat keasaman yang menyebabkan akumulasi toksin sehingga mengganggu pembelahan sel (Riadi, 2016). Selain itu, perubahan pH media menjadi tidak optimum dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan bakteri. Penghambatan pertumbuhan pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* terjadi karena bakteri ini memiliki pH optimum pertumbuhan yaitu 6,5-7 (Sankaralingam *et al.* 2014; Iyer *et al.*, 2021).

Kenaikan jumlah bakteri *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis* terjadi pada fase inkubasi 48-72 jam dibandingkan inkubasi 24 jam. Hal ini diduga bakteri telah beradaptasi dengan perlakuan yang diberikan sehingga memungkinkan terjadinya pembelahan sel. Sel bakteri yang telah beradaptasi pada media atau

lingkungan baru akan mulai berkembang dan membelah secara eksponensial (Llorens *et al.*, 2010). Pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* pada beberapa perlakuan diinkubasi 96 jam menunjukkan penurunan jumlah bakteri. Hal ini diduga bakteri telah kehabisan nutrisi dan jumlah akumulasi toksin meningkat seiring waktu inkubasi yang panjang. Penurunan jumlah sel dalam pertumbuhan bakteri dikarenakan keterbatasan nutrisi dan akumulasi toksin dari metabolit sekunder bakteri sehingga jumlah sel menurun secara bertahap (Madigan *et al.*, 2012). Hal ini berbeda dengan bakteri *S. epidermidis* waktu inkubasi 96 jam dimana pertumbuhan jumlah bakteri semakin naik.

Perlakuan yang diberikan dapat ditoleransi oleh bakteri meskipun kecepatan dan jumlah bakteri lebih rendah dibandingkan kontrol negatif. Jumlah sel yang naik atau turun pada perlakuan bergantung pada kecepatan penyesuaian bakteri terhadap lingkungannya (Sumarsih, 2003). Berdasarkan hasil penelitian diketahui seluruh konsentrasi *eco-enzyme* kulit nanas pada bakteri *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis* hanya memberikan penghambatan pertumbuhan secara sementara (bakteriostatik) pada inkubasi 24 jam. Perlakuan setelah melewati waktu inkubasi 48-96 jam bakteri masih dapat tumbuh sehingga *eco-enzyme* kulit nanas tidak bersifat membunuh bakteri secara keseluruhan.

Kesimpulan

Penelitian yang telah dilakukan membuktikan adanya aktivitas antibakteri *eco-enzyme* kulit nanas terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Nilai konsentrasi hambat minimum *eco-enzyme* kulit nanas terhadap *S. epidermidis* yaitu 3,125% sedangkan *P. aeruginosa* yaitu 12,5%. Nilai konsentrasi bunuh minimum tidak ditemukan pada penelitian ini. Penelitian ini dapat menjadi dasar dalam pemanfaatan limbah organik kulit nanas menjadi produk *eco-enzyme* yang dapat dimanfaatkan sebagai antiseptik alami.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Comdev dan Outreach Universitas Tanjungpura melalui program bidikmisi yang telah mendanai penelitian ini.

Referensi

- Astutiningsih C, Setyani W, Hindratna H. (2014). Uji Daya Antibakteri dan Identifikasi Isolat Senyawa Katekin dari Daun Teh (*Camellia sinensis* L. var *Assamica*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Vol 11(2). DOI: <https://doi.org/10.24071/jpsc.00100>
- Ayudin S, Ciltas A, Yetim H, Akyurt I. (2005). Clinical, Pathologi, and Haematological Effect of *Micrococcus luteus* in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Jurnal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2) : 167-174. <https://medwelljournals.com/abstract/?doi=javaa.2005.167.174>
- Benson H. (2002). *Microbiological Applications Laboratory Manual in*. New York: McGraw Hill.
- Bjarnsholt T, Morten A, Peter OJ, Anne KN, Helle KJ. (2014). Antibiofilm Properties of Acetic Acid. *Advances in Wound Care*. 4(7):363-372. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/wound.2014.0554>.
- Claudia K, Nursyirwani M, Effendi I. (2021). Biodegradability of Preteolytic Bacteria in Mangrove Ecosystems. *Journal of Coastal and Ocean Sciences*. 2(2): 120-126. DOI: <http://dx.doi.org/10.31258/jocos.2.2.120-126>
- Dewi FK. (2010). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret. <http://eprints.uns.ac.id/4024/>
- Dewi MA, Anugrah R, Nurfitri YA. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekoenzim Terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*, *Prosiding Seminar Nasional Farmasi 2 UNJANI Pemanfaatan Ilmu Farmasi dan Klinis Serta Regulasinya dalam Pelayanan Kefarmasian di Indonesia 2016*, Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani. 1:60-68. <http://snifa.unjani.ac.id/wp-content/uploads/2017/08/011.pdf>
DOI: <https://doi.org/10.20956/mff.v23i2.6585>

- Galintin O, Nazaitulshila R., Sofiah H. (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. DOI: <http://dx.doi.org/10.33263/BRIAC113.1020510214>
- Hasanah SZ. (2017). *Pengaruh Perbandingan Gula Merah Cair dan Nira terhadap Karakteristik Gula Semut (Palm Sugar)*. [Skripsi] Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Pasundan Bandung. <http://repository.unpas.ac.id/id/eprint/14245>
- Heryani H. (2016). *Keutamaan Gula Aren dan Strategi Pengembangan Produk*. Banjarmasin. Mangkurat University Press. <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/e-dusaintek/article/view/582/584#>
- Iyer V, Janhavi R, Anindya D. (2021). Impact of pH on Growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* in Vitro. *Journal of Medical Microbiology*. 70(9). DOI: <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.001421>
- Lennette TH, Barilows A, Hauslr WJJ, Shadoni, HJ.(1991). *Manual Clinical Microbiology (5th Edition)*, Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Madigan MT, David P, Clarck DJ, Martinko M. (2002). *Brock Microbiology of Microorganisms*. San Francisco. Benjamin Cummings Publishing.
- Madigan MT, David P, Clarck DJ, Martinko M. (2012). *Brock Microbiology of Microorganisms (13th Edition)*. New York. Pearson.
- Mawea F, Maarisit W, Datu O, Potalangi N. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Cempedak *Artocarpus integer* Sebagai Antibakteri. *Jurnal Biofarmastikal Tropis*, 2(1): 115-122. DOI:<http://dx.doi.org/10.55724/jbiofarmastro.p.v2i1.52>
- McDonnell G, Russell AD. (1999). Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 12:147-179. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>
- Munir S, Handayani S, Fanani A, Pranna AY. (2010). *Pemanfaatan Kulit dan Bonggol Nanas untuk Mempercepat proses Pembuatan Tempe Guna Meningkatkan Laba Pengusaha Tempe*. PKMK-1-13-1 Hal 3.
- Nagoba BS, Selkar SP, Wadher BJ, Gandhi RC. (2013). Acetic Acid Treatment of *Pseudomonas* Wound Infections A Review. *Journal of Infection and Public Health*. 6:410-415. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2013.05.005>
- Naufal M, Warmadewanthi. (2015). Penambahan Nitrogen pada Produksi Bioetanol dengan Metode Simultaneous Saccharification and Fermentation. *Jurnal Purnifikasi*. Vol. 15(1). DOI: <http://dx.doi.org/10.12962/j25983806.v15.i1.24>
- Nugroho AW. (2010). *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, and Adelbergs*. Jakarta: EGC.
- Purwoko T. (2009). *Fisiologi Mikroba*. Jakarta. Bumi Aksara.
- Rahayu MR, I Nengah M, Situmerang YP. (2021). Acceleration of Production Natural Disinfectants from the Combination of Eco-enzyme Domestic Organism Waste and Frangipani Flowers (*Plumeria alba*). *Sustainable Environmental Agricultural Science (SEAS)*. Vol. 5(1): 15 – 21. DOI: <http://dx.doi.org/10.22225/seas.5.1.3165>. 15-21
- Ramadani AH, Karima R, Ningrum RS. (2022). Antibacterial Activity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Eco-enzyme Against Acne Bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes*). *Indonesian Journal of Chemical Research*, Vol. 9(3). DOI:<http://dx.doi.org/10.30598/ijcr.2022.9-nin>
- Refdanita, Maksu R, Nurgani A, Endang P. (2004). Faktor yang Mempengaruhi Ketidaksesuaian Penggunaan Antibiotika dengan Uji Kepekaan di Ruang Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*, Vol. 8(1):2 –26. <http://www.ijil.ui.ac.id/index.php/health/article/viewPDFInterstitial/265/261>

- Riadi M. (2016). *Pertumbuhan Mikroorganisme*. Bandung. Kaji Pustaka.
- Rini CS, Rohmah J. (2020). *Bakteriologi Dasar*. Sidoarjo. UMSIDA Press.
- Rohmah NU, Astuti AP, Maharani ETW. (2020). Organoleptic Test of The *Eco-enzyme* Pineapple Honey with Variations in Water Content. *Seminar Nasional Edusaintek*: Vol (4):408-414. <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/edusaintek/article/view/582/584>
- Rollando R, Prasetyo YSA, Sitepu R. (2019). Uji Antimikroba Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 23 (2) : 52-57.
- Russell JB, Gonzalez DZ. (1998). The Effects of Fermentation Acids on Bacterial Growth. *Adv Microb Physiol*. 39:205-234. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(08\)60017-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(08)60017-X)
- Saifuddin S, Syahyadi R, Nahar N, Bahri S. (2021). Peningkatan Kualitas Utilization of Domestic Waste for Bar Soap and Enzyme Cleanner (*Eco-enzyme*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Sabun, *Jurnal Hasil-hasil Penerapan IPTEKS dan Pengabdian Pada Masyarakat*, 5(1) : 45-56. DOI: <http://dx.doi.org/10.30811/vokasi.v5i1.12158>
- Salle AJ. (1974). *Fundamental Principles of Bacteriology*. New Delhi. Mc-Graw Hill.
- Samriti SS, Arti A. (2019). Garbage Enzyme : A Study on Compositional Analysis Kitchen Waste Ferments. *The Pharma Innovation Journal*. 8(4):1193-1197. DOI: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2019/vol8issue4/PartR/8-7-10-596.pdf>
- Sankaralingam S, Eswaran S, Balakan B, Sundaran VM, Shankar T. (2014). Screening and Growth Characterization of Phosphate Solubilizing Bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *Advances in Environmental Biology*. 8(13):673-680. https://www.researchgate.net/publication/299656324_Screening_and_Growth_Characterization_of_Phosphate_Solubilizing_Bacterium_Pseudomonas_aeruginosa
- Siswandono SB. (2000). *Kimia Medisinal Jilid II*. Surabaya. Airlangga University Press.
- Suerni E, Alwi M, Guli M. (2013). Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr), Salak (*Salacca edulis* Reinw), dan Mangga Kweni (*Mangifera odorata* Griff). Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Biocelebes*. 7(1):35-47. <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/Biocelebes/article/view/3902>
- Sukmawati FH. (2018). Analisis *Total Plate Count* (TPC) Mikroba Pada Ikan Asin Kakap di Kota Sorong Papua Barat. *Jurnal Biodjati*. 3 (1). DOI: <https://doi.org/10.15575/biodjati.v3i1.2368>
- Sumarsih. (2003). *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: UPN.
- Susijahadi N, Kurniawan MF. (1997). Pengendalian Fermentasi dengan Pengaturan Konsentrasi Gula Hasil Hidrolisis Onggok Tepung Tapioka untuk Menghasilkan Alkohol. *Prosiding Seminar Teknologi Pangan*. 45-54. <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/26594>
- Talaro. (2008). *Foundation in Microbiology Basic Principle, Fifth Edition*. USA. Mc Graw Hill Higer Education.
- Todar K. (2004). *Textbook of Bacteriology: Pseudomonas aeruginosa*, University of Winconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Utomo PP. (2011). Pemanfaatan Nanas (*Ananas comosus*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol dengan Metode Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak. *Biopropal Industri*. Vol 2(1). 53174-ID-none.pdf (neliti.com)
- Wiharningtias I, Waroruntu O, Juliatri. (2016). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5:18-25. DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.13969>
- Wijayati N, Astutiningsih C, Mulyati S. (2014). Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923, *Biosantifika*, Vol. 5 (1). DOI: <https://doi.org/10.15294/biosantifika.v6i1.2931>

Yudiantara IBW, Wrasati LP, Arnata IW. (2022). The Effect of Brown Sugar Addition on Characteristics of *Eco-enzyme* from Pineapple Peels (*Ananas comosus*). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 10(3). DOI: <https://doi.org/10.24843/JRMA.2022.v10.i03.p03>

Yulinar. (2013). Bioaktivitas Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas Merah (*Alipinia purpurata* K. Schum) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. [Skripsi]. Universitas Hasanuddin Makassar. <http://repository.unhas.ac.id:443/id/eprint/8691>