

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Pemanfaatan tumbuhan yang memiliki khasiat terhadap kesehatan sudah sejak lama dilakukan oleh masyarakat, karena secara empiris tumbuhan mempunyai efek samping yang minimal dan lebih ekonomis karena mudah didapatkan (Sari, 2006). Salah satu tumbuhan yang bermanfaat bagi kesehatan adalah nanas (*Ananas comosus* Merr).

Menurut data statistik, produksi nanas di Indonesia untuk tahun 2014 adalah 1.835.483 ton (Kementan Ditjen Hortikultura, 2015). Semakin meningkatnya produksi nanas, maka limbah yang dihasilkan semakin meningkat pula. Produk yang dihasilkan dari olahan buah nanas, tentunya akan menyisakan limbah berupa kulit nanas.

Kulit nanas belum dimanfaatkan secara optimal, padahal kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, steroid (Kalaiselvi dkk., 2012) dan enzim bromelain (Kumaunang dan Kamu, 2011). Limbah kulit nanas dapat dimanfaatkan jika dilihat dari kandungan senyawa aktifnya, sehingga tidak hanya daging buahnya saja yang dapat dimanfaatkan tetapi kulitnya pun juga bisa. Kulit nanas memiliki tekstur yang tidak rata dan berduri kecil pada permukaan luarnya.

Penelitian sebelumnya oleh Gunwantrao dkk., (2016) menunjukkan bahwa ekstrak kulit nanas dengan pelarut etanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter hambat sebesar 17 mm. Penelitian pada

daging nanas oleh Makelew dkk., (2016), menyatakan bahwa air perasan daging buah nanas mempunyai efek antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Hasil penelitian Wiharningtyas dkk., (2016), menjelaskan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol 96% kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 1,56%. Audies (2015) telah membuktikan ekstrak etanol kulit nanas memiliki efek antibakteri terhadap *S. mutans*.

Metode partisi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Harborne,1987). Partisi bertingkat (non polar, semi polar, dan polar) akan mempengaruhi kandungan senyawa yang ada pada tiap fraksi tersebut, namun penelitian ini hanya fokus pada fraksi polar yaitu air. Senyawa-senyawa yang bersifat polar dalam kulit nanas akan terlarut dalam fraksi air dan harapannya senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi air ekstrak etanol kulit nanas terhadap *S. mutans*, *B. subtilis* dan *S. aureus* yang dinyatakan dengan nilai KHM.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Apakah fraksi air ekstrak etanol kulit nanas memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*, *B. subtilis* dan *S. aureus*?
2. Berapakah nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi air tersebut terhadap pertumbuhan bakteri uji?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi air ekstrak etanol kulit nanas terhadap pertumbuhan *S.mutans*, *B. subtilis* dan *S aureus*.
2. Menentukan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dari fraksi air tersebut terhadap bakteri uji.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan secara ilmiah bahwa fraksi air ekstrak etanol kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

E. Tinjauan Pustaka

1. Nanas (*Ananas comosus* Merr)

Nanas adalah sejenis tumbuhan tropis yang berasal dari Brasil. Indonesia, provinsi Lampung merupakan daerah perkebunan nanas utama, dengan beberapa pabrik pengolahan nanas juga terdapat disana. Subang juga merupakan daerah penghasil nanas terbesar di Indonesia.

Nanas di pasaran internasional, dikenal dengan nama *pineapple*. Nanas (Gambar 1) di Indonesia dikenal dengan berbagai macam nama daerah diantaranya anes (Aceh), nanah (Sumatra Barat), dan ganas (Jawa Barat). Buah ini selalu tersedia sepanjang tahun. Batang nanas terdapat tunas menyarap, bagian pangkalnya berkumpul dalam roset akar dan melebar menjadi pelepah, tingginya antara 50-150 cm. Daun nanas berbentuk pedang, tebal, ujung lancip serupa duri. Buah semu, bulat panjang, berdaging, hijau atau jingga (Depkes RI., 2001).

Tanaman dapat tumbuh dan beradaptasi baik di daerah tropis yang terletak antara 25° Lintang Utara sampai 25° Lintang Selatan dengan ketinggian tempat 100-800 meter dari permukaan laut dan temperatur antara 21°-27°C. Tanaman akan berhenti tumbuh apabila temperatur terletak antara 10°-16°C, bila temperatur lebih dari 27°C maka tanaman akan mengalami kerusakan karena respirasi dan transpirasi yang berlebihan. Klasifikasi tanaman nanas menurut Depkes RI., (2001) adalah :

Kingdom : Plante
 Divisi : Spermatophyta
 Kelas : Angiospermae
 Ordo : Bromeliales
 Famili : Bromeliaceae
 Genus : *Ananas*
 Species : *Ananas comosus* Merr



(1a)



(1b)

Gambar 1. Buah nanas (Dokumentasi pribadi) (1a) dan Kulit Nanas (1b) (Plur, 2010)

a. Kandungan Kimia Kulit Nanas

Kulit nanas (Gambar 1b) mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, steroid (Kalaiselvi dkk., 2012), saponin dan polifenol (Depkes RI., 2001).

Kandungan nutrisi kulit nanas antara lain: air 84,50%, gula pereduksi 6,62% (Mangunwidjaja dkk., 2011), protein 6,4%, serat kasar 16,7% (Murni dkk., 2008), dan enzim bromelain (Kumaunang dan Kamu, 2011).

b. Khasiat Kulit Nanas

Aktivitas biologis kulit nanas adalah sebagai antioksidan (Hatam dkk., 2013). Aktivitas antioksidan kulit nanas dapat mencegah penyakit-penyakit kronis diantaranya penyakit jantung, parkinson, diabetes, dan alzheimer. Kandungan lainnya yaitu flavonoid, memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antialergi, antivirus, antikanker dan antibakteri (Sandhar dkk., 2011).

2. Ekstraksi Kulit Nanas dan Proses Fraksinasinya

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan 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 hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI., 1995). Ekstraksi adalah mengambil zat yang diinginkan dari bahan mentah obat yaitu dari tumbuhan maupun hewan dengan menggunakan pelarut yang cocok (Ansel, 1989).

Metode ekstraksi akan memisahkan metabolit tanaman yang larut dan menyisakan yang tidak larut. Hasil ekstraksi tanaman mengandung campuran metabolit yang sangat kompleks. Senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Bila diketahui senyawa aktif yang dikandung oleh simplisia tersebut akan mempermudah dalam pemilihan pelarut dan cara yang tepat (Depkes RI., 2000).

Pelarut atau cairan penyari yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah pelarut yang baik untuk senyawa berkhasiat yang diinginkan, sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan antara bahan dan kandungan lain yang tidak diinginkan (Depkes RI., 2000). Pemilihan etanol sebagai cairan penyari memiliki keuntungan yaitu lebih selektif, dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman sulit tumbuh, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Kerugiannya yaitu pelarut etanol lebih mahal harganya dibandingkan dengan air (Depkes RI., 1986). Komponen zat aktif yang dapat diambil oleh pelarut etanol yaitu tanin, polifenol, poliasetilen, flavonol, terpenoid, sterol, dan alkaloid (Depkes RI., 2000).

Metode ekstraksi secara maserasi ialah prosedur ekstraksi yang mudah. Prosesnya dapat dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia pada pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup pada suhu kamar, sesekali diaduk atau secara konstan guna meningkatkan kecepatan kelarutan metabolit. Jangka waktu maserasi minimal 3 hari, kemudian dilakukan penyaringan. Pengulangan penambahan pelarut terhadap ampas setelah penyaringan pertama dan seterusnya disebut proses remaserasi (Handa dkk., 2008).

Menurut Harborne (1987), metode maserasi digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawa yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari. Proses yang terjadi selama ekstraksi adalah pemisahan senyawa-senyawa dalam simplisia melalui proses difusi dengan 3 tahapan yaitu penetrasi pelarut ke dalam sel tanaman sehingga terjadi pengembangan (*swelling*) sel tanaman, tahap kedua

adalah proses disolusi yaitu melarutnya kandungan senyawa di dalam pelarut, isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Tahap ketiga adalah difusi dari senyawa, keluar dari sel tanaman, dari larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (Amborowati, 2007). Keuntungan metode ini alat yang digunakan sederhana dan dapat digunakan untuk simplisia dengan kandungan zat aktif tidak tahan panas. Kerugiannya yaitu penyarian kurang sempurna dan waktu pengerjaannya lama (Depkes RI., 1986).

Fraksinasi adalah suatu prosedur untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan golongan utama yang lain pada tumbuhan berdasarkan perbedaan kepolaran. Kandungan senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, begitu juga senyawa yang bersifat non polar akan terlarut dalam pelarut non polar (Harborne, 1987). Partisi cair-cair dipakai untuk memisahkan analit-analit dari komponen matriks yang dapat menghambat proses kuantifikasi atau deteksi analit dan untuk mengentalkan analit yang ada dalam sampel dengan jumlah kecil sehingga tidak menyulitkan untuk deteksi atau kuantifikasinya (Gandjar dan Rohman, 2007).

Prinsip teknik partisi cair-cair adalah menggunakan dua pelarut yang tidak saling campur dalam corong pemisah, kemudian senyawa akan terdistribusi kedalam dua pelarut tersebut sampai pada keadaan setimbang. Contoh pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi adalah air, *n*-Heksan, etil asetat dan lain-lain. Metode ini relatif mudah dilakukan dan efektif pada langkah awal pemisahan senyawa yang terkandung dalam ekstrak bahan alam (Otsuka, 2006).

3. Mikrobiologi

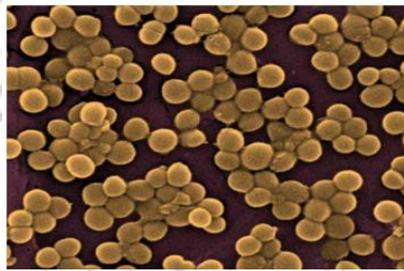
Mikrobiologi merupakan ilmu pengetahuan tentang makhluk hidup yang berukuran sangat kecil, hanya dapat dilihat oleh mikroskop (bahasa Yunani: *micro*s artinya kecil, *bio*s artinya hidup, *logos* artinya ilmu). Contoh dari makhluk hidup tersebut adalah bakteri. Bakteri dapat dibedakan dari bentuknya maupun melalui pengecatan Gram. Bakteri umumnya mempunyai ukuran sel 0,5-1,0 μm X 2,0-5,0 μm , dan terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu bulat atau kokus, batang atau *bacillus*, dan bentuk spiral (Dwidjoseputro, 2001). Mikroorganisme yang sering dipakai sebagai mikroba uji antara lain *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*, serta masih banyak bakteri lainnya.

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (Gambar 2) merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, berdiameter 0,7-1,2 μm , seperti buah anggur, tersusun berkelompok dan tidak teratur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S.aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz dkk., 1996). Bakteri ini merupakan bakteri patogen pada kulit, mulut, dan saluran nafas bagian atas. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Warsa, 1994).

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* adalah:

- Kerajaan : Procaryota
 Devisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Bangsa : Eubacteriales
 Suku : Micrococcaceae
 Marga : *Staphylococcus*
 Jenis : *Staphylococcus aureus* (Dwidjoseputro, 2003)



Gambar 2. Bentuk Mikroskopis *Staphylococcus aureus* (Bonang, 1986)

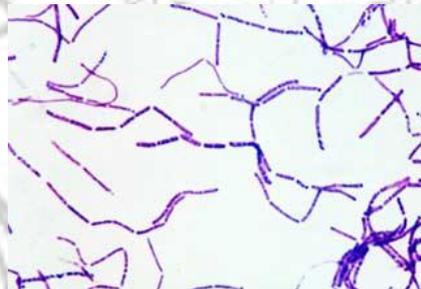
b. Bacillus subtilis

Bacillus subtilis (Gambar 3) tergolong bakteri Gram positif berbentuk batang pendek, motil, menghasilkan spora yang biasanya resisten pada panas, bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif), katalase positif dan oksidasi bervariasi. Masing-masing spesies berbeda dalam penggunaan gula, sebagian melakukan fermentasi dan sebagian tidak. *B. subtilis* beserta endosporanya tersebar luas dalam tanah, tumbuhan, air dan terbawa oleh partikel-partikel debu di udara. Endospora memiliki resistensi tinggi terhadap panas sehingga dapat bertahan hidup lama (Jawetz dkk., 1996).

Genus *Bacillus subtilis* 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 *kemolitotrof*, fakultatif anaerob, asidofilik, atau termofilik (Buckle, 1985). *B. subtilis* menyebabkan penyakit pada manusia dengan sistem imun terganggu, misalnya gastroenteritis akut dan meningitis (Jawetz dkk., 1996). Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryotae
 Divisio : Bacteria
 Kelas : Schizomycetes
 Bangsa : Eubacteriales
 Suku : Bacillaceae
 Marga : Bacillus
 Jenis : *Bacillus subtilis* (Irianto, 2006).



Gambar 3. Bentuk Mikroskopis *B. subtilis* (Hepworth, 2002)

c. Streptococcus mutans

Streptococcus mutans (Gambar 4) merupakan bakteri Gram positif, bersifat non motil, berdiameter 1-2 μm , dan anaerob fakultatif. Bakteri ini memiliki bentuk bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora (Manton, 2010). Suhu optimal untuk tumbuh sekitar 18°C–40°C. Bakteri ini bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam asidurik, mampu tinggal pada

lingkungan asam, menghasilkan suatu polisakarida lengket disebut dextran. Oleh karena itu, dapat menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju email gigi, dan asam melarutkan email gigi (Jawetz dkk., 2005).

Media yang baik digunakan untuk pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu *Agar Milis Salivarius* ditambah 0,2 unit/ml *basitrasin* dan sukrosa dengan kadar akhir 20% (*Agar MSB*), media *Brain Heart Infusion Broth*, *Tryptone-Yeast Extract L-Cystein (TYC)*, dan *Blood Agar* (Roeslan, 1996).

Klasifikasi *Streptococcus mutans* adalah:

Kingdom : Monera

Divisio : Firmicutes

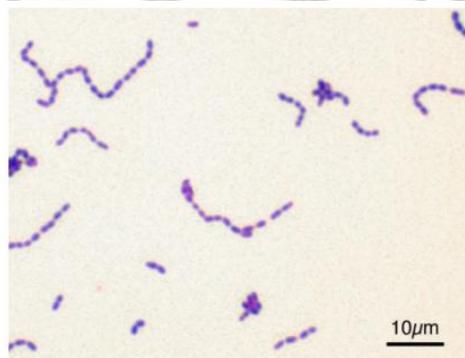
Class : Bacilli

Order : Lactobacilales

Family : Streptococcaceae

Genus : *Streptococcus*

Species : *Streptococcus mutans* (Jawetz dkk., 2005)



Gambar 4. Bentuk Mikroskopis *Streptococcus mutans* (Manton, 2010)

4. Uji Aktivitas Antibakteri Secara Dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan yaitu, dilusi pembenihan cair dan dilusi agar bertujuan untuk penentuan aktivitas antimikroba secara

kuantitatif. Antimikroba dilarutkan dalam media agar atau kaldu, yang kemudian ditanami bakteri yang akan diuji. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut kadar hambat minimum (KHM). Nilai KHM dapat pula dibandingkan dengan konsentrasi obat yang didapat di serum dan cairan tubuh lainnya untuk mendapatkan perkiraan respon klinik (Jawetz dkk., 2005).

a. Dilusi Cair

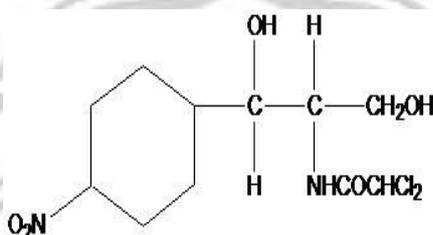
Metode dilusi cair mengukur nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) (Pratiwi, 2008). Tiap konsentrasi antimikroba ditambah suspensi bakteri. Keuntungan dilusi cair dapat menentukan kadar hambat minimum dan kadar bunuh maksimum secara jelas. Kerugiannya hanya dapat menguji satu mikroba uji dalam setiap cawan petri atau tabung (Pelczar dan Chan, 1988).

b. Dilusi Padat

Metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa jenis mikroba. Kerugian metode ini sulit membedakan antara aktivitas penghambat (KHM) atau mematikan mikroba uji (KBM) (Pratiwi, 2008).

Senyawa antibakteri yang digunakan sebagai pembanding adalah kloramfenikol. Antibiotik Kloramfenikol (Gambar 5) merupakan inhibitor yang poten terhadap sintesis protein mikroba dengan cara berikatan dengan ribosom 50s sehingga menghambat pembentukan peptida (Pratiwi, 2008). Kloramfenikol bersifat bakteriostatik terhadap kuman yang peka seperti *Riketsia*, *Klamidia*,

Mikoplasma dan beberapa strain *Salmonella* serta memiliki spektrum luas yang aktif terhadap bakteri Gram positif dan negatif baik aerob maupun anaerob (Katzung, 2004). Harapannya dengan aktivitas spektrum luas ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa spesies bakteri. Selain itu juga dapat berkhasiat terhadap Enterobacter (*Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*) (Tjay dan Raharja, 2003). Struktur kimia kloramfenikol dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 5. Struktur kimia Kloramfenikol (Depkes RI., 1979).

F. Landasan Teori

Hasil penelitian Wiharningtyas dkk., (2016), menjelaskan bahwa nilai KHM ekstrak etanol 96% kulit nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 15,6 mg/mL. Penelitian Lutfiani (2017), mengatakan bahwa fraksi air ekstrak etanol biji kacang panjang memiliki efek antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, masing-masing memiliki nilai KHM sebesar 2250 µg/mL dan 2750 µg/mL.

Kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, steroid (Kalaiselvi dkk., 2012). Fraksi air dapat menarik senyawa flavonoid dan tanin yang bersifat polar dari kulit nanas. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa

intraseluler (IndoBIC, 2005). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995). Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang ingin melihat potensi antibakteri dari fraksi air ekstrak etanol kulit nanas terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*.

G. Hipotesis

Fraksi air ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* Merr) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans* serta menghasilkan nilai KHM yang berbeda pada tiap-tiap bakteri uji.

