

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Bahan baku utama pada penelitian ini adalah kulit nanas. Untuk mengetahui bahan baku yang digunakan adalah benar kulit nanas maka dilakukan determinasi tanaman. Determinasi tanaman bahan uji dilakukan dengan tujuan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan pada formulasi pasta gigi dan uji efektivitas bakteri. Determinasi tanaman dilakukan di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Sampel yang dideterminasi adalah buah nanas yang didapatkan dari Blitar, Jawa Timur. Hasil determinasi diketahui bahwa tanaman yang digunakan adalah benar buah nanas yang termasuk dalam jenis *Ananas comosus* (L.) Merr dengan nama suku *Bromeliaceae* seperti pada lampiran 1.

B. Ekstraksi Kulit *Ananas comosus*

Bahan baku kulit nanas dipilih dari buah nanas matang dalam keadaan baik. Pada proses pembuatan dilakukan proses sortasi basah dengan tujuan meminimalkan dan memisahkan bahan uji dari kotoran yang menempel. Kulit nanas dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dengan dijemur di bawah matahari langsung dan menggunakan oven pada suhu 60°C hingga kering. Tujuan dari pengeringan ini adalah untuk mengurangi kandungan air dari simplisia, sehingga tidak dapat ditumbuhi jamur. Selain

itu proses pengeringan juga berguna untuk menghentikan proses enzimatik yang mungkin masih bisa terjadi sehingga dapat mengurangi degradasi zat aktif. Kandungan air dalam jumlah yang tinggi akan mempengaruhi polaritas pelarut (Suhendi *et al.*, 2007).

Sebanyak 1 kg kulit nanas basah yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk untuk mendapatkan partikel yang jauh lebih kecil sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih baik. Partikel sampel yang halus akan memperluas daya pelarutan sehingga pelarutan komponen pada sampel dapat lebih merata (Suhendi *et al.*, 2007). Serbuk kulit nanas yang dihasilkan seberat 220 gram yang akan diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Ekstraksi adalah pemisahan komponen-komponen terlarut dari komponen yang tidak larut dari suatu campuran dengan pelarut yang sesuai (Depkes, 2000). Ekstraksi kulit nanas dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan beberapa pengadukan pada suhu ruangan. Maserasi dilakukan selama 3 hari dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan selanjutnya (Depkes, 2000). Pemilihan metode maserasi berdasarkan pertimbangan kesederhanaan prosedur dan peralatan yang digunakan. Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan terhadap senyawa termolabil yang mungkin terdapat dalam kulit nanas dapat dihindari (Patel, 2013). Pada penelitian ini etanol 90% digunakan sebagai

pelarut. Etanol digunakan sebagai pelarut penyari karena etanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga mampu melarutkan senyawa yang memiliki kepolaran rendah hingga relatif tinggi (Wulandari, 2011).

Hasil dari maserasi kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C. Penguapan ini bertujuan untuk memisahkan pelarut dari senyawanya. Untuk mendapatkan ekstrak kental dilakukan penguapan kembali menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C, sehingga didapatkan ekstrak kental berwarna coklat. Dari 220 gram serbuk kulit nanas dihasilkan sebanyak 54,08 gram ekstrak kental, dengan rendemen yang didapatkan sebesar 0,24%.

C. Uji Senyawa Ekstrak Kulit *Ananas comosus*

Pada penelitian ini dilakukan uji fitokimia pada ekstrak kulit nanas untuk mengetahui ada tidaknya kandungan senyawa yang diinginkan pada ekstrak. Uji yang dilakukan adalah uji flavonoid dan tanin.

1. Uji senyawa flavonoid

Pada pemeriksaan flavonoid jika terjadi perubahan warna merah oranye hingga merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Septiadi *et al.*, 2013). Hasil yang didapatkan berwarna coklat oranye menunjukkan bahwa ada senyawa flavonoid dengan kadar yang sangat sedikit pada kulit nanas seperti pada Gambar 5. Kulit nanas mengandung flavonoid yang merupakan senyawa fenol dan memiliki fungsi sebagai antibakteri dan antijamur. Pada uji senyawa flavonoid dilakukan penambahan HCl pekat seperti pada metode Wilstater bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid

menjadi aglikonnya yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan warna merah atau oranye pada flavonol, flavanonol, dan xanton (Harborne, 1987).



Gambar 1. Hasil uji flavonoid

2. Uji senyawa tanin

Uji senyawa dengan menggunakan besi (III) klorida digunakan untuk menentukan apakah ekstrak kulit nanas mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol dilihat dari larutan yang berubah warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman. Pada pemeriksaan tanin jika terjadi warna biru kehijauan atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Karlina *et al.*, 2013). Larutan yang direaksikan dengan besi (III) klorida menghasilkan warna hijau kehitaman disebabkan gugus fenol yang ada di dalam ekstrak berikatan kompleks dengan ion Fe^{3+} . Hasil yang didapatkan berwarna hijau kehitaman menunjukkan ada senyawa tanin pada kulit nanas seperti pada Gambar 6. Menurut Masduki (1996), tanin memiliki peran sebagai

antibakteri dengan cara mengikat protein sehingga pembentukan dinding sel akan terhambat.



Gambar 2. Hasil uji tanin

D. Formulasi Pasta Gigi

Ekstrak kental yang telah didapatkan di formulasi menjadi pasta gigi ekstrak kulit nanas yang mengacu pada formula Sari (2014) dilakukan percobaan formula optimasi seperti pada Tabel 5. Alasan dilakukan percobaan optimasi adalah untuk mendapatkan formulasi pasta gigi yang terbaik.

Tabel 1. Rancangan formula Sari (2014) dengan optimasi

Bahan	Formula tanpa ekstrak Percobaan 1	Formula tanpa ekstrak Percobaan 2
CaCO ₃	4 gram	4 gram
Gliserin	3,1gram	3 gram
Sorbitol	0,3 gram	0,3 gram
Air	1,9 ml	1,5 ml
Gum Arab	0,5 gram	1 gram
<i>Peppermint oil</i>	0,2 ml	0,2 ml

Hasil dari percobaan pertama adalah sesuai dengan formulasi yang dilakukan oleh Sari (2014) tekstur dari pasta gigi yang terlalu encer dan

pada percobaan kedua dilakukan formula optimasi dengan hasil pasta gigi yang masih encer belum terbentuk pasta. Dari hasil tersebut didapatkan kesimpulan bahwa konsentrasi gum arab yang semakin meningkat maka tekstur dari pasta gigi semakin kental dan semakin rendah konsentrasi gum arab maka tekstur pasta gigi semakin tidak kental. Hal ini disebabkan karena sifat dari gum arab sebagai pengikat atau pengental pada formula pasta gigi, begitu pula pada konsentrasi air dan gliserin sebagai pelembab mempengaruhi hasil tekstur dari pasta gigi (Putri *et al.*, 2011). Menurut Sari (2014) penambahan ekstrak pada formula pasta gigi disesuaikan dengan banyaknya gliserin yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam pasta gigi maka akan semakin sedikit gliserin yang digunakan.

E. Uji Kualitas Pasta Gigi

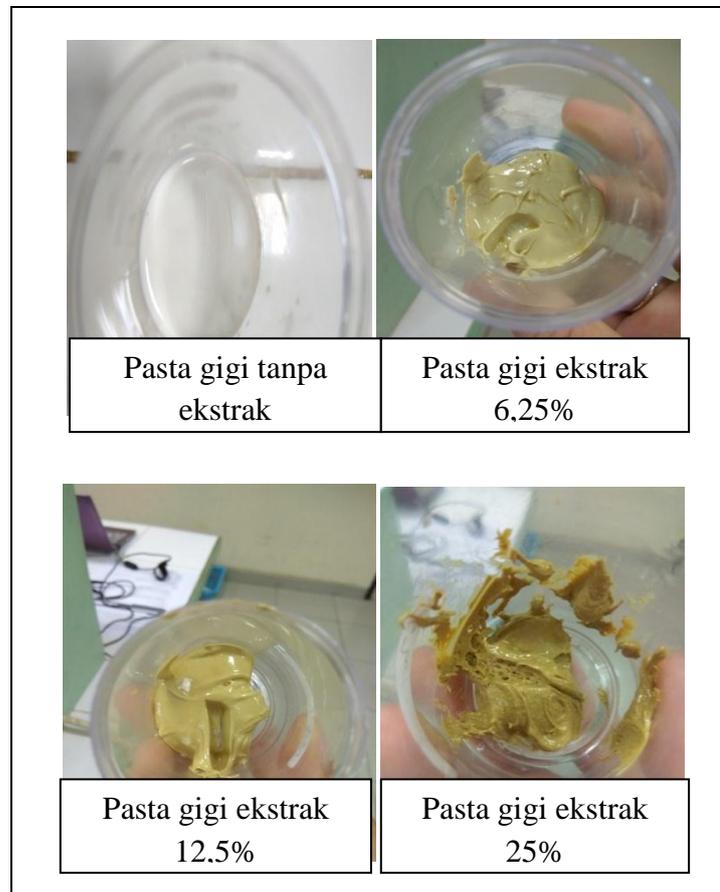
Berdasarkan komposisi pembuatan formula pasta gigi yang dibuat sesuai dengan metode penelitian seperti pada Tabel 4, yaitu dengan membuat 4 formula pasta gigi yang terdiri dari 1 pasta gigi tanpa ekstrak dan 3 pasta gigi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, dan 25%. Pasta gigi yang telah dibuat selanjutnya diuji kualitasnya. Uji kualitas yang dilakukan adalah uji organoleptik, uji homogenitas, dan uji pH. Hasil pengamatan evaluasi fisik sediaan pasta gigi bisa dilihat pada Tabel 6 yang menunjukkan hasil dari pengamatan selama 2 minggu.

Tabel 2. Hasil pengamatan evaluasi fisik sediaan pasta gigi

Parameter	Formula	Hasil Pengamatan				Evaluasi
		Hari 1	Hari 2	Minggu 1	Minggu 2	
Warna	Tanpa ekstrak	Putih	Putih	Putih	Putih	Sesuai
	Ekstrak 6,25%	Coklat muda	Coklat muda	Coklat muda	Coklat muda	Sesuai
	Ekstrak 12,5%	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Sesuai
	Ekstrak 25%	Coklat pekat	Coklat pekat	Coklat pekat	Coklat pekat	Sesuai
Aroma	Tanpa ekstrak	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
	Ekstrak 6,25%	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
	Ekstrak 12,5%	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
	Ekstrak 25%	Mint	Mint	Mint	Mint	Sesuai
Tekstur	Tanpa ekstrak	Lembut, konsistensi sedang	Lembut, konsistensi sedang	Lembut, konsistensi sedang	Lembut, konsistensi sedang	Tidak sesuai
	Ekstrak 6,25%	Lembut, konsistensi sedang	Lembut, konsistensi sedang	Lembut, konsistensi sedang	Lembut, konsistensi sedang	Tidak sesuai
	Ekstrak 12,5%	Lembut, konsistensi baik	Lembut, konsistensi baik	Lembut, konsistensi baik	Lembut, konsistensi baik	Sesuai
	Ekstrak 25%	Kurang lembut, konsistensi baik	Tidak sesuai			
	Tanpa ekstrak	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Sesuai
Homogenitas	Ekstrak 6,25%	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Sesuai
	Ekstrak 12,5%	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Sesuai
	Ekstrak 25%	Kurang homogen	Kurang homogen	Kurang homogen	Kurang homogen	Tidak sesuai

Pada uji organoleptik, hal yang diamati adalah aroma, warna, dan tekstur dari sediaan pada 2 minggu penyimpanan di suhu kamar (Poucher, 2000). Hal tersebut ditunjukkan pada warna, aroma, dan tekstur keempat formula terdapat perbedaan. Hasil penelitian didapatkan selama 2 minggu penyimpanan tidak terjadi perubahan aroma, warna, dan tekstur, yang berarti pasta gigi tersebut baik selama penyimpanan 2 minggu pada suhu kamar. Pada Tabel 6 warna pasta gigi berwarna coklat muda ke coklat pekat disebabkan oleh warna pada ekstrak kulit nanas. Hal ini menyebabkan hasil dari formula pasta gigi dengan semakin tinggi konsentrasinya maka warna pasta gigi semakin pekat. Aroma formula pasta gigi tanpa ekstrak dan pasta gigi ekstrak kulit nanas menunjukkan aroma yang sama yaitu berbau menthol, hal ini dikarenakan semua formula pasta gigi ditambahkan dengan bahan *peppermint oil* sebanyak 2% pada setiap formula. Formula pasta gigi ekstrak kulit nanas konsentrasi 25% didapatkan hasil konsistensi baik karena bertekstur pasta, akan tetapi kurang lembut karena konsentrasi ekstrak yang digunakan lebih banyak sehingga dalam pengadukan lebih sulit.

Pada uji homogen yang perlu diamati adalah adanya butiran kasar atau terjadi pemisahan selama 2 minggu penyimpanan pada suhu kamar. Uji ini menunjukkan adanya perbedaan homogenitas dari keempat formula pasta gigi seperti pada Gambar 7.



Gambar 3. Pasta gigi tanpa dan dengan ekstrak kulit nanas

Pada formula pasta gigi tanpa ekstrak, ekstrak kulit nanas konsentrasi 6,25% dan konsentrasi 12,5% hasil uji homogenitas formula pasta gigi menunjukkan baik yaitu tidak terdapat gumpalan kecil dan warna tetap merata selama penyimpanan 2 minggu pada suhu ruang dan hasil uji pada formula pasta gigi ekstrak kulit nanas konsentrasi 25% menunjukkan kurang homogen karena terdapat gumpalan kecil dan tetap stabil selama penyimpanan. Pada formula pasta gigi ekstrak kulit nanas konsentrasi 25% kurang homogen karena menggunakan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi lebih banyak dari formula yang lain sehingga pada saat digerus

lebih sulit untuk lembut dan homogen dengan baik, akan tetapi hasil selama 2 minggu penyimpanan tetap stabil.

Pasta gigi ekstrak kulit nanas juga di uji pH. Hasil uji pH seperti pada Tabel 7. Hasil yang didapatkan sudah sesuai dengan persyaratan yang ada yaitu antara rentang 5-6. Persyaratan mutu pasta gigi pada SNI 12-3524-1995, yaitu 4,5-10,5.

Tabel 3. Nilai pH formula pasta gigi

Formula	pH	Kesimpulan
Tanpa ekstrak	6	Sesuai
Ekstrak 6,25%	6	Sesuai
Ekstrak 12,5%	6	Sesuai
Ekstrak 25%	5	Sesuai

Hasil yang didapatkan dari uji kualitas pasta gigi di atas pada uji organoleptik, homogenitas, dan pH pasta gigi ekstrak 12,5% sudah sesuai dengan syarat mutu pasta gigi SNI 12-3524-1995 yaitu lembut, berbentuk pasta, homogen tidak terlihat adanya gelembung udara, gumpalan, dan partikel yang terpisah.

6. Uji Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Kulit Nanas

Pada penelitian ini pasta gigi ekstrak kulit nanas yang telah di uji kualitasnya selanjutnya di uji efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan pengukuran diameter zona hambat. Hasil diameter zona hambat tampak seperti pada Tabel 8.

Tabel 4. Hasil diameter zona hambat pasta gigi ekstrak kulit nanas (*Ananascomosus*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Pasta gigi	Percobaan I	Percobaan II	Percobaan III
Ekstrak kulit nanas	0 mm	0 mm	0 mm
Pasta gigi Pepsodent [®] (+)	18 mm	18,2 mm	19 mm
Tanpa ekstrak (-)	0 mm	0 mm	0 mm
6,25%	0 mm	0 mm	0 mm
12,5%	0 mm	0 mm	0 mm
25%	0 mm	0 mm	0 mm

Pada Tabel 8 hasil yang didapatkan pada pasta gigi Pepsodent[®] sebagai kontrol positif menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada ketiga media agar, rata-rata dari percobaan tersebut adalah 18,4 mm. Pada ekstrak kulit nanas, pasta gigi tanpa ekstrak dan pasta gigi ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, dan 25% menunjukkan masih terdapat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada ketiga media agar, rata-rata dari percobaan tersebut adalah 0 mm. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rakhmanda tahun 2008, pada konsentrasi ekstrak yang semakin rendah, kemampuan senyawa aktif dalam ekstrak tersebut semakin kecil jumlahnya sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri berkurang.

Penelitian yang dilakukan tentang efektivitas daya antibakteri pasta gigi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode ini dipilih karena hasil pembentukan zona bening lebih mudah untuk diamati dibandingkan dengan metode dilusi dan mudah

dilakukan karena tidak perlu memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Metode difusi cakram digunakan untuk menentukan sensitivitas bakteri pathogen yang baik bersifat aerob maupun anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antimikroba (Hudzicki, 2013). Media pertumbuhan bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Trypticase Soy Agar* (TSA). TSA merupakan media kultur universal, hampir semua jenis bakteri bisa tumbuh pada media ini baik bakteri gram positif maupun gram negatif. Pemilihan bakteri ini karena bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang menyebabkan karies pada gigi.



Gambar 4. Hasil uji aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans*

Nilai diameter hambat didasarkan pada luas zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang diukur menggunakan penggaris. Keefektifan daya antibakteri dari sampel yang diujikan dilihat dari semakin luas zona bening yang terbentuk (Mulyani dan Sarjono, 2007). Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini juga dilakukan pada pasta gigi Pepsodent[®] sebagai kontrol positif karena merupakan pasta gigi antiplak. Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan formula pasta gigi tanpa

ekstrak bertujuan untuk memastikan bahwa aktivitas antibakteri pada saat penelitian berasal dari sampel uji.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Audies (2015) menunjukkan ekstrak kulit nanas konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25% memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Konsentrasi terbesar dari ekstrak yang memiliki daya antibakteri *Streptococcus mutans* adalah 100% dan konsentrasi efektif adalah 25%. Pada penelitian Anggraeni (2014), peneliti melakukan uji antibakteri pada ekstrak kulit nanas terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* ke dalam beberapa konsentrasi yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, dan 0,39%. Pada hasil penelitian sebelumnya diperoleh data bahwa kadar hambat minimal terdapat pada konsentrasi 6,25%, sedangkan kadar bunuh minimal terdapat pada konsentrasi 50%.

Hasil penelitian ini menunjukkan pasta gigi ekstrak kulit nanas tidak menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*, hal tersebut berarti tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya. Hal ini dapat dipengaruhi beberapa faktor seperti suhu pada saat proses pembuatan ekstrak dan umur panen. Pada saat pengeringan kulit nanas, selain dengan panas matahari langsung juga menggunakan oven dengan suhu 60°C karena kulit nanas sangat lama dalam proses pengeringan. Setelah pengeringan dan dimaserasi, saat proses evaporasi pun masih harus di *waterbath* dengan suhu 60°C agar mendapatkan ekstrak kental. Menurut Kumaunang *et al.*, (2011), kenaikan aktivitas pada temperature 55 sampai dengan 65°C berpengaruh terhadap

aktivitas enzim bromelin. Peningkatan temperature dapat menyebabkan peningkatan kecepatan reaksi dan secara bersamaan meningkatkan kecepatan inaktivasi enzim. Hal tersebut yang mempengaruhi kandungan enzim bromelin yang ada pada kulit nanas hilang atau rusak setelah menjadi ekstrak kental sehingga tidak menghambat *Streptococcus mutans*.

Menurut Katno (2008), umur panen tanaman mempengaruhi kandungan senyawa kimia dalam tanaman. Kulit nanas memiliki kandungan senyawa enzim bromelin, tanin, dan flavonoid sebagai antibakteri. Penelitian yang dilakukan Riadini *et al.*, (2015), kemampuan yang dimiliki sambung nyawa dalam melawan berbagai penyakit sangat dipengaruhi oleh umur panen tanaman. Daun sambung nyawa umur panen 4 bulan memiliki kandungan total fenolik lebih tinggi dibandingkan umur panen 2 dan 3 bulan, hal tersebut menunjukkan umur panen berpengaruh pada kandungan senyawa tanaman. Menurut Kambey (2006), enzim bromelin banyak terdapat pada bagian tangkai, kulit, daun buah dan batang dalam jumlah kadar yang berbeda-beda. Enzim bromelin yang terdapat pada buah nanas muda paling banyak yaitu 62,5 U/mg sedangkan pada batang buah nanas mengandung enzim bromelin sebanyak 27,3 U/mg dan pada kulit buah nanas 32,2 U/mg. Menurut Silaban dan Rahmanisa (2016) aktivitas enzim bromelin dipengaruhi kematangan buah, pH, konsentrasi dan waktu. Aktivitas bromelin buah nanas muda lebih tinggi daripada buah yang tua atau matang. Kesimpulan dari penelitian tersebut nanas muda lebih banyak mengandung enzim bromelin dibandingkan nanas yang sudah

matang. Hal ini merupakan salah satu penyebab tidak berefeknya kulit nanas pada bakteri karena pada penelitian ini menggunakan kulit nanas yang sudah matang yang kandungan enzim bromelinnya lebih rendah dibandingkan nanas muda dan pada saat proses ekstraksi suhu yang digunakan tidak sesuai sehingga menyebabkan kandungan enzim bromelin sebagai antibakteri rusak dan pasta gigi ekstrak kulit nanas tidak berefek pada *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan pembahasan di atas maka formulasi pasta gigi ekstrak kulit nanas yang terbaik adalah pada pasta gigi ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 12,5% dan pada pasta gigi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) 6,25%, 12,5%, dan 25% tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.