

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan metode dilusi cair dan dilusi padat yang bertujuan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Kadar Hambat Minimal (KHM) dapat diketahui dengan mengamati kekeruhan larutan pada tabung reaksi setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Perubahan kekeruhan dapat dilihat dengan mengamati hasil biakan pada tabung reaksi yang tampak jernih bila dibandingkan dengan kontrol positif (suspensi bakteri dengan BHI), yang artinya tidak ada pertumbuhan bakteri pada tabung reaksi tersebut. Kadar Bunuh Minimal (KBM) dapat diketahui dengan mengamati konsentrasi terendah yang sudah tidak ada pertumbuhan bakteri pada media *Tryptone Soya Agar (TSA)* di cawan petri yang telah di ose dari tabung tabung reaksi pada penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) yang dilakukan sebelumnya.

Hasil pengujian Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Hasil pengujian dengan metode dilusi cair

Tabung ke-	Konsentrasi	I	II	III
1	100%	TT	TT	TT
2	50%	TT	TT	TT
3	25%	TT	TT	TT
4	12,5%	-	-	-
5	6,25%	-	-	-
6	3,125%	-	-	-
7	1,56%	-	-	-
8	0,78%	+	+	+
9	Kontrol – (sisa pengenceran)	-	-	-
10	Kontrol + (suspensi bakteri 10^6 CFU/ml)	+	+	+

Keterangan :

+ (positif) : ada kekeruhan pada media cair yang menunjukkan adanya bakteri

- (negatif) : tidak ada kekeruhan pada media cair yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri

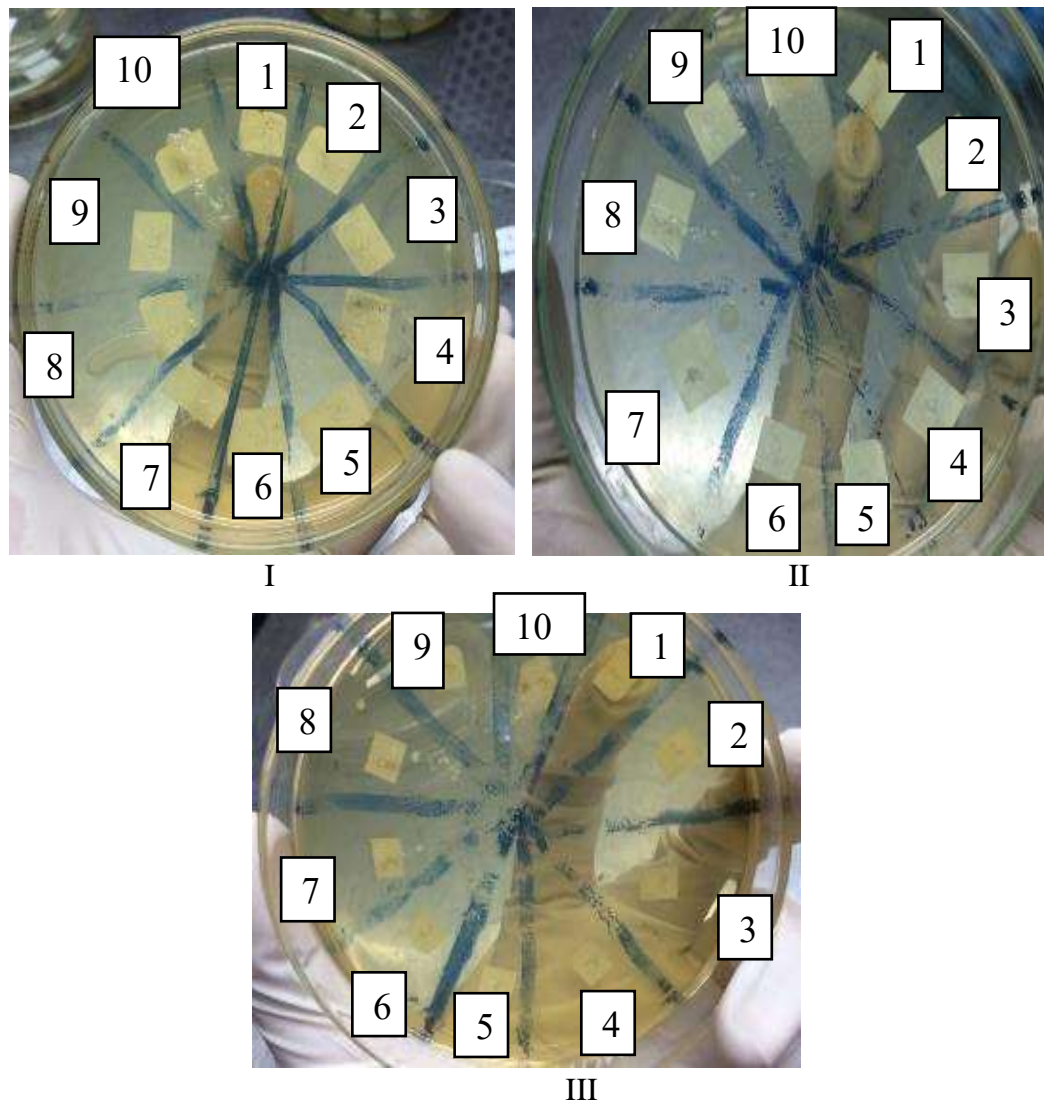
TT : hasil tidak dapat diamati karena ekstrak terlalu pekat

Tabel 1 diatas menunjukkan diperoleh hasil bahwa ekstrak kulit nanas

(*Ananas comosus*) memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang terlihat pada tabung ke-1 hingga tabung ke-7 dengan konsentrasi penurunan dari 100% hingga 1,56%. Kontrol negatif pada tabung ke-9 juga tetap jernih, menandakan bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) tidak terkontaminasi. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak ekstrak kulit nanas (*Ananas*

comosus) memiliki KHM terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 1,56%.

Hasil pengujian dilusi padat dengan 3 kali pengulangan dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1. Pengujian Dilusi Padat Setelah Inkubasi pada Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi

- 1) 100%, 2) 50%, 3) 25%, 4) 12,5%, 5) 6,25%, 6) 3,125%,
7) 1,56%, 8) 0,78%, 9) kontrol negatif, 10) kontrol positif

Hasil pengujian dilusi padat ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dinyatakan pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil pengujian dengan metode dilusi padat

Tabung ke-	Konsentrasi	I	II	III
1	100%	-	-	-
2	50%	-	-	-
3	25%	-	-	-
4	12,5%	-	-	-
5	6,25%	-	-	-
6	3,125%	-	-	-
7	1,56%	+	+	+
8	0,78%	+	+	+
9	Kontrol – (sisa pengenceran)	-	-	-
10	Kontrol + (suspensi bakteri 10^6 CFU/ml)	+	+	+

Keterangan :

- + (positif) : ada pertumbuhan bakteri pada media agar
- (negatif) : tidak ada pertumbuhan bakteri pada media agar

Berdasarkan tabel 2 hasil pengujian pada dilusi padat dapat diketahui bahwa konsentrasi minimal ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 3,125%.

B. Pembahasan

Pembuatan ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena

etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan bahan pelarut yang lain. Etanol juga relatif aman dan tidak beracun (Azis, dkk., 2014). Bahan kulit nanas yang digunakan adalah golongan *Cayenne* sebanyak 5 kg yang dikeringkan kemudian diblender sampai halus menjadi serbuk. Setelah dilakukan proses ekstraksi, didapatkan hasil ekstrak kulit nanas pekat sebanyak 110,5 g.

Pada penelitian dengan metode dilusi dilakukan dengan cara memasukkan sejumlah zat antimikroba ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Zat antimikroba tersebut biasanya digunakan dengan diencerkan dua kali lipat (\log_2). Selanjutnya medium diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi (Jawetz, 2004). Metode dilusi memiliki kelebihan dibanding metode difusi yaitu lebih peka dan terjamin homogenitasnya di antara media, bahan uji, dan suspensi bakteri, sehingga bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata (Brooks, dkk., 2005)

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi ekstrak 1,56% merupakan kadar minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* melalui dilusi cair karena pada kadar ini larutan ekstrak sudah terlihat jernih dan tidak ada kekeruhan.

Selama penelitian dilakukan, KHM sulit ditentukan karena warna larutan ekstrak yang terlalu pekat. Pada konsentrasi 100%, 50% dan 25% tidak dapat diamati karena warna ekstrak masih terlalu pekat. Nilai dari kadar hambat minimal ini dapat ditentukan dari tingkat kekeruhan dari setiap larutan, kekeruhan tersebut diakibatkan adanya pertumbuhan bakteri. Dari hasil pengamatan menunjukkan

pada konsentrasi 1,56% larutan terlihat mulai jernih. Kekeruhan terlihat pada konsentrasi 0,78%. Untuk memperkuat hasil pengamatan maka dilanjutkan dengan uji dilusi padat dengan media agar.

Konsentrasi minimal ekstrak yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dinilai dengan mengamati adanya pertumbuhan bakteri pada media *Tryptone Soya Agar* (TSA) di cawan petri yang sudah di ose dari tabung tabung reaksi pada penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) yang dilakukan sebelumnya.

Hasil pengujian Kadar Bunuh Minimal (KBM) dengan dilusi padat didapatkan bahwa bakteri tidak dapat tumbuh mulai dari konsentrasi 3,125%, sedangkan pada konsentrasi 3,125% – 100% tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada media. Sehingga dari hasil penelitian ini, konsentrasi 100% - 3,125% merupakan konsentrasi yang mampu memberikan efek menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah dari 3,125%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Manaroinsong dkk., (2015) yang menunjukkan ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100%.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) memiliki daya hambat minimal dan

daya bunuh minimal yang lebih baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan bakteri *Streptococcus mutans*. Menurut Angraeni (2014) didapatkan hasil Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 6,25%, dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 50%. Sedangkan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan penelitian yang dilakukan Angraeni yaitu diperoleh Kadar Hambat Minimal (KHM) pada konsentrasi 1,56% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) terdapat pada konsentrasi 3,125%. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) lebih efektif menghambat maupun membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan bakteri *Streptococcus mutans* pada rongga mulut.

Bakteri gram positif yang salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kandungan lipid lebih rendah dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif hanya memiliki satu lapis membran peptidoglikan yang tebal (Rakhmanda, 2008). Sehingga menyebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* lebih mudah terhambat pertumbuhannya dibandingkan dengan bakteri gram negatif.

Beberapa tahun terakhir ini terjadi peningkatan ketertarikan pada tanaman nanas yang menunjukkan adanya efek antibakteri terutama pada kulit nanas. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Manaroinsong, dkk., (2015)

membuktikan bahwa bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) mempunyai rerata diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang lebih besar yaitu 15,06 mm daripada rerata zona hambat yang dibentuk oleh ekstrak daging nanas 10,85 mm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa antibakteri pada kulit nanas lebih besar dibandingkan senyawa antibakteri pada daging buah nanas.

Kandungan dalam kulit nanas yang menjadi zat antibakteri yaitu enzim bromelin, flavonoid, dan tanin. Kulit nanas merupakan sumber enzim bromelain yang mempunyai efek menekan pertumbuhan bakteri baik secara bakteriostatik maupun bakteriosida. Cara kerja enzim bromelain adalah menurunkan tegangan permukaan bakteri dengan cara menghidrolisis protein saliva dan glikoprotein yang merupakan mediator bakteri untuk melekat pada permukaan gigi. Dengan cara kerja enzim bromelain tersebut, enzim ini dapat digunakan sebagai efek antibakteri. (Rakhmanda, 2008). Turunnya tegangan permukaan dinding sel bakteri menyebabkan dinding sel tidak selektif dalam meloloskan zat terlarut dan zat lainnya. Zat-zat tersebut dapat mengubah sifat fisik dan kimiawi selaput sel dan dapat menghalangi fungsi normalnya sehingga mampu menghambat dan membunuh bakteri tersebut (Brooks, dkk., 2005).

Senyawa lain yang terkandung dalam kulit nanas yang dapat diduga dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur (Rakhmanda, 2008). Kandungan flavonoid yang merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan penghambatan terhadap sintesis dinding sel bakteri. Menurut Jawetz,

dkk., (2004) senyawa fenol dan derivatnya dapat menimbulkan denaturasi protein yang dapat menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri.

Zat antibakteri lainnya adalah zat tanin. Zat tanin yang terkandung dalam ekstrak kulit nanas diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel bakteri. Akibat terganggunya permeabilitas sel, bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Berdasarkan data tersebut sudah terbukti bahwa hipotesis ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) mempunyai efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah benar.