

UJI KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM (KHM) EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus* L) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Indria Wiharningtias¹⁾, Olivia Waworuntu²⁾, Juliatri¹⁾

¹⁾ Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran UNSRAT Manado, 95115

²⁾ Fakultas Kedokteran UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is one of the bacteria in oral cavity that can lead to an abscess. Treatment of abscesses can be done by use of systemic antibiotics, but now the increasingly of *Staphylococcus aureus* bacteria resistant to antibiotics has become a problem in the medical. Various alternatives have been developed, one of them using natural materials to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. Pineapple (*Ananas comosus* L) was a plant that grows in Indonesia. The peel of pineapple contains of bromelain enzyme and has anti-bacterial effect, but the pineapple's peel were not widely used in Indonesia. The purpose of this research is to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of pineapple peel extract (*Ananas comosus* L) to *Staphylococcus aureus* growth. This research is a true experimental research with randomized pretes- posttest control group design. The method used in this research is serial dilution methods with turbidimetry and spectrophotometry as the test methods. Pineapple peel was extracted with maceration method using ethanol 96%. The extract used in this study are 0.39 %, 0.78 %, 1.56%, 3.125 %, 6.25%, 12.5 %, 25 %, 50 % and 100 %. The result of this research showed that the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of pineapple peel extract (*Ananas comosus* L) to *Staphylococcus aureus* was 1,56%.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), pineapple peel

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri di dalam rongga mulut yang dapat menyebabkan terjadinya abses. Perawatan terhadap abses dapat dilakukan secara sistemik yaitu dengan penggunaan antibiotik, namun saat ini peningkatan resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik telah menjadi permasalahan dalam bidang kesehatan. Berbagai cara alternatif telah dikembangkan, salah satunya dengan memanfaatkan bahan alami untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Nanas (*Ananas comosus* L) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia. Kulit buah nanas mengandung enzim bromelain dan memiliki efek sebagai anti bakteri, namun pemanfaatan kulit nanas belum banyak dilakukan di Indonesia. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak kulit nanas terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) dengan rancangan penelitian *randomized pretes- posttest control group design*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode serial dilusi dengan metode pengujian turbidimetri dan spektrofotometri. Ekstrak kulit nanas didapat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 0,39%, 0,78%, 1,56%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa, konsentrasi hambat minimum ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu konsentrasi 1,56%.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), kulit nanas

PENDAHULUAN

Flora normal merupakan organisme yang biasanya dijumpai di dalam rongga mulut, serta pada umumnya tidak menyebabkan penyakit apabila berada pada keadaan yang seimbang dengan hospes. Salah satu flora normal yang terdapat di dalam rongga mulut yaitu *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat bersifat invasif. Hal ini terjadi apabila terdapat perubahan sifat dari bakteri, serta terganggunya sistem pertahanan dan kekebalan tubuh hospes. Kombinasi kedua hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya infeksi (Pederson, 1996). Salah satu infeksi di dalam rongga mulut yang dapat terjadi yaitu abses. Abses merupakan suatu infeksi akut yang terlokalisir, manifestasinya berupa pembengkakan, peradangan, nyeri tekan dan kerusakan jaringan setempat. Perawatan yang dapat dilakukan yaitu secara lokal dan sistemik. Perawatan secara sistemik salah satunya yaitu menggunakan antibiotik (Pederson, 1996; Harty & Ogston, 2012). Namun peningkatan resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap berbagai jenis antibiotik menjadi suatu permasalahan yang dapat mempersulit proses penyembuhan (Refdanita dkk, 2004; Sari, 2006).

Pemanfaatan tumbuhan yang memiliki khasiat terhadap kesehatan sudah sejak lama dilakukan oleh masyarakat, karena secara empiris tumbuhan mempunyai efek samping yang minim dan lebih ekonomis karena mudah didapatkan (Sari, 2006). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi bagi kesehatan adalah nanas (*Ananas comosus* L). Tumbuhan nanas mengandung enzim bromelain, termasuk juga pada bagian kulit nanas yang memiliki kemampuan sebagai

antibakteri, antiinflamasi dan analgesic (Sudjaewo, 2005; Kumaunang & Kamu, 2011; Manaroinsong dkk, 2015; Audies, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Manaroinsong dkk pada tahun 2015, membuktikan bahwa ekstrak kulit nanas 100% memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Manarionsong dkk, 2015).

Penelitian mengenai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak kulit nanas terhadap *Staphylococcus aureus* belum pernah dilakukan sebelumnya. Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terendah dari suatu bahan antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Melalui cara tersebut, kemampuan suatu antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada konsentrasi terendah dapat diketahui (Soelama dkk, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui KHM dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) dengan rancangan penelitian *randomized pretest-posttest control group design*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Juni 2016. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit nanas, etanol 96%, bakteri *Staphylococcus aureus*, *nutrient agar* (NA), *brain heart infusion broth* (BHI-B), larutan BaCl₂, larutan H₂SO₄, akuades dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Prosedur kerja meliputi pembuatan ekstrak

kulit nanas, pengenceran ekstrak dan pengujian KHM ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pembuatan ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus L*) dilakukan dengan metode maserasi. Buah nanas yang digunakan yaitu sebanyak 10 buah, yang diperoleh dari daerah Kotamobagu. Sampel buah nanas dikupas kemudian di ambil kulitnya. Kulit nanas kemudian dicuci dan dipotong-potong kecil, selanjutnya diangin-anginkan selama ± 3 hari tanpa terkena sinar matahari langsung. Kulit nanas yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk yang disebut simplisia, kemudian ditimbang sebanyak 1.000 gram. Simplisia tersebut di rendam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter selama 24 jam. Hasil maserasi pertama kemudian disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh zat cair (filtrat) dan ampas simplisia (debris). Debris hasil dari penyaringan tersebut di maserasi kembali. Langkah-langkah tersebut diulang sehingga didapatkan filtrat 1-3. Filtrat dari hasil penyaringan 1-3 dicampur dan disaring ulang, kemudian hasil dari penyaringan tersebut diuapkan dengan menggunakan *Rotary Vacum Evaporator* dengan suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak pekat.

Konsentrasi ekstrak kulit nanas diperoleh dengan menggunakan metode serial dilusi atau pengenceran secara bertingkat dengan perbandingan 1:2 (w/v) sehingga didapatkan beberapa konsentrasi. Tabung reaksi steril yang digunakan pada perlakuan pertama yaitu sebanyak 11 tabung diberi lebel 1-9, dan tabung 10 diberi label K(+) yang berisikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, dan tabung 11 diberi lebel K(-) yang merupakan kontrol negatif yang berisikan ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi

100%. Tabung 1 diisi dengan ekstrak kulit nanas sebanyak 4mL dengan konsentrasi 100%. Tabung 2-9 diisi dengan 2 mL media cair BHI-B. Kemudian 2 mL larutan dari tabung 1, dimasukkan ke dalam tabung 2 dan dicampur hingga homogen sehingga diperoleh konsentrasi 50%. Hal yang sama dilakukan hingga tabung 9. Pada penelitian ini dilakukan dua kali perlakuan.

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang disimpan di media agar, diambil menggunakan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Bakteri yang telah diremajakan pada media agar miring, kemudian diambil koloninya dari media agar miring dengan menggunakan jarum ose steril. Koloni yang diambil dimasukkan ke dalam media BHI-B dalam tabung reaksi dan diinkubasi 1x24 jam di dalam inkubator. Kemudian kekeruhan suspensi bakteri disesuaikan dengan standar kekeruhan *McFarland* 1.

Metode pengujian yang dipakai dalam penelitian ini yaitu metode *turbidimetri* atau pengujian kekeruhan secara visual dan dilanjutkan dengan menggunakan *spektrofotometer* untuk menentukan nilai absorban sebagai penentu kekeruhan yang lebih akurat. Untuk menguji kekeruhan, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah disetarakan dengan standar kekeruhan *McFarland* 1 sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi perlakuan label 1 kemudian diukur nilai absorban awal sebelum dilakukan diinkubasi menggunakan spektrofotometer. Hal yang sama dilakukan pada tabung perlakuan dengan lebel 2-9. Kemudian seluruh tabung yang telah diketahui nilai absorban awal,

diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 1 x 24 jam.

Setelah tabung perlakuan diinkubasi, penentuan KHM dengan metode turbidimetri dilakukan dengan cara melakukan pengamatan kekeruhan secara visual. Apabila kekeruhan masing-masing tabung terlihat masih setara atau lebih keruh dari tabung K(+) berarti bakteri masih dapat bertumbuh, tetapi apabila larutan dalam tabung perlakuan terlihat mulai jernih dari pada tabung K(+) berarti pertumbuhan bakteri mulai terhambat. Hal inilah yang menunjukkan KHM. Kemudian tabung-tabung perlakuan diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Jika nilai absorbansi akhir (sesudah inkubasi) masing-masing tabung lebih besar dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi) berarti masih terjadi pertumbuhan bakteri. Namun, jika sebaliknya tidak terdapat perubahan nilai absorbansi antara nilai absorbansi akhir dengan nilai absorbansi awal atau nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal, hal ini berarti pertumbuhan bakteri dihambat. Hal ini merupakan KHM yang ditentukan dari konsentrasi ekstrak terkecil pada tabung perlakuan yang mulai menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

HASIL PENELITIAN

Penentuan konsentrasi hambat minimum ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan pengujian turbidimetri, serta pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis setelah dilakukan inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Data hasil penelitian yang didapatkan pada metode turbidimetri

kemudian dimasukkan ke dalam tabel (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil pengujian ekstrak kulit nanas terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode turbidimetri pada perlakuan pertama dan kedua

Nomor Tabung	Konsentrasi Ekstrak kulit nanas	Hasil	
		Perlakuan I	Perlakuan II
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	K(+)	+	+
11	K(-)	-	-

Keterangan: Tanda (+): larutan di dalam tabung terlihat keruh, artinya terdapat pertumbuhan bakteri. Tanda (-): larutan di dalam tabung mulai jernih, yang artinya pertumbuhan bakteri mulai dihambat.

Hasil pengujian dengan metode turbidimetri setelah dilakukan inkubasi 1x24 jam, didapatkan hasil pada tabung konsentrasi 3,125% (tabung nomor 6) terlihat mulai jernih baik pada perlakuan 1 dan perlakuan ke 2. Hal tersebut ditentukan pada saat dibandingkan dengan tabung K (+) yang berisikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil yang berbeda terlihat pada tabung nomor 7, 8 dan 9 yang kekeruhannya mendekati kekeruhan tabung K(+).

Pengujian kemudian dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometer untuk mengukur nilai absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi dengan panjang gelombang 285,00 nm. Hal tersebut sesuai dengan panjang gelombang dari tabung kontrol positif. Hasil pengukuran spektrofotometri dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji KHM ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Konsentrasi ekstrak kulit nanas	Hasil				Rata-rata		Keterangan
	Perlakuan 1		Perlakuan 2		Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi	
	Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi	Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi			
100%	4.000	3.988	4.000	4.000	4.000	3.994	Turun
50%	3.987	4.000	3.976	4.000	3.981	4.000	Naik
25%	3.966	4.000	4.000	4.000	3.983	4.000	Naik
12.5%	3.929	3.935	4.000	3.972	3.964	3.953	Turun
6.25%	3.989	3.884	3.929	3.842	3.959	3.863	Turun
3.125%	4.000	3.670	3.623	3.904	3.811	3.787	Turun
1.56%	3.750	3.035	3.842	3.758	3.796	3.396	Turun
0.78%	3.287	3.997	3.863	3.490	3.575	3.743	Naik
0.39%	3.393	3.461	3.569	3.879	3.481	3.670	Naik
Kontrol (+)	2.573	3.333	-	-	2.573	3.333	Naik
Kontrol (-)	4.000	4.000	-	-	4.000	4.000	Tetap

Berdasarkan hasil pengujian KHM dengan menggunakan Spektrofotometer pada Tabel 2, penurunan nilai rata-rata absorbansi pertama kali terjadi pada konsentrasi 1,56%. Konsentrasi ekstrak 1,56% mengalami penurunan nilai absorbansi baik pada perlakuan pertama maupun perlakuan kedua. Berdasarkan pengujian menggunakan Spektrofotometer, konsentrasi hambat minimum ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berada pada konsentrasi 1,56%.

PEMBAHASAN

Pengujian yang dilakukan setelah inkubasi terhadap tabung-tabung perlakuan pada pengulangan 1 dan 2, dilakukan dengan metode turbidimetri dan spektrofotometri. Pengujian dengan metode turbidimetri, dilakukan dengan melihat kekeruhan yang terjadi pada tabung uji secara visual setelah dilakukan inkubasi (Eucast, 2003; Harmita & Radji, 2008; Rakhmanda, 2008). Sedangkan pengujian dengan metode spektrofotometri dilakukan dengan membandingkan nilai absorbansi

yang dihasilkan sebelum dan sesudah inkubasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Coyle, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian dengan metode turbidimetri, konsentrasi hambat minimum ekstrak kulit nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 3,125%. Hal ini terlihat dari mulai jernihnya larutan dalam tabung konsentrasi 3,125% pada perlakuan pertama dan kedua, yang berarti pertumbuhan bakteri sudah dapat terhambat. Sedangkan pada konsentrasi ekstrak yang lebih rendah yaitu konsentrasi 0,39%-1,56% larutan terlihat semakin keruh mendekati kekeruhan dari tabung K(+) yang berisi bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini karena konsentrasi larutan ekstrak yang rendah, sehingga kemampuan dari ekstrak tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan akhirnya pertumbuhan bakteri dapat meningkat. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rakhmanda tahun 2008, pada konsentrasi ekstrak yang semakin rendah, kemampuan senyawa aktif dalam ekstrak tersebut semakin kecil jumlahnya sehingga kemampuan dalam menghambat

pertumbuhan bakteri berkurang (Rakhmandar, 2008).

Pengamatan yang dilakukan untuk menentukan KHM dengan metode turbidimetri bersifat subjektif, karena hanya dilakukan secara visual dan warna larutan uji yang kecoklatan (pekat) pada konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi, mempersulit proses pengamatan dan penentuan KHM. Maka perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang akurat. Pengujian dilanjutkan untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Coyle, 2005; Astutiningsih dkk, 2014).

Penentuan KHM dengan menggunakan spektrofotometer, dilakukan berdasarkan perbandingan nilai rata-rata absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Apabila nilai absorbansi sebelum inkubasi lebih besar dibandingkan dengan nilai absorbansi sesudah inkubasi, pertumbuhan bakteri sudah dapat terhambat. Sebaliknya apabila nilai absorbansi setelah inkubasi lebih besar dari nilai absorbansi sebelum inkubasi, maka pertumbuhan bakteri masih dapat terjadi (Astutiningsih, 2014; Dewi, 2010).

Berdasarkan pengujian yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer, pada konsentrasi 1,56%-100% sudah mulai terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri. Kecuali pada konsentrasi 50% dan 25% yang mengalami peningkatan nilai absorbansi. Konsentrasi ekstrak yang lebih rendah dari konsentrasi 1,56% yaitu 0,78%, dan 0,39%, terjadi peningkatan rata-rata nilai absorbansi setelah inkubasi yang menandakan bahwa pada kedua konsentrasi tersebut masih terdapat pertumbuhan bakteri (Tabel 2).

Berdasarkan hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer, KHM

ekstrak kulit nanas terhadap *staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 1,56%. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang mengalami penurunan nilai absorbansi pada pengulangan satu dan pengulangan dua setelah dilakukan inkubasi, yang menunjukkan terjadinya penurunan pertumbuhan bakteri.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka aktivitas pertumbuhan bakteri dapat semakin terhambat, karena kandungan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri dalam ekstrak semakin besar. Namun pada penelitian ini, ekstrak dengan konsentrasi 50% dan 25% mengalami peningkatan nilai absorbansi setelah dilakukan inkubasi. Penelitian yang dilakukan oleh Dewi tahun 2010 di Surakarta mendapatkan hasil yang sama, yaitu terjadi peningkatan nilai absorbansi pada konsentrasi yang tinggi. Peningkatan nilai absorbansi tersebut tidak sepenuhnya disebabkan oleh pertumbuhan bakteri, tetapi disebabkan karena masih terdapatnya residu ekstrak pada konsentrasi yang pekat, serta penyerapan cahaya oleh sel bakteri yang telah mati, sehingga peningkatan nilai absorbansi dapat terjadi (Dewi, 2010; Purwoko, 2009).

Perbedaan hasil pengukuran pada metode turbidimetri dan spektrofotometri disebabkan oleh perbedaan prinsip kerja dari kedua metode tersebut. Pengujian dengan menggunakan metode turbidimetri bersifat subjektif karena pada metode ini pengamatan hanya dilakukan secara visual, serta sulitnya pengamatan pada larutan uji yang pekat sehingga resiko terjadinya kesalahan lebih besar. Sedangkan metode spektrofotometri memiliki hasil pengujian berupa data kuantitatif sehingga memiliki kecermatan lebih tinggi dalam perincian

nilai pengukuran yang dihasilkan (Hendayana, 1996).

Kemampuan senyawa antibakteri dalam ekstrak kulit nanas yaitu enzim bromelain, dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan senyawa antibakteri tersebut, mampu merusak bakteri uji sehingga bakteri menjadi lisis dan jumlah pertumbuhan bakteri semakin menurun (Bagg, 2006). Pada konsentrasi ekstrak 1,56% kemampuan senyawa antibakteri pada ekstrak kulit nanas lebih besar dibandingkan kemampuan perbaikan dari sel bakteri, sehingga pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri sudah dapat terhambat. Berdasarkan penelitian Eshmah tahun 2013, enzim bromelain bekerja dengan merusak struktur dinding sel luar bakteri yang mengandung protein. Hal tersebut dapat menyebabkan pecahnya protein penyusun dinding sel bakteri, akibatnya sel mengalami kebocoran atau pecah dan pertumbuhan bakteri dapat terhambat (Eshamah, 2013).

Berdasarkan penelitian ini konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 1,56%. Hasil tersebut sesuai dengan hasil pengukuran dengan metode spektrofotometri, yang memiliki kecermatan yang lebih tinggi dalam perincian nilai pengukuran.

KESIMPULAN

Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 1,56%.

SARAN

1. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak kulit nanas

(*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Diharapkan dapat dilakukan penelitian mengenai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri rongga mulut lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Astutiningsih C, Setyani W, Hindratna H.2014. Uji daya antibakteri dan identifikasi isolate senyawa katekin dari daun teh (*Camellia sinensis* L. var *Assamica*). *Jurnal Ilmiah farmasi sains dan komunitas*. Semarang. 11(2): 55.
- Audies A.2015. *Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (Ananas comosus. L) terhadap pertumbuhan streptococcus mutans penyebab karies gigi*.[skripsi]. Padang: Universitas Andalas;. h.43.
- Bagg J, MacFarlane, Poxton IR, Smith AJ.2006. *Essential of Microbiology for Dental Students*. 2nd Edition. Glasgow: Oxford University Pres.p.115-6.
- Coyle MB. *Manual of antimicrobial susceptibility testing*. USA: American society for microbiology; 2005. p.53-60.
- Dewi FK. 2010. *Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (Morindacitrifolia, linnaeus) terhadap bakteri pembusuk daging segar*. [skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret. h.32.

- 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).p.16-7.
- European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2003. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection* :9(8):1-7.
- Harmita, Radji M. 2008. *Buku ajar analisis hayati*. Jakarta: EGC; 2008. h. 12-3.
- Harty FJ, Ogston R. 2012. *Kamus Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC; 2012.h.1.
- Hendayana S, Kadorohman A, Sumarna A, Supriatna A. 1994. *Kimia analitik instrumen*. Edisi 1. IKIP: Semarang; 1994. h.30.
- Kumaunang M, Kamu V. 2011. Aktivitas enzim bromelin dan ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus*). *Jurnal Ilmiah Sains- UNSRAT*. Oktober; 11(1):198-201.
- Manaroinsong A, Abidjulu J, Siagian KV. Uji daya hambat ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri staphylococcus aureus secara in vitro. *Jurnal Ilmiah Pharmacon- UNSRAT*. November 2015; 4(4): 27-33.
- Pederson GW. 1996. *Buku ajar praktis bedah mulut (oral surgery)*. Jakarta:EGC; 1996. h.191-203.
- Purwoko T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: BumiAksara; 2009. h.1-4.
- Rakhmanda AP. 2008. Perbandingan efek antibakteri jus nanas (*ananas comosus* L.merr) pada berbagai konsentrasi terhadap *Streptococcus mutans*. *Arikel karya tulis ilmiah- UNDIP*. 2008. h.11.
- Refdanita, Maksum R, Nurgani A, Endang P. 2004. Pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif rumah sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. *Jurnal Ilmiah Makara Kesehatan*.; 8(2): 41-8.
- Sari LO. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu kefarmasian Jember*. April 2006; 3(1): 1-7.
- Soelama HJJ, Kepel BJ, Siagian KV. 2015. Uji minimum inhibitor concentration (MIC) ekstrak rumput laut (*eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap streptococcus mutans. *Jurnal Ilmiah e-gigi UNSRAT*: 2015; 3(2): 376.
- Sudjarwo SA. 2005. Efek analgesic dan anti inflamasi dari bromelain pada mencit dan tikus. *Jurnal Ilmiah Universa medicina*; 24 (4):155-60.