

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi merupakan jenis penyakit yang banyak diderita oleh penduduk di Indonesia, salah satu penyebabnya adalah bakteri. Jenis bakteri yang dapat menginfeksi adalah *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Streptococcus mutans*. Penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* salah satunya adalah *staphylococcal scalded skin syndrome* yang terjadi pada 98% anak-anak usia kurang dari enam tahun (King, 2010). Karies gigi adalah penyakit rongga mulut yang paling sering terjadi dengan angka kejadian 90,05% disebabkan oleh *Streptococcus mutans* (Chrimirina dkk., 2011). Keracunan makanan yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan diare dan penyebabnya adalah *Bacillus subtilis* sebesar 20,8% (Lumentut dkk., 2016).

Salah satu cara pengobatan untuk infeksi bakteri adalah dengan pemberian antibiotik (Hare, 1993). Penggunaan antibiotik untuk menyembuhkan penyakit infeksi dapat meminimalisir terjadinya penularan penyakit tersebut, sehingga dapat memutus penyebaran infeksi. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai secara klinis dapat menyebabkan berbagai efek samping dan juga reaksi alergi (Sahoo dkk., 2010), sehingga alternatif yang dapat ditempuh adalah pencarian calon obat yang dapat menanggulangi masalah tersebut.

Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat alternatif adalah nanas (*Ananas comosus* Merr). Buah nanas memiliki beragam manfaat, namun kulit buahnya belum dimanfaatkan secara optimal. Ekstrak etanol

kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, steroid, saponin dan polifenol (Kalaiselvi dkk., 2012; Depkes RI, 2001). Penelitian Audies (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S.mutans* mulai konsentrasi 25%. Wiharningtyas dkk., (2016), melaporkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol 96% kulit nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 1,56%. Penelitian lainnya oleh Gunwantrao dkk., (2016), yaitu ekstrak etanol kulit nanas konsentrasi 50 mg/mL dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* dengan diameter hambat sebesar 17 mm.

Penelitian ini merupakan lanjutan penelitian sebelumnya dengan cara memfraksinasi ekstrak etanol dengan pelarut non polar *n*-heksan. Proses fraksinasi dilakukan secara partisi cair-cair. Fraksinasi dengan *n*-heksan bertujuan menyederhanakan kandungan senyawa-senyawa dalam ekstrak, sehingga hanya menarik senyawa non polar. Penelitian ini diharapkan fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol kulit nanas dapat menarik senyawa alkaloid dan steroid. Uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus*) belum pernah dilaporkan sebelumnya. Bakteri uji yang digunakan adalah *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perumusan masalah adalah sebagai berikut :

1. Apakah fraksi *n*-heksan ekstrak etanol kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* ?

2. Berapakah nilai KHM dari fraksi *n*-heksan tersebut terhadap *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan ekstrak etanol kulit nanas terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* ?
2. Menentukan nilai KHM dari fraksi *n*-heksan ekstrak etanol kulit nanas terhadap *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* ?

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan secara ilmiah dan memberikan informasi bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak etanol kulit buah nanas memiliki aktivitas antibakteri khususnya terhadap *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

E. Tinjauan Pustaka

1. Nanas (*Ananas comosus* Merr)

Nanas merupakan salah satu jenis buah yang diminati oleh masyarakat, baik lokal maupun dunia. Nanas memiliki bagian-bagian yang bersifat buangan yaitu kulit yang memiliki tekstur tidak rata dan berduri kecil pada permukaan luarnya. Kulit nanas hanya dibuang begitu saja sebagai limbah, padahal kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, steroid (Kalaiselvi dkk., 2012), saponin, dan polifenol (Depkes RI, 2001).

Nanas termasuk keluarga *Bromeliaceae* dan umumnya hidup di tanah (Samson, 1980). Morton (1987) menyatakan famili *Bromeliaceae* terdiri atas

45 genus dan 2000 spesies. Genus yang paling banyak yaitu Ananas dan Pseudonanas (Nakasone and Paull, 1999). Tanaman nanas berasal dari Amerika Selatan yang beriklim tropis, yakni Brazil, Argentina, dan Peru. Tanaman nanas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Buah nanas (*Ananas comosus* Merr) (Dokumentasi pribadi)

Collins (1960) menyatakan bagian-bagian tanaman nanas meliputi akar, batang, daun, tangkai buah, buah, mahkota dan anakan. Tanaman nanas berupa herba tahunan atau dua tahunan dengan tinggi 50-100 cm, daun berbentuk pedang, panjang daun sampai 1 m, lebar daun 5-8 cm. Pinggir daun berduri dan ada juga yang rata, ujung daun lancip, bagian atas daun berdaging, tersusun spiral, pangkalnya memeluk poros utama (Thongtham dan Wee, 1991).

Kulit nanas merupakan produk hasil olahan industri yang terdiri dari sisa daging buah, kulit dan kulit terluar. Kulit nanas yang terbuang dapat dimanfaatkan karena merupakan sumber potensial untuk pemanfaatan senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya yakni enzim Bromelin (Ketnawa, 2009). Menurut Wijana dkk., (1991) kulit nanas mengandung 81,72 % air; 20,87% serat kasar; 17,53% karbohidrat; 4,41% protein dan 13,65% gula reduksi. Kulit nanas dapat dilihat pada Gambar 2.

Klasifikasi ilmiah dari tanaman nanas adalah sebagai berikut (Lawal, 2013) :

- Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Divisi : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Sub-division : Angiospermae (berbiji tertutup)
Kelas : Dicotyledonae (tumbuhan berkeping biji dua)
Sub-kelas : Magnoliales
Ordo : Annonales
Family : Annonaceae
Genus : *Annona*
Species : *Ananas Comosus* Merr



Gambar 2. Kulit nanas (Plur, 2010)

Proses pengujian aktivitas dari suatu bahan alam dapat dilakukan dengan membuat ekstrak. Definisi ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara menyari senyawa 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 telah ditetapkan (Depkes RI., 1995).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel (Depkes RI., 1986).

Metode maserasi dipilih dalam penelitian ini karena mudah dikerjakan dan tidak membutuhkan alat khusus. Kerugian metode ini yaitu waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilin (Agoes, 2007)

Cairan penyari yang digunakan adalah etanol. Keuntungan menggunakan etanol diantaranya lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan, membutuhkan panas untuk pemekatan sedikit. Kerugiannya yaitu harganya mahal. Pelarut etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, dammar, klorofil, lemak, malam, tannin dan saponin (Depkes RI., 1986).

2. Fraksinasi

Fraksinasi (partisi cair-cair) adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang

lain. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

Partisi cair-cair digunakan sebagai cara untuk memisahkan analit-analit dari komponen-komponen matriks yang mungkin mengganggu pada kuantifikasi atau deteksi analit dan untuk memekatkan analit yang ada dalam sampel dengan jumlah kecil sehingga tidak menyulitkan untuk deteksi atau kuantifikasinya (Gandjar dan Rohman, 2007).

Prinsip partisi cair-cair adalah sampel terdistribusi diantara dua pelarut yang tidak dapat bercampur, dimana analit dan matriks memiliki kelarutan yang berbeda (Dean, 1998). Cara kerja metode partisi cair-cair adalah menambahkan pelarut pengestraksi yang tidak bisa bercampur dengan pelarut semula kemudian dilakukan pengocokan sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi zat yang akan diekstraksi pada kedua lapisan, kemudian lapisan didiamkan setelah mencapai kesetimbangan dan dipisahkan (Khopkar, 1990).

3. Mikroba Uji

Mikroba uji adalah suatu mikroorganisme yang sering digunakan dalam suatu percobaan. Mikroorganisme yang dapat digunakan adalah bakteri, jamur dan virus. Beberapa bakteri yang digunakan sebagai mikroba uji dalam penelitian ini antara lain *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.

a. *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans memiliki komposisi kapsul yang terdiri dari polisakarida dengan sub unit struktural glukosa (dextran). *Streptococcus*

mutans merupakan bakteri kokus berbentuk Gram-positif, dapat tumbuh pada suhu antara 18-40°C, kebanyakan anaerob fakultatif, biasanya ditemukan pada rongga mulut manusia, dan merupakan penyumbang utama kerusakan gigi. Hasil pembusukan sangat mempengaruhi kesehatan individu secara keseluruhan (Todar, 2007).

Sel bakteri *S.mutans* berbentuk bulat atau lonjong dengan diameter 2 mikrometer, koloni berpasangan atau berantai, tidak berspora dan tidak bergerak (Collier dkk., 1998). Bakteri *Streptococcus mutans* mampu melekatkan dirinya di permukaan gigi dengan sangat kuat karena bakteri ini dapat menghasilkan dextran polisakarida yang bersifat adhesive. *Streptococcus mutans* menghasilkan dextran hanya ketika ada sukrosa dengan bantuan enzim dextransucrase (Madigan dkk., 2000). *Streptococcus mutans* yang berada dalam mulut secara anaerobik mampu mencerna atau menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa ini akan mengalami fermentasi secara anaerob melalui jalur glikolisis (Collier dkk., 1998). Tampilan mikroskopis *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Tampilan mikroskopis *Streptococcus mutans* (Manton, 2010)

Streptococcus mutans disebut juga mikroorganisme kariogenik karena kemampuannya memecah gula untuk dijadikan energi dan menghasilkan lingkungan asam, yang dapat mendemineralisasi struktur gigi. Hasilnya lapisan gigi menjadi hancur (Zelnicek, 2014).

b. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri berbentuk batang, tergolong Gram positif, motil, menghasilkan spora yang biasanya resisten terhadap panas, bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif), katalase positif dan oksidasi bervariasi. Tiap spesies berbeda dalam penggunaan gula, sebagian melakukan fermentasi dan sebagian tidak (Jawetz dkk., 1996). Tampilan mikroskopis *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada Gambar 4.



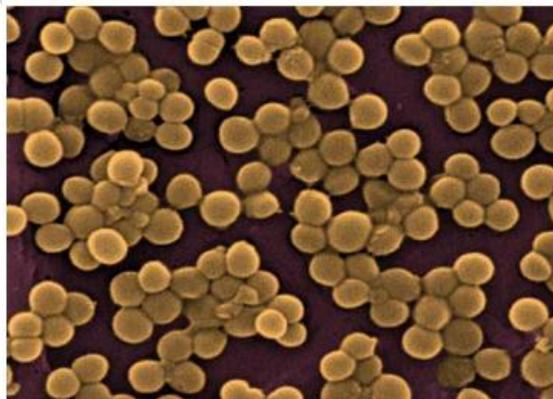
Gambar 4. Tampilan mikroskopis *Bacillus subtilis* (Hepworth, 2002)

Bakteri ini beserta endosporanya tersebar luas dalam tanah, tumbuhan, air dan terbawa oleh partikel-partikel debu di udara. Resistensi endosporanya karena resistensinya tinggi terhadap panas, dapat bertahan hidup lama. Genus *Bacillus* mempunyai sifat fisiologis yang menarik karena tiap-tiap jenis mempunyai kemampuan yang berbeda-beda, diantaranya : (1) mampu mendegradasi senyawa organik seperti protein, pati, selulosa, hidrokarbon dan agar, (2) mampu menghasilkan antibiotik, (3) berperan

dalam nitrifikasi dan denitrifikasi, (4) bersifat khemolitotrof, asidofilik atau termofilik, (5) memiliki kemampuan membentuk endospora (Buckle, 1985).

c. *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* pada umumnya membentuk pigmen kuning keemasan, memproduksi koagulase dan dapat memfermentasikan glukosa dan mannitol dengan memproduksi asam dalam keadaan anaerobik (Pelczar dan Chan, 1986). *Staphylococcus aureus* tahan terhadap lisis yang disebabkan oleh enzim lysozim serta memproduksi enzim fosfatase dan deoksiribonuklease. Suhu optimum untuk pertumbuhan adalah 35–37°C, dengan suhu minimum 6,7°C dan suhu maksimum 45,5°C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0–9,8 dengan pH optimum sekitar 7,0–7,5 (Supardi dan Sukanto, 1999). Tampilan mikroskopis *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 5.



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

Staphylococcus aureus hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut dan

tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus (Supardi dan Sukamto, 1999).

4. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (dilusi). *Disc diffusion test* atau uji difusi cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan (sensitivitas) yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Lay, 1994).

Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antimikroba yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Prinsip metode dilusi adalah larutan uji diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi larutan uji ditambahkan suspensi bakteri dalam media (Qaiyumi, 2007).

Keuntungan utama dari metode dilusi yaitu dapat memperkirakan konsentrasi senyawa uji dalam medium agar atau suspensi *broth*, biasanya digunakan untuk penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Pada metode dilusi agar, medium diinokulasi dengan organisme uji dan sampel yang diuji dicampur dengan inokulum. Material yang diinokulasi dan pertumbuhan mikroorganisme dapat terlihat dan dibandingkan dengan kultur kontrol yang tidak mengandung sampel uji. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri diantaranya pH lingkungan, komponen perbenihan bakteri, lamanya inkubasi dan aktivitas metabolik bakteri (Jawetz dkk., 2005).

Metode dilusi cair menggunakan konsentrasi larutan uji yang ditambahkan suspensi bakteri dalam media cair kemudian diinkubasi dan diamati pertumbuhan bakteri uji yang tampak berdasarkan kekeruhan media. Media yang berisi konsentrasi senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan, terlihat memiliki kekeruhan yang paling tipis dibandingkan dengan konsentrasi senyawa antibakteri yang tidak menghambat pertumbuhan. Konsentrasi senyawa antibakteri yang tidak dapat membunuh bakteri akan menghasilkan media yang ditumbuhi oleh bakteri. Potensi antibakteri dapat ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat atau membunuh bakteri (McKane dan Kandel, 1996).

Senyawa antibakteri yang digunakan sebagai kontrol positif adalah kloramfenikol. Antibiotik kloramfenikol merupakan antibakteri spektrum luas, namun bersifat toksik. Obat ini biasanya digunakan untuk infeksi berat akibat *Haemophilus Influenzae*, demam tipoid, meningitis, abses otak, bakteremia dan infeksi berat lainnya. Obat ini tidak cocok untuk penggunaan sistemik karena toksisitasnya, kecuali untuk keadaan diatas (Setiabudy, 2007).

Kloramfenikol suksinat dan palmitat dalam tubuh diubah menjadi kloramfenikol yang aktif. Obat ini bekerja dengan cara berikatan dengan ribosom 50s sehingga menghambat pembentukan peptida maka kloramfenikol merupakan inhibitor yang poten terhadap sintesis protein mikroba. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik terhadap kuman yang peka seperti *Riketsia*, *Klamidia*, *mikoplasma* dan beberapa strain *Salmonella* (Pratiwi, 2008). Selain itu juga dapat berkhasiat terhadap *Enterobacter* (*Escherichia coli*,

Shigella dysenteriae, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*) (Tjay dan Raharja, 2003).

F. Landasan Teori

Hasil penelitian Audies (2015) menjelaskan bahwa ekstrak etanol kulit nanas mulai konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Penelitian lainnya oleh Wiharningtyas dkk., (2016), menjelaskan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol 96% kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 1,56%.

Hasil penelitian lainnya terhadap ekstrak etanol kulit nanas juga dilaporkan oleh Gunwantrao dkk., (2016), yaitu ekstrak etanol kulit nanas konsentrasi 50 mg/mL memiliki potensi antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*. Ekstrak etanol kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tannin dan steroid (Kalaiselvi dkk., 2012). Menurut Amalia dkk., (2014) senyawa-senyawa yang ikut tertarik dalam fraksi *n*-heksan kulit buah naga merah berdasarkan hasil skrining fitokimia adalah alkaloid, steroid dan triterpenoid. Fraksi *n*-heksan diharapkan dapat menarik senyawa non polar seperti alkaloid dan steroid yang terdapat dalam kulit nanas.

G. Hipotesis

Fraksi *n*-heksan ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* Merr) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*, *S. aureus* dan *S. mutans* dengan nilai KHM yang berbeda untuk masing-masing bakteri.

