

Potensi Sinergitas Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dan Tetrasiklin dalam Menekan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

*Potential Synergy of Pineapple Peel Extract (*Ananas comosus* L. Merr) and Tetracycline in Suppressing the Growth of *Staphylococcus aureus**

Nilasari Indah Yuniati^{1*}, Aprilia Rakhmawati¹, Milla Oktaviani²

¹Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Bina Cipta Husada, Purwokerto, Indonesia

²Program Studi D-3 Farmasi Universitas Muhammadiyah Kuningan, Cigugur, Kuningan, Indonesia

*corresponding author, Email: nila@stikesbch.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 12/09/2024

Disetujui : 24/12/2024

Abstract

Staphylococcus aureus is a bacteria that often causes infections in humans, from skin to systemic diseases. Tetracycline is known to be a broad-spectrum antibiotic that is effective in inhibiting the growth of Gram-positive and Gram-negative. Recently, many cases of tetracycline resistance have been found, which has the potential to complicate the treatment for diseases caused by bacterial infections. A combination between natural compounds like pineapple extract and tetracycline can be a potential strategy to increase the effectiveness of therapy. This study aims to explore the potential synergy between pineapple extract and tetracycline in suppressing the growth of *S. aureus*. This study is an experimental study, consisting of three treatment groups: 30% pineapple peel extract (P1), 30 µg tetracycline (P2), combination of 30% pineapple peel extract and 30 µg tetracycline (P3) and 5% DMSO as a control group, each with five replications. Pineapple peel extract was obtained using the maceration method. Furthermore, the inhibition zone test was conducted using the disc diffusion method, by culturing *S. aureus* on Muller Hinton Agar (MHA) media, then each petri dish was placed with a disc containing each treatment. The inhibition zone data were analyzed using One-Way ANOVA, followed by Duncan's test to determine the best treatment. The results showed that pineapple extract provided poor inhibitory ability against *S. aureus* when given in a single dose. Combining pineapple peel extract with tetracycline increased the inhibitory ability of tetracycline from the intermediate category to sensitive, with an average inhibition zone of 25.4 mm.

Key Words : Pineapple peel extract, Synergism, *Staphylococcus aureus*, Tetracycline

Abstrak

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang seringkali menjadi penyebab infeksi pada manusia, mulai dari infeksi kulit hingga sistemik. Tetrasiklin merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang diketahui efektif menghambat pertumbuhan Gram positif maupun Gram negatif. Namun, akhir-akhir ini banyak ditemukan kasus resistensi tetrasiklin yang berpotensi mempersulit terapi pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri. Kombinasi antara senyawa alami seperti ekstrak nanas dengan tetrasiklin dapat menjadi strategi potensial untuk meningkatkan efektivitas terapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi sinergitas antara ekstrak nanas dan tetrasiklin dalam menekan pertumbuhan *S. aureus*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, terdiri atas tiga kelompok perlakuan: 30% ekstrak kulit nanas (P1), 30 µg tetrasiklin (P2), kombinasi 30% ekstrak kulit nanas dan 30 µg tetrasiklin (P3), dan DMSO 5% sebagai kelompok kontrol, masing-masing dengan lima kali ulangan. Ekstrak kulit nanas diperoleh melalui metode maserasi. Uji zona hambat dilakukan dengan metode difusi kertas cakram dengan cara mengkultur *S. Aureus* pada media Muller Hinton Agar (MHA), kemudian masing-masing cawan petri diberi kertas cakram berisi masing-masing perlakuan. Data zona hambat yang diperoleh dianalisis menggunakan *One Way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji Duncan's untuk mengetahui perlakuan terbaik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak nanas memberikan kemampuan penghambatan kurang baik terhadap *S. aureus* ketika diberikan dalam dosis tunggal. Kombinasi ekstrak kulit nanas dengan tetrasiklin meningkatkan kemampuan penghambatan tetrasiklin dari kategori intermediet menjadi sensitif, dengan rata-rata zona hambat sebesar 25,4 mm.

Kata kunci : Ekstrak kulit nanas, Sinergisme, *Staphylococcus aureus*, Tetrasiklin

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri komensal pada tubuh manusia, namun yang paling invasif dan berpotensi menyebabkan berbagai penyakit di antara *Staphylococcus* lainnya, mulai dari infeksi kulit hingga infeksi sistemik yang berat seperti pneumonia, endocarditis, hingga sepsis (An et al., 2024). *S. aureus* mampu bertahan hidup

dalam jangka waktu lama, sekalipun dalam kondisi yang tidak menguntungkan (Yuniati and Khasanah, 2024). Hal ini disebabkan kemampuannya membentuk biofilm, yang melindunginya dari aksi antibiotik dan sistem kekebalan tubuh, serta resistensinya terhadap berbagai antibiotik, termasuk tetrasiklin (Wu et al., 2024). Resistensi antibiotik

merupakan salah satu ancaman global yang serius bagi kesehatan masyarakat karena membatasi efektivitas pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri.

Ekstrak nanas (*Ananas comosus* L. Merr) telah dikenal memiliki berbagai kandungan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba seperti bromelain, flavonoid, dan asam fenolat. Bromelain, enzim proteolitik yang ditemukan dalam nanas, diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm. Bromelain merusak dinding sel bakteri dengan memecah protein penyusun dinding sel, sehingga mempermudah penetrasi antibiotik (Souliissa et al., 2021). Kulit nanas menunjukkan aktivitas bromelain yang paling tinggi dibanding bagian buah dan batang (Mohapatra et al., 2013). Flavonoid dan asam fenolat pada nanas dapat bekerja sinergis dengan antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Sharma et al., 2024).

Tetrasiklin sebagai antibiotik spektrum luas, bekerja dengan menghambat sintesis protein sehingga melemahkan dinding sel bakteri dan menyebabkan kematian sel (Markley & Wencewicz, 2018). Namun, resistensi terhadap tetrasiklin, terutama terhadap *S. aureus*, telah menjadi masalah serius dalam terapi antibiotik (Hatem et al., 2022). Untuk itu, pendekatan melalui kombinasi tetrasiklin dengan senyawa alami seperti ekstrak nanas dapat menjadi strategi yang potensial untuk meningkatkan efektivitas terapi (Lorca et al., 2024). Kombinasi ini dapat menghasilkan efek sinergis, di mana aktivitas antimikroba dari tetrasiklin diperkuat oleh senyawa bioaktif dalam ekstrak nanas, sehingga dapat mengatasi resistensi antibiotik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi sinergitas antara ekstrak nanas dan tetrasiklin dalam menekan pertumbuhan *S. aureus*. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan terapi kombinasi berbasis bahan alami yang lebih efektif dalam mengatasi resistensi antibiotik.

MATERI DAN METODE

Desain dan Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto. Penelitian ini merupakan studi eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok perlakuan ekstrak kulit nanas 30% (P1), kelompok perlakuan tetrasiklin 30 µg (P2), kelompok perlakuan kombinasi ekstrak kulit nanas 30% dan tetrasiklin 30 µg (P3), dan kelompok kontrol negatif dengan pemberian DMSO 5% (K), masing-masing kelompok terdiri atas 5 ulangan. Isolat bakteri *S. aureus* yang digunakan merupakan koleksi kultur Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto.

Pembuatan ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr)

Sebanyak 10 buah nanas dikupas dan diambil kulitnya. Kulit nanas selanjutnya dicuci dan dipotong-potong, kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Kulit nanas yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk (simplicia). Simplicia kemudian ditimbang sebanyak 1 gram dan dimaserasi 1 x 24 jam selama 3 hari menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (v/v). Filtrat selanjutnya disaring dan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak kental. Larutan ekstrak kulit nanas dibuat pada konsentrasi 30% dengan cara melarutkan 3 gram ekstrak kental kulit nanas ke dalam DMSO 5% hingga volume 10 mL. Konsentrasi ekstrak nanas 30% ditentukan berdasarkan penelitian pendahuluan. Larutan DMSO 5% dibuat dengan menambahkan 5 mL DMSO *pro-analysis* ke dalam 95 mL akuades steril.

Pembuatan Suspensi *S. aureus* dan Uji Daya Hambat.

Sebanyak 1 ose isolat *S. aureus* diinokulasikan pada media *Lactosa Broth* (LB) dan diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Kultur *S. aureus* dibuat pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan cara menginokulasikan suspensi *S. aureus* ke dalam MHA sebanyak 0,1 mL, kemudian diratakan dengan *colony spreader*. Ke dalam cawan petri pada kelompok perlakuan P1 diberi kertas cakram berisi ekstrak kulit nanas 30%. Pada kelompok perlakuan P2, ke dalam kultur *S. aureus* pada media MHA diletakkan cakram antibiotik tetrasiklin 30 µg. Sedangkan pada kelompok perlakuan P3 diletakkan cakram antibiotik tetrasiklin 30 µg yang telah ditambahkan ekstrak kulit nanas 30%. Sementara pada kelompok kontrol negatif, kertas cakram diberi DMSO 5%. Kultur pada masing-masing perlakuan selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 35°C.

Pengukuran Zona Hambat

Zona hambat merupakan daerah jernih yang terbentuk di sekeliling kertas cakram pada media pertumbuhan bakteri uji yang menunjukkan efek antibakteri ekstrak kulit nanas dan tetrasiklin terhadap *S. aureus*. Diameter zona hambat dihitung dengan rumus sebagai berikut dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

$$\text{Zona hambat} = \frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$

Keterangan :

D_v = diameter vertikal

D_h = diameter horizontal

D_c = diameter cakram

Perhitungan Persentase Penghambatan Ekstrak Kulit Nanas dan Tetrasiklin

Kriteria pola kepekaan *S. aureus* terhadap ekstrak kulit nanas, tetrasiklin dan kombinasi keduanya ditentukan berdasarkan Tabel 1. Persentase penghambatan masing-masing perlakuan dihitung dengan cara sebagai berikut.

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\text{Jumlah ulangan dengan kriteria pola kepekaan tertentu}}{\text{Jumlah total ulangan pada tiap perlakuan}} \times 100\%$$

Tabel 1. Kriteria pola kepekaan antibiotik menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (Weinstein, 2018)

Nilai Standar	Resisten	Intermediet	Sensitif
	≤ 18 mm	19 – 22 mm	≥ 23 mm

Analisis Data

Nilai rata-rata diameter zona hambat diuji secara statistik dengan ANOVA pada tingkat kepercayaan 95% ($p \text{ value} < 0,05$) menggunakan *software* SPSS V.27.0, dilanjutkan dengan uji Duncan's untuk membandingkan nilai rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

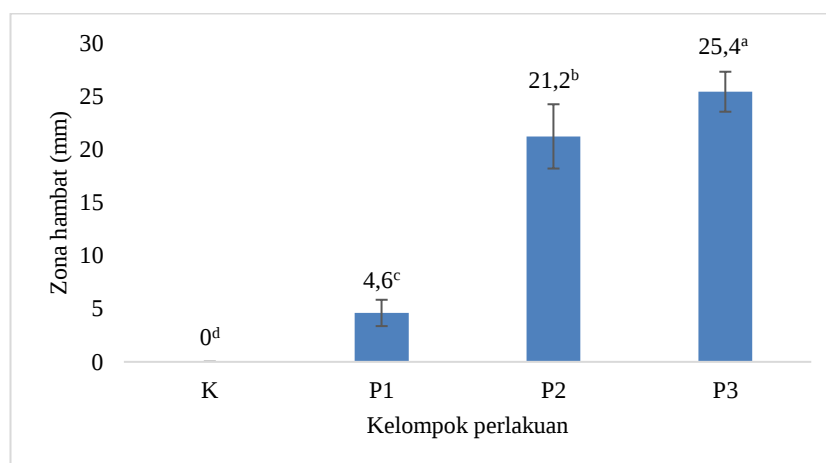
Hasil uji zona hambat dengan metode difusi kertas cakram menunjukkan bahwa baik perlakuan tunggal ekstrak kulit nanas (P1), tetrasiklin (P2), maupun kombinasi keduanya (P3), memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Sementara pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat, cakram ditumbuhi bakteri. Perlakuan tunggal dengan ekstrak kulit nanas 30% memberikan penghambatan yang paling rendah dibanding kelompok perlakuan lainnya, dengan nilai rata-rata zona hambat 4,6 mm. Tetrasiklin menunjukkan efek penghambatan sedang dengan rata-rata zona hambat 21,2 mm. Sementara, efek

penghambatan tetrasiklin meningkat sebesar 4,2 mm menjadi rata-rata 25,4 mm ketika dikombinasikan dengan ekstrak kulit nanas. Hasil analisis dengan uji Duncan's menunjukkan perlakuan terbaik adalah pada kelompok kombinasi ekstrak kulit nanas dan tetrasiklin, diikuti dengan kelompok tetrasiklin, dan ekstrak kulit nanas, masing-masing memberikan perbedaan yang signifikan ($p \text{ value} < 0,05$), ditunjukkan dengan anotasi yang berbeda pada kelompok kontrol, P1, P2, dan P3 (Gambar 1).

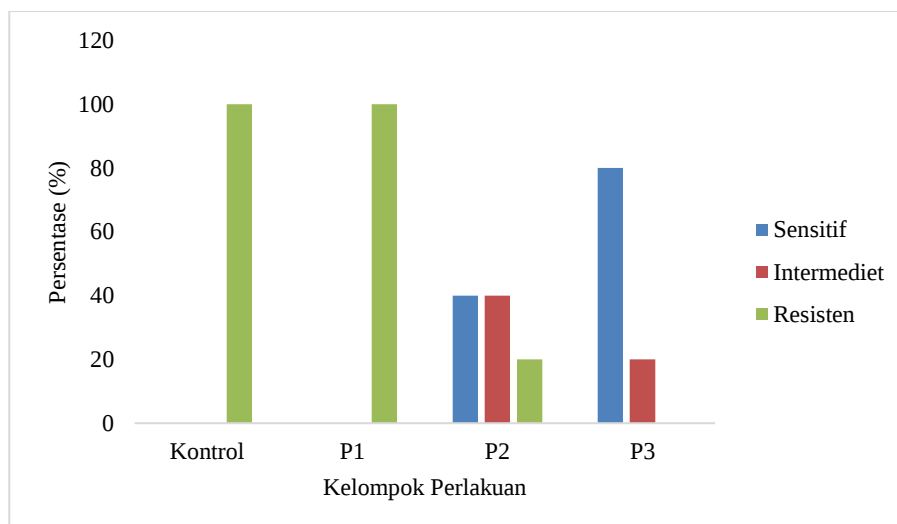
Kombinasi ekstrak kulit nanas dan tetrasiklin mampu memberikan aktivitas penghambatan yang lebih baik terhadap pertumbuhan *S. aureus* dibandingkan perlakuan tunggal ekstrak kulit nanas maupun tetrasiklin. Hasil penelitian serupa dikemukakan oleh Khosropanah et al. (2012) yang mengemukakan bahwa ekstrak nanas tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif seperti *Streptococcus sanguis*, namun setelah dikombinasikan dengan vankomisin mampu mengurangi *minimum inhibitory concentration* (MIC) vankomisin hingga setengah MIC vankomisin dibanding ketika diberikan secara tunggal.

Gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan dengan tetrasiklin tunggal memberikan persentase penghambatan 40% sensitif, 40% intermedit dan 20% resisten terhadap *S. aureus*. Sedangkan kombinasinya dengan ekstrak kulit nanas meningkatkan persentase penghambatan tetrasiklin terhadap *S. aureus* menjadi 80% sensitif dan 20% intermediet. Interaksi antara ekstrak kulit nanas dan tetrasiklin meningkatkan efek antibakteri atau menghasilkan efek yang lebih kuat daripada jika masing-masing bekerja secara terpisah, yang dikenal dengan sinergisme.

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak kulit nanas secara tunggal tidak memberikan pengaruh yang cukup baik terhadap penghambatan *S. aureus*. Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya oleh Loon et al. (2018) yang menunjukkan bahwa ekstrak nanas mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*,



Gambar 1. Histogram rata-rata diameter zona hambat ekstrak nanas dan tetrasiklin



Gambar 2. Persentase penghambatan ekstrak kulit nanas dan tetrasiklin

dengan MIC sebesar 1,56%. Penelitian lain oleh Lawal (2014) mengemukakan bahwa ekstrak metanol kulit nanas tidak menunjukkan efek antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 50 mg/mL, tetapi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 100 mg/mL. Secara umum, produk alami memerlukan dosis yang lebih tinggi dibandingkan antibiotik untuk mencapai aktivitas antimikroba. Namun, keuntungan dari kombinasi ekstrak bahan alam dengan antibiotik adalah keduanya secara sinergis dapat mengurangi tidak hanya konsentrasi antibiotik, namun juga jumlah bahan alam yang dibutuhkan. Bahan alam meningkatkan aktivitas antibiotik dan mampu mengurangi nilai MIC hingga 75 – 93,7% dengan cara memfasilitasi akses antibiotik ke sel target dan mencegah resistensi patogen (Lorca et al., 2024).

Selain bromelain, kulit nanas kaya akan senyawa bioaktif lainnya, seperti flavonoid, kumarin, fenol, saponin, sterol, terpenoid, dan asam sitrat yang telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Sharma et al., 2024). Sementara, tetrasiklin merupakan antibiotik spektrum luas yang telah terbukti efektif dalam mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus*. Tetrasiklin menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat rRNA 16S dari subunit ribosom bakteri 30S, mencegah asosiasi aminoasil-tRNA yang masuk di situs akseptor ribosom bakteri (Markley and Wencewicz, 2018). Ketika digunakan bersama dengan tetrasiklin, senyawa flavonoid dari ekstrak kulit nanas dapat memblokir pompa efluks *NorA* pada *S. aureus*. Akumulasi flavonoid dalam sel bakteri mencegah pompa *NorA* mengeluarkan tetrasiklin, sehingga memperpanjang waktu aksi tetrasiklin dan meningkatkan efektivitasnya dalam membunuh bakteri. Terapi kombinasi juga dapat mengakibatkan sel bakteri kehilangan integritas membran sel, kebocoran isi sitoplasma, hingga penghambatan biosintesis nukleotida dan penurunan aktivitas ATP

(Wojtyczka et al., 2014; Álvarez-Martínez et al., 2020). Senyawa aktif dalam ekstrak nanas memberikan efek sinergis positif terhadap tetrasiklin, sehingga dapat membantu mengatasi resistensi antibiotik.

SIMPULAN

Kombinasi ekstrak kulit nanas dan tetrasiklin terbukti memberikan efek yang lebih baik terhadap penghambatan pertumbuhan *S. aureus* dibandingkan dengan pemberian tetrasiklin dosis tunggal, dengan rata-rata diameter zona hambat 25,4 mm. Persentase kemampuan penghambatan kombinasi ekstrak kulit nanas dan tetrasiklin ada dalam kategori sensitif sebesar 80% dan intermediet sebesar 20%, sedangkan tetrasiklin dalam dosis tunggal hanya memberikan kemampuan penghambatan dalam kategori sensitif sebesar 40%, intermediet sebesar 40%, dan resisten sebesar 20%. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan untuk membandingkan efektivitasnya dengan bakteri patogen lainnya serta dengan konsentrasi yang lebih bervariasi.

DAFTAR REFERENSI

- Álvarez-Martínez, F.J., Barrajón-Catalán, E. and Micol, V., 2020. Tackling antibiotic resistance with compounds of natural origin: A comprehensive review. *Biomedicines*, 8(10), pp.1–30. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8100405>
- An, N. Van, Hai, L.H.L., Luong, V.H., Vinh, N.T.H., Hoa, P.Q., Hung, L. Van, Son, N.T., Hong, L.T., Hung, D.V., Kien, H.T., Le, M.N., Viet, N.H., Nguyen, D.H., Pham, N. Van, Thang, T.B., Tien, T.V. and Hoang, L.H., 2024. Antimicrobial Resistance Patterns of *Staphylococcus Aureus* Isolated at a General Hospital in Vietnam Between 2014 and 2021.

- Infection and Drug Resistance*, 17, pp.259–273. <https://doi.org/10.2147/IDR.S437920>.
- Hatem, Z.A., Al-Dulaimi, A.A.F. and Al-Taai, H.R.R., 2022. Prevalence of tetracycline resistance genes in *Staphylococcus aureus* isolated from different clinical sources in Diyala, Iraq. *International journal of health sciences*, pp.13200–13209. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns2.8514>.
- Khosropanah, H., Bazargani, A., Ebrahimi, H., Eftekhari, K., Emami, Z. and Esmailzadeh, S., 2012. Assessing the Effect of Pineapple Extract Alone and in Combination with Vancomycin on *Streptococcus sanguis*. *Jundishapur Journal of Natural Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 7(4), pp.140–143.
- Lawal, D., 2014. Medicinal, Pharmacological and Phytochemical Potentials of *Annona Comosus* linn. Peel - A Review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 6(1), pp.101–104. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v6i1.21>.
- Loon, Y.K., Satari, M.H. and Dewi, W., 2018. Antibacterial effect of pineapple (*Ananas comosus*) extract towards *Staphylococcus aureus*. *Padjadjaran Journal of Dentistry*, 30(1), pp.1–6. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol30no1.16099>.
- Lorca, G., Ballesteros, D., Langa, E. and Pino-Otín, M.R., 2024. Enhancing Antibiotic Efficacy with Natural Compounds: Synergistic Activity of Tannic Acid and Nerol with Commercial Antibiotics against Pathogenic Bacteria. *Plants*, 13(19), pp.1–22. <https://doi.org/10.3390/plants13192717>.
- Markley, J.L. and Wencewicz, T.A., 2018. Tetracycline-inactivating enzymes. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAY), pp.1–2. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01058>.
- Mohapatra, A., Madhava Rao, V., Ranjan, M. and Author, C., 2013. Comparative study of the increased production & characterization of Bromelain from the peel, pulp & stem pineapple (*Anannus commas*). *International Journal of Advancements in Research & Technology*, 2(8), pp.249–279.
- Sharma, A., Kumar, L., Malhotra, M., Singh, A.P. and Singh, A.P., 2024. *Ananas comosus* (Pineapple): A Comprehensive Review of Its Medicinal Properties, Phytochemical Composition, and Pharmacological Activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 14(5), pp.148–157. <https://doi.org/10.22270/jddt.v14i5.6557>.
- Soulissa, A.G., Lombardo, B. and Sari Widayarnan, A., 2021. Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Pineapple Hump (*Ananas comosus*) on *Porphyromonas gingivalis* in vitro. *Journal of Dentistry Indonesia*, 28(3), pp.153–157. <https://doi.org/10.14693/jdi.v28i3.1267>.
- Weinstein, M.P., 2018. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Wojtyczka, R.D., Dziedzic, A., Kępa, M., Kubina, R., Kabała-Dzik, A., Mularz, T. and Idzik, D., 2014. Berberine enhances the antibacterial activity of selected antibiotics against coagulase-negative staphylococcus strains in vitro. *Molecules*, 19(5), pp.6583–6596. <https://doi.org/10.3390/molecules19056583>.
- Wu, X., Wang, H., Xiong, J., Yang, G.X., Hu, J.F., Zhu, Q. and Chen, Z., 2024. *Staphylococcus aureus* biofilm: Formulation, regulatory, and emerging natural products-derived therapeutics. *Biofilm*, 7(1), pp.1–13. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2023.100175>.
- Yuniati, N.I. and Khasanah, N.A.H., 2024. Perbandingan Koefisien Fenol Desinfektan Berbasis Benzalkonium Klorida, Sodium Hipoklorit, Dan Pine Oil Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Dan Science*, XX(2), pp.858–4616.