



PROFIL METABOLOMIK DAN STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA AKTIF ECO ENZYME DARI KULIT BUAH JERUK NIPIS DAN KULIT BUAH MANGGIS SEBAGAI KANDIDAT ANTIBAKTERI UNTUK FORMULASI HAND SANITIZER ALAMI

Putu Irwan Mambre Wipranata^{1□}, Sylvia Rizky Prima², Iyan Hardiana³

¹²³, Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta
putumambre@gmail.com, sylvia.prima@uta45jakarta.ac.id

Abstrak

Latar belakang penelitian ini adalah potensi eco enzyme hasil fermentasi limbah kulit jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) dan kulit manggis (*Garcinia mangostana*) sebagai sumber antibakteri alami. Pendekatan integrasi metabolomik dan molecular docking digunakan untuk mempercepat identifikasi senyawa aktif dalam pengembangan hand sanitizer alami yang aman dan efektif. Penelitian bertujuan menilai potensi antibakteri eco enzyme melalui pemetaan metabolomik, uji in silico, dan verifikasi in vitro. Limbah kulit difermentasi selama ± 3 bulan, kemudian dikarakterisasi secara organoleptik dan pH. Profil kimia dianalisis menggunakan LC-HRMS, dan kandidat senyawa didocking terhadap DNA gyrase *E. coli* serta PBP2a *S. aureus*. Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram pada MHA (37 °C, 18–24 jam), termasuk pada formulasi hand sanitizer berbasis etanol, gliserol, H₂O₂, dan air dengan variasi kadar eco enzyme. Mutu fisik sediaan juga dievaluasi. Data dianalisis menggunakan ANOVA/regresi dan analisis jalur sederhana. Hasil LC-HRMS mengidentifikasi 35 senyawa, seperti xanthone dan limonene. Uji in silico menunjukkan dua senyawa dengan afinitas pengikatan tertinggi terhadap target enzim, mengindikasikan potensi inhibisi secara teoritis.

Kata Kunci: Eco Enzyme, Metabolomik, Antibakteri.

Abstract

The background of this study is the potential of eco-enzymes from the fermentation of lime (*Citrus aurantiifolia*) and mangosteen (*Garcinia mangostana*) peel waste as a natural antibacterial source. An integrated metabolomics and molecular docking approach was used to accelerate the identification of active compounds in the development of safe and effective natural hand sanitizers. The study aimed to assess the antibacterial potential of eco-enzymes through metabolomic mapping, in silico tests, and in vitro verification. The peel waste was fermented for ± 3 months, then characterized organoleptically and pH-wise. Chemical profiles were analyzed using LC-HRMS, and candidate compounds were docked against *E. coli* DNA gyrase and *S. aureus* PBP2a. Antibacterial activity was tested by the disc diffusion method on MHA (37 °C, 18–24 hours), including in hand sanitizer formulations based on ethanol, glycerol, H₂O₂, and water with varying levels of eco-enzymes. The physical quality of the preparations was also evaluated. Data were analyzed using ANOVA/regression and simple path analysis. LC-HRMS results identified 35 compounds, including xanthenes and limonene. In silico testing revealed two compounds with the highest binding affinity to the target enzyme, indicating theoretical inhibitory potential.

Keywords: Eco Enzyme, Metabolomics, Antibacterial.

@Jurnal Ners Prodi Sarjana Keperawatan & Profesi Ners FIK UP 2026

* Corresponding author : putumambre@gmail.com

Address : Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

Email : putumambre@gmail.com

PENDAHULUAN

Antiseptik adalah antibakteri yang melawan flora patologis secara mekanis, kimiawi, dan gabungan keduanya, dengan tujuan membunuh, menghambat atau menurunkan jumlah mikroorganisme (Hamijaya et al., 2014). Antiseptik berbeda dengan antibiotik dan disinfektan. Antiseptik lebih aman diaplikasikan pada jaringan hidup daripada disinfektan (Fitriany, 2016). Namun, antiseptik yang kuat dan dapat mengiritasi jaringan kemungkinan dapat dialihkan fungsinya menjadi disinfektan, contohnya fenol yang dapat digunakan baik sebagai antiseptik maupun disinfektan. Penggunaan antiseptik sangat direkomendasikan ketika terjadi epidemik penyakit karena dapat memperlambat penyebaran penyakit (Fitriany, 2016). Efektivitas antiseptik dalam membunuh mikroorganisme bergantung pada beberapa faktor. Konsentrasi mempengaruhi adsorpsi atau penyerapan komponen antiseptik. Pada konsentrasi rendah, beberapa antiseptik menghambat fungsi biokimia membran bakteri, namun tidak akan membunuh bakteri tersebut (Fitriany, 2016).

Eco enzyme merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sisa sampah organik, gula, dan air. Cairan Eco enzyme ini berwarna coklat gelap dan memiliki aroma asam atau segar yang kuat (Rochyani et al., 2020). Eco enzyme dapat bersumber dari penggunaan berbagai bahan baku organik seperti buah-buahan dan sayur-sayuran (Rochyani et al., 2020). Fungsi dari Eco enzyme yaitu dapat membantu pertumbuhan tanaman organik, membuat ternak tetap sehat, membersihkan saluran dan air, mengurangi sampah, serta dapat dimanfaatkan sebagai sabun cuci piring. Dalam bidang farmasi, Eco enzyme dapat dimanfaatkan untuk mengobati luka di kaki pasien diabetes yang sudah bertahun-tahun dan sebagai obat jerawat. Kulit buah jeruk nipis dan kulit buah manggis dipilih dalam pembuatan Eco enzyme karena Eco enzyme yang berasal dari kulit buah jeruk (*Citrus aurantium*) telah terbukti memiliki sifat antimikroba serta anti-inflamasi. Efek sinergis dari dua Eco enzyme meningkatkan potensi aktivitas antimikroba mereka terhadap berbagai bakteri. Kandungan senyawa polifenol dan flavonoid yang tinggi dalam kulit buah manggis dan kulit buah jeruk diketahui berkontribusi terhadap aktivitas antimikroba yang baik (Mavani et al., 2020). Kemudian Eco enzyme ini dibuat menjadi produk hand sanitizer.

Hand sanitizer merupakan zat antiseptik yang di dalamnya terdapat alkohol dengan persentase 60–95%. Menurut Food and Drug Administration (FDA), hand sanitizer dapat menghilangkan kuman kurang dari 30 detik. Alkohol yang terkandung pada hand sanitizer

memiliki kemampuan aktivitas bakteriosida yang baik terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Rini & Nugraheni, 2018). Dalam pembuatan hand sanitizer, bahan-bahan yang dipilih yaitu gliserol, hidrogen peroksida, dan aqua destilata. Gliserol digunakan sebagai humektan karena gliserol merupakan komponen higroskopis yang dapat mengikat air dan melembabkan kulit pada kondisi kelembaban tinggi (Sukmawati et al., 2017). Hidrogen peroksida memiliki efek antibakteri, sehingga mampu membunuh bakteri dan aktif terhadap berbagai bentuk organisme termasuk bakteri, virus, dan spora. Hidrogen peroksida juga digunakan pada formula, hal ini dikarenakan untuk efektivitas antibakteri pada handsanitizer (Hamijaya et al., 2014).

Berdasarkan teori tersebut akan dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuat Eco enzyme dari kulit buah manggis dan kulit buah jeruk yang berfungsi sebagai antiseptik tangan kemudian dikemas menjadi hand sanitizer. Eco enzyme ini akan diuji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram (Umay, 2018). Eco enzyme dipilih karena mudah dibuat, tidak memerlukan biaya besar, dan lebih ramah lingkungan (Rochyani et al., 2020). Hand sanitizer dipilih karena mudah dibawa bepergian, lebih higienis, dan membunuh kuman lebih cepat (Neiti, 2020). Hasil dari penelitian diharapkan dapat menghasilkan Eco enzyme yang berfungsi sebagai antiseptik tangan (Dewi et al., 2016).

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang bertujuan mengembangkan dan mengevaluasi eco enzyme berbahan kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai kandidat antibakteri alami dalam formulasi hand sanitizer. Penelitian dilaksanakan di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Buleleng, Bali. Bahan baku diperoleh dari BALITRO Cimanggu, Bogor, dan dideterminasi di Herbarium Depokensis Universitas Indonesia untuk memastikan keabsahan spesies. Eco enzyme dibuat dari 1,5 kg kulit manggis dan 1,5 kg kulit jeruk yang difermentasi bersama 1 kg gula aren dan aqua destilata hingga 10 L selama ± 3 bulan dalam wadah tertutup. Hasil fermentasi dievaluasi secara organoleptik dan pH (rentang optimal 3–5) sebagai indikator keberhasilan pembentukan asam organik.

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram pada media Mueller-Hinton Agar terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, diinkubasi pada 37 °C selama 18–24 jam, kemudian diukur diameter zona hambatnya.

Identifikasi metabolit sekunder dilakukan melalui uji fitokimia kualitatif dan analisis lanjutan LC-HRMS untuk menentukan profil senyawa aktif. Studi in silico dilakukan menggunakan AutoDock Tools 1.5.6 dengan target DNA gyrase (PDB ID: 1KZN) dan PBP2a (PDB ID: 3ZG5), serta visualisasi interaksi menggunakan Discovery Studio Visualizer, guna memprediksi afinitas ikatan senyawa terhadap protein target.

Eco enzyme kemudian diformulasikan menjadi hand sanitizer dengan penambahan hidrogen peroksida 3%, gliserol, dan aqua destilata ad 100 g, lalu didiamkan 72 jam sebelum pengujian. Sediaan dievaluasi meliputi organoleptik, bobot jenis menggunakan piknometer, pH (4,5–7,0), serta aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram untuk menilai efektivitas dan keamanan sediaan topikal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Evaluasi Fisik Eco Enzyme Dan Hand Sanitizer

Eco-enzyme dan hand sanitizer merupakan dua jenis sediaan yang banyak dikembangkan sebagai produk ramah lingkungan dan praktis digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Keduanya memiliki manfaat utama sebagai pembersih dan desinfektan alami yang mudah dibawa serta digunakan tanpa memerlukan air. Evaluasi fisik sediaan merupakan tahap penting dalam pengembangan produk, yang meliputi pengujian organoleptik (warna, bau, dan bentuk), bobot jenis, serta pH untuk memastikan mutu, kestabilan, dan keamanan produk bagi pengguna.

Dalam penelitian ini, eco enzyme diproduksi menggunakan kombinasi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Parameter evaluasi meliputi aspek kuantitas (volume), organoleptik, pH, serta bobot jenis. Eco-enzyme memiliki karakteristik asam dengan pH rendah dan aroma khas hasil fermentasi bahan organik (Kirana et al., 2022), sedangkan hand sanitizer alami yang diformulasikan dari ekstrak tumbuhan menunjukkan hasil organoleptik baik serta pH yang sesuai dengan kulit (Yanti & Futri, 2022). Adapun hasil evaluasi fisik kedua sediaan tersebut dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1 Hasil uji evaluasi fisik

Parameter	Eco enzyme	Hand Sanitizer	Persyaratan (Widyasanti et al., 2021)
Organoleptik	Coklat Kekuningan	Coklat Kekuningan	Coklat Kekuningan
pH	3,433 ± 0,038	3,453 ± 0,006	4,5 – 8,0
Bobot Jenis	0,983 ± 0,001	0,971 ± 0,017	0,95–1,10

Berdasarkan hasil evaluasi fisik pada Tabel 1, diketahui bahwa kedua sediaan, yaitu eco enzyme dan hand sanitizer, menunjukkan karakteristik organoleptik yang sesuai dengan standar mutu, di mana keduanya memiliki bentuk cair jernih dengan aroma khas bahan penyusunnya. Nilai pH yang diperoleh untuk eco enzyme sebesar 3,433 ± 0,038 dan hand sanitizer sebesar 3,453 ± 0,006, yang menunjukkan sifat asam ringan. Meskipun nilai pH keduanya berada sedikit di bawah rentang standar yang disyaratkan (4,5–8,0), produk masih dapat diterima apabila tidak menimbulkan iritasi pada kulit. Sementara itu, hasil bobot jenis menunjukkan bahwa eco enzyme memiliki nilai 0,983 ± 0,001 g/mL dan hand sanitizer 0,971 ± 0,017 g/mL, keduanya masih berada dalam rentang standar 0,95–1,10 g/mL, menandakan konsistensi dan kestabilan fisik yang baik pada kedua sediaan.

Selain parameter fisik, aspek efisiensi produksi juga dievaluasi. Dari total volume pembuatan sebesar 10 L, volume akhir eco enzyme yang diperoleh setelah proses fermentasi dan penyaringan adalah sebanyak 8,9 L (Rendemen 89%). Adanya selisih volume sebesar 1,1 L tersebut diduga disebabkan oleh proses penyerapan (absorpsi) cairan oleh matriks jaringan kulit buah selama masa fermentasi, di mana cairan terperangkap dalam pori-pori kulit manggis yang tebal dan jaringan albedo kulit jeruk nipis.

B. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan eco enzyme dan hand sanitizer dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian menggunakan metode difusi cakram (Disk Diffusion) pada media Mueller-Hinton Agar (MHA), di mana aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat di sekitar cakram. Metode ini efektif dan umum digunakan untuk menilai daya antibakteri suatu sediaan (Lubis & Damayanti, 2025). Adapun hasil pengujian ini dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1 Hasil uji aktivitas antibakteri

Kelompok	Diameter Daya Hambat	
	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)
Blanko	5,90 ± 0,00*	6,56 ± 0,47
Kontrol (+)	5,45 ± 0,30	7,11 ± 0,68
Kontrol (-)	5,90 ± 0,54	–
Eco enzyme	6,24 ± 0,47	10,12 ± 1,28*
Hand Sanitizer	6,91 ± 1,08	6,50 ± 0,37

*) Berbeda signifikan terhadap kontrol (+)

Untuk pengujian antibakteri dibuat beberapa kelompok sampel uji yang terdiri dari blanko, kontrol positif, kontrol negatif, eco enzyme, dan hand sanitizer. Untuk blanko digunakan sampel hand sanitizer sesuai dengan

formula acuan WHO, kemudian etanol 96% digunakan sebagai kontrol positif dan air kran digunakan sebagai kontrol negatif.

Berdasarkan Tabel 2, hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa *eco enzyme* dan *hand sanitizer* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan kekuatan yang berbeda. Pada *E. coli*, *hand sanitizer* memiliki zona hambat terbesar yaitu $6,91 \pm 1,08$ mm, diikuti *eco enzyme* sebesar $6,24 \pm 0,47$ mm, sedangkan kontrol positif menghasilkan $5,45 \pm 0,30$ mm. Sementara itu, terhadap *S. aureus*, *eco enzyme* menunjukkan daya hambat tertinggi yaitu $10,12 \pm 1,28$ mm, yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif ($7,11 \pm 0,68$ mm), sedangkan *hand sanitizer* hanya menghasilkan $6,50 \pm 0,37$ mm. Hasil ini menunjukkan bahwa *eco enzyme* memiliki aktivitas antibakteri lebih kuat, terutama terhadap *S. aureus*, kemungkinan karena kandungan asam organik dan enzim hasil fermentasi yang bersifat antimikroba.

C. Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder

Tujuan evaluasi ini adalah untuk mengetahui profil metabolit yang terkandung dalam *eco enzyme* yang berasal dari kulit buah jeruk nipis dan kulit buah manggis menggunakan metode LC-HRMS. LC-HRMS digunakan dalam studi metabolomik untuk mengidentifikasi dan mengarakterisasi profil metabolit secara sensitif dan komprehensif (Cajka & Fiehn, 2016). Profil metabolit dari *eco enzyme* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Profil metabolit sekunder eco enzyme

N o.	Senyawa	Rumus Kimia	Bobot Molekul (m/z)	Waktu Retensi (menit)
1	Xanthone	C ₁₃ H ₈ O ₂	275.07449	1.018
2	8-Hydrazino-7-(2-hydroxyethyl)-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione	C ₉ H ₁₄ N ₆ O ₃	255.121	8.147
3	Fluorophenylthiomorpholine	C ₁₀ H ₁₂ FN	196.06046	2.241
4	Mevalonic acid	C ₆ H ₁₂ O ₄	147.06557	1.158
5	4,4,5,5-Tetramethyl-2-(3-methyl-2-thienyl)-1,3,2-dioxaborolane	C ₁₁ H ₁₇ BO ₂ S	225.11067	7.684
6	1-(2-Hydrazino-2-oxoethyl)-4-methylpyridinium	C ₈ H ₁₂ N ₃ O	167.10559	4.813
7	Bromoacetic Acid-d3	C ₂ BrD ₃ O ₂	141.9576	8.492
8	DI-t-BUTYLDIFLUOROSILANE	C ₈ H ₁₈ F ₂ Si	181.12117	8.01
9	Phenylacetyl disulfide	C ₁₆ H ₁₄	347.0	1.4

N o.	Senyawa	Rumus Kimia	Bobot Molekul (m/z)	Waktu Retensi (menit)
1	(4-Nitrophenyl)diazonium	O ₂ S ₂ C ₆ H ₆ N ₃ O ₂	4147185.07968	412.618
1	6-[(2-methyl-2-propenyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl)sulfanyl)acetamide	C ₁₃ H ₂₄ N ₆ OS	311.16696	13.097
1	METHYLPHENYLCHLOROPHOSPHINE	C ₇ H ₈ ClP	159.01292	0.728
1	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	200.14188	18.587
1	[5-(Hydroxymethyl)-2-thienyl]boronic acid	C ₅ H ₇ BO ₃ S	157.0134	0.884
1	N'-[(2,4-Dibromophenoxy)acetyl]-3-iodo-4-methylbenzohydrazide	C ₁₆ H ₁₃ Br ₂ IN ₂ O ₃	564.8269	21.187
1	Amino(oxo)methanesulfonic acid	CH ₃ NO ₄ S	125.98547	0.595
1	1,3,7-Trimethyl-8-piperazin-1-yl-3,7-dihydro-purine-2,6-dione	C ₁₂ H ₁₈ N ₆ O ₂	277.14279	12.592
1	(2-Butyl-1,4-dimethyl-3-oxocyclopentyl)acetate	C ₁₃ H ₂₁ O ₃	226.15747	13.628
1	N-(3-Methoxy-5-nitrophenyl)-2-(3-nitro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acetamide	C ₁₁ H ₁₀ N ₆ O ₆	321.05988	5.036
2	1-(3-(Chloromethyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)guanidine	C ₄ H ₆ ClN ₅ O	176.03264	0.722
2	Dimethoxybenzyl)-5-methyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]-1-methyl-1H-pyrazol-5-amine	C ₁₆ H ₂₀ N ₆ O ₂	329.17255	14.216
2	2,5-di-tert-Butylhydroquinone	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	221.15359	9.1
2	8-Ethyl-1H-imidazo[4,5-e][1,2,5]oxadiazolo[3,4-g][2,1,3]benzoxadiazol-1-ol 4-oxide	C ₉ H ₆ N ₆ O ₄	261.03897	2.859
2	Benzylthiouracil	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ OS	219.05951	0.762
2	2-[(6-amino-2-[(3-(diethylamino)propyl)amino]-5-nitropyrimidin-4-yl)amino]ethanol	C ₁₃ H ₂₅ N ₇ O ₃	328.20987	3.894
2	3-O-Carbamoyl-α-D-mannopyranose	C ₇ H ₁₃ N ₃ O ₇	224.07637	0.94
2	1-[2-Methoxy-5-(trifluoromethoxy)phenyl]ethanol	C ₁₀ H ₁₁ FO ₃	235.05992	6.004
2	D-Glucose 6-phosphate	C ₆ H ₁₃ O ₉	259.0	5.2

No.	Senyawa	Rumus Kimia	Bobot Molekul (m/z)	Waktu Retensi (menit)
8		P	2347	08
29	1-(4-Nitrophenyl)-3-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)urea	C ₉ H ₈ N ₆ O ₃	249.0 7425	4.4 35
30	3-Hydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₃	137.0 2376	4.9 02
31	N,N'-Bis(4-methyl-2,6-dinitrophenyl)-1,3-propanediamine	C ₁₇ H ₁₈ N ₆ O ₈	433.1 1115	4.5 79
32	benzil, 2,2',4,4'-tetranitro-	C ₁₄ H ₆ N ₄ O ₁₀	196.0 1173	0.8 88
33	2-Amino-3,4-dichlorobenzenethiol	C ₆ H ₅ Cl ₂ NS	191.9 453	21. 208
34	Dimethyl [diazophenyl)methyl]phosphonate	C ₉ H ₁₁ N ₂ O ₃ P	225.0 4265	3.6 87
35	N-[(Isobutylamino)(methylthio)methylene]-2,5-dimethoxybenzenesulfonamide	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₄ S ₂	345.0 9521	6.8 24

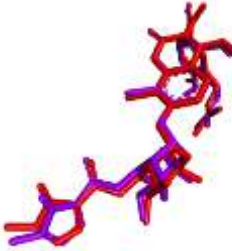
Berdasarkan hasil analisis LC-MS pada tabel, teridentifikasi sebanyak 35 senyawa dengan variasi bobot molekul (m/z) dan waktu retensi yang berbeda, menunjukkan bahwa *eco enzyme* dari kulit buah jeruk nipis dan kulit buah manggis memiliki profil metabolit yang kompleks dan beragam. Senyawa yang terdeteksi mencakup berbagai golongan dengan waktu retensi mulai dari 0,595 hingga 21,208 menit, yang mengindikasikan adanya komponen dengan tingkat kepolaran dan volatilitas yang berbeda-beda. Keberadaan senyawa seperti limonene dengan waktu retensi tertinggi serta beberapa asam organik, turunan fenolik, dan senyawa heterosiklik menunjukkan bahwa proses fermentasi menghasilkan campuran metabolit yang beragam, sehingga secara keseluruhan hasil ini menggambarkan bahwa *eco enzyme* memiliki komposisi kimia yang kompleks.

D. Analisis In Silico

Analisis in silico bertujuan untuk mengevaluasi potensi interaksi 35 senyawa hasil identifikasi LC-HRMS terhadap enzim DNA gyrase *Escherichia coli* (PDB ID: 1KZN) dan penicillin-binding protein 2a (PBP2a) *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 3ZG5), yang masing-masing berperan penting dalam replikasi DNA dan sintesis dinding sel bakteri (Champoux, 2001; Lim & Strynadka, 2002). Struktur protein diperoleh dari Protein Data Bank (Berman et al., 2000), dan analisis molecular docking digunakan untuk memprediksi afinitas serta pola interaksi ligan–protein sebagai pendekatan awal dalam penapisan kandidat antibakteri secara komputasional (Morris & Lim-Wilby, 2008). Analisis in silico diawali dengan proses validasi.

Validasi metode docking molekuler dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock 4.2 pada protein target dan ligan aslinya. Metode docking dianggap valid jika nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) di bawah 2 Å. RMSD yang lebih kecil menunjukkan bahwa posisi ligan dalam hasil *redocking* sangat sesuai dengan data kristalografi. Nilai RMSD yang lebih besar menunjukkan adanya perbedaan dan kesalahan dalam memprediksi interaksi ligan-protein (Putri et al., 2024).

Tabel 4. Hasil validasi makromolekul dengan ligan alami

Makromolekul	Energi Bebas Ikatan (kcal/mol)	RMSD	Visualisasi
DNA gyrase <i>Escherichia coli</i> (1KZN)	-9.1	1.883 Å	
2a (PBP2a) <i>Staphylococcus aureus</i> (3ZG5)	-5.7	0.008 Å	

3ZG5 (Merah: Sebelum Docking; Ungu: Setelah Docking) dan 1KZN (Hijau: Sebelum Docking; Kuning: Setelah Docking)

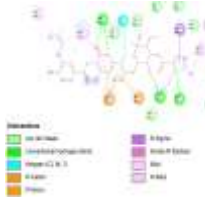
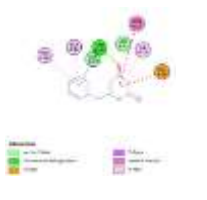
Tabel 5. Nilai energi bebas pengikatan setiap senyawa ke protein target

No	Senyawa	Energi Bebas Ikatan (kcal/mol)	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1	Ligan alami	-9.1	-5.7
2	Xanthone	-7.8	-6.7
3	8-Hydrazino-7-(2-hydroxyethyl)-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione	-6.4	-6

No	Senyawa	Energi Bebas Ikatan (kcal/mol)		No	Senyawa	Energi Bebas Ikatan (kcal/mol)	
		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>			<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
4	3-(4-Fluorophenyl)thiomorpholine	-6.5	-5.8		e)[1,2,5]oxadiazolo[3,4-g][2,1,3]benzoxadiazol-1-ol 4-oxide	8.1	
5	Mevalonic acid	-5	-4.6	25	Benzylthiouracil	-7.2	
6	4,4,5,5-Tetramethyl-2-(3-methyl-2-thienyl)-1,3,2-dioxaborolane	-4.1	-2.2	26	2-[(6-amino-2-[(3-(diethylamino)propyl)amino]-5-nitropyrimidin-4-yl)amino]ethanol	-6.3	-6.2
7	1-(2-Hydrazino-2-oxoethyl)-4-methylpyridinium	-5.5	-5.3	27	3-O-Carbamoyl- α -D-mannopyranose	-5.2	-5.7
8	Bromoacetic Acid-d3	-3.4	-3.2	28	1-[2-Methoxy-5-(trifluoromethoxy)phenyl]ethanol	-6.7	-5.8
9	DI-t-BUTYLDIFLUOROSILANE	-3.9	-3.5	29	D-Glucose 6-phosphate	-5.5	-4.9
10	Phenylacetyl disulfide	-5.6	-5	30	1-(4-Nitrophenyl)-3-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)urea	-7	-6.8
11	(4-Nitrophenyl)diazonium	-6.1	-5.4	31	3-Hydroxybenzoic acid	-5.8	-5.5
12	2-[(4-(Diethylamino)-6-[(2-methyl-2-propenyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl)sulfanyl]acetamide	-5.9	-5.8	32	N,N'-Bis(4-methyl-2,6-dinitrophenyl)-1,3-propanediamine	-7.1	-7.8
13	Methylphenylchlorophosphine	-5.2	-5.2	33	Benzil, 2,2',4,4'-tetranitro	-7.8	-7.9
14	Limonene	-5.8	-5	34	2-Amino-3,4-dichlorobenzenethiol	-5.3	-4.6
15	[5-(Hydroxymethyl)-2-thienyl]boronic acid	-3.1	-2.4	35	Dimethyl [diazophenyl)methyl]phosphonate	-6.1	-5.4
16	N'-[(2,4-Dibromophenoxy)acetyl]-3-iodo-4-methylbenzohydrazide	-7.8	-7.1	36	N-[(Isobutylamino)(methylthio)methylene]-2,5-dimethoxybenzenesulfonamide	-6	-5.9
17	Amino(oxo)methanesulfonic acid	-3.6	-3.7	Angka yang dicetak tebal menunjukkan energi bebas pengikatan yang terendah dari senyawa <i>eco enzyme</i>			
18	1,3,7-Trimethyl-8-piperazin-1-yl-3,7-dihydro-purine-2,6-dione	-6.4	-7.5	Berdasarkan Tabel 4, senyawa dengan nilai energi bebas pengikatan terendah terhadap DNA gyrase <i>E. coli</i> adalah 8-Ethyl-1H-imidazo[4,5-e)[1,2,5]oxadiazolo[3,4-g][2,1,3]benzoxadiazol-1-ol 4-oxide dengan nilai -8,1 kcal/mol, diikuti oleh N-(3-Methoxy-5-nitrophenyl)-2-(3-nitro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acetamide (-8,0 kcal/mol). Sementara itu, terhadap PBP2a <i>S. aureus</i> , senyawa dengan energi pengikatan terendah adalah benzil, 2,2',4,4'-tetranitro (-7,9 kcal/mol), diikuti oleh N,N'-Bis(4-methyl-2,6-dinitrophenyl)-1,3-propanediamine dan N-(3-Methoxy-5-nitrophenyl)-2-(3-nitro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acetamide (-7,8 kcal/mol). Nilai			
19	(2-Butyl-1,4-dimethyl-3-oxocyclopentyl)acetate	-6.2	-6.1				
20	N-(3-Methoxy-5-nitrophenyl)-2-(3-nitro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acetamide	-8	-7.8				
21	1-(3-(Chloromethyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)guanidine	-5.9	-4.8				
22	4-[4-(3,4-Dimethoxybenzyl)-5-methyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]-1-methyl-1H-pyrazol-5-amine	-7.5	-7				
23	2,5-di-tert-Butylhydroquinone	-6.1	-6.3				
24	8-Ethyl-1H-imidazo[4,5-	-	-7.3				

energi yang lebih negatif menunjukkan interaksi ligan–protein yang lebih stabil, sehingga senyawa-senyawa tersebut berpotensi memiliki aktivitas penghambatan yang lebih kuat secara teoritis (Pagadala et al., 2017).

Tabel 6. Interaksi hidrogen dan Van der Walls antara senyawa dan protein target

E. coli			
Senyawa	Visualisasi	Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der Walls
Ligan alami		ArgA 136 AsnA 46 AspA 73	Ala A 86 ProA 79 Gly A 77 Thr A 165 Ala A 47 Val A 71 Glu A 50 Arg A 76
8-Ethyl-1H-imidazo[4,5-e][1,2,5]oxadiazolo[3,4-g][2,1,3]benzoxadiazol-1-ol 4-oxide		AspA 73 GlyA 77	Val A 167 Ala A 47 Thr A 165 Asn A 46 IleA 78 Glu A 50
S. aureus			
Senyawa	Visualisasi	Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der Walls
Ligan alami		ArgA 151 ArgA 241	HisA 293 Thr A 165 Gly A 166 Glu A 239 SerA 240

Benzil, 2,2',4,4'-tetranitro		GluA 239	Val A 277 Arg A 151 Arg A 241
------------------------------	---	----------	-------------------------------------

Kata yang dicetak tebal menunjukkan asam amino yang sama pada ligan alami

Berdasarkan Tabel 5, analisis interaksi menunjukkan bahwa pada DNA *gyrase E. coli*, senyawa 8-Ethyl-1H-imidazo[4,5-e][1,2,5]oxadiazolo[3,4-g][2,1,3]benzoxadiazol-1-ol 4-oxide membentuk ikatan hidrogen dengan residu AspA 73 serta berinteraksi melalui gaya Van der Waals dengan beberapa residu penting seperti GlyA 77, ValA 167, ThrA 165, AsnA 46, dan GluA 50 . Beberapa residu tersebut juga terlibat dalam interaksi dengan ligan alami, yang menunjukkan adanya kesamaan lokasi pengikatan pada sisi aktif enzim. Sementara itu, pada PBP2a *S. aureus*, senyawa benzil, 2,2',4,4'-tetranitro membentuk interaksi dengan residu GluA 239 serta berinteraksi melalui gaya Van der Waals dengan ArgA 151 dan ArgA 241, yang juga terlibat pada pengikatan ligan alami. Kesamaan residu asam amino yang berinteraksi antara senyawa uji dan ligan alami menunjukkan bahwa senyawa tersebut berpotensi menempati kantong aktif protein dan membentuk kompleks yang stabil, sehingga mendukung hasil energi bebas pengikatan yang relatif rendah pada analisis sebelumnya (Pagadala et al., 2017).

Pembahasan

Evaluasi fisik merupakan tahap penting dalam pengembangan sediaan cair seperti *eco enzyme* dan *hand sanitizer*, karena parameter seperti organoleptik, pH, dan bobot jenis berpengaruh terhadap stabilitas, keamanan, dan penerimaan pengguna terhadap produk (Ansel, 1989). Berdasarkan hasil pada Tabel V.1, kedua sediaan menunjukkan karakteristik organoleptik yang sesuai standar, yaitu berbentuk cair jernih dengan aroma khas bahan penyusunnya. Nilai pH untuk *eco enzyme* sebesar 3,433 ± 0,038 dan *hand sanitizer* sebesar 3,453 ± 0,006, yang menunjukkan sifat asam ringan. Meskipun nilai pH ini sedikit di bawah rentang standar sediaan topikal (4,5–8,0), produk masih dapat diterima apabila tidak menimbulkan iritasi pada kulit (BPOM RI, 2020). Sifat asam pada *eco enzyme* dihasilkan dari proses fermentasi limbah organik yang menghasilkan asam organik seperti asam asetat, sitrat, dan laktat, yang berperan dalam menurunkan pH serta memberikan aktivitas antibakteri alami (Arifah & Prima, 2025). Sementara itu, pH *hand sanitizer* juga cenderung asam karena adanya bahan aktif seperti etanol dan

komponen tambahan alami seperti ekstrak tumbuhan atau minyak esensial yang memiliki sifat antimikroba (Yanti & Futri, 2022). Nilai bobot jenis pada *eco enzyme* sebesar $0,983 \pm 0,001$ g/mL dan pada *hand sanitizer* sebesar $0,971 \pm 0,017$ g/mL, keduanya masih memenuhi rentang standar cairan farmasetis ($0,95-1,10$ g/mL). Hal ini menunjukkan bahwa kedua sediaan memiliki konsistensi dan kestabilan fisik yang baik (Lachman et al., 1986). Bobot jenis yang mendekati air ($1,0$ g/mL) menandakan bahwa formulasi tidak terlalu kental atau terlalu encer, sehingga mudah digunakan dan diserap pada permukaan kulit (Banker & Rhodes, 2002). Penelitian oleh Kirana & Budianto (2022) menunjukkan bahwa *eco enzyme* hasil fermentasi limbah kulit jeruk juga memiliki bobot jenis sekitar $0,98$ g/mL dan pH berkisar antara 3–4, sesuai dengan hasil penelitian ini (Kirana & Budianto, 2022).

Mengenai efisiensi volume, perolehan hasil $8,9$ L dari total 10 L (rendemen 89%) menunjukkan adanya kehilangan volume selama proses produksi. Hal ini disebabkan oleh sifat higroskopis dan struktur anatomi kulit buah. Kulit manggis memiliki perikarp yang tebal dan kaya akan serat, sehingga cenderung menyerap dan menahan cairan. Demikian pula dengan kulit jeruk nipis yang memiliki lapisan albedo (bagian putih) yang bersifat seperti spons, sehingga menyerap sebagian cairan molase selama proses fermentasi berlangsung.

Untuk meminimalisir kehilangan volume pada produksi selanjutnya, beberapa langkah optimasi bioproses dapat dilakukan. Pertama, melakukan pengecilan ukuran partikel kulit buah (dirajang lebih halus) untuk memperluas permukaan sentuh (surface area), yang secara teoritis dapat mempermudah pelepasan cairan serta mempercepat ekstraksi senyawa aktif. Kedua, penerapan metode pemerasan mekanis (*mechanical pressing*) menggunakan alat tekan atau kain saring dengan kerapatan tinggi sangat dianjurkan guna memaksimalkan pengeluaran filtrat yang terperangkap di dalam matriks serat kulit manggis dan albedo jeruk nipis. Selain itu, optimalisasi rasio bahan terhadap air serta pemantauan konsistensi selama masa fermentasi perlu diperhatikan untuk menjaga agar rendemen yang dihasilkan tetap maksimal tanpa mengurangi kualitas fitokimia sediaan.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa *eco enzyme* dan *hand sanitizer* sama-sama memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Gram-negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram-positif). Pengujian menggunakan metode difusi cakram (*Disk Diffusion*) pada media *Mueller-Hinton Agar* (MHA), yang merupakan metode standar untuk mengukur daya hambat senyawa antibakteri

terhadap mikroorganisme (Cheesbrough, 2006). Pada pengujian terhadap *E. coli*, *hand sanitizer* menunjukkan daya hambat tertinggi ($6,91 \pm 1,08$ mm) diikuti oleh *eco enzyme* ($6,24 \pm 0,47$ mm) dan kontrol positif ($5,45 \pm 0,30$ mm). Aktivitas antibakteri *hand sanitizer* disebabkan oleh kandungan etanol yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan melarutkan lipid membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran isi sel dan kematian bakteri (Golin et al., 2020). Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Simaremare et al. (2023) yang menunjukkan bahwa *hand sanitizer* berbasis alkohol 70% efektif menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* secara signifikan (Simaremare et al., 2023). Sementara itu, terhadap *S. aureus*, *eco enzyme* memiliki zona hambat paling besar ($10,12 \pm 1,28$ mm) dibandingkan kontrol positif ($7,11 \pm 0,68$ mm) dan *hand sanitizer* ($6,50 \pm 0,37$ mm). Hal ini menunjukkan bahwa *eco enzyme* lebih efektif terhadap bakteri Gram positif. Aktivitas antibakteri ini disebabkan oleh asam organik (terutama asam asetat) serta enzim hasil fermentasi seperti protease dan lipase yang dapat menurunkan pH, merusak dinding sel, dan menghambat enzim metabolisme bakteri (Arifah & Prima, 2025). Penelitian Lubis & Damayanti (2025) juga melaporkan bahwa *eco enzyme* dari limbah buah-buahan mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*, dengan daya hambat optimal pada pengenceran 1:10 (Lubis & Damayanti, 2025). Perbedaan tingkat hambatan antara *E. coli* dan *S. aureus* disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel. Bakteri Gram negatif (*E. coli*) memiliki lapisan lipopolisakarida yang lebih tebal dan kompleks, sehingga lebih tahan terhadap zat antibakteri dibandingkan Gram positif (*S. aureus*) yang hanya memiliki lapisan peptidoglikan tebal namun lebih mudah ditembus (Tortora et al., 2016). Kandungan flavonoid, saponin, dan fenolik dalam *eco enzyme* juga berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme denaturasi protein, gangguan permeabilitas membran, dan pengendapan sel bakteri (Cowan, 1999).

Hasil analisis LC-HRMS menunjukkan bahwa *eco enzyme* dari kulit buah jeruk nipis dan kulit buah manggis memiliki profil metabolit yang kompleks dan heterogen, sebagaimana ditunjukkan oleh teridentifikasinya 35 senyawa dengan variasi nilai *m/z* presisi tinggi dan waktu retensi yang luas. Rentang waktu retensi dari 0,595 hingga 21,208 menit mengindikasikan keberadaan senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yang secara prinsip sesuai dengan mekanisme pemisahan berbasis interaksi senyawa terhadap fase diam dan fase gerak dalam kromatografi cair (Snyder et al. 2010). Penggunaan LC-HRMS memungkinkan penentuan massa akurat (*accurate mass*) dan

resolusi tinggi sehingga meningkatkan akurasi identifikasi senyawa dalam matriks kompleks seperti produk fermentasi (Cajka & Fiehn, 2016). Teknik ini juga banyak diaplikasikan dalam studi metabolomik karena sensitivitas dan selektivitasnya dalam mendeteksi metabolit pada konsentrasi rendah (Dunn et al., 2011). Selain itu, proses fermentasi diketahui dapat menghasilkan transformasi biokimia melalui aktivitas enzimatis mikroorganisme yang meningkatkan keragaman komposisi kimia substrat awal (Swain et al., 2014). Dengan demikian, kompleksitas profil metabolit yang teridentifikasi pada *eco enzyme* ini konsisten dengan karakteristik produk fermentasi berbasis bahan organik yang mengalami proses biokonversi (Ray & Joshi, 2014).

Kemudian, hasil profil metabolit sekunder tersebut dilakukan evaluasi secara *in silico* untuk mendukung pernyataan aktivitas secara *in vitro* dan mengetahui mekanisme molekuler dari *eco enzyme*. Berdasarkan hasil *molecular docking*, senyawa 8-Ethyl-1H-imidazo[4,5-e][1,2,5]oxadiazolo[3,4-g][2,1,3]benzoxadiazol-1-ol 4-oxide menunjukkan energi bebas pengikatan terendah terhadap DNA gyrase *E. coli* (−8,1 kcal/mol), sedangkan benzil, 2,2',4,4'-tetranitro-menunjukkan energi terendah terhadap PBP2a *S. aureus* (−7,9 kcal/mol). Nilai energi bebas pengikatan yang semakin negatif secara umum mencerminkan interaksi ligan–protein yang lebih stabil dan afinitas yang lebih tinggi, yang berkorelasi dengan potensi aktivitas inhibisi enzim secara teoritis (Pagadala et al., 2017). DNA gyrase merupakan enzim esensial dalam proses superkoiling DNA dan menjadi target utama berbagai antibiotik karena perannya dalam replikasi dan transkripsi bakteri Gram-negatif seperti *E. coli* (Bush et al., 2020). Sementara itu, PBP2a merupakan protein kunci dalam mekanisme resistensi β-laktam pada *Staphylococcus aureus*, sehingga penghambatan terhadap protein ini berpotensi mengganggu sintesis dinding sel bakteri dan mengatasi resistensi antibiotik. Selain dua senyawa dengan energi terendah tersebut, beberapa senyawa lain juga menunjukkan nilai energi pengikatan yang lebih rendah dibandingkan ligan alami pada PBP2a, yang mengindikasikan kemungkinan interaksi yang kompetitif pada sisi aktif protein. (Fergestad et al., 2020).

Interaksi molekuler menunjukkan bahwa pembentukan ikatan hidrogen antara ligan dan residu asam amino pada sisi aktif DNA gyrase berkontribusi signifikan terhadap stabilitas kompleks enzim–ligan (Ferreira et al., 2015). Residu bermuatan seperti aspartat dan glutamat diketahui berperan dalam interaksi elektrostatik yang meningkatkan afinitas pengikatan melalui kontribusi energi bebas yang lebih stabil (de Ruyck et al., 2016). Selain itu, interaksi

hidrofobik dan gaya Van der Waals yang melibatkan residu nonpolar di sekitar kantong aktif turut membantu mempertahankan orientasi ligan dalam posisi optimal untuk menghambat aktivitas enzim (Meng et al., 2011). DNA gyrase sendiri merupakan enzim tipe II topoisomerase yang sangat penting dalam pengaturan superkoiling DNA bakteri dan telah lama menjadi target utama pengembangan agen antibakteri (Aldred et al., 2014). Pada PBP2a *Staphylococcus aureus*, keterlibatan residu bermuatan positif seperti arginin dalam pembentukan ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatik diketahui berkontribusi terhadap peningkatan kestabilan kompleks ligan–protein (de Ruyck et al., 2016). PBP2a memiliki afinitas rendah terhadap antibiotik β-laktam karena perubahan konformasi sisi aktifnya, sehingga identifikasi senyawa yang mampu berinteraksi kuat pada residu kunci menjadi strategi penting dalam mengatasi resistensi (Fishovitz et al., 2014). Interaksi yang terjadi pada residu yang sama atau berdekatan dengan ligan alami menunjukkan kemungkinan mekanisme inhibisi kompetitif pada situs katalitik (Ferreira et al., 2015). Secara keseluruhan, kombinasi ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, dan gaya Van der Waals merupakan faktor utama yang menentukan kestabilan kompleks dan potensi aktivitas inhibisi secara *in silico* (Meng et al., 2011).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai evaluasi fisik dan uji aktivitas antibakteri sediaan *eco enzyme* dari limbah kulit buah manggis dan jeruk nipis serta sediaan hand sanitizer, dapat disimpulkan bahwa:

Karakteristik Fisik

Sediaan *eco enzyme* dan hand sanitizer memenuhi standar mutu fisik sediaan cair dengan organoleptik coklat kekuningan dan bobot jenis yang stabil dalam rentang 0,95–1,10 g/mL. Nilai pH kedua sediaan berada pada kisaran 3,4 (asam), yang merupakan ciri khas hasil fermentasi organik.

Efisiensi Produksi

Proses pembuatan *eco enzyme* menghasilkan volume akhir sebesar 8,9 L dari total 10 L volume awal (rendemen 89%). Kehilangan volume sebesar 11% disebabkan oleh absorpsi cairan oleh matriks serat kulit manggis dan albedo jeruk nipis.

Aktivitas Antibakteri

Kedua sediaan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hand sanitizer menunjukkan efektivitas lebih tinggi terhadap *E. coli* (6,91±1,08 mm), sedangkan *eco enzyme* menunjukkan keunggulan signifikan terhadap *S. aureus* (10,12±1,28 mm) dibandingkan kontrol

positif. Hal ini membuktikan potensi *eco enzyme* sebagai agen antibakteri alami yang efektif, terutama terhadap bakteri Gram-positif.

Identifikasi Metabolit Sekunder

Eco enzyme dari kulit buah jeruk nipis dan kulit buah manggis mengandung 35 senyawa dengan variasi bobot molekul dan waktu retensi yang menunjukkan profil metabolit yang beragam. Beberapa senyawa yang teridentifikasi antara lain xanthone, limonene, mevalonic acid, 3-hydroxybenzoic acid, dan D-glucose 6-phosphate.

Analisis In Silico

Senyawa 8-Ethyl-1H-imidazo[4,5-e][1,2,5]oxadiazolo[3,4-g][2,1,3]benzoxadiazol-1-ol 4-oxide dan benzil, 2,2',4,4'-tetranitro-menunjukkan potensi sebagai kandidat antibakteri melalui penghambatan DNA gyrase *E. coli* dan PBP2a *Staphylococcus aureus*. Nilai energi bebas pengikatan yang lebih rendah serta dukungan interaksi ikatan hidrogen, elektrostatik, dan Van der Waals pada residu sisi aktif mengindikasikan kemungkinan mekanisme inhibisi kompetitif

DAFTAR PUSTAKA

- Alan, Cockayne. Bacterial Cell Walls. In Elsevier Science; 1998. p.2199-203.
- Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*. 2014;53(10):1565–1574.
- Andiarna F, Hidayati I, Agustina E. Pendidikan kesehatan tentang penggunaan antibiotik secara tepat dan efektif sebagai upaya mengatasi resistensi obat. *JCEE*. 2020;2(1):15-22.
- Anjani V. Aktivitas Antimikroba Sabun Cair Cuci Tangan Minyak Atsiri Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.) [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2017.
- Ansel HC. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: UI Press; 1989.
- Arifah P, Prima E. Testing the Antimicrobial Efficacy of Eco-Enzymes on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Symbiotic: Journal of Biological Education and Science*. 2025;6(1):45–52.
- Banker GS, Rhodes CT. *Modern Pharmaceutics*. 4th ed. New York: Marcel Dekker Inc.; 2002.
- Barry AL, Garcia F, Thrupp LD. An improved single-disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. *AJCP*. 1970;53(2):149-58.
- Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The protein data bank. *Nucleic Acids Res*. 2000;28(1):235–242.
- BPOM RI. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: BPOM; 2020.
- Cajka, T., & Fiehn, O. (2016). Toward merging untargeted and targeted methods in mass spectrometry-based metabolomics. *Analytical Chemistry*, 88(1), 524–545.
- Champoux JJ. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu Rev Biochem*. 2001;70:369–413.
- Cheesbrough M. *District Laboratory Practice in Tropical Countries*. Cambridge University Press; 2006.
- Churaez FI, Ramadani R, Firmansyah R, Mahmudah SN, Ramli SW. Pembuatan dan penyemprotan disinfektan: kegiatan KKN edisi covid-19 di desa Bringin, Malang. *J Pengabdian*. 2020;2(2):50-5.
- Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(4):564–582
- de Ruyck J, Brysbaert G, Blossey R, Lensink MF. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. *Adv Appl Bioinform Chem*. 2016;9:1–11.
- Dewi MA, Anugrah R, Nurfitri YA. Uji aktivitas antibakteri ekoenzim terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Dalam: SNIFA 2 UNJANI. Cimahi: Fakultas Farmasi Universitas Jendral Achmad Yani; 2016. h.60-8.
- Dunn WB, Bailey NJ, Johnson HE. Measuring the metabolome: current analytical technologies. *Analyst*. 2005;130(5):606–625.
- Dunn WB, Broadhurst D, Begley P, Zelena E, Francis-McIntyre S, Anderson N, et al. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using liquid chromatography and mass spectrometry. *Nat Protoc*. 2011;6(7):1060–1083.
- Ekins S, Mestres J, Testa B. In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. *Br J Pharmacol*. 2007;152(1):9–20.
- Endi P, Andri S. Klasifikasi kualitas buah *Garcinia mangostana* L. menggunakan metode Learning Vector Quantization. *Sentika*. 2015:424-30.
- Ferreira LG, dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*. 2015;20(7):13384–13421.
- Fishovitz J, Hermoso JA, Chang M, Mobashery S. Penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drug Resist Updat*. 2014;17(3):89–99.
- Fitriany N. Pembuatan gel antiseptik dari daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan variasi konsentrasi Hydroxypropyl

- Methyl Cellulose [KTI D3]. Palembang: Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Sriwijaya; 2016. h.1-4.
- Golin AP, Choi D, Ghahary A. Hand Sanitizers: A Review of Ingredients, Mechanisms of Action, Modes of Delivery, and Efficacy Against Coronaviruses and Bacteria. *Am J Infect Control*. 2020;48(9):1062–1067.
- Hamijaya L, Prihatiningsih, Widiastuti MG. Perbedaan daya anti bakteri Tetrachlorodecaoxide, Povidon Iodine, dan Hidrogen Peroksida (H₂O₂) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara invitro. *J Ked Gi*. 2014;5(4):329-35.
- Institut Sains dan Teknologi Terpadu Surabaya (ISTTS). Mengenal eco enzim, urai sungai dari limbah rumah dan pabrik [Internet]. 02 November 2020; diakses 1 Oktober 2021. Diakses dari: <https://www.istts.ac.id/blog/QEa85RB1R>
- p- Mengenal_Eco_Enzym,_Urai_Sungai_dar i_Limbah_Rumah_dan_Pabrik.
- Islam MA, Kabir SML, Seel SK. Molecular detection and characterization of *Escherichia coli* isolated from raw milk sold in different markets of Bangladesh. 2016;14(2):271-5.
- Jahan M, Rahman M, Parvej MS, Chowdhury SMZH, Haque ME, Talukder MAK, et al. Isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* from raw cow milk in Bangladesh. 2015;2(1):49-55.
- Katzung BG. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. 1st ed. Jakarta: Salemba Medika; 2001.
- Kirana KH, Budianto MA, Pranatikta KA, Shafaria M, Agustine E, Fitriani D, Susilawati A, Hasanah MU. Physical Properties of Orange Peels Eco-enzyme: One way to Reduce and Recycle Waste and Environmental Problem. *Phi: Jurnal Pendidikan Fisika dan Fisika Terapan*. 2022;8(2). doi:10.22373/p-pjft.v8i2.15355.
- Kirana KH, Budianto MA. Physical Properties of Orange Peels Eco-enzyme: One Way to Reduce and Recycle Waste and Environmental Problem. *Phi: Jurnal Pendidikan Fisika dan Fisika Terapan*. 2022;8(2):112–120.
- Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1986.
- Lahan. 7 Cara Menanam Jeruk Nipis Supaya Cepat Berbuah (Lebat & Melimpah) [Internet]. 1 Agustus 2021; diakses 6 Agustus 2021. Diakses dari <https://lahan.co.id/menanam-jeruk-nipis/>.
- Larasati D, Astuti AP, Maharani ET. Uji organoleptik produk eco-enzyme dari limbah kulit buah. Dalam: Seminar Nasional. Edusainstek. Semarang: FMIPA UNIMUS; 2020. h.278-83.
- Lim D, Strynadka NCJ. Structural basis for the β -lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Struct Biol*. 2002;9(11):870–876.
- Lubis D, Damayanti P. Antimicrobial Activity of Eco-enzymes with Various Dilutions as a Natural Disinfectant. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 2025;11(5):1–7.
- Luthfiyyah A, Sylvia Y, Farabi A. Konsep eco-community melalui pengembangan eco-enzyme sebagai usaha pengolahan sampah organik secara tuntas pada level rumah tangga [PKM]. Bogor: Ilmu Teknologi Pangan Institusi Pertanian Bogor; 2010. h.5-7.
- Maleba SVP, Joseph WBS, Akili RH. Keberadaan *Escherichia coli* pada air bersih, tangan penjamah makanan, dan sayur kubis rumah makan lalapan di Langowan raya kabupaten Minahasa. *J KESMAS*. 2019;8(6):195-202.
- Mavani HAK, Tew IM, Wong L, Yew HZ, Mahyuddin A, Ghazali RA, et al. Antimicrobial efficacy of fruit peels eco-enzyme against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Int J Environ Res Pub Health*. 2020;17(14):1-12.
- Meng XY, Zhang HX, Mezei M, Cui M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr Comput Aided Drug Des*. 2011;7(2):146–157.
- Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*. 2009;30(16):2785–2791.
- Morris GM, Lim-Wilby M. Molecular docking. *Methods Mol Biol*. 2008;443:365–382.
- Neiti N. Formulasi hand sanitizer spray dari daun Sereh dapur (*Cymbopogon citratus*) (Skripsi). Pangkep: Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan; 2020. h.8-10.
- Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13(4):263–269.
- Ray, R. C., & Joshi, V. K. (2014). Fermented foods: Past, present and future. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 13(1), 7–14.

- Rini EP, Nugraheni ER. Uji daya hambat berbagai merek hand sanitizer gel terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *JPSCR*. 2018;1:18-26.
- Rochyani N, Utpalasari RL, Dahliana I. Analisis hasil konversi *eco enzyme* menggunakan Nenas (*Ananas comosus*) dan Pepaya (*Carica papaya* L.). *J Univ PGRI Palembang*. 2020;5(2):135-40.
- Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. 6th Ed. London: Pharmaceutical Press; 2009. p.283.
- Scalbert A, Brennan L, Manach C, Andres-Lacueva C, Dragsted LO, Draper J, Wishart DS. The food metabolome: a window over dietary exposure. *Am J Clin Nutr*. 2009;99(6):1286–1308.
- Simaremare JR, et al. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Berbagai Produk Hand Sanitizer terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* In Vitro. *Nommensen Journal of Medicine*. 2023;8(2):45–52.
- Sinurat AAP, Renta PP, Herliany NE, Negara BFSP, Purnama D. Uji aktivitas antibakteri ekstrak methanol rumput laut *Gracilaria edulis* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J Enggano*. 2019;4(1):105-14.
- Snyder LR, Kirkland JJ, Dolan JW. *Introduction to modern liquid chromatography*. 3rd ed. Hoboken: Wiley; 2010.
- Sukmawati A, Laeha N, Suprpto. Efek gliserin sebagai humectant terhadap sifat fisik dan stabilitas vitamin C dalam sabun padat. *PHARMACON*. 2017;14(2):40-7.
- Swain MR, Anandharaj M, Ray RC, Rani RP. Fermented fruits and vegetables of Asia: a potential source of probiotics. *Food Res Int*. 2014;64:595–609.
- Sweetman SC. *Martindale The Complete Drug Reference*. 6th Ed. Chicago: Pharmaceutical Press; 2009. p.1647, 2314.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiology: An Introduction*. 12th ed. Pearson Education; 2016.
- Umay B. Uji efektivitas produk antiseptik hand sanitizer terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro (Skripsi). Medan: Fakultas Biologi Universitas Medan Area; 2018. h.4-6.
- Widyasanti A, Lasut AA, Rahmani FR, Rais MR, Puspitadewi N, Novandra R. Soji project: kampanye virtual dan aksi pembagian hand sanitizer berbahan komoditas local kepada pedangan kaki lima. *J Pengmas*. 2021:64-72.
- World Health Organization. *WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care*. Geneva: WHO Press; 2009.
- Yanti S, Futri CL. Literature Study of Formulating and Testing Physical Properties of Hand sanitizer Preparations of Various Plant Extracts. *Journal of Public Health and Pharmacy*. 2022;2(1):15-19. doi:10.56338/jphp.v2i1.3730.
- Zhang A, Sun H, Wang P, Han Y, Wang X. Recent advances in metabolomics in neurological disease, and future perspectives. *Analyst*. 2019;144(3):1207–1221.