

EFEKTIVITAS BIOETANOL DARI LIMBAH BIJI MANGGA SEBAGAI *HAND SANITIZER TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus*

**Leo Van Gunawan^{1*}, Muhamad Ghozali¹, Naomi Margaretha Simanjuntak¹, Evi Supriatun²,
Zainuddin³**

¹Jurusan Teknik, Politeknik Negeri Indramayu, Indramayu, Indonesia

²Jurusan Keperawatan, Politeknik Negeri Indramayu, Indramayu, Indonesia

³Jurusan Teknik Mesin, Politeknik Negeri Bandung, Bandung, Indonesia

*Penulis Korespondensi: leovangunawan@polindra.ac.id

ABSTRAK

Indramayu merupakan daerah penghasil mangga di Provinsi Jawa Barat. Banyak varietas jenis mangga yang dibudidayakan di Indramayu diantaranya mangga jenis gedong gincu, mangga gajah, mangga harum manis, mangga cengkir, mangga golek, mangga lali jiwo, mangga agrimania dan mangga manalagi. Di Indramayu mangga tersebut kebanyakan dijual dalam bentuk buah dan olahan dodol. Biji mangga yang tidak digunakan kebanyakan dibuang atau hanya dijadikan bibit mangga. Biji mangga mengandung 81,3% Pati setiap 100 gram nya. Pati pada biji mangga dapat dibuat menjadi tepung untuk bahan baku pembuatan bioetanol. Bioetanol dengan kadar 70% dapat digunakan sebagai antiseptik untuk membunuh bakteri, virus dan jamur sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan *hand sanitizer*. Metode dalam pembuatan *hand sanitizer* dari bioetanol tepung biji mangga melalui tahap Proses *Liquifikasi*, Proses *Sakarifikasi*, Proses Fermentasi, Proses Destilasi, Pengujian Kadar Bioetanol, Pembuatan *Hand Sanitizer* dan Pengujian Efektivitas *Hand Sanitizer* pada Bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *disk difussion*. Hasil pengujian kadar bioetanol setelah dilakukan proses destilasi bertingkat adalah 74%. Kemudian bioetanol dicampur dengan *Glycerin* 99,7%, *H2O2* 3% dan *Aquadest Steril* untuk membuat *hand sanitizer*. Hasil pengujian efektivitas *hand sanitizer* pada bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan diameter zona hambat sebesar 6 mm. Berdasarkan kriteria Davis dan Stout maka efektivitas *hand sanitizer* dari bioethanol limbah biji mangga dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sedang.

Kata kunci : Bioetanol, Limbah, Biji Mangga, *S. aureus*

ABSTRACT

Indramayu is a mango producing area in West Java Province. There are many varieties of mango types cultivated in Indramayu, including gedong gincu, gajah, harum manis, cengkir, golek, lali jiwa, agrimania and manalagi. In Indramayu, mangoes are sold as fruit and dodol. Mango seeds are simply thrown away or used as seeds. Mango seeds contain 81.3% starch per 100 grams. The starch in mango seeds can be made into flour as a raw material for making bioethanol. Bioethanol with a content of 70% can be used as an antiseptic to kill bacteria, viruses and fungi so that it can be used as a basic ingredient for making hand sanitizer. The method for making hand sanitizer from mango seed bioethanol goes through the Liquification Process, Saccharification Process, Fermentation Process, Distillation Process, Testing Bioethanol Content, Making Hand Sanitizer and Testing the Effectiveness of Hand Sanitizer on *Staphylococcus aureus* Bacteria using the disk diffusion method. The results of testing the bioethanol content after the multistage distillation process is 74%. Then bioethanol is mixed with *Glycerin* 99,7%, *H2O2* 3% and *Sterile Aquadest* to make hand sanitizer. The results of testing the effectiveness of hand sanitizers on *Staphylococcus aureus* bacteria showed that the diameter of the inhibition zone was 6 mm. Based on the Davis and Stout criteria, the effectiveness of hand sanitizer from mango seed waste bioethanol in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria is medium.

Keywords : Bioethanol, Waste, Mango Seed, *S. aureus*

PENDAHULUAN

Buah mangga (*Mangifera indica*) merupakan salah satu buah yang sangat populer di masyarakat

Indonesia. Indonesia merupakan negara produsen mangga terbesar ke 5 di Dunia (Punia Bangar, Kumar and Whiteside, 2021). Salah satu kota yang

dijuluki kota mangga di Indonesia adalah Indramayu. Indramayu merupakan daerah penghasil mangga di Provinsi Jawa Barat. Banyak varietas jenis mangga yang dibudidayakan di Indramayu diantaranya mangga jenis gedong gincu, mangga gajah, mangga harum manis, mangga cengkir, mangga golek, mangga lali jiwo, mangga agrimania dan mangga manalagi. di Indramayu mangga tersebut kebanyakan dijual dalam bentuk buah ataupun olahan dodol. Biji mangga yang tidak digunakan kebanyakan dibuang atau hanya dijadikan bibit mangga. Biji mangga mengandung 81,3% Pati setiap 100 gram nya (Kerina, Hardoyo and Atmono, 2022). Pati pada biji mangga tersebut dapat di olah menjadi tepung untuk dijadikan makanan maupun produk lain seperti bioetanol.

Bioetanol merupakan etanol yang dibuat dari biomassa yang mengandung komponen gula, pati atau selulosa seperti singkong dan tetes tebu. Etanol umumnya digunakan dalam industri sebagai bahan baku industri turunan alkohol, campuran untuk minuman keras seperti *sake* atau *gin*, dan bahan baku farmasi dan kosmetika (Hendrawati, Ramadhan and Siswahyu, 2019). Etanol memiliki kemampuan antiseptik yang baik dalam membunuh bakteri, virus dan jamur. *Hand sanitizer* berbasis alkohol setidaknya harus mengandung 60% alkohol atau etanol agar efektif dalam membunuh bakteri. Virus dalam strukturnya memiliki protein sebagai lapisan pelindung luar. Lapisan pelindung itulah yang didenaturasi oleh etanol >60% sehingga bagian dalam virus terekspos dan akhirnya membuat virus tersebut mati (Putri *et al.*, 2022). Berdasarkan kemampuan etanol yang dapat digunakan sebagai pembunuh bakteri dan virus, maka bioetanol juga dapat digunakan sebagai alternatif bahan baku disinfektan.

Disinfektan adalah bahan kimia yang digunakan untuk membunuh atau mengurangi jumlah mikroorganisme yang tidak terduga, seperti bakteri, jamur, dan virus. Disinfektan biasa digunakan dalam kultur jaringan yang berbasis alkohol. Disinfektan didefinisikan sebagai pengaruh kimia atau fisik yang digunakan untuk mencegah infeksi atau kontaminan organisme seperti bakteri dan virus, serta untuk membunuh atau menurunkan jumlah mikroorganisme atau kuman penyakit lainnya (Bakhri, 2022). Disinfektan berbahan dasar etanol telah banyak digunakan selama pandemi. Pada saat massa pandemi etanol dapat menonaktifkan virus *Corona* pada manusia termasuk *SARS-Cov-2* (Jiang *et al.*, 2021).

Bioetanol telah digunakan sebagai bahan antiseptik sejak dahulu. *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan penggunaan etanol 70-90% untuk *hand sanitizer* dan disinfektan di masa pandemi *Covid 19* (Itiki and Roy Chowdhury, 2020). Penggunaan etanol untuk campuran disinfektan juga dilakukan di fasilitas kesehatan untuk mencegah penyebaran bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan etanol sebagai disinfektan efektif membasmi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (Kim *et al.*, 2020). Etanol juga dapat menghambat pertumbuhan jamur *Trichopyton mentagrophytes* penyebab penyakit kurap (Komala O, Yulianita and Siwi Fuji raka, 2019). Penggunaan bioetanol sebagai antiseptik sudah pernah dilakukan sebelumnya, akan tetapi belum ada penelitian mengenai pemanfaatan limbah biji mangga menjadi bioetanol sebagai bahan baku *hand sanitizer* untuk membunuh bakteri seperti *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Tepung Dari Limbah Biji Mangga

Langkah-langkah pembuatan tepung dari limbah biji mangga adalah sebagai berikut :

- 1) Kumpulkan dan pilih limbah biji mangga yang masih bagus
- 2) Cuci biji mangga sampai bersih dan keringkan di bawah sinar matahari selama 3 hari seperti pada gambar 1



Gambar 1. Pengerinan Limbah Biji Mangga

- 3) Buka cangkang biji mangga dan keluarkan isinya
- 4) Lakukan pemarkutan sawut isi biji mangga dengan alat perajang
- 5) Rendam dengan *natrium metabisulfit* 3000 ppm selama 60 menit
- 6) Panaskan dalam *oven* dengan suhu 85°C selama 5 menit
- 7) Keringkan dalam *oven* dengan suhu 60°C selama 30 menit
- 8) Giling dengan *disc mill* sampai menjadi tepung seperti pada gambar 2 (Dewi et al., 2022)



Gambar 2. Tepung Biji Mangga

Proses *Liquifikasi*

Liquifikasi (pemasakan) merupakan proses pengkonversian karbohidrat pada pati menjadi gula kompleks (*dextrin*). Langkah-langkah *liquifikasi* dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- 1) Masukkan tepung biji mangga ke dalam panci
- 2) Masukkan air dengan perbandingan 4 liter air/kg tepung
- 3) Masak dengan suhu 90°C selama 30 menit, pada proses ini biasanya tepung akan berbentuk *gel* atau biasa disebut gelatinasi.
- 4) Tambahkan enzim *alfa amilase* 1 ml/kg tepung untuk memecah struktur tepung secara kimia menjadi gula kompleks (*dextrin*).
- 5) Turunkan suhu menjadi 60-70°C dan aduk terus sampai tekstur bubur tepung tidak mengental dan berbentuk cair seperti sup seperti pada gambar 3.



Gambar 3. Proses *Liquifikasi*

Proses Sakarifikasi

Proses sakarifikasi ini dilakukan untuk mengubah gula kompleks (*dextrin*) menjadi glukosa. Proses ini merupakan kelanjutan dari proses *liquifikasi*. Langkah-langkah sakarifikasi adalah sebagai berikut :

- 1) Berikan enzim *gluko amilase* pada bubur tepung tersebut 2 ml/ kg tepung
- 2) Aduk kembali bubur tepung selama 30 menit
- 3) Biarkan bubur tepung dingin sampai suhu ruang (27°C) (Gunawan and Effendy, 2019).

Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan untuk menguraikan glukosa menjadi etanol dan CO_2 . Proses fermentasi ini menggunakan bantuan mikroba pada ragi (*yeast*). Adapun perlengkapan untuk proses fermentasi antara lain; tabung fermentor, botol penampung gas CO_2 , selang, plastik, timbangan digital, sendok takar dan *beaker glass* 250 ml. Bahan tambah untuk fermentasi yaitu; ragi roti, pupuk Urea dan NPK. Berikut merupakan langkah-langkah dalam proses fermentasi :

- 1) Masukkan bubur tepung yang sudah dilakukan proses sakarifikasi ke dalam tabung *fermentor*
- 2) Tambahkan ragi roti sebanyak 4 gram/kg tepung
- 3) Tambahkan Pupuk Urea sebanyak 2 gram/kg tepung
- 4) Tambahkan NPK sebanyak 2 gram/kg tepung
- 5) Masukkan salah satu ujung selang kedalam tabung *fermentor* dan tutup rapat dengan menggunakan plastik dan karet
- 6) Masukkan ujung selang yang lain ke dalam botol yang telah di isi air supaya gas CO_2 dapat keluar dari tabung *fermentor* namun udara luar

tidak bisa masuk ke dalam tabung *fermentor*. Peristiwa ini dinamakan proses fermentasi dengan cara *anaerob*.

- 7) Diamkan dan simpan tabung *fermentor* selama 5 hari pada suhu ruang seperti pada gambar 4 (Gustina et al., 2022)



Gambar 4. Proses Fermentasi

Proses Destilasi

Destilasi adalah proses memisahkan etanol dari cairan fermentasi berdasarkan perbedaan titik didih dan tekanan uap. Langkah-langkah dalam melakukan destilasi adalah sebagai berikut :

- 1) Masukkan cairan hasil fermentasi ke dalam tabung *boiler* pada alat *destilator*
- 2) Panaskan cairan hasil fermentasi pada suhu 78-85°C seperti pada gambar 5.



Gambar 5. Proses Destilasi

- 3) Ukur volume *destilat* bioetanol yang dihasilkan dengan gelas ukur
- 4) Ukur kadar etanol yang dihasilkan memakai alkohol meter seperti pada gambar 6. Jika

kadar bioethanol belum mencapai >70% maka lakukan proses destilasi bertingkat sampai kadarnya >70% (Falaah and Kusumayanti, 2021).



Gambar 6. Pengukuran Kadar Bioetanol

Pembuatan *Hand Sanitizer*

Proses pembuatan *hand sanitizer* dilakukan secara manual dengan menggunakan wadah dan pengaduk berbahan plastik. Untuk membuat *Hand Sanitizer* sebanyak 170 ml campurkan bioetanol dari limbah biji mangga sebesar 100 ml, kemudian *Glycerin* 99,7% sebanyak 43 ml dilanjutkan dengan *H2O2* 3% sebanyak 3 ml dan tambahkan *Aquadest Steril* 24 ml. Semua bahan diaduk selama 15 menit dan dibiarkan selama satu malam dalam wadah tertutup agar kondisi stabil (Taufik et al., 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Media *Nutrient*

Media *Nutrient Agar (NA)* yang pertama di timbang sebanyak 2,8 gram dan dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* 100 ml, kemudian dilarutkan dengan 100 ml *Aquades Steril*, Media *Nutrient Agar (NA)* yang kedua di timbang sebanyak 2,24 gram dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* 100 ml, kemudian dilarutkan dengan 80 ml *Aquades Steril*, untuk media *Nutrient Broth (NB)* ditimbang

sebanyak 0,16 gram dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* 100 ml, kemudian dilarutkan dengan 20 ml *Aquades Steril*.

ketiga media tersebut kemudian dipanaskan dan di *stirer* menggunakan *hotplate*. Selanjutnya media yang dibuat dalam *Erlenmeyer* ditutup dengan kapas dan kertas *aluminium foil* dan disterilkan dalam *autoklaf* selama 15 menit dengan suhu 21°C dan tekanan 1 atm. Kemudian media dituangkan ke dalam cawan *petri* yang akan digunakan, selanjutnya setelah media menjadi padat, maka cawan *petri* yang berisi media dibungkus kemudian disimpan dalam lemari pendingin. Media dapat digunakan langsung pada saat akan *inokulasi*.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan, dibuat dengan cara mengambil 1 koloni menggunakan jarum *Ose* dari biakan *Agar*. Kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi *NaCl fisiologis*, dan di inkubasi pada suhu 37°C kurang lebih selama 1x24 jam, selanjutnya dihomogenkan menggunakan *vortex* dan *suspense* disetarakan dengan kekeruhan 0,5 *Mc-Farland*.

Isolasi (gores) bakteri *Staphylococcus aureus* dimedia *NA* dan di inkubasi selama 1x24 jam. Kemudian ambil 1 sengkelit bakteri yang tumbuh lalu di masukan ke dalam media *NB* 15 ml terus di inkubasi menggunakan *inkubator shaker* dengan suhu 37 °C menggunakan kecepatan rotasi 150 rpm selama 1x 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengukuran jumlah sel bakteri yang tumbuh dengan menggunakan *spektropotometer* dengan panjang gelombang 620 nm perhitungan jumlah sel bakteri sampai pada 106, kemudian di tambahkan 175 µl

bakteri *Staphylococcus aureus* ke media NA yg belum dituang sebagai layer atas.

Pengujian Efektivitas

Pengujian efektifitas dilakukan menggunakan metode *disk diffusion* pada Media *Nutrient Agar* (NA), hal ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *hand sanitizer* dari bioetanol limbah biji manga dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Adapun langkah-langkah pengujian yang dilakukan sebagai berikut :

- 1) Siapkan cawan *petri* yang telah berisi media *Nutrient Agar* (NA) dua layer yakni layer pertama tidak berisi bakteri dan layer kedua sudah di campurkan bakteri
- 2) Membuat lubang (sumuran) pada setiap media *Nutrient Agar* (NA) sebanyak tiga lubang
- 3) Masukkan setiap sampel dan kontrol ke dalam setiap sumuran sebanyak 40 µl dengan menggunakan mikropipet dan tip mikropipet sedangkan untuk *hand sanitizer* cukup di tempelkan
- 4) Selanjutnya di inkubasi di dalam *inkubator* selama 1x24 jam dengan suhu 36°C
- 5) Amati zona bening di setiap *petri*, area bening mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri di permukaan media *Nutrient Agar* (NA).

Hasil Pengujian Efektivitas

Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening pada sekitar sumuran menggunakan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm). Kemudian diameter zona bening yang di peroleh di kurangi dengan diameter sumuran sebesar 6 mm karena sumuran tidak terdapat bakteri. Hasil perhitungan pengukuran diameter zona bening di didapatkan sebesar 6 mm seperti pada gambar 7.



Gambar 7. Pengamatan Diameter Zona Bening

Berdasarkan kriteria Davis dan Stout seperti pada tabel 1 maka efektivitas *hand sanitizer* dari bioethanol limbah biji mangga dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sedang.

Tabel 1. Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri (Masykuroh and Puspasari, 2022)

Diameter Zona Bening	Kriteria Kekuatan
>20 mm	Sangat Kuat
10 – 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

Hasil penelitian kemampuan *hand sanitizer* dari limbah biji mangga dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai alternatif bahan baku antiseptik dalam pembuatan *hand sanitizer*.

PENUTUP

Berdasarkan hasil pengujian efektivitas *hand sanitizer* dari limbah biji mangga didapatkan diameter zona bening sebesar 6 mm. Berdasarkan kriteria daya hambat pertumbuhan bakteri menurut Davis dan Stout maka efektivitas *hand sanitizer* dari bioetanol limbah biji mangga dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sedang. Sehingga bioethanol dari

limbah biji mangga dapat digunakan sebagai alternatif bahan baku antiseptik dalam pembuatan *hand sanitizer*.

DAFTAR PUSTAKA

Bakhri, S. (2022). Pembuatan Desinfektan Berbasis Alkohol 70 % Dan Asam Asetat. *Jurnal Teknik Kimia*. 1(5); 70–78.

Dewi, N. *et al.* (2022). Pembuatan Tepung dari Biji Mangga. *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*. 2(4); 1.

Falaah, M. and Kusumayanti, H. (2021). Proses Fermentasi pada Produksi Bioetanol Dedak Padi dengan Hidrolisis Enzimatis. *Jurnal Metana*. 17(2); 81–87.

Gunawan, L. Van and Effendy, M. (2019). Pengaruh Campuran Bioetanol Biji Durian pada Bahan Bakar Pertalite terhadap Performa Mesin dan Emisi Gas Buang Kendaraan. *Jurnal Rotasi*. 21(2); 76-81.

Gustina, M. *et al.* (2022). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol Dari Pati Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batata* L). *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*. 2(2); p; 116.

Hendrawati, T.Y., Ramadhan, A.I. and Siswahyu, A. (2019). Pemetaan bahan baku dan analisis teknoeкономи bioetanol dari singkong (*Manihot utilissima*) di Indonesia. *Jurnal Teknologi*. 11(1); p; 38.

Itiki, R. and Roy Chowdhury, P. (2020). Fast deployment of COVID-19 disinfectant from common ethanol of gas stations in Brazil: COVID-19 disinfectant from common ethanol. *Health Policy and Technology*. 9(3); 384–390.

Jiang, J. *et al.* (2021). Ethanol-based disinfectant

sprays drive rapid changes in the chemical composition of indoor air in residential buildings. *Journal of Hazardous Materials Letters*. 2; 100042.

Kerina, D.Y., Hardoyo, H. and Atmono, A. (2022). Fermentasi Bioethanol Dari Bahan Baku Biji Buah-Buahan Menggunakan Ragi Roti Dan Ragi Tape. *Jurnal Lingkungan dan Sumberdaya Alam (JURNALIS)*. 5(1); 24–34.

Kim, H.W. *et al.* (2020). A fast and effective alternative to a high-ethanol disinfectant: Low concentrations of fermented ethanol, caprylic acid, and citric acid synergistically eradicate biofilm-embedded methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 229; 113586.

Komala O, Yulianita and Siwi Fuji raka. (2019). Aktivitas Anti Jamur Ekstrak Etanol 50% Dan Etanol 96% Daun Pacar Kuku Terhadap *Trichopyton Mentagrophytes*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan*. 19(1); 12–19.

Masykuroh, A. and Puspasari, H. (2022). Aktivitas Anti Bakteri Nano Partikel Perak (NPP) Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Keladi Sarawak *Alocasia Macrorrhizosterhadap Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli*. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*. 7(1); 76–85.

Punia Bangar, S., Kumar, M. and Whiteside, W.S. (2021). Mango seed starch: A sustainable and eco-friendly alternative to increasing industrial requirements. *International Journal of Biological Macromolecules*. 183; 1807–1817.

Putri, T. *et al.* (2022). Lidah Buaya Terhadap

Antiseptik Hand Sanitizer Gel. 8(9); pp; 1000–1008.

Taufik, M. *et al.* (2022). Making Hand sanitizer from Eucalyptus citriodora plants as an economic opportunity in the new normal era. *Abdimas Talenta: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. 5(2); 519–526.