

DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH NANAS (*Ananas comosus*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Aggregatibacter actinomycetem comitans* (Tinjauan Pada Aplikasi Alat Ortodontik Cekat)

Siti Ulfah Nesia¹, Novarini Prahastuti²

¹Mahasiswa Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Sitiulfah512@yahoo.co.id

²Dosen Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ABSTRACT

Background: Fixed orthodontic appliance can lead the occurrence of the bacteria adhesion on the teeth surface therefore bacteria can easily colonized. This can occur because of fixed orthodontic appliance is attached permanently to the teeth and only be removed by a dentist which have many parts that are difficult to clean by mechanical technique. One of the bacteria that dominate is *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. One of the plant that is expected to inhibit the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* is pineapple (*Ananas comosus*) which extract contains the compounds of enzyme bromelain.

Objective : The objective of this study is assess the antibacterial effect of pineapple (*Ananas comosus*) extract against the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Method : This study is a laboratory experimental in vitro study. This study was done in Microbiology Laboratory University Muhammadiyah of Yogyakarta on October 2015. This study use *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria and pineapple (*Ananas comosus*) extract. The antibacterial test is done by liquid dilution method with 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781% dan 0,39% pineapple (*Ananas comosus*) extract. The research data from this study is analyzed by using descriptive method which presented by table.

Result : The result shows that pineapple (*Ananas comosus*) extract has the MIC (Minimum Inhibitor Concentration) towards *Aggregatibacter actinomy cetemcomitans* 0,78% and MBC (Maximum Bactericidal Concentration) 1,56%.

Conclusion : Pineapple (*Ananas comosus*) extract has the antibacterial power towards *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Keyword : Pineapple, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Bromelain Enzyme

INTISARI

Latar Belakang: Aplikasi alat ortodontik cekat dapat menyebabkan terjadinya perlekatan bakteri di permukaan gigi sehingga bakteri mudah berkoloni. Keadaan tersebut terjadi karena alat ortodontik cekat melekat permanen pada gigi dan hanya dapat dilepas oleh dokter gigi serta memiliki bagian-bagian yang sulit dibersihkan dengan cara mekanis. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan salah satu bakteri yang mendominasi. Buah nanas (*Ananas comosus*) merupakan salah satu tumbuhan yang diharapkan dapat menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang memiliki kandungan senyawa enzim bromelain dalam ekstraknya.

Tujuan Penelitian: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*?

Metode Penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental laboratoris (in vitro). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan oktober 2015. Penelitian ini menggunakan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan menggunakan ekstrak buah nanas. Uji bakteri dilakukan dengan metode dilusi cair dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781% dan 0,39%. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif yang disajikan dalam bentuk tabel.

Hasil Penelitian: Ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) memiliki KHM (Kadar Hambat Minimum) terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yaitu pada konsentrasi 0,78% dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) pada konsentrasi 1,56%.

Kesimpulan: Ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Kata Kunci : Nanas, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Enzim Bromelain

PENDAHULUAN

Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah bakteri gram negatif, tidak bergerak, capnophilic yaitu kuman yang perkembangbiakannya membutuhkan CO₂ dan berbentuk cocobacillus serta paling dominan pada plak subgingiva.¹ Bakteri tersebut menjadi faktor resiko penyebab terjadinya periodontitis agresif, karena memproduksi beberapa faktor virulensi seperti lipopolisakarida (endotoksin), kolagenase, epitheliotoxin-bone, protease-cleaving IgG yang mendukung terjadinya proses periodontitis agresif.² Periodontitis agresif merupakan suatu inflamasi akibat infeksi pada jaringan pendukung gigi yaitu tulang alveolar dan ligament periodontal yang terjadi secara progresif.³

Menurut penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemakaian ortodontik cekat dapat menghambat efektifitas kebersihan mulut dan menyebabkan terjadinya kondisi kariogenik.⁴ Penumpukan plak gigi pada pasien perawatan ortodontik cekat terjadi cukup besar, dikarenakan sulit untuk menjaga status kebersihan mulut. Penggunaan alat ortodontik cekat dapat mengubah sifat dan kondisi dari plak gigi. Struktur, metabolisme dan komposisi dari plak gigi dapat berubah sehingga dapat menyebabkan populasi mikrobiologi dalam mulut meningkat. Bagian alat ortodontik cekat yaitu labial bracket dapat mempengaruhi kondisi mikroflora mulut, yaitu terjadinya peningkatan prevalensi bakteri patogen pada jaringan periodontal seperti *Aggregatibacter actinomycetem comitans* (Aa) dan *Porphyromonas gingivalis* (Pg).⁵

Salah satu tanaman buah yang tumbuh subur di Indonesia adalah nanas (*Ananas comosus*). Nanas (*Ananas comosus*) merupakan buah yang mempunyai kandungan yang sangat kompleks, kaya akan mineral baik makro maupun mikro, zat organik, air dan juga vitamin. Kandungan klor, iodium, fenol, vitamin C, serat, dan enzim bromelain pada nanas mempunyai efek menekan pertumbuhan bakteri.⁶

Menurut penelitian yang dilakukan sebelumnya pada jus nanas telah memberikan hasil yang baik dan terbukti memiliki efek antibakteri *Streptococcus mutans*.⁷ Berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis ingin

mengkaji tentang daya antibakteri ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris murni secara *in vitro* menggunakan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) yang diujikan pada bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Penelitian ini dilakukan 3 kali pengulangan. Masing-masing konsentrasi ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, 0,390%, akuades sebagai kontrol negatif dan suspensi bakteri sebagai kontrol positif. Metode yang digunakan pada pelaksanaan uji daya antibakteri adalah metode dilusi cair.

Pembuatan Ekstrak Buah Nanas

Tahap pembuatan ekstrak buah nanas diawali dengan pencucian buah hingga bersih. Buah nanas yang sudah bersih dan terbebas dari kotoran, selanjutnya dilakukan pemotongan kulit dan buah. Buah nanas ini akan dijadikan sebagai bahan baku utama. Buah nanas lalu dipotong dalam ukuran kecil dan tipis. Setelah dipotong menjadi kecil dan tipis, buah nanas tersebut di jemur diluar ruangan ditutupi dengan kain berwarna hitam agar menghindari sinar paparan langsung yang berlebihan. Penjemuran dilakukan 8 jam atau sampai kering. Setelah buah nanas kering diblender sampai halus. Buah nanas yang telah halus, dimaserasi dengan etanol 70% selama 72 jam, namun tetap disimpan dalam ruangan yang sejuk agar senyawa dalam buah nanas tersebut tidak rusak. Selanjutnya, larutan tersebut disaring dengan kertas saring. Selama proses maserasi akan menghasilkan serbuk yang nanti digunakan untuk remaserasi. Remaserasi dibutuhkan untuk mendapatkan hasil yang maksimum dari proses ekstraksi, kemudian larutan yang didapatkan dari proses maserasi dan remaserasi akan disaring lagi dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan kecepatan 200 rpm, dan pemanas *waterbath* 50°C sampai diperoleh ekstrak padat. Ekstrak buah nanas diencerkan menjadi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, dan 0,390%.

Persiapan Suspensi Bakteri Aa

Aggregatibacter actinomycetemcomitans yang diperoleh dari pembiakan dan diisolasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY dengan cara inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Beberapa koloni bakteri diambil kira-kira 2-5 koloni bakteri dengan menggunakan ose steril lalu dimasukkan kedalam NaCl lalu diinkubasikan selama 2-4 jam pada suhu 37°C. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan cara memasukkan ke dalam BHI (Brain Heart Infusion) hingga diperoleh jumlah kuman yang sesuai dengan jumlah Standar Brown III dengan konsentrasi kuman 10^8 CFU/ml, diencerkan lagi hingga 10^6 CFU/ml.

Pelaksanaan Uji Daya Antibakteri.

Metode yang digunakan adalah dilusi cair, yaitu pengenceran bertahap dari suatu zat dalam larutan dengan menggunakan media cair yang digunakan untuk menghitung KHM dan KBM. Penelitian ini dilakukan sebanyak 3 kali percobaan, menggunakan 11 tabung reaksi dengan volume 5 ml. Lakukan pengenceran serial aquades dan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781% dan 0,39%. Tabung ke-10 menjadi kontrol negatif dan tabung ke-11 menjadi kontrol positif. Kemudian, masukkan 1 ml larutan BHI dan NaCl yang telah diencerkan dengan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Semua tabung dimasukkan kedalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C, dilakukan pengamatan setelah proses inkubasi selesai dengan cara membandingkan kontrol positifnya. Kadar hambat minimum didapat dengan mengamati tabung subkultur yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi yang paling rendah. Tabung-tabung yang tidak memperlihatkan pertumbuhan kuman selanjutnya ditanam pada media nutrient agar. Setelah ditanam pada media nutrient agar, diinkubasikan lagi selama 24 jam pada 37°C. Kadar bunuh minimum ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media nutrient agar dengan konsentrasi terendah.

HASIL

Hasil percobaan daya hambat ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dideskripsikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Buah Nanas (Ananas comosus) Terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Tabung ke-	Konsentrasi	Penelitian		
		I	II	III
1	100%	-	-	-
2	50%	-	-	-
3	25%	-	-	-
4	12,5%	-	-	-
5	6,25%	-	-	-
6	3,125%	-	-	-
7	1,56%	+	+	+
8	0,78%	+	+	+
9	0,39%	+	+	+
10	Kontrol +	+	+	+
11	Kontrol -	-	-	-

Keterangan :

+ (positif): larutan keruh, terdapat adanya pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

- (negative) : larutan jernih, tidak terdapat adanya pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Berdasarkan **Tabel 1**, hasil penelitian menunjukkan bahwa pengujian dilusi cair ekstrak buah nanas dapat menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomy*

Aggregatibacter actinomycetemcomitans pada konsentrasi 0,78% .

Hasil percobaan daya bunuh ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dideskripsikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus*) Terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Tabung ke-	Konsentrasi	Penelitian		
		I	II	III
1	100%	-	-	-
2	50%	-	-	-
3	25%	-	-	-
4	12,5%	-	-	-
5	6,25%	-	-	-
6	3,125%	-	-	-
7	1,56%	-	-	-
8	0,78%	+	+	+
9	0,39%	+	+	+
10	Kontrol +	+	+	+
11	Kontrol -	-	-	-

Keterangan :

+ (positif): terdapat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media agar.

- (negative): tidak terdapat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media agar.

Berdasarkan **Tabel 2** diatas, kadar bunuh minimum ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah pada konsentrasi 1,56%. Pengolahan data disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara deskriptif.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi 0,78% merupakan kadar hambat minimum ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan konsentrasi 1,56% merupakan kadar bunuh minimum ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Dengan demikian hipotesis penelitian ini diterima, yaitu ekstrak buah nanas memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hal ini berkaitan dengan kandungan enzim bromelain dalam buah nanas yang dapat digunakan sebagai antibakteri dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan bakteri dengan cara menghidrolisis protein saliva dan glikoprotein yang merupakan mediator bakteri dalam perlekatannya pada permukaan gigi.⁷ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* memiliki 3 lapis dinding sel yang tersusun atas outer membrane, peptidoglikan, dan inner membrane.⁸ Peptidoglikan bakteri ini lebih tipis jika dibandingkan dengan bakteri positif.⁹ Kontak enzim bromelain menyebabkan ketiga lapisan membran tersebut mengalami penurunan tegangan permukaan sehingga menyebabkan lisis. Turunnya tegangan permukaan dinding sel bakteri menyebabkan dinding sel tersebut tidak selektif dalam meloloskan zat terlarut dan zat lainnya. Zat-zat tersebut dapat mengubah sifat fisik dan kimiawi selaput sel dan dapat menghalangi fungsi normalnya sehingga mempunyai kemampuan menghambat dan membunuh bakteri.¹⁰

Uji aktivitas antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi. Metode dilusi ini memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode difusi karena lebih peka dan terjamin homogenitas diantara media, bahan uji, dan suspensi bakteri, sehingga bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata.¹⁰

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi 0,78% merupakan kadar hambat minimum ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* melalui uji dilusi cair. Kadar hambat minimum pada uji dilusi cair ditentukan oleh tingkat kekeruhan dari setiap larutan yang sudah diinkubasi selama 24 jam. Kekeruhan tersebut menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Namun selama penelitian berlangsung, kadar hambat minimum (KHM) sulit diamati karena warna ekstrak yang terlalu

keruh dan pekat. Sehingga untuk memastikan ada tidaknya pertumbuhan bakteri, dilakukan penggoresan larutan uji pada media agar.

Uji dilusi padat adalah uji yang digunakan untuk menentukan kadar bunuh minimum dan untuk menguatkan hasil dari uji dilusi cair. Hasil nilai konsentrasi kadar hambat minimum (KBM) ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah sebesar 0,78% didapatkan melalui uji dilusi padat. Penentuan kadar bunuh minimum ini dilihat dengan cara mengamati pertumbuhan hasil uji dilusi cair yang ditanam pada media padat dicawan petri. Penanaman dan pengembangbiakan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media *Triton Soya Agar* pada suhu kamar akan membentuk koloni-koloni bulat dan berantai. Tidak ditemukan adanya pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada konsentrasi 1,56%, sedangkan pada konsentrasi 0,78% ditemukan adanya pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Berdasarkan hasil diatas, didapatkan nilai kadar bunuh minimum (KBM) yaitu pada konsentrasi 1,56%.

Kontrol positif berisi suspense bakteri dan kontrol negatif berisi pengenceran ekstrak tanpa bakteri. Pada kontrol positif harus ditemukan adanya pertumbuhan bakteri karena ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat tumbuh pada media uji, sedangkan pada kontrol negatif tidak boleh ditemukan adanya pertumbuhan bakteri karena apabila terdapat pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa media dan bahan uji terjadi kontaminasi. Kedua kontrol ini digunakan sebagai bahan perbandingan dengan tabung uji.

Penelitian ini menggunakan ekstrak buah nanas yang dibuat secara sederhana dengan metode maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan untuk mendapatkan senyawa dari tumbuhan menarik senyawa organik dalam suatu bahan padat menggunakan pelarut organik. Pelarut yang digunakan biasanya etanol.¹¹ Penelitian ini ekstrak buah nanas menghasilkan senyawa-senyawa antibakteri seperti enzim bromelain.

KESIMPULAN

1. Daya antibakteri ekstrak buah nanas efektif menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

2. Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terdapat pada konsentrasi 0,78%.
3. Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak buah nanas terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terdapat pada konsentrasi 1,56%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Paju, S. (2000). *Virulence-associated characteristics of actinobacillus actinomycetemcomitans, and oral and nonoral pathogen* [Versi Elektronik]. Disertasi Strata Tiga. University of Helsinki, Finland.
2. B. Schacher, F. B. (2007). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans as indicator for aggressive periodontitis by two analysing strategies . J clin periodontal : 34, 566-573.*
3. Sari, D. N. (2014). *Perbedaan pengaruh antara probiotik A,B dan C terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [Versi Elektronik]. Skripsi Strata Satu. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
4. Amanda Osorio Ayres de Freitas, M. M. (2014). *The Influence of Orthodontic Fixed Appliances on the Oral Microbiota: A systematic review. Dental Press Journal of Orthodontics, 46-55.*
5. A.Demling, C. R.-P. (2010). *Short-Term influence of lingual orthodontic therapy on microbial parameters and periodontal status. Angle orthodontist Vol.8 No.3, 480-484.*
6. Najib, M.A. (2014). *Potensi Enzim Bromelin pada Bonggol Nanas (Ananas comosus) Sebagai Bahan Anti Plak Dalam Pasta Gigi. Jurnal BIMKG.*
7. Rakhmanda, A. P. (2008). *Perbandingan Efek Antibakteri Jus Nanas (Ananas comosus L.merr) pada berbagai Konsetrasi terhadap Streptococcus mutans* [Versi Elektronik]. Skripsi Strata Satu. Universitas Diponegoro, Semarang.
8. Arrasyid, K. H. (2012). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Manggis (Garania Mongostana L) terhadap Pertumbuhan Aggregatibacter actinomycetemcomitans sebagai penyebab periodontitis agresif* [Versi Elektronik]. Skripsi Strata Satu. Univeritas Syah Kuala, Banda Aceh.

9. Samaranayake, L. (2007). *Essentials microbiology for dentistry 3rd edition*. London: Elsevier.
10. Brooks G.F., B. J. (2005). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran (terj)*. Jakarta: Salemba Medika.
11. Nurcahyati, H. (2010). *Evaluasi pH ekstrak daun teh (Camelia Sinensis) terhadap pertumbuhan Streptococcus mutans* [Versi Elektronik]. Skripsi Strata Satu. Universitas Syah Kuala, Banda Aceh.