

DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus viridans*

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

SKRIPSI



kka
rt.
10-06/15
Yus
d

OLEH :

BALQIS CHARISA AMANDA YUSTISIA

NIM: 021211131003

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

SURABAYA

2015

LEMBAR PENGESAHAN

DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus viridans*

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas
Airlangga Surabaya

Oleh:

Balqis Charisa Amanda Yustisia

NIM: 021211131003

Mengetahui/ Menyetujui:

Pembimbing Utama

Dr. Tamara Yuanita, drg., MS., SpKG(K)

NIP.196006251986012002

Pembimbing Serta

Prof. Dr. Sri Kunarti, drg., MS., SpKG(K)

NIP.195203281979012001

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 25 November 2015

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Nirawati Pribadi, drg., MKes., Sp.KG (K) (ketua penguji)**
- 2. Dr. Tamara Yuanita, drg., MS., SpKG (K) (pembimbing utama/anggota)**
- 3. Prof. Dr. Sri Kunarti, drg., MS., Sp.KG (K) (pembimbing serta/anggota)**
- 4. Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., MS., Sp.KG (K) (anggota)**
- 5. Edhie Arif Prasetyo, drg., MS., Sp.KG (K) (anggota)**

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan semesta alam yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. RM. Coen Pramono Danudiningrat, drg., SU., Sp.BM (K) selaku Mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. M. Rulianto, drg., MS., SpKG (K) selaku Ketua Departemen Ilmu Konservasi Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin untuk pembuatan skripsi.
4. Dr. Tamara Yuanita, drg., MS., SpKG (K) selaku pembimbing utama yang dengan sabar telah banyak meluangkan waktu ditengah kesibukannya untuk membimbing, mengarahkan, memberikan semangat dan dorongan sehingga terselesaikannya skripsi ini.
5. Prof. Dr. Sri Kunarti, drg., MS., SpKG (K) selaku pembimbing serta saya yang telah memberikan bimbingan, dorongan, dan semangat dengan sabar

sehingga terselesaikannya skripsi ini.

6. Nirawati Pribadi, drg., MKes., Sp.KG (K), Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., MS., Sp.KG (K), Edhie Arif Prasetyo, drg., MS., Sp.KG (K), selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dalam pembuatan skripsi ini.
7. Mas Eta yang telah banyak membantu selama mengerjakan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
8. Bapak dan ibu tercinta, Eko Yustisia dan Aniek Masitha yang senantiasa memberikan dukungan harapan, nasihat, dan doa untuk kesuksesan dan kebahagiaan putrinya.
9. Deni Faizal yang senantiasa mengingatkan, memberikan semangat dan tempat berkeluh kesah serta menemani selama menyelesaikan skripsi ini.
10. Mbak Afin, Riska, Tian, Yunita, Desy, Rega, Elva, Kiki, Ekky, Fitria dan teman-teman seperjuangan yang sangat membantu terlaksananya penulisan skripsi ini.
11. Keluarga dan teman-teman angkatan 2012 yang memberikan semangat selama ini. ALVEOLAR 2012 *“Fight for a better future, together we can”*.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan terutama pada bidang Konservasi Gigi.

Surabaya, November 2015

Penulis

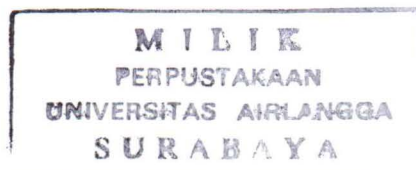
**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus viridans***

ANTIBACTERIAL POTENCY OF PINEAPPLE PEEL EXTRACTS (*Ananas comosus*) AGAINST THE GROWTH OF *Streptococcus viridans*

ABSTRACT

Background. *Streptococcus viridans* is a facultative anaerobic bacteria that commonly cause root canal infection (40-48%). *Streptococcus viridans* has also been found in pulp necrosis, periapical lesions, and acute periapical abscess. The interest of using drugs derived from herbal plants have increased, and use of herbs as an alternative way since herbs are lack of microbial resistance. Pineapple peel extract (*Ananas comosus*) has antibacterial potency, which comes from flavonoids, saponins, tannins, and bromelain enzyme. Therefore, pineapple peel extract can be an alternative material that could inhibit and have bactericidal function to *Streptococcus viridans*. **Purpose.** The aim of this study was to determine the antibacterial activity of pineapple peel extract (*Ananas comosus*) on the growth of *Streptococcus viridans*. **Method.** A serial dilution test, growth bacterial colony with streaking and spreading method was used to determine minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration by colony counting bacteria in nutrient agar media. Growth of bacterial colonies in nutrient agar is calculated manually in colony forming unit/ml (CFU/ml). **Results.** Minimum inhibitory concentration was revealed at 1,56% concentration from dilution test with streaking and spreading method. The antibacterial effect of pineapple peel extract (*Ananas comosus*) has reached minimum bactericidal concentration, because at 3,125% concentration there was no bacterial growth of *Streptococcus viridans*. **Conclusion.** The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of pineapple peel extract (*Ananas comosus*) against of *Streptococcus viridans* was at 1,56% concentration and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was at 3,125% concentration.

Key words : Pineapple Peel Extracts (*Ananas comosus*) Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), *Streptococcus viridans*.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitan.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mikroorganisme Saluran Akar.....	5
2.1.1 <i>Streptococcus</i>	6
2.1.1.1 Klasifikasi.....	6
2.1.2 <i>Streptococcus viridans</i>	7
2.1.2.1 Taksonomi <i>Streptococcus viridans</i>	8
2.1.2.2 Morfologi <i>Streptococcus viridans</i>	8
2.2 Buah Nanas.....	9

2.2.1 Habitat Nanas.....	10
2.2.2 Jenis Nanas.....	10
2.2.3 Kandungan pada Kulit Nanas.....	12
2.2.3.1 Flavonoid.....	12
2.2.3.2 Enzim Bromelain.....	13
2.2.3.3 Saponin.....	14
2.2.3.4 Tanin.....	15
2.2.4 Aktivitas Antibakteri.....	16
2.3 Metode Ekstraksi.....	16
2.3.1 Metode Maserasi.....	16
2.3.2 Metode Perkolasi.....	17
2.3.3 Metode <i>Countercurrent</i>	17
2.4 Antibakteri.....	17
2.4.1 Uji Antibakteri.....	18
2.4.1.1 Metode Dilusi.....	18
2.4.1.2 Metode Difusi Agar.....	18
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAH HIPOTESIS.....	21
3.1 Skema Kerangka Konseptual.....	21
3.2 Hipotesis Penelitian.....	23
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	24
4.1 Jenis Penelitian.....	24
4.2 Rancangan Penelitian.....	24
4.3 Sampel Penelitian.....	24
4.3.1 Besar Sampel.....	24

4.4 Variabel Penelitian.....	25
4.5 Definisi Operasional.....	26
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	27
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	27
4.7.1 Alat Penelitian.....	27
4.7.2 Bahan Penelitian.....	28
4.8 Cara Kerja	29
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Nanas	29
4.8.2 Persiapan Bakteri	31
4.8.3 Uji KHM dan KBM	31
4.9 Pengolahan dan Analisis Data.....	34
4.10 Alur Penelitian	35
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	36
5.1 Hasil Penelitian	36
5.2 Analisa Data.....	40
BAB 6. PEMBAHASAN	44
BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN.....	49
7.1 Simpulan.....	49
7.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Rerata jumlah koloni <i>Streptococcus viridans</i> pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i>) pada uji penelitian.....	38
Tabel 5.2 Rerata jumlah koloni <i>Streptococcus viridans</i> dalam bentuk prosentase pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit nanas	39
Tabel 5.3 Hasil Uji <i>Post-hoc</i> Metode <i>Tukey HSD</i>	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Nanas jenis <i>queen</i>	11
Gambar 2.2 Struktur molekul flavonoid	12
Gambar 2.3 Struktur flavans	13
Gambar 2.4 Kelas utama saponin.....	15
Gambar 4.1 Ekstrak kulit nanas	28
Gambar 4.2 Bakteri <i>Streptococcus viridans</i>	28
Gambar 4.3 Media BHIB	29
Gambar 4.4 Kulit nanas kering	30
Gambar 4.5 Tabung berisi media BHIB	31
Gambar 4.6 Metode dilusi.....	32
Gambar 5.1 Uji dilusi ekstrak kulit nanas terhadap <i>Streptococcus viridans</i>	36
Gambar 5.2 Hasil pertumbuhan <i>Streptococcus viridans</i> pada media <i>nutrient agar</i> (NA) dengan penanaman metode <i>streaking</i> dan metode <i>spreading</i>	37
Gambar 5.3 Hasil pertumbuhan <i>Streptococcus viridans</i> pada media <i>nutrient agar</i> (NA) dengan penanaman metode <i>spreading</i> pada konsentrasi a) 0,78%, b) 1,56%, c) 3,125%, d) 6,25%, e) kontrol positif dan f) kontrol negatif.....	38
Gambar 5.4 Grafik rerata jumlah koloni <i>Streptococcus viridans</i> pada berbagai dilusi ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i>)	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Penelitian

Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian

Lampiran 3. Hasil Analisis Data Statistik

Lampiran 4. Sertifikat Laik Etik

Lampiran 5. Sertifikat Bakteri *Streptococcus viridans*

Lampiran 6. Sertifikat Analisis Ekstrak Kulit Nanas

Lampiran 7. Determinasi Tanaman Nanas

BAB 1

PENDAHULUAN



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar adalah mikroorganisme (Punathil *et al.*, 2014). Infeksi endodontik merupakan infeksi polimikrobia, karena di dalam ruang pulpa ditemukan beberapa macam bakteri. Mikroorganisme yang paling banyak diisolasi dari infeksi saluran akar adalah *Streptococcus* dan *Micrococcus* (Gangwar, 2011). Bakteri yang paling banyak ditemukan pada kegagalan perawatan saluran akar adalah bakteri Gram positif, selain itu juga ditemukan bakteri *Staphylococcus*, bakteri Gram negatif dan bakteri anaerob (Garg, 2007).

Streptococcus viridans termasuk bakteri Gram positif berbentuk *coccus* (Long *et al.*, 2012). Bakteri ini merupakan flora normal dalam rongga mulut, namun pada keadaan tertentu, *Streptococcus viridans* bisa berubah menjadi patogen oportunistik karena adanya faktor predisposisi yaitu kebersihan rongga mulut (Goldman *et al.*, 2008). *Streptococcus viridans* adalah salah satu bakteri fakultatif anaerob yang merupakan penyebab sebagian besar infeksi saluran akar (Maharani, 2012). Grossman (2010) menyatakan bahwa, bakteri yang dikultur dan diidentifikasi dari saluran akar gigi adalah *Streptococcus* dengan predominasi α -hemolitik grup *viridans* sebesar 40-48%, sedangkan pada *Bacteroides*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus* dan *Eubacterium* persentasenya sebesar 31-35%. *Streptococcus alpha hemolytic* yang biasa disebut *Streptococcus viridans*

merupakan spesies *Streptococcus* dominan yang diisolasi dari infeksi saluran akar (Rao, 2009).

Streptococcus viridans dapat ditemukan pula pada nekrosis pulpa dan lesi periapikal (Zubaidah, 2008). Infeksi periapikal seperti abses periapikal akut, juga disebabkan oleh invasi bakteri terutama *Streptococcus viridans* (Ghom, 2009). *Streptococcus viridans* telah dilakukan penelitian terhadap antimikrobia dan didapatkan hasil bahwa *Streptococcus viridans* resisten terhadap penisilin, sefalosporin, aminoglikosid dan agen antimikroba lain (Winn *et al.*, 2006).

Minat penggunaan obat yang berasal dari tanaman herbal selama sepuluh tahun terakhir ini meningkat. *Phytomedicine* telah digunakan dalam kedokteran gigi sebagai anti inflamatori, antibiotik, analgesik, sedatif dan juga irigasi endodontik. Dalam bidang endodontik, digunakan karena adanya reaksi sitotoksik dari kebanyakan medikamen intrakanal dan ketidakmampuannya dalam mengeliminasi bakteri. Sehingga, penggunaan medikasi yang berasal dari ekstrak tanaman herbal meningkat (Dakshita *et al.*, 2015). Produk herbal telah digunakan di kedokteran gigi maupun kedokteran umum selama bertahun-tahun dan menjadi populer karena memiliki aktivitas antimikrobia yang tinggi, biokompatibilitas, anti inflamatori dan sifat antioksidan. Tanaman herbal dapat digunakan sebagai alternatif karena jaranganya mikrobial yang resisten dan tanaman herbal masih dalam penelitian (Pujar *et al.*, 2011).

Nanas merupakan salah satu jenis buah yang diminati oleh masyarakat, baik lokal maupun dunia. Kulit nanas memiliki tekstur yang tidak rata dan berduri kecil pada permukaan luarnya. Kulit nanas hanya dibuang begitu saja sebagai limbah, padahal kulit nanas mengandung vitamin C, karotenoid dan flavonoid

(Erukainure *et al.*, 2011). Nanas memiliki komponen penting yaitu enzim bromelain (Lawal, 2013). Enzim bromelain didapatkan pada batang dan pada limbah buah nanas seperti kulit, bonggol, *crown* dan daun. (Nadzirah *et al.*, 2013). Enzim bromelain dapat menghidrolisis beberapa ikatan peptida yang terdapat pada dinding sel bakteri (Ali *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Mohapatra *et al.*, (2013) menyatakan bahwa aktivitas enzim bromelain, hasil enzim, dan aktivitas spesifik enzim bromelain lebih banyak terdapat pada bagian kulit nanas dibandingkan dengan bagian batang dan daging buah.

Uji fitokimia ekstrak etanol kulit nanas mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, fitosterol, steroid, saponin, tanin dan terpenoid (Kalaiselvi *et al.*, 2012). Taruna *et al.*, (2005) menyatakan bahwa ekstrak kulit nanas mempunyai zona hambat sebesar 15 mm pada *S. typhi* dengan KHM sebesar 80 mg/cm³. Lawal *et al.*, (2011) menyatakan bahwa kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri dalam melawan bakteri *A. hydrophila* dan *Salmonella*. Penelitian lain mengatakan bahwa ekstrak kulit nanas mengandung enzim bromelain dan flavonoid sehingga memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa konsentrasi terendah ekstrak kulit nanas yang mampu menghambat *Streptococcus mutans* adalah 6,25%, sedangkan kadar bunuh minimalnya pada konsentrasi 50% (Angraeni *et al.*, 2014). Enzim bromelain pada nanas lebih efektif dalam menghambat bakteri Gram positif dibandingkan Gram negatif (Ali *et al.*, 2015).

Berhubung belum ada penelitian mengenai daya antibakteri ekstrak kulit nanas terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*, maka peneliti ingin mengetahui daya antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap

pertumbuhan *Streptococcus viridans* dengan mengetahui konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimalnya.

1.2 Rumusan Masalah

Pada konsentrasi berapakah ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) yang mempunyai daya antibakteri (KHM dan KBM) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk menentukan daya antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk memberikan informasi mengenai besar konsentrasi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Streptococcus viridans*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroorganisme Saluran Akar

Perkembangan penyakit periapikal berhubungan secara langsung dengan mikroorganisme yang terdapat pada pulpa. Hal ini dapat menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar, dan dapat menjadi persisten atau menyebabkan infeksi sekunder pada intraradikuler. Penelitian menyatakan bahwa pada infeksi saluran akar gigi primer, didominasi oleh bakteri anaerob (Ingle *et al.*, 2008).

Infeksi endodontik merupakan infeksi polimikrobial. Mikroorganisme seperti *Streptococci*, *Staphylococci*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Pervotella*, *Porphyromonas*, dan *Fusobacterium* dominan pada infeksi saluran akar (Mashalkar *et al.*, 2014). Mikroorganisme yang terdapat pada infeksi saluran akar terutama bakteri anaerob dan bakteri Gram negatif, seperti *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Provotella*, *Black pigmented microorganisms*, *Porphyromonas*, *Enterococcus*, *Campylobacter*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* (Garg, 2007).

Kebanyakan mikroorganisme yang ditemukan adalah Gram positif, namun gram negatif dan anaerob obligat juga ditemukan pada kegagalan perawatan saluran akar. Mikroorganisme pada saluran akar dapat bertahan pada tingkat oksigen yang rendah sehingga dapat bertahan pada saluran akar. Berbagai jenis mikroorganisme akan masuk melalui sistem saluran akar melalui berbagai macam *port de entry* yang sesuai untuk bertahan pada lingkungan tersebut (Garg, 2007).

2.1.1 *Streptococcus*

Streptococcus merupakan bakteri aerob dan fakultatif anaerob gram positif yang berbentuk kokus, dan tersusun berpasangan atau berderet. *Streptococcus* merupakan bagian dari flora normal manusia. *Streptococcus* merupakan bakteri nonmotil, nonspora, berbentuk *spherical* (bola) atau *ovoid cocci*, dan memiliki kapsul asam hialuronik (Parija, 2012).

2.1.1.1 Klasifikasi

Streptococcus berdasarkan kebutuhan oksigen diklasifikasikan menjadi aerob dan anaerob obligat. Anaerob obligat seperti *Peptostreptococcus*. Sedangkan aerob dan anaerob fakultatif menurut Parija (2012) diklasifikasikan lagi menjadi:

a. Klasifikasi berdasarkan hemolisis pada *blood agar*

Aerob dan anaerob fakultatif diklasifikasikan berdasarkan sifat hemolitiknya pada *blood agar*.

1. *Streptococcus alpha hemolytic*

Bakteri berbentuk *coccus* ini memproduksi koloni yang dikelilingi dengan zona yang sempit (zona berwarna kehijauan) dari hasil hemolisis dengan beberapa parsial lisis pada sel darah merah. *Streptococcus alpha hemolytic* dikenal dengan nama *Streptococcus viridans*.

2. *Streptococcus beta hemolytic*

Bakteri berbentuk *coccus* ini memproduksi zona yang sedikit berwarna dari hemolisis (lebar 2-4 mm) disekitar koloni. Sel darah merah pada zona hemolisis sepenuhnya telah lisis. *Streptococcus* patogen yang paling banyak

pada kelompok ini yaitu *Streptococcus pyogenes*.

3. *Streptococcus gamma hemolytic*

Streptococcus ini tidak memproduksi hemolisis/ diskolorisasi pada blood agar. *Streptococcus non hemolitik* juga dapat ditemukan secara komensal. *Streptococcus faecalis/ Enterococcus faecalis* termasuk dalam kelompok ini.

2.1.2 *Streptococcus viridans*

Bakteri ini sama seperti *Streptococcus* lainnya, *Streptococcus viridans* merupakan bakteri Gram positif berbentuk *coccus* dan tidak memproduksi katalase. Hampir semua termasuk fakultatif anaerob (Long *et al.*, 2012). *Streptococcus viridans* merupakan kelompok heterogen dari *Streptococcus alfa hemolitik* dan *non hemolitik*. Bakteri ini ditemukan pada flora normal pada kavitas oral, orofaring, traktus gastrointestinal dan traktus genitourinaria. Bakteri ini menghasilkan pigmen berwarna hijau pada *blood agar*, oleh sebab itu disebut sebagai *viridans* (bahasa latin dari hijau). Bakteri kokus ini diklasifikasikan menjadi spesies yang berbeda seperti *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, dan sebagainya berdasarkan berbagai sifat seperti komposisi dinding sel, produksi dekstran dan levan, serta fermentasi gula. Pertumbuhan koloni bakteri ini difasilitasi dengan tersedianya 5-10% karbon dioksida (Parija, 2012).

Kelompok bakteri yang banyak ditemukan dari kultur saluran akar adalah *Streptococcus viridans*. Pada mikrobiota saluran akar pada gigi primer, *Streptococcus alfa hemolytic* sebagai predominan mikroorganisme (Punathil *et al.*, 2014). *Streptococcus alfa hemolytic* yang biasa dikenal dengan

Streptococcus viridans merupakan spesies *Streptococcus* yang dominan yang diisolasi dari infeksi saluran akar (Rao, 2009).

Kebanyakan isolate bakteri ini dapat menyebabkan alfa hemolisis pada *blood agar* dan memproduksi semacam cincin berwarna hijau disekeliling koloni. Pola dari hemolisis ini dominan disebabkan karena sel darah merah yang mengalami kerusakan dan dimediasi oleh hidrogen peroksida yang dikeluarkan dari organisme ini ketika berkembang pada keadaan oksigen. *Streptococcus viridans* merupakan hemolitik ketika berkembang pada oksigen dan kebanyakan non hemolitik ketika berkembang pada kondisi anaerob (Long *et al.*, 2012).

2.1.2.1 Taksonomi *Streptococcus viridans*

Taksonomi *Streptococcus viridans* (Vasanthakumari, 2007).

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Firmicutes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacilli</i>
<i>Order</i>	: <i>Lactobacillales</i>
<i>Family</i>	: <i>Streptococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Streptococcus</i>
<i>Species</i>	: <i>Streptococcus viridans</i>

2.1.2.2 Morfologi *Streptococcus viridans*

Streptococcus viridans berbentuk kokus, termasuk bakteri Gram positif yang berdiameter 0,5-1 μ , tersusun dalam bentuk rantai yang khas dan berpasangan. Pertumbuhan dalam media cair/ *liquid* yaitu kekeruhannya dalam

bentuk granular (*granular turbidity*), mengendap seperti bubuk (*powdery deposit*) (Vasanthakumari, 2007).

2.2 Buah Nanas

Klasifikasi ilmiah dan taksonomi nanas (Lawal, 2013).

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (berpembuluh)
Division	: <i>Spermatophyte</i> (tumbuhan berbiji)
Subdivision	: <i>Angiospermae</i> (berbiji tertutup)
Class	: <i>Dicotyledonae</i>
Subclass	: <i>Magnoliales</i>
Order	: <i>Annonales</i>
Family	: <i>Annonaceae</i>
Genus	: <i>Ananas</i>
Species	: <i>comosus</i>

Nanas (*Ananas comosus*) merupakan tanaman yang tumbuh subur didaerah yang beriklim tropis termasuk di Indonesia (Najib *et al.*, 2013). Perawakan tumbuhannya rendah dengan 30 atau lebih daun yang panjang, ujungnya tajam, dan tersusun dalam bentuk roset yang mengelilingi batang yang tebal. Buahnya dalam bahasa inggris disebut sebagai *pineapple* karena bentuknya seperti pohon pinus. Kulit buah nanas memiliki sisik. Dibalik kulit berdurinya, nanas kaya akan kandungan gizi untuk kesehatan. Nanas kaya akan kandungan vitamin dan mineral termasuk vitamin A, vitamin C, kalsium, fosfor dan kalium.

Konsumsi nanas diketahui akan memperkuat gusi dan menjaga gigi agar tetap sehat dan kuat (Sasongkowati, 2013).

2.2.1 Habitat Nanas

Tanaman nanas berasal dari Amerika tropis, yakni Brazil, Argentina, dan Peru. Pada saat ini, nanas telah tersebar ke seluruh dunia, terutama di sekitar daerah khatulistiwa antara 30° LU dan 30° LS. Di Indonesia, tanaman nanas sangat populer dan banyak ditanam di daerah tegal dari dataran rendah hingga dataran tinggi. Daerah penghasil nanas di Indonesia yang terkenal yaitu Subang, Bogor, Riau, Palembang, dan Blitar (Sunarjono, 2013).

Tanaman nanas tumbuh di daerah dataran rendah hingga dataran tinggi 1.200 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini tidak tahan terhadap salju, tetapi tahan terhadap kekeringan. Tanaman nanas lebih senang terhadap tanah yang subur, daerah beriklim basah dengan curah hujan 1.000-2.500 mm/tahun. Tanaman ini tahan terhadap tanah asam yang mempunyai pH 3-5, tetapi tumbuh paling baik pada pH tanah 5-6,5. Produksi nanas di Indonesia tahun 2009 adalah 1.558.196 ton. Sementara tahun 2010, 2011, 2012 masing masing mencapai 1.406.445 ton, 1.540.626 ton, dan 1.749.817 ton (Sunarjono, 2013).

2.2.2 Jenis Nanas

Berdasarkan bentuk daun dan buah, tanaman Nanas dapat digolongkan menjadi empat jenis, yaitu: *Cayane*, *Queen*, *Spanish*, dan *Abacaxi*. Golongan *Spanish* dikembangkan di Kepulauan India Barat, Puerto Riko, Meksiko, dan Malaysia. Golongan *Abacaxi* banyak ditanam di Brazilia (Santoso, 2010).

Di Indonesia, pada umumnya hanya dikembangkan dua jenis Nanas yaitu:

a. Golongan *Cayenne*

Ciri-cirinya yaitu daun halus, berduri sampai tidak berduri, ukuran buah besar, silindris, mata buah agak datar, berwarna hijau kekuning-kuningan, dan rasanya agak masam. Umumnya ditanam didaerah dataran tinggi. Contohnya yaitu nanas Subang yang memiliki buah besar, menggelembung, mahkota buah kecil, banyak berair, aroma kuat, dan rasanya manis, nanas Lembang, nanas Singapore, dan nanas Ruby (Santoso, 2010).

b. Golongan *Queen*

Ciri-cirinya yaitu daun pendek dan berduri tajam, buah berbentuk lonjong, mirip kerucut sampai silindris, mata buah menonjol, berwarna kuning kemerah-merahan, dan rasanya manis. Umumnya ditanam didaerah dataran rendah (Santoso, 2010).



Gambar 2.1 Nanas jenis *queen* (Sunarjono, 2008).

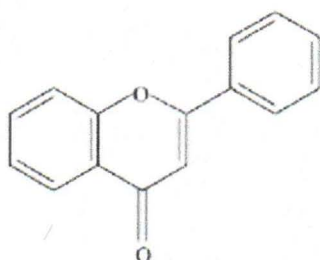
Nanas *queen* banyak ditanam di daerah Bogor, Palembang, Kediri, dan Blitar. Contoh: Nanas memiliki buah kecil, mahkota buah besar, dan rasanya manis (Santoso, 2010).

2.2.3 Kandungan pada Kulit Nanas

Uji fitokimia ekstrak etanol kulit nanas mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, fitosterol, steroid, saponin, tanin dan terpenoid (Kalaiselvi *et al.*, 2012). Pada penelitian yang dilakukan Angraeni *et al.*, (2014) menyatakan bahwa pada ekstrak etanol kulit nanas mengandung flavonoid dan enzim bromelain yang berguna sebagai antibakterial. Lawal *et al.*, (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit nanas mengandung fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan fitosterol. Penelitian yang dilakukan oleh Mohapatra *et al.*, (2013) menyatakan bahwa pada kulit nanas terdapat enzim bromelain.

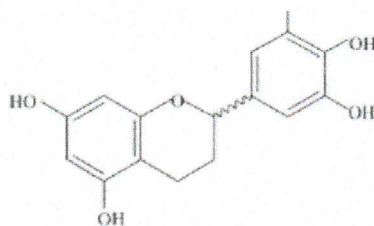
2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol. Flavonoid terdiri dari struktur cincin benzene. Komponen ini banyak ditemukan pada tanaman herbal. Flavonoid merupakan kelompok penting dari polifenol yang tersebar pada flora tumbuhan.



Gambar 2.2 Struktur molekul flavonoid (Saroya, 2011).

Sebesar 400 flavonoid telah diketahui terdapat pada tanaman, dan beberapa diantaranya merupakan pigmen terbesar pada tumbuhan. Quercetin, kaempferol dan quercitrin termasuk flavonoid yang sering terdapat, kira-kira sekitar 70% pada tumbuhan. Flavonoid berasal dari komponen induk yaitu flavans (Saroya, 2011).



Gambar 2.3 Struktur flavans (Saroya, 2011).

2.2.3.2 Enzim Bromelain

Kulit nanas mengandung enzim proteolitik yaitu enzim bromelain. Enzim tersebut dapat mengurai atau memecah protein (Najib *et al.*, 2013). Menurut Eshamah *et al.*, (2013) mekanisme kerja antimikroba bromelain adalah dengan mengubah atau merusak struktur dinding luar bakteri yang mengandung protein. Bromelain akan memecah dan mendenaturasi protein penyusun dinding sel bakteri, akibatnya dinding sel bakteri akan melemah dan menyebabkan sel mengalami kebocoran atau pecah.

Aktifitas enzim bromelain dipengaruhi oleh beberapa hal menurut Najib *et al.*, (2013) yaitu:

a. Kematangan buah

Semakin matang buah nanas, maka keaktifan enzim bromelain akan semakin berkurang. Hal ini disebabkan karena pada waktu pematangan buah telah terjadi pembentukan senyawa tertentu, dan enzim mungkin ikut terpakai dalam senyawa tersebut, sehingga sebagian struktur enzim akan rusak, dan mengakibatkan keaktifan enzim menjadi berkurang.

b. pH

Aktivitas optimal dari enzim bromelain yaitu pada derajat keasaman (pH) sebesar 6,5. pH terlalu tinggi atau terlalu rendah akan mengakibatkan terjadinya

beberapa perubahan, seperti denaturasi protein dengan kecepatan katalisa yang menurun.

c. Suhu

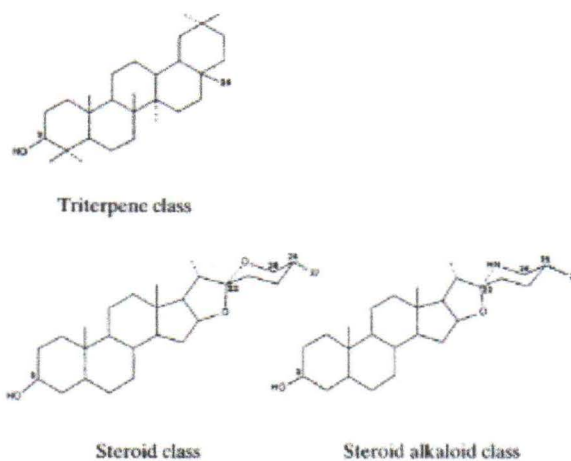
Suhu yang paling baik adalah 30°C. Suhu diatas dan dibawah 30°C akan mengakibatkan keaktifan enzim lebih rendah, karena energi kinetik molekul substrat maupun enzim menjadi rendah dan akhirnya kecepatan reaksi menjadi rendah pula.

d. Konsentrasi dan waktu

Konsentrasi enzim yang berlebihan dan waktu yang lama dapat mengakibatkan kecepatan katalis pada enzim menurun. Hal ini karena konsentrasi substrat efektif untuk tiap molekul enzim. Bertambahnya molekul enzim akan menyebabkan daya kerja enzim sebagai katalisator menjadi lebih lama yang hal ini tergantung pula dengan konsentrasi yang ada.

2.2.3.3 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti *soap* atau sabun. Saponin merupakan berat molekuler tinggi dari *glycoside*, yang berhubungan dengan *triterpene* atau *steroid aglycone*. Saponin yang terkandung pada tumbuhan memiliki sifat seperti sabun. Definisi klasik dari saponin berdasarkan dari aktivitas permukaannya, yaitu saponin banyak mengandung sifat detergen yang memiliki busa yang stabil pada air, memiliki aktivitas haemolitik. Sumber saponin yang paling banyak ditemukan pada tumbuhan. Saponin dibagi menjadi 3 kelas utama yaitu *triterpene*, *steroid*, dan *alkaloid steroid* (Hostettmann *et al.*, 2005).



Gambar 2.4 Kelas utama saponin (Hostettmann *et al.*, 2005).

2.2.3.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa manfaat yaitu sebagai astringen, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks. Tanin juga memiliki peranan biologis yang kompleks, mulai dari pengendap protein, hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangngi *et al.*, 2012).

Tanin merupakan kelas utama dari metabolit sekunder yang tersebar luas pada tanaman. Tanin termasuk polifenol yang dapat larut dalam air dengan berat molekuler berkisar antara 100 hingga 3000. Tanin dapat membentuk kompleks dengan protein dan mengendapkan protein, tanin juga dapat berikatan dengan molekul lain. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis, seperti *gallotannins* dan *ellagitannins*. Tanin terkondensasi, seperti *proanthocyanidins* yang tidak dapat terhidrolisis (Graca *et al.*, 2007).

2.2.4 Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan penelitian Angraeni *et al.*, (2014) ekstrak etanol kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 6,25%. Selain itu, ekstrak buah nanas berdasarkan penelitian Caesarita (2011) memiliki daya antibakteri 100% terhadap *Staphylococcus aureus*, dan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yusuf Hamida (2015) ekstrak etanol buah nanas memiliki daya antijamur terhadap *Candida albicans* pada anak dengan konsentrasi daya hambat sebesar 6,25%.

2.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi organik dengan menggunakan pelarut merupakan salah satu proses untuk memisahkan senyawa penting dari tumbuhan. Tumbuhan segar dan tumbuhan kering digunakan untuk proses ekstraksi. Ada berbagai macam teknik meliputi maserasi, perkolasi dan ekstraksi *countercurrent* (Raaman, 2006)

2.3.1 Metode Maserasi

Metode ini termasuk metode yang sederhana. Metode maserasi melibatkan cara merendam, mengaduk pelarut dan material tumbuhan secara bersamaan. Metode maserasi dilakukan pada suhu ruang dengan periode waktu tertentu mulai dari beberapa jam hingga beberapa minggu, tergantung sifat bahan dan pelarut. Pelarutnya kemudian dikeringkan melalui *pressing* atau sentrifugasi. Metode ini tidak dapat mengekstrak keseluruhan bahan aktif dari tumbuhan, dan waktu pelaksanaannya kurang efisien (Raaman, 2006).

2.3.2 Metode Perkolasi

Pada metode perkolasi, tumbuhan akan dibasahi dengan pelarut dan diulangi dicuci dengan menggunakan pelarut hingga semua bahan aktif telah hilang. Pelarut digunakan kembali hingga jenuh. Metode ini efektif dalam mengamati bahan aktif pada tumbuhan (Raaman, 2006).

2.3.3 Metode *Countercurrent*

Proses ini sangat efektif dan *flow* pelarut pada arah yang berlawanan pada tumbuhan. Metode ini tidak seperti maserasi dan perkolasi dengan beberapa proses. Metode ini termasuk metode yang *continuous* (terus-menerus). *Screw extractors* dan *carousel extractors* merupakan dua tipe peralatan yang digunakan untuk metode ekstraksi ini (Raaman, 2006)

2.4 Antibakteri

Antibakteri merupakan substansi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri dan mikroorganisme lain (organisme mikroskopik seperti virus, fungi, protozoa) (Hayes *et al.*, 2015). Lima mekanisme aksi antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau menyebabkan rusaknya mikroorganisme yaitu dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengubah permeabilitas membran, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis *ribonucleic acid (RNA)* dan *deoxyribonucleic acid (DNA)* pada bakteri, dan mengganggu metabolisme di dalam sel (Hayes *et al.*, 2015).

2.4.1 Uji Antibakteri

Uji kepekaan bakteri ini terdiri dari dua tipe yaitu kualitatif dan kuantitatif. Metode kualitatif termasuk teknik difusi yang banyak digunakan yaitu disk difusi *Kirby-Bauer*. Metode kuantitatif diukur dari konsentrasi tertentu yang membuat organisme terhambat atau terbunuh. Metode ini termasuk uji dilusi dan uji dilusi agar. Konsentrasi terendah pada media *broth* yang tidak terlihat pertumbuhan bakteri disebut KHM sedangkan konsentrasi terendah pada media *broth* yang dapat membunuh organisme dikenal dengan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Vasanthakumari, 2009).

2.4.1.1 Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan metode pertama dalam prosedur tes uji antibakteri yang dikembangkan. Pada prosedur ini, membutuhkan larutan antibakteri yang telah diencerkan secara seri, yaitu dengan mengencerkan bahan antibakteri dengan media cair sehingga didapatkan larutan dengan kadar berkelipatan setengah. Tabung dengan kontrol positif diisi media dan inokulum, sedangkan tabung dengan kontrol negatif diisi media tanpa inokulum. Setelah periode inkubasi spesifik pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diamati kekeruhan masing-masing tabung. Metode ini digunakan untuk menguji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Bennet *et al.*, 2015).

2.4.1.2 Metode Difusi Agar

Metode difusi agar telah dikembangkan sebagai praktek alternatif dalam prosedur *tube dilution agar* dan *broth*. Metode dilusi dihubungkan dengan uji

kuantitatif, sedangkan metode difusi dihubungkan dengan metode kualitatif. Pada metode ini, *paper disk* mengandung bahan antibakteri yang telah diketahui konsentrasinya. Setelah diinkubasi semalam (24 jam), dilakukan pengukuran diameter zona pertumbuhan inhibisi di sekitar disk. Zona ini dipengaruhi oleh jumlah variabel, seperti uji *susceptibility* medium (agar Mueller-Hinton merupakan standar uji antibakteri) (Harmita *et al.*, 2008).

Pada metode difusi dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

1. Metode *Kirby Bauer*

Metode difusi agar yang paling populer yaitu metode disk difusi *Kirby Bauer*. Metode ini menggunakan media padat untuk pengujian. Disk yang berisi bahan antibakteri yang telah diketahui konsentrasinya, diletakkan dalam *plate* agar dan diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji. Diinkubasi pada suhu 37° C, selama 18-24 jam. Zona hambatan disekitar disk menunjukkan adanya kepekaan bakteri uji terhadap antibakteri tersebut. Zona hambatan tampak sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Diameter zona dapat diukur dengan penggaris. Ukuran zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas media biakan, kecepatan difusi antibakteri, konsentrasi antibakteri pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antibakteri, interaksi antibakteri dengan media (Harmita *et al.*, 2008).

2. Metode *Pour Plate*

Metode *pour plate* agar tuang seperti halnya metode penghitungan jumlah bakteri lainnya, dilakukan dengan mencampurkan sampel pada media padat yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme, dan kemudian diinkubasi sehingga

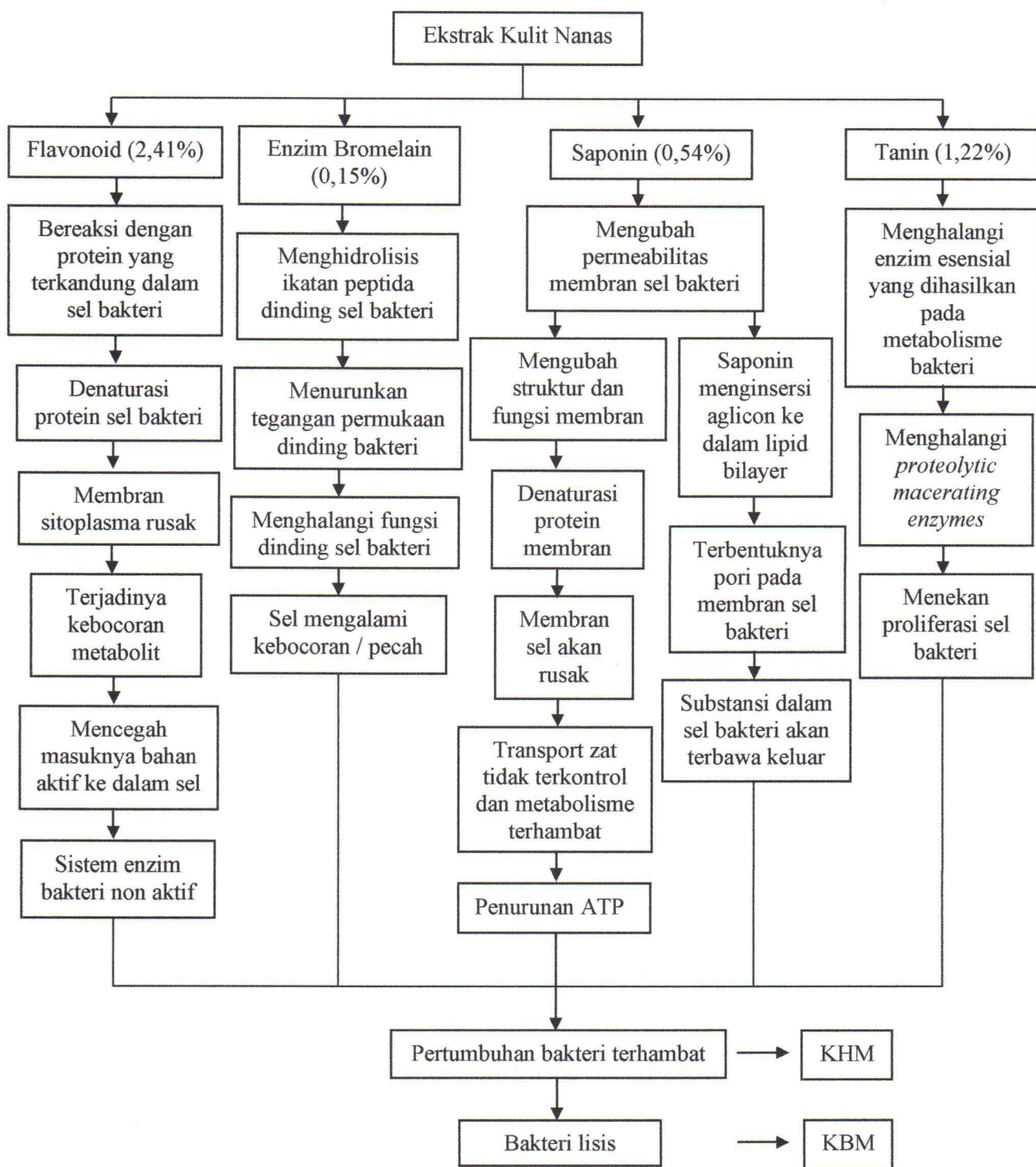
setiap sel bakteri dapat membelah dan membentuk koloni. Dengan demikian, jumlah koloni yang tumbuh tersebut dapat dihitung. Persiapan pengenceran seri hampir selalu dibutuhkan untuk memastikan mendapatkan pengenceran dengan jumlah yang dapat dihitung. Pada metode *pour plate*/ agar tuang, inokulum bakteri dicampur dengan agar cair (suhu 45°-50° C) sehingga bakteri tercampur relatif merata/ homogen pada media padat. Meskipun demikian, tidak semua bakteri dapat hidup pada temperatur 45° C, hal ini menunjukkan kelemahan prosedur *pour plate* (Harmita *et al.*, 2008).

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL
DAN HIPOTESIS

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Skema Kerangka Konseptual



Ekstrak kulit nanas memiliki kemampuan sebagai bahan antibakteri Gram positif. Kulit nanas mengandung flavonoid, saponin, enzim bromelain, dan tanin. Flavonoid dan tanin termasuk senyawa fenol. Kandungan flavonoid memiliki aktivitas antimikrobia dalam melawan berbagai mikroorganisme secara *in vitro*, yaitu dengan kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan ekstraseluler dan protein soluble serta dinding sel bakteri (Bipul *et al.*, 2013). Flavonoid akan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini akan memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, dan keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri (Retnowati *et al.*, 2011).

Kandungan saponin dapat mengubah permeabilitas dinding sel. Saponin menggunakan aktivitas antibakterialnya dengan bergabung dengan membran sel untuk mengubah morfologi sel (Enwa *et al.*, 2014). Senyawa saponin juga dapat merusak membran sitoplasma. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Retnowati *et al.*, 2011). Selain itu, saponin meningkatkan permeabilitas membran

dengan menginsersi aglicon ke dalam lipid bilayer, sehingga menciptakan pori dengan diameter 40 sampai 50 Å. Terbentuknya pori pada membran sel bakteri menyebabkan substansi di dalam sel bakteri akan terbawa keluar, sehingga bakteri akan lisis (Karimatannisa *et al.*, 2013).

Tanin terdapat dalam konsentrasi rendah pada kulit nanas (Kalaiselvi *et al.*, 2012). Tanin memiliki kemampuan untuk menekan proliferasi sel bakteri dengan menghalangi enzim esensial yang dihasilkan pada metabolisme mikroba seperti *proteolytic macerating enzymes* (Enwa *et al.*, 2014).

Selain itu pada kulit nanas juga terdapat enzim bromelain. Cara kerja enzim bromelain adalah menurunkan tegangan permukaan bakteri, dan juga ikut berperan dalam metabolisme asam, dan akhirnya akan menghalangi fungsi dinding sel bakteri (Muhammad, 2005). Menurut Eshamah *et al.*, (2013) mekanisme kerja antimikroba enzim bromelain adalah dengan mengubah atau merusak struktur dinding luar bakteri yang mengandung protein. Enzim bromelain akan memecah dan mendenaturasi protein penyusun dinding sel bakteri, akibatnya dinding sel bakteri akan melemah dan menyebabkan sel mengalami kebocoran atau pecah.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) pada konsentrasi tertentu mempunyai daya antibakteri (KHM dan KBM) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro*.

4.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*.

4.3 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel bakteri *Streptococcus viridans* yang mendapat perlakuan pemberian ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% dan 0,78%.

4.3.1 Besar Sampel

Perhitungan besar sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Lemeshow. Rumus besar sampel adalah (Lemeshow *et al.*, 1990).

$$n = \frac{2\sigma^2 (Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

$$n = \frac{2 \cdot 11,34^2 (1,64 + 0,84)^2}{(31,85 - 15,14)^2}$$

$$n = \frac{257,18 (2,48)^2}{(16,71)^2}$$

$$n = \frac{1581,66}{279,22}$$

$$n = 5,6 \approx 6$$

Karena statistik parametrik membutuhkan besar sampel minimal sebesar 7 sampel, oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan dasar 7 sampel replikasi.

Keterangan:

n = besar sampel

σ = standar deviasi dari respon kelompok kontrol ($\sigma = 11,34$)

$Z_{1-\alpha}$ = nilai pada distribusi normal baku (tabel Z) pada α tertentu ($\alpha = 0,05$;

$$Z_{1-\alpha} = 1,64)$$

$Z_{1-\beta}$ = nilai pada distribusi normal baku (tabel Z) pada β tertentu ($1-\beta = 0,8$;

$$Z_{1-\beta} = 0,84)$$

$\mu_1 - \mu_2$ = selisih rata-rata nilai *mean* yang diteliti.

4.4 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas: Ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) dalam berbagai konsentrasi yaitu konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% dan 0,78%.
2. Variabel Terikat: Jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* yang tumbuh pada media *nutrient agar* dan dinyatakan dalam *Colony Forming Unit/ml* (CFU/ml).
3. Variabel Terkendali adalah media inkubasi, suhu inkubasi, alat, bahan, sterilisasi alat, konsentrasi suspensi bakteri dan cara kerja.

4.5 Definisi Operasional

1. Dalam penelitian ini digunakan buah nanas (*Ananas comosus*) jenis *queen*. Daun pendek dan berduri tajam, buah berbentuk lonjong mirip kerucut sampai silindris, mata buah menonjol, kulit buah matang berwarna kuning, daging buah berwarna kuning kemerahan, dan rasanya manis dan berumur 2,5 bulan.
2. Ekstrak kulit nanas adalah sediaan yang diperoleh dari kulit nanas dengan menarik sari aktifnya dengan pelarut etanol 96%, kemudian dipekatkan hingga pelarut tersebut menguap. Dalam penelitian ini digunakan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% dan 0,78%.
3. Daya antibakteri dari ekstrak kulit nanas adalah kemampuan bahan ekstrak kulit nanas untuk menghambat/ membunuh bakteri *Streptococcus viridans*. Dalam penelitian ini, daya hambat dihitung dari KHM bahan ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Streptococcus viridans*, sedangkan daya bunuh dihitung dari KBM bahan ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Streptococcus viridans*.
4. KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) adalah konsentrasi terendah dari ekstrak kulit nanas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans* sebanyak 90% dari jumlah bakteri yang berhasil tumbuh pada kontrol positif (Forbes *et al.*, 2007).
5. KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) adalah konsentrasi terendah dari ekstrak kulit nanas yang dapat membunuh bakteri *Streptococcus viridans* sebanyak 99,9% dari jumlah bakteri yang berhasil tumbuh pada kontrol positif (Forbes *et al.*, 2007).

6. *Streptococcus viridans* merupakan bakteri kokus gram positif, fakultatif anaerob, berdiameter antara 0,5-1 μ , dan bakteri pre dominan di dalam saluran akar yang dikultur dalam media BHIB, dan ditanam pada media *nutrient agar*.
7. Jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* adalah hasil perhitungan jumlah koloni bakteri yang terlihat pada *nutrient agar* dan ditunjukkan dalam *Colony Forming Unit/ ml* (CFU/ ml).

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

- a. Pembuatan ekstrak kulit nanas dilakukan di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya.
- b. Uji efek antibakteri ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Streptococcus viridans* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.
- c. Waktu penelitian dilaksanakan bulan Juni - September 2015.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

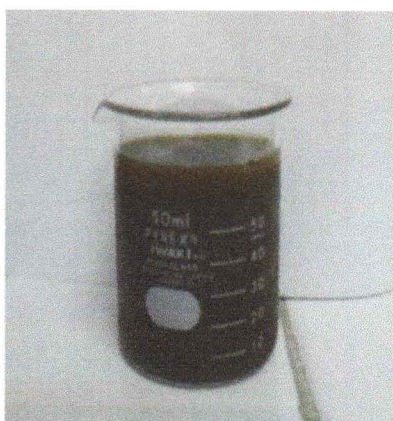
4.7.1 Alat Penelitian

1. Timbangan digital
2. Corong Buchner dan tabung hisap
3. *Rotary vacuum evaporator*
4. Ekstraktor
5. Jar anaerob
6. Inkubator 37°

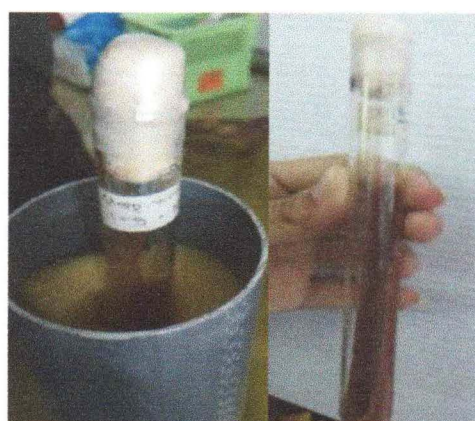
7. Kertas saring
8. Mikropipet
9. Cawan petri
10. Tabung reaksi
11. *Petridish*
12. Osse
13. Brander
14. *Spreader*

4.7.2 Bahan Penelitian

1. Ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) jenis *queen* (Gambar 4.1).
2. Stok bakteri *Streptococcus viridans* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya (Gambar 4.2).
3. Media *Brain Heart Infusion Broth (BHIB)* (Gambar 4.3).
4. Media *nutrient agar*



Gambar 4.1 Ekstrak kulit nanas



Gambar 4.2 Bakteri *Streptococcus viridans*



Gambar 4.3 Media BHIB

4.8 Cara Kerja

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Nanas

Ekstrak kulit nanas diperoleh dari Balai Penelitian dan Konsultasi Industri (BPKI) Surabaya.

1. Sampel penelitian berupa ekstrak kulit nanas diperoleh dari perkebunan nanas jenis *queen* yang terdapat di Blitar, Jawa Timur.
2. Pembuatan ekstrak kulit nanas dengan metode maserasi. Buah nanas dicuci bersih dengan air mengalir, dan diambil kulitnya menggunakan *multi purpose knife*. Setelah itu dilakukan pengerokan menggunakan pisau biasa untuk menghindari ikutnya daging buah pada kulit buah nanas.
3. Kulit nanas dipotong kecil-kecil, dikeringkan pada suhu ruang, tanpa terkena sinar matahari langsung, dan diangin-anginkan selama 3 hari (Gambar 4.4). Kulit nanas yang telah kering dibuat serbuk (*simplisia*) dengan cara dihancurkan menggunakan blender, lalu diayak dengan ayakan 40 mesh. Kemudian diekstrak ke dalam alat ekstraktor.



Gambar 4.4 Kulit nanas kering

4. Ekstrak kulit nanas dibuat dari kulit nanas sejumlah 1 kg yang dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%, dengan menggunakan shaker pada suhu kamar. Kemudian digoyangkan, ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama 2x24 jam, lalu disaring menggunakan corong Buchner dan didapatkan filtrat 1 dan residu.
5. Residu ditampung dan ditambahkan lagi pelarut etanol 96% sampai bahan tersebut terendam di dalam shaker selama 2 jam, kemudian disaring sehingga menghasilkan filtrat 2.
6. Filtrat 1 dan 2 dijadikan satu, ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama 24 jam, kemudian disaring.
7. Filtrat ditampung kembali dan diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya dengan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50-60° C sehingga diperoleh ekstrak kulit nanas yang tidak mengandung etanol.

4.8.2 Persiapan Bakteri

Standartisasi kekeruhan sesuai dengan *Mc Farland* 0,5 atau sebanding dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Bakteri *Streptococcus viridans* kemudian dikultur dalam media BHIB. Biakan *Streptococcus viridans* dengan suspensi *McFarland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) dimasukkan ke dalam *anaerobic jar* dalam suasana anaerob dan diinkubasi pada suhu kamar (37°C) selama 24 jam (Forbes *et al.*, 2007).

4.8.3 Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM)

Langkah-langkah Uji KHM dan KBM yang dilakukan dengan menggunakan metode dilusi yaitu sebagai berikut:

1. Tabung steril disiapkan sebanyak 10 tabung, 8 tabung untuk perlakuan dan 2 tabung untuk kontrol. Pada tabung no.2 sampai no.10 masing-masing berisi media BHIB 5 ml (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Tabung berisi media BHIB

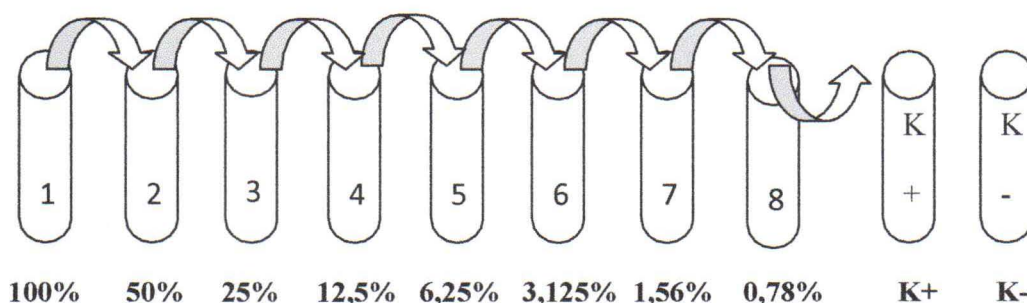
2. Tabung no.1 diisi dengan 10 ml ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) konsentrasi 100%.

3. Diambil 5 ml dari tabung no.1 kemudian dimasukkan ke dalam tabung no.2 hingga mencapai volume 10 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 50% (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 Metode dilusi

4. Dari tabung no.2 diambil 5 ml dan dimasukkan pada tabung no.3 sehingga didapatkan konsentrasi 25%. Dengan cara yang sama dilakukan sampai pada tabung no.8, dan 5 ml dari tabung no.8 dibuang.
5. Tabung no.9 sebagai kontrol positif (K +) diisi dengan 0,05 ml bakteri uji yang sudah distandarkan dengan *Mc Farland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) tanpa pencampuran dengan ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*), sedangkan tabung no.10 sebagai kontrol negatif tanpa penambahan bakteri uji maupun ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*).
6. Maka didapat pengenceran dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1,56%, 0,78%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Proses pengenceran sebagai berikut:



Keterangan :

Kontrol positif: berisi larutan BHIB dan inokulum bakteri.

Kontrol Negatif: berisi BHIB tanpa ekstrak dan bakteri.

7. Setelah pengenceran seri selesai, pada tabung 1-8 ditambahkan perbenihan bakteri sebanyak 0,05 ml yang sudah distandarkan dengan *Mc Farland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml).
8. Seluruh tabung reaksi tersebut diinkubasi dalam inkubator secara anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam. Dilakukan pengamatan secara visual pada keseluruhan tabung terhadap kejernihan tabung dengan melihat kontrol positif dan negatif. Ada tidaknya pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan atau endapan pada media BHIB. Tabung dengan konsentrasi ekstrak terendah yang tidak keruh ditetapkan sebagai KHM.
9. Karena bahan ekstrak berwarna gelap dan kekeruhan terjadi di semua tabung, maka setiap tabung diambil 1 osse kemudian di *streaking* (digoreskan) pada media *nutrient agar* dan diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian dilakukan *cross check* terhadap pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi. Hasil *streak* batas pertumbuhan bakteri dijadikan sebagai dugaan KHM.
10. Dilakukan pengenceran kembali antara 1 konsentrasi di atas dugaan KHM sampai 1 konsentrasi di bawah dugaan KHM dengan *range* yang lebih kecil, dengan menggunakan metode yang sama.
11. Amati pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ditentukan dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media *nutrient agar* secara manual dengan cara membuat garis pembagi pada *petridish* dan dinyatakan dalam *Colony Forming Unit/ ml* (CFU/ ml), serta dibandingkan dengan kontrol

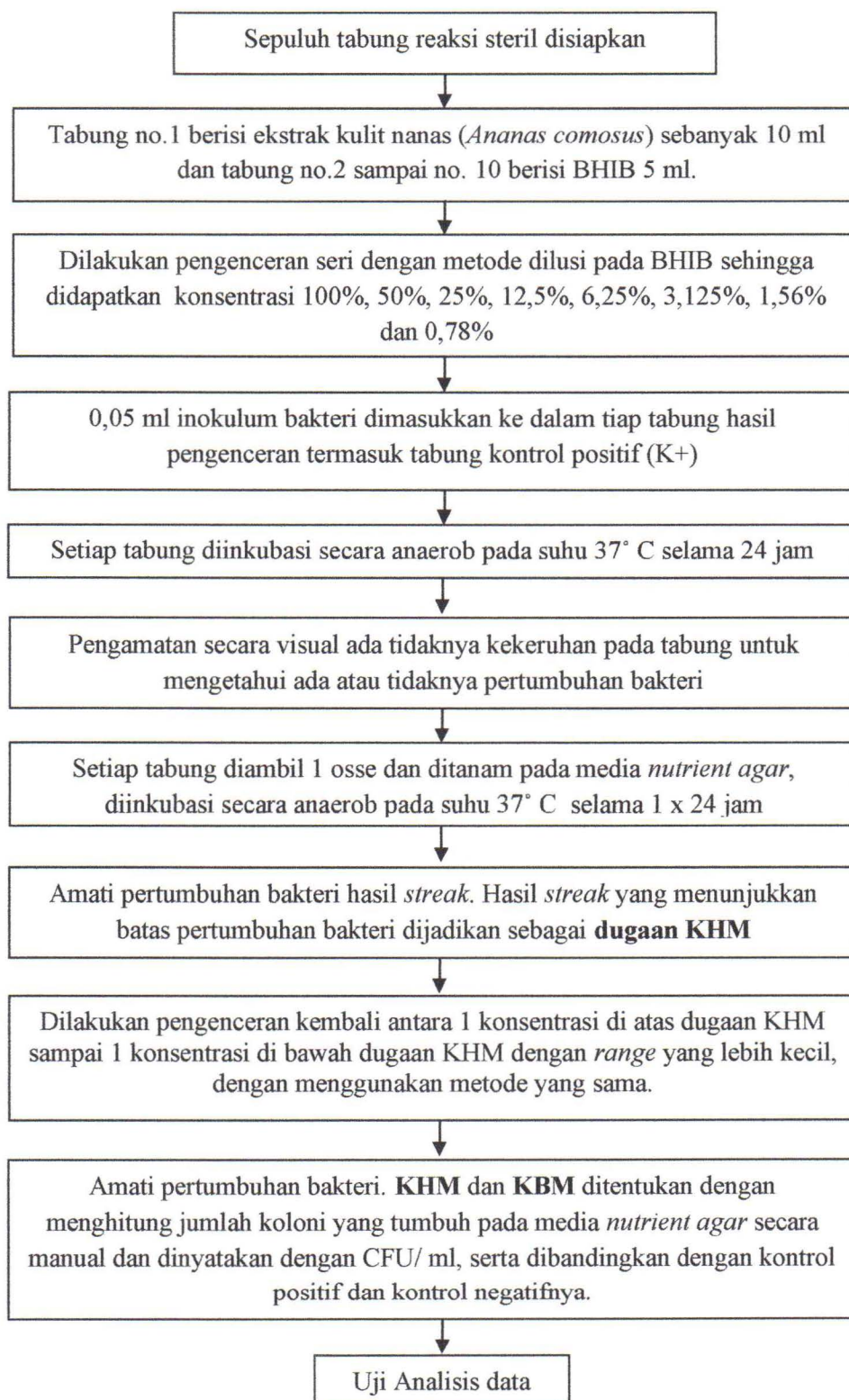
positif dan kontrol negatifnya. Daerah konsentrasi ekstrak terendah yang tidak terdapat koloni ditetapkan sebagai KBM.

4.9 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data menggunakan analisis statistik

- a. Uji normalitas menggunakan tes *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat apakah data yang didapat berdistribusi normal.
- b. Uji homogenitas varians data menggunakan tes *Levene*.
- c. Uji parametrik menggunakan tes *One Way Anova* pada taraf kemaknaan 5%. Hal ini dapat dilakukan apabila data yang diperoleh berdistribusi normal serta variasi data homogen.
- d. Dilanjutkan *Post Hoc Test* dengan Uji *Tukey's HSD (Honestly Significant Difference)*.

4.10 Alur Penelitian



BAB 5

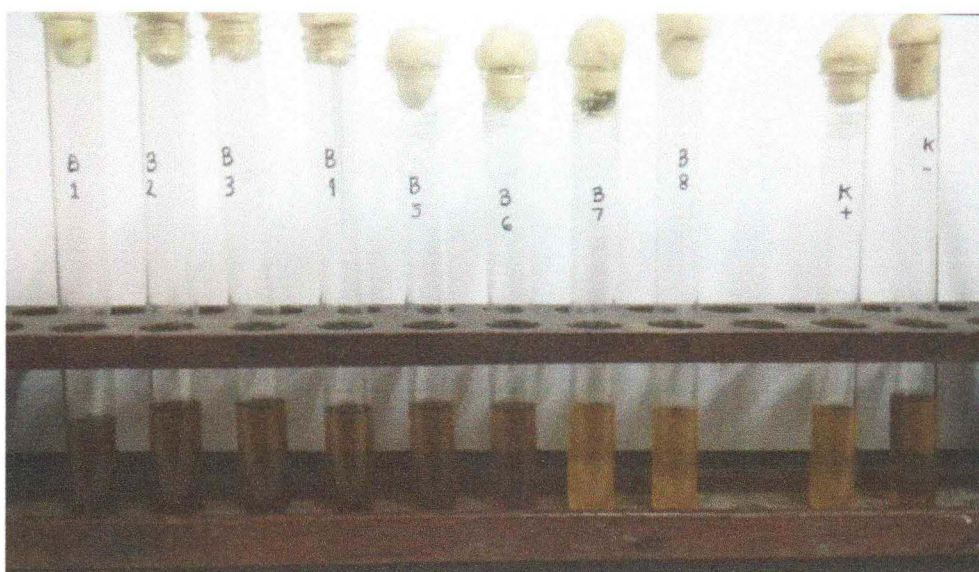
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

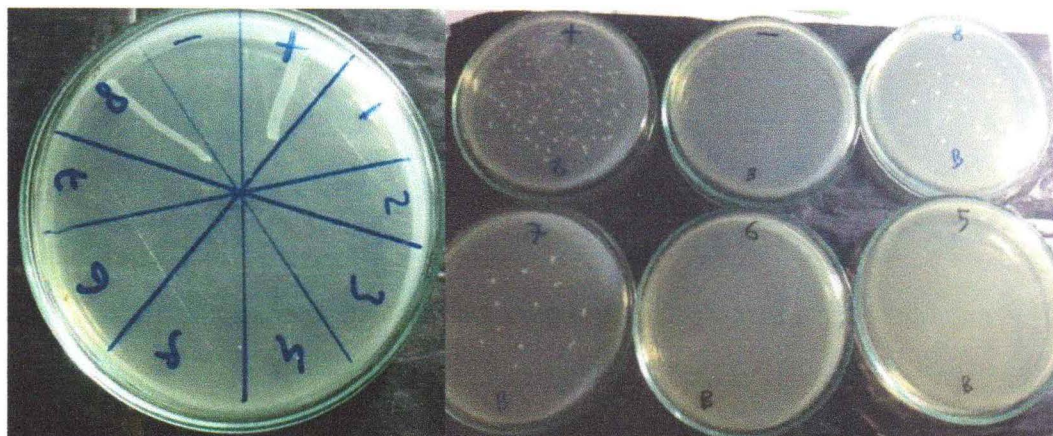
5.1 Hasil Penelitian

Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans* dengan penambahan ekstrak kulit nanas menggunakan metode dilusi/ penipisan seri dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, kontrol positif, dan kontrol negatif, diperoleh data seperti pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Uji dilusi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap *Streptococcus viridans*.

Pada uji yang pertama, dilakukan metode *streaking* pada media *nutrient agar*. Hasil *streak* menunjukkan bahwa koloni *Streptococcus viridans* mulai tumbuh pada konsentrasi 0,78%, dan didapatkan dugaan KHM pada konsentrasi 1,56% dan KBM pada konsentrasi 3,125%. Untuk memastikan pertumbuhan koloni, maka dilakukan pengecekan dengan cara penanaman bakteri pada media *nutrient agar* dengan menggunakan metode *spreading* pada konsentrasi 0,78%, 1,56%, 3,125%, 6,25%, kontrol positif dan kontrol negatif pada media *nutrient agar* (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil pertumbuhan *Streptococcus viridans* pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan penanaman metode *streaking* (kiri) dan metode *spreading* (kanan).

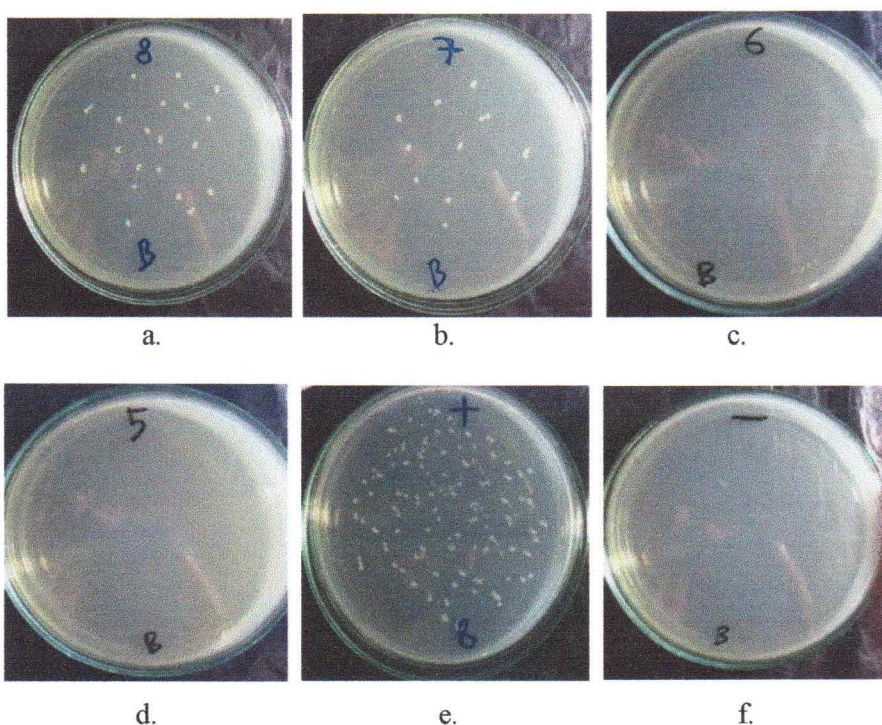
Berdasarkan data tersebut maka diketahui konsentrasi 1,56% adalah sebagai dugaan KHM dan konsentrasi 3,125% sebagai dugaan KBM pada metode *spreading*. Karena KHM dan KBM memiliki range yang sempit, maka peneliti tidak melakukan pengenceran kembali dengan range yang lebih kecil. Setelah didapatkan hasil tersebut dilakukan pengenceran kembali dengan metode dilusi, kemudian dilakukan inkubasi dan pengecekan *streak* kembali. Hasil *streak* menunjukkan KHM pada konsentrasi yang sama yaitu 1,56% dan KBM pada konsentrasi 3,125%.

Kemudian dilakukan penanaman pada konsentrasi 0,78%, 1,56%, 3,125%, 6,25%, kontrol positif dan kontrol negatif pada media *nutrient agar*. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan penghitungan koloni kembali dan data hasil penghitungan koloni yang telah dilakukan terdapat hasil merata dan standar deviasi dari jumlah koloni *Streptococcus viridans* seperti pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil rerata dan standar deviasi jumlah koloni *Streptococcus viridans* (CFU/ ml) pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*).

Konsentrasi	N	\bar{x} (CFU/ ml)	SD
Kontrol positif	7	145,86	11,33
Media 8 (0,78%)	7	33,28	5,25
Media 7 (1,56%)	7	15,14	4,98
Media 1-6 (100%-3,125%)	7	0	0
Kontrol negatif	7	0	0

Keterangan: N = Besar sampel
 \bar{x} = Rerata (CFU/ ml)
 SD = Standar Deviasi



Gambar 5.3 Hasil pertumbuhan *Streptococcus viridans* pada media *nutrient agar* (NA) dengan penanaman metode *spreading* pada konsentrasi a) 0,78%, b) 1,56%, c) 3,125%, d) 6,25%, e) kontrol positif dan f) kontrol negatif.

Data hasil pertumbuhan koloni *Streptococcus viridans* dengan metode *spreading* pada media *nutrient agar* ditunjukkan pada gambar 5.3. Data yang diperoleh pada penghitungan koloni pada tiap replikasi merupakan hasil rerata penghitungan yang dilakukan oleh tiga pengamat. Hasil rerata pada konsentrasi 0,78% adalah sebanyak 33,28 CFU/ ml, pada konsentrasi 1,56% sebanyak 15,14 CFU/ ml, pada konsentrasi 3,125% hingga konsentrasi 100% tidak ada pertumbuhan koloni, pada kontrol positif terdapat sebanyak 145,86

CFU/ ml, dan pada kontrol negatif tidak ada pertumbuhan koloni. Hasil rerata pertumbuhan koloni *Streptococcus viridans* kemudian dihitung dalam bentuk prosentase (Tabel 5.2).

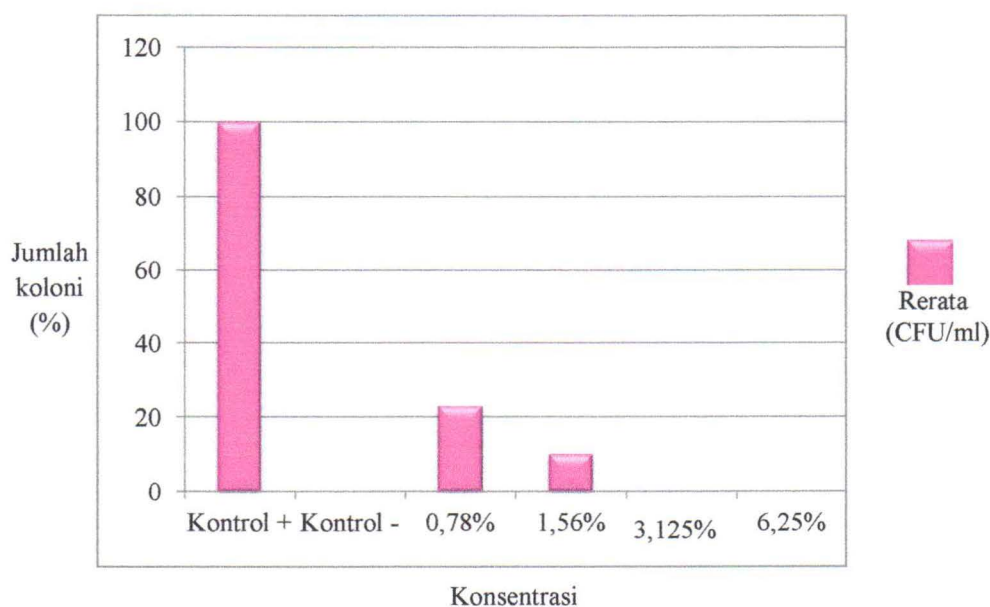
Tabel 5.2 Rerata jumlah koloni *Streptococcus viridans* dalam bentuk prosentase pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit nanas.

Kelompok Perlakuan	N	\bar{x} Jumlah Koloni (CFU/ ml)	\bar{x} Jumlah Koloni (%)
Kontrol positif	7	145,86	100
Kontrol negatif	7	0	0
Konsentrasi 100%	7	0	0
Konsentrasi 50%	7	0	0
Konsentrasi 25%	7	0	0
Konsentrasi 12,5%	7	0	0
Konsentrasi 6,25%	7	0	0
Konsentrasi 3,125%	7	0	0
Konsentrasi 1,56%	7	15,14	10
Konsentrasi 0,78%	7	33,28	23

Keterangan:

N = Jumlah replikasi

Dari penelitian didapatkan hasil diantara konsentrasi 1,56% sampai 3,125%, perkiraan prosentase kehidupan bakteri *Streptococcus viridans* adalah 10% dan 0,1% (KHM dan KBM berada pada konsentrasi tersebut).



Gambar 5.4 Grafik rerata jumlah koloni *Streptococcus viridans* pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit nanas dalam bentuk prosentase.

Dari data grafik pada gambar 5.4 dapat dilihat pada konsentrasi 1,56% ekstrak kulit nanas masih ada pertumbuhan bakteri uji yaitu sebesar 10% (Tabel 5.2), sehingga pada konsentrasi 1,56% merupakan KHM. Sedangkan pada konsentrasi 3,125% sudah tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus viridans* (Tabel 5.2), sehingga nilai KBM berada pada konsentrasi 3,125%.

5.2 Analisa Data

Data yang dianalisis adalah hasil penghitungan jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* pada media *nutrient agar*. Analisis data dimulai dengan mengetahui normalitas distribusi data dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov test*. Normal tidaknya distribusi data, akan mempengaruhi jenis uji statistik yang digunakan. Data kelompok konsentrasi 3,125% - 100% tidak dapat diuji karena pada konsentrasi tersebut sudah tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, sehingga tidak didapatkan variasi nilai pengukuran.

Data hasil uji *Kolmogorov Smirnov*, menunjukkan bahwa data baik kelompok kontrol positif, konsentrasi 0,78% dan konsentrasi 1,56% memiliki hasil signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa distribusi data masing-masing kelompok adalah normal. Hasil dari uji *Kolmogorov Smirnov* dapat dilihat pada lampiran.

Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas varians data menggunakan *Levene's test* dan menunjukkan angka signifikansi sebesar 0,051 ($p = 0,051$). Hasil nilai signifikansi lebih dari 0,05 menunjukkan bahwa varian data homogen.

Selanjutnya data dapat dianalisis dengan uji statistik *One-way ANOVA* yang bertujuan untuk membuktikan hipotesis dan gambaran signifikansi perbedaan antar masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol. Uji yang digunakan adalah uji *One-way ANOVA*, karena data yang diperoleh memenuhi syarat-syarat dilakukannya uji parametrik yaitu distribusi data normal, dan varian data homogen. Berdasarkan hasil uji *One-way ANOVA* pada tabel lampiran didapatkan nilai signifikansi dibawah 0,05 yakni sebesar 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara rata-rata jumlah koloni pada masing-masing perlakuan dan kontrol.

Untuk mengetahui lebih jauh perbedaan antar perlakuan satu dengan yang lain dilakukan uji lanjutan yakni *post-hoc test* metode *Tukey HSD*. Tabel 5.3 didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok penelitian. Perbedaan yang signifikan ditandai dengan tanda asterisk “*” atau nilai signifikansi kurang dari 0,05. Dari hasil uji statistik *Tukey HSD* tersebut (Tabel 5.3) didapatkan konsentrasi terbaik sebagai antibakteri yaitu pada konsentrasi 1,56%.

Tabel 5.3 Hasil Uji *Post-hoc* Metode *Tukey HSD*.

Kelompok	Konsentrasi 1,56% (\bar{x} = 15,14)	Konsentrasi 0,78% (\bar{x} = 33,28)	Kontrol Positif (\bar{x} = 145,86)
Konsentrasi 1,56%		0,001(*)	0,000(*)
Konsentrasi 0,78%	0,001(*)		0,000(*)
Kontrol positif	0,000(*)	0,000(*)	

Keterangan tabel:

Tanda asterisk “*” memberi pengertian ada perbedaan signifikan antar kelompok data.

Tabel 5.3 menunjukkan hasil ada perbedaan signifikan antara konsentrasi 0,78% dan konsentrasi 1,56%. Kemaknaan dapat dikatakan bahwa pada konsentrasi 0,78%, jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus viridans* lebih besar secara signifikan daripada konsentrasi 1,56%. Sehingga konsentrasi 1,56% dikatakan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM).

Perhitungan prosentase kehidupan bakteri *Streptococcus viridans* dengan cara:

Untuk mengetahui KHM dan KBM menggunakan perhitungan prosentase rata-rata jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus viridans*. Rumus perhitungan prosentase yaitu sebagai berikut:

Kontrol positif merupakan uji yang tidak mendapatkan perlakuan ekstrak kulit nanas. Kontrol positif hanya berisi media pertumbuhan dan bakteri, sehingga jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari kontrol positif dianggap sebesar 100%. Rerata jumlah koloni bakteri pada kontrol positif ini dibandingkan dengan rerata jumlah koloni bakteri uji yang mendapat efek perlakuan ekstrak kulit nanas, yaitu pada konsentrasi 1,56%. Rumus perhitungan ini didapatkan pada tabel 5.2 terlihat prosentase bakteri yang hidup pada KHM adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 1,56\%} &= \frac{\bar{x} \text{ jumlah koloni bakteri pada konsentrasi 1,56\%}}{\bar{x} \text{ jumlah koloni bakteri pada kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{15,14}{145,86} \times 100\% \\ &= 10\% \end{aligned}$$

Dari perhitungan ini didapatkan hasil bahwa tingkat kehidupan bakteri pada konsentrasi 1,56% adalah sebesar 10% dari kontrol positif, sehingga konsentrasi 1,56% merupakan KHM yaitu konsentrasi minimum ekstrak kulit

nanas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji sebanyak 90% dari jumlah bakteri yang berhasil tumbuh pada kontrol positif (Forbes *et al.*, 2007).

Untuk konsentrasi 3,125% (KBM) tidak dapat dilakukan perhitungan prosentase karena pada konsentrasi tersebut sudah tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans*, sehingga tidak didapatkan variasi nilai pengukuran. Pada konsentrasi 3,125% tidak terdapat bakteri yang tumbuh, sehingga bisa dikatakan bahwa pada konsentrasi ini adalah KBM. KBM adalah konsentrasi terendah dari bahan ekstrak kulit nanas yang dapat membunuh bakteri *Streptococcus viridans* sebanyak 99,9% dari jumlah bakteri yang berhasil tumbuh pada kontrol positif (Forbes *et al.*, 2007).

BAB 6

PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Nanas merupakan salah satu jenis buah yang diminati masyarakat, baik lokal maupun dunia. Kulit nanas bersifat antibakteri dimana zat yang berperan sebagai antibakteri diantaranya flavonoid, saponin, tanin dan juga enzim bromelain (Lawal, 2013). Hasil dan aktivitas enzim bromelain lebih banyak terdapat pada bagian kulit nanas dibandingkan dengan bagian lain (batang dan daging buah) (Mohapatra *et al.*, 2013)

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Penelitian dilakukan terhadap *Streptococcus viridans*, karena bakteri tersebut spesies *Streptococcus* predominan yang diisolasi dari infeksi saluran akar (Rao, 2009). Selain itu juga banyak ditemukan di nekrosis pulpa dan lesi periapikal (Zubaidah, 2008). Uji antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*, dilakukan dengan mengaplikasikan ekstrak kulit nanas dalam berbagai konsentrasi pada bakteri *Streptococcus viridans*, kemudian diinkubasi selama 24 jam.

Pada penelitian ini, peneliti menghitung koloni bakteri *Streptococcus viridans* yang tumbuh (dilakukan oleh 3 pengamat) pada media *nutrient agar* secara manual dengan cara membuat garis pembagi pada petridish dan dinyatakan dalam CFU/ ml. Hasil perhitungan yang dilakukan oleh 3 pengamat tersebut diambil rata-ratanya. Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan oleh 3 pengamat tersebut, didapatkan hasil yang tidak terlalu berbeda/ hampir sama.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak kulit nanas, maka daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans* akan semakin besar. Hal ini dikarenakan kandungan bahan aktif yang bersifat antibakteri yang terkandung dalam ekstrak kulit nanas juga semakin besar. Kerusakan yang terjadi, akibat bahan antibakteri tidak dapat diimbangi dengan kemampuan perbaikan dari sel bakteri, sehingga bakteri menjadi lisis dan jumlah koloni *Streptococcus viridans* yang berhasil tumbuh semakin menurun (Bagg *et al.*, 2006). Antibakteri merupakan substansi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan membunuh bakteri (Hayes *et al.*, 2015).

Pada konsentrasi 1,56% sifat antibakteri pada bahan aktif ekstrak kulit nanas lebih besar daripada kemampuan perbaikan dari sel bakteri, sehingga pada konsentrasi ini bakteri sudah dapat dihambat (KHM), dan pada konsentrasi 3,125% ekstrak kulit nanas dapat menyebabkan bakteri lisis (KBM).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa konsentrasi bunuh minimal ekstrak kulit buah nanas adalah 3,125%. Pada penelitian Anggraeni (2014) mengenai Efektivitas Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas Comosus*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, konsentrasi bunuh minimalnya yaitu 50%. Hal itu mungkin dikarenakan jenis bakteri uji yang berbeda, sehingga bakteri tersebut memiliki resistensi yang berbeda pula terhadap bahan uji.

Selain itu penggunaan metode *streaking* untuk menghitung konsentrasi hambat minimal pada uji dilusi cair dikarenakan tingkat kekeruhan dari setiap larutan sulit diamati karena warna ekstrak keruh. Sehingga untuk memastikan ada tidaknya pertumbuhan bakteri, dilakukan penggoresan larutan uji hasil dilusi cair

pada media *nutrient agar* (Sari *et al.*, 2010). Pada penelitian Angraeni (2014), walaupun juga dilakukan metode *streaking*, tetapi peneliti tetap memasukkan KHM berdasarkan kekeruhan yang diamati (secara visual) bukan berdasarkan hasil metode *streaking*. Sedangkan, menurut data peneliti antara konsentrasi 12,5%-100% larutan tidak dapat diamati.

Streptococcus viridans merupakan bakteri berbentuk kokus, termasuk bakteri gram positif yang berdiameter 0,5-1 μ , tersusun dalam bentuk rantai yang khas dan berpasangan (Vasanthakumari, 2007). Hampir semua termasuk fakultatif anaerob (Long *et al.*, 2012).

Kemampuan bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga dapat dipengaruhi oleh sifat dinding sel bakteri itu sendiri. Pada penelitian ini, bakteri yang diujikan adalah bakteri *Streptococcus viridans* yang termasuk golongan Gram positif. Bakteri Gram positif mempunyai struktur dinding sel yang lebih sederhana dibanding struktur bakteri Gram negatif yang lebih kompleks dan berlapis tiga. Sehingga pada *Streptococcus viridans* senyawa aktif ekstrak kulit nanas lebih mudah masuk ke dalam sel dan menemukan sarannya (Maharani, 2012).

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus viridans*. Hal ini karena ekstrak kulit nanas mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan enzim bromelain (Lawal, 2013).

Flavonoid pada ekstrak kulit nanas berdasarkan hasil uji fitokimia yang diperoleh dari BPKI sebesar 1,76%. Flavonoid termasuk senyawa fenol yang memiliki aktivitas antimikrobia dalam melawan berbagai mikroorganisme

dengan kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan ekstraseluler dan protein soluble serta dinding sel bakteri (Bipul *et al.*, 2013). Flavonoid akan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma, yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini akan memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel. Keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri (Retnowati *et al.*, 2011).

Saponin pada kulit nanas sebesar 0,54%. Saponin dapat merusak membran sitoplasma. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang, sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat, sehingga akan terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel. Pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Retnowati *et al.*, 2011).

Tanin terdapat pada kulit nanas (Kalaiselvi *et al.*, 2012). Berdasarkan uji fitokimia yang diperoleh dari BPKI yaitu sebesar 1,22%. Tanin memiliki kemampuan untuk menekan proliferasi sel bakteri dengan menghalangi enzim esensial yang dihasilkan pada metabolisme mikroba seperti *proteolytic macerating enzymes* (Enwa *et al.*, 2014).

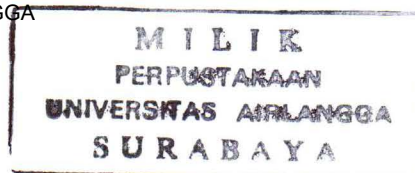
Selain itu pada kulit nanas juga terdapat enzim bromelain sebesar 0,15% (Berdasarkan uji fitokimia yang diperoleh dari BPKI). Cara kerja enzim bromelain adalah menurunkan tegangan permukaan bakteri, dan juga ikut

berperan dalam metabolisme asam, dan akhirnya akan menghalangi fungsi dinding sel bakteri (Muhammad, 2005). Menurut Eshamah *et al.*, (2013) mekanisme kerja antimikroba bromelain adalah dengan mengubah atau merusak struktur dinding luar bakteri yang mengandung protein. Bromelain akan memecah dan mendenaturasi protein penyusun dinding sel bakteri, akibatnya dinding sel bakteri akan melemah dan menyebabkan sel akan mengalami kebocoran atau pecah.

Uraian diatas sesuai dengan hipotesis yang diajukan bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) pada konsentrasi tertentu mempunyai daya antibakteri (KHM dan KBM) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN



BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

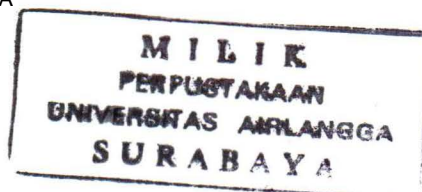
Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) sebesar 1,56% merupakan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans*, dan konsentrasi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) sebesar 3,125% merupakan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans*.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penentuan konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans* maka saran yang dapat disampaikan antara lain:

1. Diharapkan adanya penelitian lebih lanjut tentang kebersihan saluran akar dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pengembangan bahan irigasi saluran akar.
2. Diharapkan dilakukan penelitian mengenai uji sitotoksitas dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) untuk mengetahui dosis atau konsentrasi aman dan tidak toksik bagi sel tubuh manusia.

DAFTAR PUSTAKA



DAFTAR PUSTAKA

- Ali A, Milala MA, Gulani IA. 2015. *Antimicrobial Effects of Crude Bromelain Extracted from Pineapple Fruit (Ananas comosus (Linn.) Merr.)*. *Advances in Biochemistry*. Science Publishing Group 3(1): 1-4.
- Angraeni DP, Rahmawati AD. 2014. *Antibacterial Effectiveness of Pineapple (Ananas Comosus) Peel Extract on The Growth of Streptococcus Mutans*. Faculty of Medicine and Health Science Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. p. 1-7.
- Bagg J, Mac Farlane TW, Poxton IR, Smith AJ. 2006. *Essential of Microbiology for Dental Students*. 2nd Edition. Glasgow: Oxford University Press. p. 115-116.
- Bennet JE, Dolin R, Blaser MJ. 2015. *Mandell, Douglass and Bennet's Principle and Practice of Infectious Disease*. 8th Edition. Canada: Elsevier. p. 207-208.
- Bipul B, Kimberly R, Fredrick M, Dwayne D, Anand Y. 2013. *Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (Psidium guajava L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria*. *International Journal of Microbiology*. 2013: 4.
- Dakshita JS, Ashish AS. 2015. *Review Article: Natural Medicaments in Dentistry*. *AYU Journal* 35(2): 113.
- Enwa FO, Omojate GC, Jewo O, Eze CO. 2014. *Mechanisms of Antimicrobial Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens – A Review*. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*. 2(2): 77-85.
- Erukairune OL, Ajiboye JA, Adejobi RO, Okafor OY, Adenekan SO. 2011. *Protective Effect of Pineapple (Ananas Comosus) Peel Extract on Alcohol-Induced Oxidative Stress in Brain Tissues of Male Albino Rats*. *Asian Pacific Journal Tropical Disease*, p. 5-9.
- Eshamah H, Han I, Naas H, Rieck J, Dawson P. 2013. *Bactericidal Effects of Natural Tenderizing Enzymes on Escherichia Coli and Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Research* 2(1): 16.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 2007. *Bailey & Scott's: Diagnostic Microbiology*. 12th Edition. Philadelphia: Mosby. p. 190-8.
- Gangwar A. 2011. *Antimicrobial Effectiveness of Different Preparations of Calcium Hydroxide*. *Indian Journal of Dental Research* 22(1): 66-70.
- Garg N and Garg A. 2007. *Textbook of Endodontics*. 2nd Edition. USA: Jaypee Brothers Medical Publisher (P) Ltd. p. 36, 52, 55.
- Ghom A, Mhaske S. 2009. *Textbook of Oral Pathology*. 1st Edition. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers. p. 430.

- Goldman E, Green LH. *Practical Handbook of Microbiology*. 2nd Edition. USA: CRC Press. 2008. p. 299
- Graca MAS, Barlocher F, Gessner MO. 2007. *Method to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*. 1st Edition. Netherlands: Springer. p.107-109
- Grossmann LI. 2010. *Endodontic's Practice*. 12th Edition. New Delhi: Wolters Kluwer Health Pvt.Ltd. p.81.
- Harmita, Radji M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. p. 2, 127.
- Hayes ER, McCuiston LE. 2015. *Pharmacology: a patient-centered nursing process approach*. Canada: Elsevier. p. 401.
- Hostettmann K, Marston A. 2005. *Chemistry and Pharmacology of Natural Products Saponins*. 2nd Edition: New York: Cambridge University Press. p. 1.
- Ingle, Bakland, Baumgartner. 2008. *Ingle's Endodontics 6*. India: Ajanta Offset and Packaging Limited. p. 257,261.
- Kalaiselvi M, Gomathi D, Uma C. 2012. *Occurrence of Bioactive compounds in Ananus comosus (L.): A quality Standardization by HPTLC*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. p. S1341-S1346.
- Karimatannisa NM, Naba'atin I, Andryantini D. 2013. Pemanfaatan Biji Pepaya sebagai Alternatif Mengatasi Halitosis. BIMKGI 1(2): 10-12.
- Lawal D. 2013. *Medicinal, Pharmacological And Phytochemical Potentials of Annona Comosus Linn. Peel - A Review*. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences 6(1): 101 – 104.
- Long SS, Pickering LK, Prober CG. 2012. *Principle and Practice of Pediatric Infectious Disease*. 4th Edition. China: Elsevier Inc. p. 716.
- Maharani R. 2012. *Antibacterial Activity of Pare Leaf (Momordica charantia) Extract on Inhibition of Streptococcus viridans Growth*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember (UNEJ). p. 1-4.
- Malangngi LP, Sang MS, Paendong JE. 2012. *Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat*. Jurnal MIPA Unstrat Online 1(5): 5-10.
- Mashalkar S, Pawar MG, Kolhe S, Jain DT. 2014. *Comparative evaluation of root canal disinfection by conventional method and laser: An in vivo study Nigerian*. Journal of Clinical Practice 17(1): 72-73.
- Mohapatra A, Rao VM, Ranjan DM. 2013. *Comparative study of the increased production and characterization of Bromelain from the peel, pulp and stem*

- pineapple (Anannus commas)*. International Journal of Advancements in Research and Technology 2(8): 277.
- Muhammad I. 2005. *Daya Hambat Minimal Ekstrak Bonggol Nanas terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dalam Plak Gigi*. Jurnal PDGI. p. 193-197.
- Nadzirah K.Z, Zainal S, Noriham A, Normah I. 2013. *Efficacy of Selected Purification Techniques for Bromelain*. International Food Research Journal 20(1): 43.
- Najib MA, Permana HJ, Rizqil IF. 2013. *Potensi Enzim Bromelin Pada Bonggol Nanas (Ananas Comosus) Sebagai Bahan Anti Plak Dalam Pasta Gigi*. Jurnal MKGI. 2(1):16-22.
- Parija SC. 2012. *Textbook of Microbiology and Immunology*. 2nd Edition. India: Elsevier. p. 71-74, 183, 192.
- Pujar M, Makandar S. 2011. *Herbal Usage In Endodontics-A Review*. International Journal of Contemporary Dentistry 2(1): 34-35.
- Punathil S, Bhat SS, Bhat SV, Hegde SK. 2014. *Microbiological Analysis of Root Canal Flora of Failed Pulpectomy in Primary Teeth*. International Journal of Current Microbiology and Applied Science 3(9): 241-246.
- Raaman N. 2006. *Phytochemical Technique*. 1st Edition. New Dehli: Jai Bharat Printing Press. p. 9-11
- Rao N. 2009. *Advanced Endodontics*. 1st Edition. USA: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) LTD. p. 67.
- Retnowati Y, Bialangi N, Posangi NW. 2011. *Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus pada Media yang diekspos dengan Infus Daun Sambilotto (Andrographis Paniculata)*. Jurnal Saintek 6(2): 7.
- Santoso HB. 2010. *Teknologi Tepat Guna Manisan Nanas*. Edisi 8. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. p. 12.
- Sari YD, Djannah SN, Nurani LH. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (Annona muricata L.) secara in vitro terhadap Staphylococcus aureus dan Escheria coliserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. KES MAS 4(3): 227
- Saroya AS. 2011. *Herbalism Phytochemistry and Ethnopharmacology*. 1st Edition. France: CRC Press. p. 105-106.
- Sasongkowati R. 2013. *13 Terapi Buah Sakti Penghancur Penyakit*. Edisi 1. Yogyakarta: Indoliterasi. p. 105-111.
- Sunarjono HH. 2008. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Edisi 6. Jakarta: Penebar Swadaya. p. 145.

- Sunarjono HH. 2013. *Berkebun 26 Jenis Tanaman Buah*. Edisi 1. Jakart: Penebar Swadaya. p. 148, 154.
- Vasanthakumari R. 2007. *Textbook of Microbiology*. 1st Edition. New Delhi: BI Publication Pvt Ltd. p. 191,192,197.
- Vasanthakumari R. 2009. *Practical Microbiology*. 1st Edition. Delhi: BI Publication Pvt Ltd. p. 60.
- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th Edition. USA: Lippincott Williams & Wilkins. p. 695.
- Zubaidah N. 2008. *Antimicrobial Effect of Calcium Hydroxide as EndoIntracanal Dressing on Streptococcus viridans*. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi) 41(1): 39-42.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Penelitian

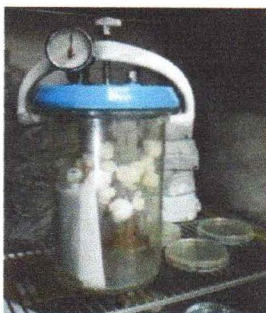
Tabel 1. Data hasil perhitungan koloni bakteri *Streptococcus viridans* yang dilakukan oleh 3 pengamat pada media *nutrient agar*.

Konsentrasi	Replikasi						
	1	2	3	4	5	6	7
1,56%	12	24	20	12	11	15	12
	12	24	19	12	11	15	11
	13	24	20	13	11	15	12
Rerata	12	24	20	12	11	15	12
0,78%	25	36	40	36	28	31	36
	25	35	40	36	27	32	36
	24	36	39	36	28	32	36
Rerata	25	36	40	36	28	32	36
Kontrol positif	135	155	148	139	136	141	166
	134	155	148	139	135	142	166
	135	156	148	139	136	142	166
Rerata	135	155	148	139	136	142	166
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
Rerata	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 2. Jumlah koloni *Streptococcus viridans* pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*) pada uji penelitian.

Replikasi	Konsentrasi				
	Tabung 1-6 (100%-3,125%)	Tabung 7 (1,56%)	Tabung 8 (0,78%)	Kontrol positif	Kontrol negatif
1	0	12	25	135	0
2	0	24	36	155	0
3	0	20	40	148	0
4	0	12	36	139	0
5	0	11	28	136	0
6	0	15	32	142	0
7	0	12	36	166	0
Rerata	0	15,14	33,28	145,86	0

Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 1. Jar Anaerob



Gambar 2. Inkubator 37°



Gambar 3. Mikropipet



Gambar 4. Osse



Gambar 5. Brander

Lampiran 3. Hasil Analisis Data Statistik

Test Distr. Normal

		kons.1.56%	kons.0.78%	kontrol pos
N		7	7	7
Normal Parameters(a,b)	Mean	15.1429	33.2857	145.8571
	Std. Deviation	4.98092	5.25085	11.33473
Most Extreme Differences	Absolute	.307	.269	.205
	Positive	.307	.160	.205
	Negative	-.203	-.269	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		.813	.711	.541
Asymp. Sig. (2-tailed)		.523	.692	.931
a Test distribution is Normal.				
b Calculated from data.				

Oneway

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
kons.1.56 %	7	15.1429	4.98092	1.88261	10.5363	19.7494	11.00	24.00
kons 0.78 %	7	33.2857	5.25085	1.98463	28.4295	38.1419	25.00	40.00
Kontrol pos	7	145.8571	11.33473	4.28413	135.3743	156.3400	135.00	166.00
Total	21	64.7619	59.70335	13.02834	37.5853	91.9385	11.00	166.00

Test of Homogeneity of Variances
strep.viridans

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.521	2	18	.051

ANOVA					
strep.viridans					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70204.667	2	35102.333	582.266	.000
Within Groups	1085.143	18	60.286		
Total	71289.810	20			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: strep.viridans						
Tukey HSD						
(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
kons.1.56 %	kons 0.78 %	-18.14286(*)	4.15024	.001	-28.7349	-7.5508
	Kontrol pos	-130.71429(*)	4.15024	.000	-141.3064	-120.1222
kons 0.78 %	kons.1.56 %	18.14286(*)	4.15024	.001	7.5508	28.7349
	Kontrol pos	-112.57143(*)	4.15024	.000	-123.1635	-101.9793
Kontrol pos	kons.1.56 %	130.71429(*)	4.15024	.000	120.1222	141.3064
	kons 0.78 %	112.57143(*)	4.15024	.000	101.9793	123.1635

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

strep.viridans				
Tukey HSD				
group	N	Subset for alpha = .05		
	1	2	3	1
kons.1.56 %	7	15.1429		
kons 0.78 %	7		33.2857	
Kontrol pos	7			145.8571
Sig.		1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.				

Lampiran 4. Sertifikat Laik Etik



**KOMISI KELAIKAN ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KKEPK)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

Nomor : 152 /KKEPK.FKG/IX/2015

Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, telah mengkaji secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian berjudul :

**" DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus viridans* "**

Peneliti Utama : **Balqis Charisa Amanda Yustisia**
Unit / Lembaga/ Tempat Penelitian : - Balai Penelitian dan Konsultasi Industri, Surabaya.
- Lab. Mikrobiologi FKG UNAIR, Surabaya.

DINYATAKAN LAIK ETIK

Surabaya, 29 September 2015

Ketua,



Prof. Dr. M. Rudianto, drg., MS., Sp.Perio (K)
NIP. 195009081978021001

Lampiran 5. Sertifikat Bakteri *Streptococcus viridans*



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL BINA UPAYA KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No, 18 Surabaya - 60286
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451 Faksimili : (031) 5020388
 Website : bblksurabaya.com : Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id

Surabaya, 05 Juni 2015

Hasil Uji Biokimia bakteri *Streptococcus viridans* :

No	Jenis Uji Biokimia	Hasil
1.	Pengecatan Gram	Gram positif coccus berderet
2.	Hemolisa pada Blood Agar	α haemolyticus
3.	Katalase	Negatif (-)
4.	Bile Esculin	Negatif (-)
5.	Optochine	Resisten
6.	CAMP-test	Negatif (-)



Kepala Seksi Lab. Klinik dan Uji Kesehatan

dr. Eveline Irawan
 Nip 195912061988022001

Lampiran 6. Sertifikat Analisis Ekstrak Kulit Nanas



BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR

REPORT

Certificate of Analisis

No. : 03809/KI/N-2015
 Code : Penelitian
 Sampel Sender : Mhs. FKG UNAIR Surabaya
 Sampel Name : Extr. K. Nanas
 Test : Bahan aktif
 Sampel Brand :
 Sampel Identity : Cairan kekuningan
 Sampel Accepted : 5 Mei 2015

Chemical laboratory test result is :

1. Polyphenol	, % = 2,41
2. Flavonoid	, % = 1,76
3. Bromelin	, % = 0,15
4. Antosianin	, % = 0,38
5. Tanin	, % = 1,22
6. Saponin	, % = 0,54

Surabaya, 6 Mei 2015

Chemical Laboratory Reseracher



Drs. M. Fatoni, MS

Laboratory Office Jl. Ketintang Baru XVII No. 14
 Fax / Telp. 031-8281941, Bank BCA – Bank Jatim
 Surabaya

Lampiran 7. Determinasi Tanaman Nanas



**BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR**

Nomor : 03913/K/VI-11
 Sifat : Biasa
 Perihal : *Certificate of Analysis*
 Memenuhi permohonan saudara
 Nama : Balqis Charisa Amanda Yustisia
 NIM : 021211131003
 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi – Universitas Airlangga

1. Klasifikasi tanaman nanas adalah sebagai berikut :

- Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)
- Subkingdom : *Tracheobionta* (berpembuluh)
- Division : *Spermatophyte* (tumbuhan berbiji)
- Subdivision : *Angiospermae* (berbiji tertutup)
- Class : *Dicotyledonae*
- Subclass : *Magnoliales*
- Order : *Annonales*
- Family : *Annonaceae*
- Genus : *Ananas*
- Species : *comosus*

2. Morfologi :

- Habitat nanas tumbuh di daerah dataran rendah hingga dataran tinggi 1.200 meter diatas permukaan laut. Perawakan tumbuhannya rendah.
- Memiliki 30 atau lebih daun yang panjang, ujungnya tajam, dan tersusun dalam bentuk roset yang mengelilingi batang yang tebal.
- Bunga nanas bersifat majemuk dan terdiri dari lebih 200 kuntum bunga yang tidak bertangkai. Bunganya mempunyai tiga kelopak, tiga mahkota, enam benang sari dan sebuah putik dengan stigma bercabang tiga.
- Kulit buah nanas memiliki sisik. Buahnya dalam bahasa inggris disebut sebagai *pineapple* karena bentuknya seperti pohon pinus.

3. Kandungan :

Kulit nanas mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan enzim bromelain

- 4. Penggunaan : Penelitian
- 5. Asal nanas : Blitar
- 6. Jenis nanas : Queen
- 7. Umur nanas : 2,5 bulan

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



Surabaya, 5 Juni 2015
 Laboratory Researcher

Drs. M. Fatoni, MS

Laboratory Office Jl. Ketintang Baru XVII No. 14
 Fax/ Telp. 031-8281941. Bank BCA - Bank Jatim
 Surabaya