

Laporan Penelitian

Profil fitokimia *eco enzyme* berbahan dasar kulit nanas (*Ananas comosus*) dan daya antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356: Studi eksperimental

Morita Sari¹, Cavita Nur Imani^{2*},
Astrid Pramudya Wardani²

*Korespondensi:
j520220007@student.ums.ac.id

¹Program Studi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia

²Departemen Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia

Submisi: 07 Desember 2025

Revisi: 28 Januari 2026

Penerimaan: 27 Februari 2026;

Publikasi Online: 28 Februari 2026

DOI: [10.24198/pjdrs.v10i1.69215](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v10i1.69215)

ABSTRAK

Pendahuluan: Karies gigi merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang memiliki angka kejadian tinggi di Indonesia. Penyakit ini terjadi akibat kerusakan jaringan keras gigi yang dipicu oleh aktivitas mikroorganisme dalam rongga mulut, salah satunya *Lactobacillus acidophilus*. Berbagai upaya pencegahan karies telah dikembangkan, namun sebagian besar masih bergantung pada agen kimia yang berpotensi menimbulkan efek samping apabila digunakan dalam jangka panjang. *Eco enzyme* berbahan dasar kulit nanas (*Ananas comosus*) memiliki potensi sebagai agen antibakteri alami karena mengandung berbagai senyawa bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan *eco enzyme* kulit nanas (EE-KN) dalam menghambat dan membunuh *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. **Metode:** Penelitian ini merupakan eksperimen *laboratorium in vitro*. Kelompok kontrol positif meliputi klorheksidin, sedangkan kelompok kontrol negatif berisi air suling; kelompok perlakuan meliputi *eco enzyme* kulit nanas pada dosis 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, dan 0,78%. Uji yang akan dilakukan meliputi uji fitokimia serta uji antibakteri untuk menentukan Zone of Inhibition (ZOI), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Analisis data menggunakan *Kruskal-Wallis*. **Hasil:** *Eco enzyme* kulit nanas terbukti mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid, steroid, antrakuinon, glukosa, dan terpenoid yang berperan sebagai antibakteri. Uji ZOI menunjukkan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 100% sebesar 15,51 mm dengan kategori kuat. Nilai MIC diperoleh pada konsentrasi 3,12%, sedangkan MBC ditemukan pada konsentrasi 6,25%. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* didapatkan Sig 0,437 ($p > 0,05$). **Simpulan:** *Eco enzyme* kulit nanas (EE-KN) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat dan membunuh *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri alami untuk pencegahan karies.

KATA KUNCI: *Eco_enzyme*, Kulit_nanas, Antibakteri, *Lactobacillus_acidophilus*, Fitokimia

Phytochemical profile of pineapple peel (*Ananas comosus*) based *eco enzyme* and antibacterial activity against *Lactobacillus Acidophilus* ATCC 4356: Study experimental

ABSTRACT

Introduction: Dental caries is one of the dental and oral diseases with a high incidence in Indonesia. This disease occurs due to damage to hard tooth tissue triggered by the activity of microorganisms in the oral cavity, one of which is *Lactobacillus acidophilus*. Various caries prevention efforts have been developed, but most still rely on chemical agents that have the potential to cause side effects if used in the long term. *Eco enzyme* made from pineapple peel (*Ananas comosus*) has the potential as a natural antibacterial agent because it contains various bioactive compounds. This study aims to evaluate the ability of pineapple peel *eco enzyme* to inhibit and kill *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. **Methods:** This study is an *in vitro* laboratory experiment. The positive control group includes chlorhexidine, while the negative control group contains distilled water; the treatment group includes pineapple peel *eco enzyme* at doses of 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.12%, and 0.78%. The tests to be carried out include phytochemical tests and antibacterial tests to determine the Zone of Inhibition (ZOI), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Data analysis used *Kruskal-Wallis*. **Results:** Pineapple peel *eco enzyme* is proven to contain flavonoids, saponins, tannins, phenolics, alkaloids, steroids, anthraquinones, glucose, and terpenoids which act as antibacterials. The ZOI test showed the largest inhibition zone diameter at a concentration of 100% of 15.51 mm with a strong category. The MIC value was obtained at a concentration of 3.12%, while the MBC was found at a concentration of 6.25%. The results of the *Kruskal-Wallis* statistical test obtained that Sig 0.437 ($p > 0.05$). **Conclusions:** Pineapple peel *eco enzyme* (*Ananas comosus*) has antibacterial activity in inhibiting and killing *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, so it has the potential to be developed as a natural antibacterial agent for caries prevention.

KEY WORDS: *Eco_enzyme*, *Pineapple_peel*, Antibacterial, *Lactobacillus_acidophilus*, Phytochemical

Sitasi: Morita, Cavita NI, Astrid PW. Profil fitokimia *eco enzyme* berbahan dasar kulit nanas (*Ananas comosus*) dan daya antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356: Studi eksperimental. Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students. 2026; 10(1): (halaman) DOI: [10.24198/pjdrs.v10i1.69215](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v10i1.69215). Copyright: ©2026 by Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students. Submitted to Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students All publications by the Universitas Padjadjaran [e-ISSN: 2656-985X], are licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). This license requires that reusers give credit to the creator. It allows reusers to distribute, remix, adapt, and build upon the material in any medium or format, for noncommercial purposes only.

PENDAHULUAN

Kesejahteraan umum seseorang sangat dipengaruhi oleh kesehatan gigi dan mulutnya. Masalah kesehatan gigi dan mulut dapat memengaruhi kesejahteraan umum seseorang karena adanya saling ketergantungan antara kedua bidang ini.¹ Upaya pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut tidak dapat dipisahkan dari strategi menjaga kesehatan tubuh secara menyeluruh.² Masalah kesehatan mulut dan gigi terus menjadi perhatian kesehatan masyarakat yang signifikan di Indonesia. Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2024 menemukan bahwa 56,9% penduduk memiliki beberapa jenis masalah kesehatan gigi mulut, dengan karies menyumbang sekitar 43,6% dari kasus tersebut. Berdasarkan data ini, karies merupakan penyakit gigi mulut yang banyak dialami oleh masyarakat.³

Kondisi patologis yang ditandai oleh adanya kerusakan pada jaringan keras gigi yang disebabkan oleh demineralisasi akibat aktivitas bakteri dalam plak, didefinisikan sebagai karies.⁴ Salah satu bakteri yang berperan penting dalam perkembangan karies adalah *Lactobacillus acidophilus*.⁵ Bakteri ini mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat, sehingga menurunkan pH rongga mulut dan mempercepat terjadinya demineralisasi enamel maupun dentin.⁶ Penatalaksanaan karies umumnya dilakukan melalui tindakan restoratif serta penggunaan agen kimia antimikroba, seperti pasta gigi berfluoride dan obat kumur. *Chlorhexidine* merupakan salah satu agen yang efektif dalam menghambat bakteri rongga mulut tetapi di sisi lain, efek samping penggunaan jangka panjangnya dapat menyebabkan iritasi mukosa, gangguan keseimbangan flora normal, serta potensi resistensi mikroorganisme.^{7,8} Kondisi ini mendorong perlunya pengembangan agen antibakteri alternatif yang lebih aman dan berbasis bahan alami.

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil nanas terbesar, yang menghasilkan limbah kulit nanas dalam jumlah besar setiap tahunnya. Data Badan Pusat Statistik tahun 2023 mencatat produksi nanas nasional mencapai 3.156.576 ton, dengan perkiraan limbah kulit nanas mencapai ratusan ribu ton per tahun. Limbah kulit nanas yang terbuang setiap tahunnya mencapai 4.024.800 kg.⁹ Limbah kulit nanas yang tidak dimanfaatkan ini umumnya dibuang, padahal memiliki potensi sebagai sumber bahan aktif alami. Zat bioaktif yang ditemukan dalam kulit nanas meliputi vitamin C, fenol, steroid, tanin, saponin, flavonoid, dan bromelain, yang semuanya dikenal karena sifat antioksidan dan antibakterinya.¹⁰

Limbah kulit nanas dapat diubah menjadi *eco enzyme*, yaitu cairan hasil fermentasi bahan organik dengan gula dan air dalam rasio 3:1:10.¹¹ Fermentasi *eco enzyme* dilakukan selama minimal 90 hari.¹² Proses fermentasi akan menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba.¹³ Kandungan bioaktif tersebut, menjadikan EE-KN berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri alami terhadap *Lactobacillus acidophilus* bakteri penyebab karies, sekaligus mendukung prinsip keberlanjutan yang ramah lingkungan.¹⁴

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri *eco enzyme* dari limbah kulit buah telah dilaporkan sebelumnya, namun masih sangat terbatas. Penelitian yang dilakukan oleh Mavani *et al.*,¹³ menunjukkan bahwa *eco enzyme* campuran kulit nanas dan pepaya memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro* yang ditunjukkan dengan adanya MIC pada konsentrasi 50% dan MBC pada konsentrasi 100%.¹³ Penelitian lain yang dilakukan oleh Mubarakah and Halimatussa'diah (2023) melaporkan bahwa *eco enzyme* campuran dari limbah kulit nanas dan jeruk berastagi mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat.¹⁵

Hasil ini menunjukkan bahwa *eco enzyme* memiliki potensi sebagai agen antibakteri alami. Keterbaruan penelitian terletak pada pengkajian komprehensif aktivitas antibakteri EE-KN terhadap *Lactobacillus acidophilus* sebagai bakteri penyebab karies, melalui analisis kandungan senyawa bioaktif serta penentuan nilai dari ZOI, MIC, dan MBC. Temuan ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah mengenai potensi EE-KN sebagai alternatif agen antibakteri alami yang ramah lingkungan dalam upaya pencegahan karies.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan *eksperimental laboratories* secara *in vitro* dengan kelompok kontrol pasca-uji saja. Tahapan penelitian dimulai dengan pembuatan *eco enzyme* dengan menggunakan rasio perbandingan antara limbah kulit nanas yang masih segar, gula jawa, dan air sebanyak 3:1:10. Bahan tersebut dicampurkan ke dalam wadah toples kemudian tutup dengan rapat. Simpan toples wadah *eco enzyme* di suhu ruang dan terhindar dari paparan sinar matahari secara langsung.¹⁶ Pemanenan EE-KN dilakukan saat 90 hari fermentasi, dengan cara menyaring EE-KN menggunakan saringan plastik, kemudian pindahkan ke botol plastik, dan beri tanda pada wadah dengan tanggal penyaringan.

Laboratorium Fitokimia di Universitas Setia Budi Surakarta adalah lokasi analisis fitokimia. Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif dalam *eco enzyme* kulit nanas melalui pengamatan perubahan warna setelah penambahan pereaksi tertentu. Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan menambahkan larutan besi(III) klorida (FeCl_3) 0,1% ke dalam 1 mL sampel, perubahan warna menjadi hijau kecokelatan atau biru kehitaman menunjukkan hasil positif.

Uji saponin dilakukan dengan menambahkan 2 mL sampel, kocok selama 10 detik, terbentuknya busa setinggi 1–10 cm menunjukkan adanya saponin.¹⁷ Deteksi flavonoid dilakukan dengan menambahkan 2 mg serbuk MgCl dan 3 tetes HCl 37% ke dalam 1 mL sampel, perubahan warna menjadi merah, jingga, atau kuning menunjukkan hasil positif.¹⁸ Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan 5 tetes reagen Dragendorff ke dalam 1 mL sampel, terbentuknya endapan kuning sebagai indikator positif.¹⁸

Protein ditentukan dengan reagen Bradford perubahan warna menjadi biru menunjukkan hasil positif. Uji steroid dengan 2 tetes asam sulfat pekat 10% ke 1 mL sampel. Identifikasi antrakuinon dilakukan dengan penambahan 1 mL amonia cair ke dalam 1 mL sampel, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda, merah, atau ungu. Senyawa fenolik dianalisis dengan mencampurkan 3 mL larutan timbal asetat 10% ke dalam 1 mL sampel, terbentuknya endapan putih menunjukkan hasil positif.

Uji terpenoid dilakukan dengan mencampurkan 2 mL kloroform dan 3 mL asam sulfat pekat 10% ke dalam 0,5 mL sampel, dengan perubahan warna menjadi merah kecokelatan sebagai indikator positif. Kandungan gula dianalisis menggunakan reagen Benedict dengan perbandingan 1:1, diikuti pemanasan selama 2 menit, terbentuknya endapan merah menunjukkan adanya gula.

Uji *Zone Of Inhibition (ZOI)* dilakukan menggunakan metode difusi cakram untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri EE-KN terhadap *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Uji ini dilakukan di Laboratorium *Dental Research* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. *Media BHI Agar* dibuat dengan melarutkan 37 g bubuk *BHI Agar* dalam 1000 mL akuades, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Media didinginkan hingga suhu 45–50°C, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Suspensi bakteri dibuat dengan mengambil koloni *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 dan mensuspensikannya dalam 5 mL larutan NaCl 10%, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex hingga kekeruhan setara dengan standar McFarland 0,5. Suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media *BHI Agar* menggunakan kapas steril.¹⁷

Sampel uji terdiri atas EE-KN dengan dosis 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, dan 0,78%, dengan *chlorhexidine* sebagai kontrol positif dan *aquades* sebagai kontrol negatif. Kertas cakram steril direndam dalam masing-masing larutan perlakuan selama 5 menit, kemudian diletakkan pada permukaan media sesuai dengan label konsentrasi. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat pertumbuhan bakteri diamati sebagai area bening di sekitar cakram setelah masa inkubasi selesai.¹⁶ Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter, dan pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan.

Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dilakukan menggunakan metode dilusi cair. Suspensi *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 disiapkan dalam media *BHI Broth*

dan disesuaikan dengan standar *McFarland 0,5*. Media *BHI Broth* dimasukkan ke dalam tabung eppendorf steril, kemudian ditambahkan EE-KN sesuai dengan variasi konsentrasi yang telah ditentukan. Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam setiap tabung, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati berdasarkan kejernihan media. Nilai MIC ditetapkan sebagai konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, ditandai dengan media yang mulai tampak jernih.¹⁹

Penentuan *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)* dilakukan menggunakan metode dilusi padat dengan memanfaatkan larutan hasil uji MIC. Sebanyak 1 mL larutan dari masing-masing tabung eppendorf diteteskan pada permukaan media *BHI Agar* yang telah memadat, kemudian diratakan menggunakan kapas steril secara *zigzag* sesuai dengan label konsentrasi. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, jumlah koloni bakteri diamati dan dihitung menggunakan digital colony counter. Nilai MBC ditentukan sebagai konsentrasi terendah yang mampu membunuh 99,9% bakteri, yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media.²⁰ Analisis data menggunakan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*. Uji ini dilakukan terhadap hasil *ZOI* dan *MBC*.

HASIL

Hasil fermentasi menghasilkan cairan *eco enzyme* berwarna coklat dengan aroma khas asam segar, serta tanpa adanya pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*. Ciri-ciri tersebut menunjukkan bahwa proses fermentasi EE-KN berhasil.¹¹

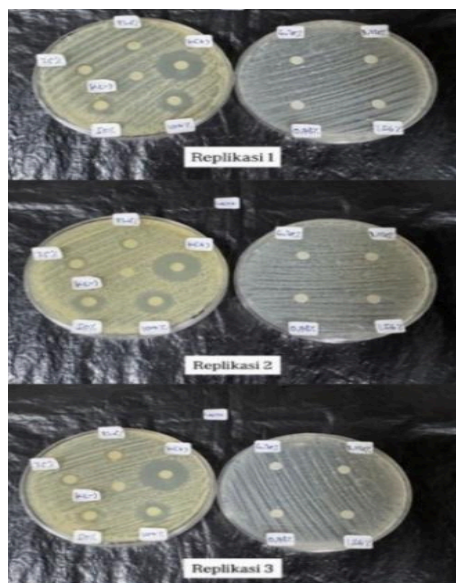


Gambar 1. Hasil fermentasi *eco enzyme*

Hasil uji fitokimia didapatkan bahwa EE-KN memiliki hasil positif pada senyawa bioaktif flavonoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid, steroid, antrakuinon, glukosa, dan terpenoid. Kandungan protein menunjukkan hasil negatif. Diameter zona hambat diukur secara langsung menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Interpretasi diameter zona hambat mengacu pada Davis dan Stout (1971), dimana diameter ≤ 5 mm dikategorikan lemah, 5–10 mm sedang, 10–20 mm kuat, dan ≥ 20 mm sangat kuat. Hasil pengukuran *ZOI* EE-KN terhadap *Lactobacillus acidophilus* disajikan sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil *Zone Of Inhibition (ZOI)*

Kelompok Perlakuan	Replikasi			Rerata	Keterangan
	1	2	3		
100%	15.6	15.4	15.55	15.51	Kuat
50%	12.95	12.8	12.75	12.83	Kuat
25%	10.2	10.05	10.2	10.15	Kuat
12,5%	8.4	8.2	8.35	8.31	Sedang
6,25%	0	0	0	0	Lemah
3,12%	0	0	0	0	Lemah
1,56%	0	0	0	0	Lemah
0,78%	0	0	0	0	Lemah
Kontrol (+)	21.05	21	21.75	21.26	Sangat Kuat
Kontrol (-)	0	0	0	0	Lemah



Gambar 2. Zone of inhibition (ZOI) yang terbentuk

Hasil pengukuran ZOI EE-KN menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 12,50% dengan diameter rata-rata sebesar 8,31 mm yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Aktivitas antibakteri tertinggi ditemukan pada konsentrasi 100%, dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 15,51 mm dan dikategorikan sebagai daya hambat kuat.

Sebaliknya, pada konsentrasi terendah 0,78% tidak terbentuk zona hambat. Kontrol positif berupa *chlorhexidine* menghasilkan diameter zona hambat rata-rata sebesar 21,26 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat, sedangkan kontrol negatif berupa aquades tidak menunjukkan adanya zona hambat. Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi *eco enzyme* kulit nanas berbanding lurus dengan peningkatan efektivitas antibakterinya.

Hasil pengujian MIC menunjukkan bahwa EE-KN mampu menghambat pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 3,12% hingga 100%, yang ditandai dengan media kultur yang tampak jernih. Konsentrasi 1,56% dan 0,78% media terlihat keruh, menunjukkan masih adanya pertumbuhan bakteri. Media pada kontrol positif tampak jernih, sedangkan kontrol negatif menunjukkan kekeruhan. Berdasarkan hasil tersebut, nilai MIC EE-KN terhadap *Lactobacillus acidophilus* ditetapkan pada konsentrasi 3,12%.

Hasil pengujian MBC pertumbuhan koloni bakteri pada setiap cawan petri dilakukan penghitungan dengan menggunakan *digital colony counter*. Hasil pengujian didapatkan sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil *minimum bactericidal concentration (MBC)*

Kelompok Perlakuan	Replikasi			Rerata Jumlah Koloni
	1	2	3	
100%	0	0	0	0
50%	0	0	0	0
25%	0	0	0	0
12,5%	0	0	0	0
6,25%	0	0	0	0
3,12%	16	9	8	11
1,56%	39	34	33	35,33
0,78%	53	56	63	57,33
Kontrol (+)	0	0	0	0
Kontrol (-)	182	172	153	169

Nilai MBC ditentukan dari konsentrasi terendah suatu agen yang mampu membunuh 99,9% populasi bakteri.⁵ Konsentrasi 6,25% ditetapkan sebagai nilai MBC EE-KN, yaitu konsentrasi terendah yang mampu membunuh *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Kelompok kontrol positif yang menggunakan *chlorhexidine* tidak ditemukan pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol negatif berupa *aquadest* masih dijumpai pertumbuhan bakteri. Hasil tersebut menunjukkan kecenderungan bahwa peningkatan konsentrasi *eco enzyme* berhubungan dengan penurunan jumlah koloni bakteri yang hidup.

Hasil analisis statistik menggunakan uji *Independent-Sample Kruskal-Wallis* terhadap nilai rata-rata *ZOI* dan *MBC* pada EE-KN dengan berbagai konsentrasi terhadap *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan hasil berikut:

Tabel 3. Hasil analisis statistik *Independent-Sample Kruskal-Wallis*

Tes statistik <i>Independent-Sample Kruskal-Wallis</i>	Nilai
Test statistik	9,000
df	9
Asymp. sig	0,437

Hasil tersebut mengindikasikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan. Meskipun demikian, secara deskriptif terlihat adanya kecenderungan peningkatan aktivitas antibakteri seiring dengan meningkatnya konsentrasi *eco enzyme*. Temuan ini menunjukkan bahwa secara biologis konsentrasi yang lebih tinggi cenderung menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih besar, meskipun perbedaan tersebut tidak mencapai signifikansi statistik.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa EE-KN dapat menghambat bakteri yang ditunjukkan pada *ZOI* tertinggi pada konsentrasi 100% dan pada nilai *MIC* diperoleh pada konsentrasi 3,12%. Penelitian terdahulu disebutkan bahwa *eco enzyme* campuran kulit jeruk dan kulit nanas memiliki nilai *MIC* pada konsentrasi 50%.¹³ Perbedaan hasil penelitian tersebut dikarenakan adanya variasi jenis bahan baku organik yang digunakan sehingga memiliki kandungan metabolit yang berbeda yang akan mempengaruhi tingkat aktivitas antibakteri yang dimiliki. Kemampuan membunuh bakteri juga ditunjukkan pada nilai *MBC* pada konsentrasi 6,25%. Perbedaan nilai antar uji tersebut disebabkan oleh perbedaan metode dan mekanisme kerja masing-masing uji.

Perbedaan nilai uji antibakteri *ZOI*, *MIC*, dan *MBC* dalam penelitian ini terjadi karena penggunaan metode yang berbeda. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, dimana perbedaan metode, ketebalan media agar, dan ukuran molekul memengaruhi hasil uji antibakteri *ZOI*, *MIC*, dan *MBC*.²² Metode dilusi pada uji *MIC* dan *MBC* dilakukan dengan mencampurkan senyawa antibakteri langsung dengan bakteri sehingga memiliki tingkat sensitivitas dan homogenitas yang lebih tinggi.²¹ Uji ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil suatu bahan yang mampu menghambat maupun membunuh bakteri. Uji *ZOI* mengandalkan kemampuan senyawa aktif untuk berdifusi melalui media agar dan menghambat pertumbuhan bakteri di sekitar area perlakuan. Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah suatu bahan tersebut memiliki daya antibakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus*, bakteri yang tahan terhadap lingkungan asam dapat terhambat dan bahkan terbunuh oleh konsentrasi tertentu dari EE-KN. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri gram positif maupun negatif, meskipun tingkat efektivitasnya dapat bervariasi tergantung pada konsentrasi dan jenis bahan yang digunakan.³¹ Aktivitas antibakteri *eco enzyme* berasal dari kombinasi metabolit hasil fermentasi serta berbagai senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya.^{11,13} Kombinasi ini memberikan efek sinergis dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri tersebut.

Analisis fitokimia menunjukkan bahwa EE-KN mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid, steroid, antrakuinon, glukosa, dan terpenoid. Masing-masing senyawa memiliki mekanisme kerja berbeda dalam menghambat pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*. Flavonoid dapat mengganggu proses metabolisme bakteri.²³ Saponin, fenolik, dan terpenoid merusak permeabilitas membran sel. Tanin dapat berinteraksi dengan protein dan enzim dalam sel bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Alkaloid dapat mengganggu keseimbangan ion bakteri sehingga

mampu menghambat pertumbuhan bakteri.²⁴ Senyawa steroid dapat mengganggu struktur dan stabilitas membran sel bakteri. Senyawa antrakuinon dapat mengganggu sintesis protein bakteri.²⁵ Kombinasi berbagai senyawa ini menunjukkan potensi kuat EE-KN sebagai agen antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Analisis statistik menunjukkan bahwa uji normalitas pada data rata-rata hasil *ZOI* dan *MBC* tidak terpenuhi sehingga uji parametrik *ANOVA One Way* tidak dapat digunakan. Pengujian dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara konsentrasi dengan nilai signifikansi 0,437 ($p > 0,05$). Secara deskriptif, pola data memperlihatkan kecenderungan konsisten bahwa peningkatan konsentrasi *eco enzyme* meningkatkan aktivitas antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus*. Temuan ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri *eco enzyme* lebih dipengaruhi oleh kadar senyawa aktif pada konsentrasi tinggi daripada oleh faktor statistik.

Pengembangan produk lanjutan dari EE-KN dapat menggunakan konsentrasi diatas nilai *MIC* yaitu konsentrasi 3,12% yang mulai dapat menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi dibawah konsentrasi *MBC* yaitu 6,25% yang mulai dapat membunuh total seluruh bakteri. Pertimbangan tersebut didasari dari pemilihan konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara efektif tetapi tidak membunuh bakteri secara total, mengingat bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan flora normal di rongga mulut jika jumlahnya seimbang.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa EE-KN memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro*, meskipun efektivitasnya masih lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif *chlorhexidine* yang telah terbukti efektif pada konsentrasi yang lebih rendah. *Chlorhexidine* dikenal luas sebagai standar antiseptik karena memiliki daya hambat dan daya bunuh yang kuat terhadap berbagai mikroorganisme. Penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka panjang dilaporkan dapat menimbulkan efek samping, baik terhadap individu maupun lingkungan, sehingga mendorong pencarian alternatif antibakteri yang lebih aman dan berkelanjutan.⁸

Eco enzyme menawarkan alternatif berbasis bahan alami dan hasil fermentasi sehingga berpeluang memberikan profil keamanan dan keberlanjutan yang lebih baik. Komposisi bioaktif yang terkandung di dalam *eco enzyme* kulit nanas seperti flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon, alkaloid, terpenoid, tanin, fenolik, dan steroid berkontribusi aktivitas antibakteri *eco enzyme*. Selama proses fermentasi *eco enzyme* juga memungkinkan mengandung mikroorganisme probiotik terhadap patogen, dimana hal ini merupakan keunggulan *eco enzyme* yang tidak dimiliki antiseptik sintetik.^{26,27}

Temuan dalam penelitian ini menegaskan bahwa EE-KN berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri alami yang ramah lingkungan.²⁸ Peningkatan aktivitas antibakteri yang diamati pada konsentrasi yang lebih tinggi mengindikasikan bahwa efektivitas *eco enzyme* dipengaruhi oleh kadar senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.^{29,30} Hal ini menunjukkan bahwa optimasi konsentrasi dan formulasi *eco enzyme* perlu dipertimbangkan dalam pengembangan lebih lanjut sebagai alternatif pencegahan pertumbuhan bakteri penyebab karies. Keterbatasan pada penelitian ini adalah tidak dilakukannya uji kuantitatif analisis fitokimia yang lebih mendalam untuk mengidentifikasi senyawa aktif utama yang berperan dominan dalam aktivitas antibakteri.

SIMPULAN

Eco enzyme berbahan dasar kulit nanas (*Ananas comosus*) pada penelitian ini tidak menunjukan perbedaan yang signifikan secara statistik, namun memperlihatkan kecenderungan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro*. Aktivitas antibakteri tersebut ditunjukkan melalui pembentukan *ZOI*, *MIC*, dan *MBC* dengan kecenderungan peningkatan efektivitas seiring bertambahnya konsentrasi *eco enzyme*. *Eco enzyme* berpotensi dikembangkan sebagai alternatif antibakteri berbahan alami yang ramah lingkungan. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif hasil fermentasi, seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, fenolik, dan terpenoid.

Implikasi dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemanfaatan limbah kulit nanas sebagai *eco enzyme* tidak hanya berkontribusi pada pengelolaan limbah organik, tetapi

juga membuka peluang pengembangan bahan aktif antibakteri alami untuk aplikasi kesehatan, khususnya dalam bidang perawatan rongga mulut. Dengan demikian, *eco enzyme* kulit nanas memiliki prospek sebagai agen antibakteri alami, namun diperlukan penelitian lanjutan untuk mengoptimalkan konsentrasi, formulasi, serta evaluasi efektivitas dan keamanannya.

Kontribusi Penulis: Kontribusi peneliti "Konseptualisasi, M.S., C.N.I., and A.P.W.; metodologi, M.S.; perangkat lunak, M.S., C.N.I., and A.P.W.; validasi, M.S., C.N.I., and A.P.W.; analisis formal, M.S.; investigasi, C.N.I. and A.P.W.; sumber daya, C.N.I. and A.P.W.; kurasi data, M.S.; penulisan—penyusunan draft awal, C.N.I.; penulisan-tinjauan dan penyuntingan, C.N.I.; visualisasi, A.P.W.; supervisi, M.S.; administrasi proyek, C.N.I.; perolehan pendanaan, M.S. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

Pendanaan: Pendanaan pada penelitian ini diperoleh dari Pendanaan Internal Pengembangan Individu Dosen (PID) Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Persetujuan Etik: Penelitian ini telah dinyatakan telah layak etik dengan nomor *Ethical Clearance*: 1.545/VII/HREC/2025 oleh Komisi Etik Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta

Pernyataan Persetujuan Data: Peneliti setuju untuk memberikan rincian data selama penelitian berlangsung.

Pernyataan Ketersediaan Data: Peneliti bersedia dalam memberikan persediaan data yang ada.

Konflik Kepentingan: Penelitian ini dilaksanakan tanpa ada konflik kepentingan.

DAFTAR PUSTAKA

1. D'Aiuto F, Suvan J, Siripaiboonpong N, Gatzoulis MA, D'Aiuto F. The root of the matter: Linking oral health to chronic diseases prevention. *Int J Cardiology Congenital Heart Disease*. Elsevier B.V.; 2025, 19. <https://doi.org/10.1016/j.ijcchd.2025.100574>
2. Barranca-Enríquez A, Romo-González T. Your health is in your mouth: A comprehensive view to promote general wellness. *Front Oral Health*. 2022;3:971223. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.971223>
3. Kemenkes. Survei kesehatan Indonesia tahun 2023 dalam angka .Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan: Jakarta. 2024. <https://www.badankebijakan.kemkes.go.id/hasil-ski-2023/>
4. Meyer F, Schulze Zur Wiesche E, Amaechi BT, Limeback H, Enax J. Caries etiology and preventive measures. *European J Dentistry*. Georg Thieme Verlag; 2024. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1777051>
5. Juniarti DE, Kusumaningsih T, Soetojo A, Prasetyo EP, Sunur YK. Antibacterial activity and phytochemical analysis of ethanolic purple leaf extract (*graptophyllum pictum* L.griff) on *Lactobacillus Acidophilus*. *Malay J Med Health Sci*. 2021;17(3):71-73.
6. Satrio R, Supriyati S, Ashar F, Az-Zahra S, Sari DNI, Ichsyani M. Isolasi dan karakterisasi bakteri kariogenik pada pasien di Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jenderal Soedirman. *J Ked Gigi Univ Padj*. 2023;35(1):62. <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.41439>
7. Swathy Anand PJ, Athira S, Chandramohan S, Ranjith K, Raj VV, Manjula VD. Comparison of efficacy of herbal disinfectants with chlorhexidine mouthwash on decontamination of toothbrushes: An experimental trial. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016 Jan 1;6(1):22–7. DOI: <https://doi.org/10.4103/2231-0762.175406>
8. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *Int Dent J*. 2022;72(3):269-277. <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.01.005>
9. Welly IS, Fitriya N, Wirman SP, Dalimunthe LH. Elektrolit Padat biobaterai limbah kulit nanas dengan penambahan naoh dan aki bekas untuk meningkatkan tegangan dan nilai arus. *JIPFRI (J Inovasi Pend Fisika Riset Ilmiah)*. 2024;8(1):1–8. DOI: <https://doi.org/10.30599/jipfri.v8i1.2769>
10. Rusdianasari R, Syakdani A, Zaman M, Sari FF, Nasyta NP, Amalia R. Utilization of Eco-Enzymes from Fruit Skin Waste as Hand Sanitizer. adjacent [Internet]. 2021; 5(3): 23-7. <https://ajarcde-safe-network.org/index.php/index.php/ajarcde/article/view/72>
11. Ningrum RS, Karima R, Renjana E, Ramadani AH, Umarudin U, Istiqomah N, et al. Investigation of Eco-enzyme from Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Waste: Chemical Composition, Antibacterial Activity, and Molecular Docking Approach. *Waste Biomass Valorization*. 2024;15(8):4793–805. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02492-6>
12. Low CV, Ling RLZL, Teo S sen. Effective Microorganisms in Producing Eco-Enzyme from Food Waste for Wastewater Treatment. *Applied Microbiology: Theory & Technology*. 2021 May 17;28–36. <https://doi.org/10.37256/aie.212021726>
13. Mavani HAK, Tew IM, Wong L, Yew HZ, Mahyuddin A, Ghazali RA, et al. Antimicrobial efficacy of fruit peels eco-enzyme against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(14):1–12. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17145107>
14. Ismail AY, Nainggolan MF, Aminudin S, Siahaan RY, Dzulfannazhir F, Sofyan HN. Characterization of chemical composition of eco-enzyme derived from banana, orange, and pineapple pineapple peels. *Braz J Biol*. 2024;84:e286961. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.286961>
15. Mubarakah R El, Halimatussadiah H. Uji aktivitas antibakteri ekoenzim limbah kulit nanas (*Ananas comosus* L) dan jeruk berastagi (*Citrus X sinensis* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Fatmawati Laboratory & Medical Science*. 2023;3(2):95–6. DOI: <https://doi.org/10.33088/flms.v3i2.561>
16. Neupane K, Khadka R. Production of Garbage Enzyme from Different Fruit and Vegetable Wastes and Evaluation of its Enzymatic and Antimicrobial Efficacy. *Tribhuvan University J Microbiology*. 2019;6:113–8. <https://doi.org/10.3126/tujm.v6i0.26594>
17. Sari M, Indrayudha P, Ariska Nugrahani N, Citra Putri Wibowo B, Gusti Anta Putra A. P a g e | 598 Phytochemical profile and anti-cariogenic bacteria streptococcus mutans and lactobacillus acidophilus exploration from nuts-seeds. *J Med Pharm Chem Res*. 2025;7:598–607. <https://doi.org/10.48309/JMPCR.2025.466081.1315>
18. Ramadani AH, Karima R, Ningrum RS. Antibacterial Activity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Eco-enzyme Against acne bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Prapionibacterium acnes*). *Indo J Chem Res*. 2022 Jan 31;9(3):201–7. <https://doi.org/10.30598/ijcr>
19. Lu Y, Long X, Mao Y, Wang L, Liao X, Zhao L. Bacteriostatic activity and mechanism of minerals containing rubidium. *Science of Traditional Chinese Medicine*. 2025 Jun 1;3(2):137–44. <https://doi.org/10.1097/st9.000000000000064>
20. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 12th ed. 2024
21. Munira M, Nasir M. Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dari geothermal Ie Seum aceh besar terhadap *staphylococcus aureus*. *J SAGO Gizi Kes*. 2023;4(2):179. <https://doi.org/10.30867/qikes.v4i2.1107>
22. Hulankova R. Methods for determination of antimicrobial activity of essential oils in vitro—a review. *Plants. Multidisciplinary Digital*

-
- Publishing Institute (MDPI); 2024; 13(19): 2784. <https://doi.org/10.3390/plants13192784>
23. Luo J, Luo J, Sheng Z, Fang Z. Latest research progress on antimicrobial effects, mechanisms of action, and product developments of dietary flavonoid: A systematic literature review. *Trends in Food Science & Technology* . 2024; 156. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104839>
 24. Budikania TS, Afriani K, Roziyanto AN, Maulia G, Mualim AD, Kholidanata F, et al. Pemanfaatan ekstrak etanol kulit buah nenas dalam pembuatan bio edible coating. 2023; 47(2):41-49. <https://doi.org/10.55075/wa.v47i2.204>
 25. Qun T, Zhou T, Hao J, Wang C, Zhang K, Xu J, Wang X, Zhou W. Antibacterial activities of anthraquinones: structure-activity relationships and action mechanisms. *RSC Med Chem*. 2023 J;14(8):1446-1471. <https://doi.org/10.1039/d3md00016d>
 26. Atanasov N, Evstatieva Y, Nikolova D. Antagonistic Interactions of Lactic Acid Bacteria from Human Oral Microbiome against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Microorganisms*. 2023;11(6):1604. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061604>
 27. Siagian LS, Manalu K, Nasution RA. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari hasil fermentasi limbah organik kulit buah (Eco-Enzyme). *BIOEDUSAINS: J Pendidikan Biologi Sains*. 2024; 7(1): 322–34. <https://doi.org/10.31539/bioedusains.v7i1.9967>
 28. Gumilar GG, Kadarohman A, Nahadi N. Ecoenzyme production, characteristics and applications: A review. *J Kartika Kimia*. 2023;6(1):45-59. DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v6i1.186>
 29. Irianto IDK, Purnomo K, Amanati A, Savila D, Mardiyarningsih A. Aktivitas antibakteri eco-enzyme limbah Citrus sinensis, *Musa paradisiaca* L. var bluggoe, dan kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Maj Farm*. 2023;19:504-13.
 30. Tallei TE, Fatimawali Niode NJ, Alsaihati WM, Salaki CL, Alissa M., et al. Antibacterial and antioxidant activity of ecoenzyme solution prepared from papaya, pineapple, and kasturi orange fruits: experimental and molecular docking studies. *J Food Processing Preservation*, 2023;(1):5826420. <https://doi.org/10.1155/2023/5826420>
 31. Suliestyah S, Aryanto R, Palit C, Yulianti R, Suudi, BC, Meitdwitri A. Eco enzyme production from fruit peel waste and its application as an anti-bacterial and TSS reducing agent. *International Research J Engineering, IT Sci Res*, 2022;8(6):270-75. <https://doi.org/10.21744/irjeis.v8n6.2199>