

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh daya antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro dengan metode dilusi untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Penelitian dilakukan dengan tiga kali pengulangan menggunakan metode dilusi cair dan padat. Berdasarkan masing-masing perlakuan diperoleh kadar hambat minimal yang didapat dengan mengamati tabung yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan pada konsentrasi terendah. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan pada tabung dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Kadar bunuh minimal ditentukan dengan melihat secara visual adanya pertumbuhan bakteri pada media *trypticase soy agar* (TSA) yang telah diinokulasikan dengan larutan yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada penentuan KHM.

Hasil pengujian dilusi cair pengaruh daya antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian dengan metode dilusi cair

Konsentrasi	I	II	III
100%	TT	TT	TT
50%	TT	TT	TT
25%	TT	TT	TT
12,5%	-	-	-
6,25%	+	+	+
3,125%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
Kontrol -	-	-	-
Kontrol +	+	+	+

Keterangan:

- Tanda + (positif) : ada kekeruhan pada media cair yang menunjukkan adanya bakteri
Tanda - (negatif) : tidak ada kekeruhan pada media cair yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri
TT : hasil tidak dapat diamati karena ekstrak terlalu pekat

Tabel 1. Menunjukkan hasil pengujian dengan metode dilusi cair, didapatkan pada konsentrasi 100%, 50%, dan 25% warna ekstrak terlalu pekat, sehingga kekeruhan larutan tidak dapat diamati. Pada konsentrasi 12,5% larutan terlihat jernih yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Kekeruhan larutan mulai terlihat pada konsentrasi 6,25% yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Pada tabung kontrol positif yang berisi suspensi bakteri terdapat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada tabung kontrol negatif tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Dari tabel 1 dapat disimpulkan bahwa Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak

kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* adalah pada konsentrasi 12,5%.

Kadar bunuh minimal diperoleh dengan melihat tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media TSA pada konsentrasi terendah. Larutan dari tabung yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada penentuan KHM diinokulasikan dengan menggunakan ose steril pada media TSA yang kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil dari uji dilusi padat dapat dilihat pada Tabel 2. Sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil pengujian dengan metode dilusi padat

Konsentrasi	I	II	III
100%	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	+	+	+
6,25%	+	+	+
3,125%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
Kontrol -	-	-	-
Kontrol +	+	+	+

Keterangan:

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

Tabel 2. Menunjukkan hasil pengujian dengan metode dilusi padat didapatkan pada konsentrasi 100%, 50%, dan 25% tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada media agar. Sedangkan pertumbuhan bakteri

dapat terlihat mulai dari konsentrasi 12,5% dan seterusnya. Dari tabel 2 tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* adalah pada konsentrasi 25%.

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh daya antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* penyebab periodontitis secara in vitro. Pengujian pengaruh daya antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan mengaplikasikan ekstrak kulit nanas dalam berbagai konsentrasi pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

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 sebanyak 3 kg yang dikeringkan kemudian diblender sampai halus menjadi serbuk. Setelah dilakukan proses ekstraksi, didapatkan hasil ekstrak kulit nanas pekat sebanyak 101,24 g.

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, Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* diperoleh pada konsentrasi 12,5%. KHM ditentukan dengan mengamati secara visual ada atau tidaknya kekeruhan pada tabung dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kekeruhan tersebut menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Kontrol positif berisi suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan kontrol negatif berisi sisa pengenceran ekstrak kulit nanas. Pada tabung kontrol positif harus ditemukan pertumbuhan bakteri sedangkan pada kontrol negatif tidak boleh terdapat pertumbuhan bakteri. Adanya pertumbuhan bakteri pada kontrol negatif menandakan adanya kontaminasi dan penelitian harus diulang. Pada penelitian ini tabung kontrol positif menjadi keruh setelah diinkubasi selama 24 jam dan tabung kontrol positif tetap jernih. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini tidak terjadi kontaminasi.

Selama penelitian dilakukan, KHM sulit ditentukan karena warna larutan ekstrak yang terlalu gelap. Pada konsentrasi 100%, 50% dan 25% tidak dapat diamati karena ekstrak masih terlalu pekat. Hasil pengamatan

menunjukkan pada konsentrasi 12,5% larutan terlihat mulai jernih. Kekeruhan terlihat pada konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%. Hasil pengamatan diperkuat dengan dilanjutkan uji dilusi padat pada media agar.

Uji dilusi padat dilakukan dengan menggoreskan bahan uji pada media TSA dengan menggunakan ose steril. Hasil uji dilusi padat dapat diperoleh Kadar Bunuh Minimal (KBM) yang ditentukan dari konsentrasi terkecil dimana tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada agar. Pertumbuhan bakteri dapat diamati setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penelitian menunjukkan pada konsentrasi 100%, 50%, dan 25% tidak terdapat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78% terdapat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Sehingga nilai Kadar Bunuh Minimal didapatkan pada konsentrasi 25%.

Penelitian sebelumnya mengenai daya antibakteri ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Streptococcus mutans* sudah pernah dilakukan oleh Anggraeni pada tahun 2014. Hasil penelitian tersebut didapatkan Kadar Hambat Minimal (KHM) terdapat pada konsentrasi 6,25%, sedangkan Kadar Bunuh Minimal (KBM) terdapat pada konsentrasi 50%. Penelitian lain oleh Manaroinsong, dkk., pada tahun 2015 menunjukkan ekstrak kulit dan daging nanas memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak kulit nanas terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 15,06 mm dan daging nanas

sebesar 10,85 mm. Perbedaan hasil uji dapat disebabkan oleh karena perbedaan jenis ataupun asal buah nanas yang digunakan. Perbedaan letak geografis suatu tanaman dapat menyebabkan kandungan metabolit tanaman tersebut menjadi bervariasi, sehingga dapat terjadi perbedaan aktivitas farmakologi yang dihasilkan (Collegate & Molyneux, 2008).

Perbedaan hasil konsentrasi ekstrak kulit nanas dalam menghambat dan membunuh bakteri juga dapat dipengaruhi oleh sifat bakteri uji. Menurut Madigan (2003) bakteri gram negatif memiliki dua lapisan lipid yang disebut lapisan lipopolisakarida yang dipisahkan oleh peptidoglikan. Bakteri gram negatif juga memiliki *outer membrane* yang menempel pada lapisan lipopolisakarida sehingga bakteri gram negatif lebih kuat dan tahan terhadap agen antibakteri dibanding bakteri gram positif yang struktur dinding selnya lebih sederhana.

Kulit nanas mengandung vitamin C, karotenoid, serat, antosianin, flavonoid, enzim bromelain, dan tanin. Enzim bromelin merupakan suatu enzim proteolitik yang berperan dalam pemecahan protein. Cara kerja antibakteri enzim bromelain adalah dengan mengubah atau merusak struktur dinding luar bakteri yang mengandung protein. Bromelain dapat memecah dan mendenaturasi protein penyusun dinding sel bakteri, akibatnya dinding sel bakteri melemah dan sel akan mengalami kebocoran atau lisis (Eshamah, dkk., 2013). 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).

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.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) dapat menghambat dan membunuh bakteri pada konsentrasi tertentu. Sehingga hipotesis awal terbukti bahwa ekstrak kulit nanas mempunyai pengaruh antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*.