

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan suatu penyakit yang menyebabkan tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan kematian (*mortality*) terutama di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebabnya yaitu bakteri (Damardi, 2008). Infeksi dapat menular dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Secara umum infeksi disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit yaitu bakteri, jamur, virus dan parasit (Jawetz dkk., 2001). Di negara berkembang angka kematiannya mencapai 39,5 juta; lebih dari 25% disebabkan oleh penyakit infeksi (Dwiprahasto, 2005).

Salah satu pengobatan yang banyak digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri adalah penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang kurang tepat menyebabkan banyaknya efek samping dan juga beberapa orang dapat mengalami reaksi hipersensitivitas terhadap antibiotik tersebut. Hal tersebut dapat menyebabkan pengobatan penyakit infeksi menjadi lebih kompleks dan waktu penyembuhan menjadi lama serta resiko timbulnya komplikasi penyakit (Putri dan Yulianti, 2009).

Adanya masalah-masalah tersebut mendorong adanya penemuan sumber obat-obatan antimikroba dari alam yang berperan sebagai antibakteri dan memiliki efek samping kecil. Salah satu tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai obat adalah kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Kandungan kimia kulit nanas adalah flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid (Kalaiselvi dkk., 2012). Senyawa

flavonoid dalam kulit nanas memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri (Sandhar dkk., 2011).

Penelitian Gunwantrao dkk (2016), menjelaskan bahwa ekstrak etanol kulit nanas konsentrasi 50 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter hambat sebesar 17 mm. Audies (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* mulai konsentrasi 25%. Penelitian lainnya oleh Wiharningtyas dkk (2016) melaporkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol 96% kulit nanas terhadap *S. aureus* yaitu 1,56%. Setiawan (2015) melaporkan ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) dan kulit nanas basah (KNB) memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid. Jenis flavonoid yang diisolasi dari ekstrak kulit nanas kering (KNK) adalah dihidroflavonol sedangkan ekstrak kulit nanas basah (KNB) adalah flavanon.

Metode partisi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Partisi bertingkat (non polar, semi polar dan polar) akan mempengaruhi profil kandungan kimia masing-masing fraksi dari sehingga berpengaruh terhadap aktivitasnya (Gu, 2000), namun penelitian ini hanya melihat profil aktivitas pada fraksi semi polar yaitu etil asetat. Kulit nanas mengandung banyak senyawa aktif sehingga perlu dilakukan fraksinasi agar jumlah senyawa aktif dapat disederhanakan dari kandungan ekstrak yang cukup kompleks. Senyawa-senyawa semi polar yang terkandung dalam kulit nanas dapat tersari oleh fraksi etil asetat dan harapannya senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit nanas terhadap *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, dan *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi cair.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan permasalahan pada penelitian ini adalah :

1. Apakah fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit buah nanas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* ?
2. Berapakah nilai KHM dari fraksi etil asetat tersebut terhadap bakteri uji ?

C. Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit nanas terhadap *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.
2. Menentukan nilai KHM dari fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit nanas terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.

D. Manfaat penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Menambah data farmakologi mengenai aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit nanas terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.

2. Sebagai acuan dalam penelitian lanjutan mengenai golongan senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri.

E. Tinjauan Pustaka

1. Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

Tanaman nanas berasal dari Amerika tropis, yaitu Brasil, Argentina, dan Peru. Di Indonesia, tanaman nanas banyak ditanam di tegalan dari dataran rendah sampai dataran tinggi. Daerah penghasil nanas yang terkenal diantaranya Subang, Bogor, Palembang, dan Blitar (Sunarjono, 2005).

Nanas merupakan tanaman herba yang dapat hidup dalam berbagai musim. Tanaman ini digolongkan kedalam kelas monokotil yang bersifat tahunan yang memiliki rangkaian bunga di ujung batang, tumbuhnya meluas dengan menggunakan tunas samping yang berkembang menjadi cabang-cabang vegetatif yang kemudian menghasilkan buah (Sari, 2002). Dari data statistik, produksi buah nanas (Gambar 1) di Indonesia pada tahun 2014 sebesar 1.835.483 ton atau sekitar 9,27 % dari total produksi buah di Indonesia. Provinsi yang memiliki kontribusi terbesar terhadap produksi nanas adalah Lampung, Jambi, Jawa Barat, dan Jawa Timur (Kementan, 2015).



Gambar 1. Buah nanas (Dokumentasi Pribadi)

Klasifikasi tumbuhan nanas sebagai berikut (Van Steenis, 2005):

Divisio : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)

Divisio : Angiospermae (berbiji tertutup)

Classis : Monocotyledoneae

Ordo : Bromeliales

Familia : Bromeliaceae

Genus : *Ananas*

Spesies : *Ananas comosus* L.

Buah nanas dapat diolah menjadi berbagai macam produk seperti dodol nanas, selai nanas, jelly nanas, sirup nanas dan keripik nanas. Bila produksi buah nanas cukup besar, maka ketersediaan limbah kulit nanas pun akan besar. Kulit nanas (Gambar 2) merupakan produk samping hasil olahan industri yang terdiri dari sisa daging buah, kulit, dan kulit terluar (Abadi dan Handayani, 2007).



Gambar 2. Kulit nanas (Plur, 2010)

Penelitian Wijana dkk., (1991), menyebutkan kulit nanas mengandung 81,72% air; 20,87% serat kasar; 17,53% karbohidrat; 4,41% protein dan 13,65% gula reduksi. Kandungan karbohidrat dan gula yang cukup tinggi pada kulit nanas dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bahan kimia, salah satunya etanol melalui proses fermentasi. Disamping itu, kulit nanas juga mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, steroid (Kalaiselvi dkk., 2012).

Penelitian Hatam (2013) menyatakan bahwa ekstrak kulit nanas berkhasiat sebagai antioksidan. Antioksidan ini dapat mengurangi kerusakan oksidatif seperti radikal bebas dan logam pengkkelat (Tochi dkk., 2008). Antioksidan yang terkandung dalam kulit nanas juga dapat mencegah terjadinya penyakit-penyakit kronis seperti penyakit jantung, kanker, diabetes, alzheimer, dan parkinson. Senyawa bioaktif lain yang terkandung dalam kulit nanas yaitu flavonoid quersetin yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antialergi, antivirus, antikanker dan antibakteri (Sandhar dkk., 2011).

Proses pengujian aktivitas antibakteri dari suatu bahan alam dapat dilakukan dengan membuat ekstrak, yaitu kulit nanas diproses menjadi bentuk ekstrak kental dalam rangka meningkatkan konsentrasi kandungan kimianya. Ekstrak adalah sediaan pekat yang dibuat dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI., 1995). Ekstrak dikenal dengan tiga macam yaitu ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering (Depkes RI., 1979).

Ekstrak kulit nanas mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid (Sandhar dkk., 2011). Metode ekstraksi kulit nanas yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Metode maserasi merupakan suatu cara penyarian yang sederhana dan mudah. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Prinsip metode ini adalah cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang

mengandung zat aktif, zat aktif tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan di dalam sel (Depkes RI., 1986). Proses remaserasi adalah penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian pada maserat dan seterusnya. Metode maserasi memiliki kekurangan yaitu waktu pengerjaan yang lama, membutuhkan pelarut dalam jumlah banyak dan penyariannya kurang sempurna (Sudjadi, 1986).

Pelarut etanol 96% digunakan sebagai cairan penyari pada metode maserasi dengan pertimbangan bahwa etanol dapat melarutkan berbagai senyawa yang sifatnya polar hingga non polar (Universal). Etanol dapat bercampur dengan air dalam berbagai perbandingan, tidak beracun, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, penguapan pelarut dibutuhkan waktu yang relatif lebih cepat, namun kerugiannya adalah pelarut etanol lebih mahal harganya dibandingkan aquades (Depkes RI., 1986).

2. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolaran suatu zat aktif (Harborne, 1987). Partisi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling campur. Komponen kimia akan terpisah ke dalam dua fase sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Gu, 2000). Cara kerja partisi cair-cair adalah penambahan pelarut untuk ekstraksi yang tidak dapat bercampur dengan pelarut awal, kemudian dilakukan pengocokan dan akan terjadi

kesetimbangan konsentrasi zat yang akan diekstraksi pada kedua lapisan. Kedua lapisan tersebut didiamkan dan kemudian dipisahkan (Khopkar, 1990)

3. Mikrobiologi

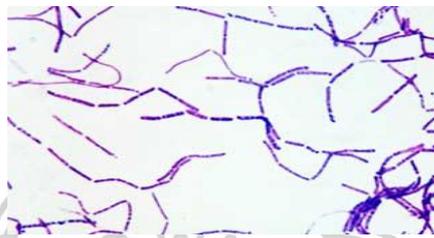
Mikrobiologi merupakan ilmu pengetahuan tentang makhluk-mahluk kecil yang hanya dapat dilihat mikroskop (Dwijoseputro, 2001). Salah satunya adalah bakteri. Bakteri dapat dibedakan dari bentuknya maupun melalui pengecatan Gram. Organisme yang termasuk ke dalam golongan mikroorganisme adalah bakteri, jamur, dan virus (Pratiwi, 2008).

Bakteri adalah sel prokariot yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Sel-sel khas berbentuk bola, batang atau spiral. Bakteri umumnya berdiameter sekitar 0,5-1 μm dan panjang 1,5-2,5 μm . Organisme ini sangat luas penyebarannya di lingkungan sehari-hari (Pelczar dan Chan, 2007). Bakteri yang bisa digunakan sebagai mikroba uji antara lain *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*.

a. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis tergolong bakteri Gram positif berbentuk batang pendek, berukuran 0,3-2,2 x 1,2-7,0 μm , tersusun dalam rantai panjang, bersifat aerob. *Bacillus subtilis* beserta endosporanya tersebar luas dalam tanah, tumbuhan, air dan terbawa oleh partikel-partikel debu di udara. Endospora tahan terhadap perubahan lingkungan yang ekstrem seperti suhu yang tinggi dan panas kering serta *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan penyakit pada manusia dengan sistem imun terganggu, misalnya gastroenteritis akut dan meningitis (Jawetz dkk., 1996).

Genus *Bacillus* mempunyai sifat fisiologis yang menarik karena tiap-tiap jenis mempunyai kemampuan yang berbeda-beda, diantaranya: mampu mendegradasi senyawa organik seperti protein, pati, selulosa, hidrokarbon dan agar, mampu menghasilkan antibiotik, berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi, bersifat khemolitotrof, asidofilik, atau termofilik (Buckle, 1985). Tampilan mikroskopis *B. subtilis* dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Tampilan mikroskopis *Bacillus subtilis* (Hepworth, 2002)

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut: (Irianto, 2006)

Kingdom	: Prokaryotae
Divisio	: Bacteria
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Bacillaceae
Marga	: Bacillus
Jenis	: <i>Bacillus subtilis</i>

b. *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans termasuk kelompok *Streptococcus viridans* yang merupakan anggota flora normal rongga mulut yang memiliki sifat a-hemolitik dan komensal oportunistik. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram positif, bersifat non motil (tidak bergerak), berdiameter 1-2 μm , memiliki bentuk bulat atau bulat telur, tersusun seperti

rantai dan tidak membentuk spora (Samarayanake, 2002). Bakteri ini memiliki sifat anaerob fakultatif dan biasanya ditemukan pada rongga mulut manusia, serta merupakan penyebab utama kerusakan gigi. *Streptococcus mutans* dapat tumbuh optimal pada suhu 18-40°C (Thodar, 2012).

Streptococcus mutans disebut juga mikroorganisme kariogenik karena kemampuannya memecah gula untuk dijadikan energi dan menghasilkan lingkungan asam yang dapat mendemineralisasi struktur gigi sehingga lapisan gigi menjadi hancur (Zelnicek, 2014). Tampilan mikroskopis *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada gambar 4.

Klasifikasi *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Order	: Lactobacilalles
Keluarga	: Streptococcaceae
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i> (Jawetz dkk., 2005)

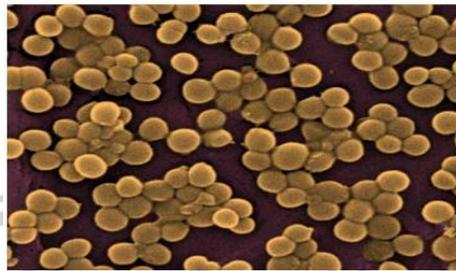


Gambar 4. Tampilan mikroskopis *Streptococcus mutans* (Clarke, 1924)

c. *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* (Gambar 5) merupakan sel Gram positif berbentuk bulat, tersusun dalam bentuk kluster tidak teratur seperti

anggur yang berdiameter 0,5-1,5 μm , berwarna kuning keemasan, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini bersifat aerob atau anaerob fakultatif dan tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, namun pembentukan pigmen yang baik adalah pada temperatur kamar (20-35°C) (Jawetz dkk., 2005).



Gambar 5. Tampilan mikroskopis *Staphylococcus aureus* (Bonang, 1986)

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisi : Schizophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Suku : Micrococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Holt dan Krieg, 1986).

Sebagian bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi dan mampu meragikan manitol (Warsa, 1994). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat

menyebabkan penyakit seperti infeksi nosocomial, meningitis, infeksi saluran kemih, jerawat dan infeksi luka (Jawetz dkk., 2005).

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian ini dilakukan dengan metode dilusi cair dan aktivitas antibakteri ditandai dengan jernihnya suatu medium berisi bakteri yang dicampur dengan bahan uji. Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) atau MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambah dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM. Selanjutnya larutan KHM dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

Kelebihan uji dilusi adalah memungkinkan adanya penentuan hasil kuantitatif dan kualitatif secara bersama-sama, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat (atau membunuh) mikroorganisme yang diuji. Nilai KHM dapat membantu dalam penentuan tingkat resistensi namun kekurangan metode dilusi ini adalah memerlukan banyak tenaga dan waktu serta perlu biaya yang mahal karena hanya dapat menguji satu bahan antimikroba dalam satu kegiatan, memerlukan banyak alat dan bahan serta memerlukan ketelitian dalam proses pengerjaannya termasuk persiapan konsentrasi antimikroba yang bervariasi (Jawetz dkk., 2005).

Senyawa yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini adalah kloramfenikol. Senyawa kloramfenikol bentuk kristal merupakan senyawa stabil yang diabsorpsi secara cepat dari saluran gastrointestinal, didistribusikan secara luas ke dalam jaringan dan cairan tubuh, termasuk mudah masuk ke sistem syaraf pusat dan cairan cerebrospinal. Kloramfenikol merupakan penghambat terhadap sintesis protein pada mikroorganisme. Obat ini memblokir ikatan asam amino pada rantai peptida yang mulai timbul pada ribosom unit 50s dengan mengganggu kerja *peptidyl transferase* (Jawetz dkk., 2005).

Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan spektrum luas. Kloramfenikol digunakan untuk mengobati beberapa tipe infeksi seperti infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella*, meningokokus, *H.influenzae* akan tetapi tidak menjadi obat pilihan dalam infeksi jika digunakan untuk terapi yang lama.

F. Landasan Teori

Ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) memiliki aktivitas antibakteri, hal ini dibuktikan melalui penelitian Wiharningtyas dkk., (2016), bahwa pada konsentrasi 1,56% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian Audies (2015) menjelaskan bahwa ekstrak etanol kulit nanas memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Potensi antimikroba yang terkandung dalam kulit nanas juga dilaporkan oleh Gunwantrao dkk., (2014), bahwa kulit nanas memiliki potensi antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*. Kulit nanas mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid (Kalaiselvi dkk., 2012). Fraksi etil asetat dapat menarik senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri.

Penelitian Setiawan (2015) mengenai isolasi dan uji daya antimikroba ekstrak kulit nanas menyatakan bahwa ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) maupun ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) berpotensi sebagai antimikroba, namun KNB lebih efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dibandingkan KNK. Hasil penelitian menyebutkan bahwa senyawa aktif yang terisolasi adalah golongan flavonoid, dan senyawa flavanon diidentifikasi dari KNB sedangkan dihidroflavonol diidentifikasi dari KNK. Senyawa flavanon dan dihidroflavonol bersifat semi polar sehingga kedua jenis senyawa ini tertarik pada fraksi etil asetat yang bersifat semi polar juga.

G. Hipotesis

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*, serta menghasilkan nilai KHM yang berbeda-beda pada tiap-tiap bakteri uji.