

Efek Pemaparan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Hidrofobisitas Permukaan Sel *Staphylococcus aureus*

Farida Juliantina Rachmawaty¹

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

Departemen Mikrobiologi, Fakultas kedokteran Universitas Islam Indonesia

faridajuli@gmail.com

Abstract

Red betel vine has been proved having the benefit as antibacterial toward *Staphylococcus aureus*¹. While bacteria infected usually hydrophobic interaction before. The purpose of the research is to know the ethanol extract and water extract effect toward *Staphylococcus aureus* surface hydrophobicity and to know the different effect between ethanol extract and water extract. The research is laboratory experimental. Ethanol extract and water extract concentration was made with dilution method so the concentration extracts were 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.57%, 0.84% and 0.42%. The method was used for determine cell surface hydrophobicity is based on Koga et al modification.² Cell surface hidrophobicity of bacteria was compared between before and after exposure with ethanol and water extract. The measuring used spectrophotometer. The result was analyzed using Mann-Whitney test with SPSS programme. Hydrophobicity of *Staphylococcus aureus* cell surface was decreased on the exposure of ethanol extract or water extract of red betel vine. The first extract addition sharply decreased the hydrophobicity and the decrease became lower. This result is appropriate with the research of Razak et al.³ The decreasing hydrophobicity of *Staphylococcus aureus* cell surface is not significantly different between ethanol extract and water extract of red betel vine ($p>0.05$). Ethanol extract and water extract of red betel vine (*Piper crocatum*) have decreasing effect for *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cell surface. The exposure etahnl ectract and water extract of red betel vine is not significantly different.

Keywords: Red betel vine (*Piper crocatum*) – ethanol extract – water extract – hydrophobicity – *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Sebagian masyarakat menggunakan *herbal medicine* sebagai alternatif pengobatan, namun penggunaannya hanya berdasar bukti empiris, belum didasarkan pada bukti-bukti ilmiah kedokteran (*Evidence Based Medicine*). Agar penggunaan suatu *herbal medicine* dapat diterapkan di masyarakat dengan khasiat yang dapat dipertanggungjawabkan, maka perlu dilakukan penelitian yang mendalam dan terus menerus.

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai pengobatan adalah sirih merah (*Piper crocatum*). Beberapa penyakit yang diyakini dapat diobati dengan sirih merah di antaranya adalah Diabetes Mellitus (DM), hipertensi, asam urat, hepatitis, tuberkulosis dan masih banyak lagi penyakit yang diinformasikan sembuh setelah mengkonsumsi sirih merah.

Penelitian mengenai manfaat sirih merah belum banyak dilakukan.

Rachmawaty dkk., (2009) telah membuktikan bahwa ekstrak etanol sirih merah dapat berfungsi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri gram negatif)¹. Senyawa yang diduga dapat bersifat antibakteri pada sirih merah adalah flavonoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri. Agar sirih merah benar-benar dapat diaplikasikan penggunaannya di masyarakat, perlu dilakukan serangkaian penelitian lanjutan. Kaitannya dengan anti bakteri, salah satu karakter utama permukaan sel bakteri adalah hidrofobisitas.

Hidrofobisitas permukaan sel adalah salah satu prasyarat alami mikroorganisme untuk mendapatkan makanan, berikatan satu sama lain, misalnya untuk pertukaran informasi genetik. Perlekatan bakteri dengan sel jaringan

melalui interaksi hidrofobik merupakan langkah pertama terjadinya infeksi sehingga hidrofobisitas permukaan sel suatu mikroorganisme dapat mempunyai peranan integral dalam patogenesis penyakit.⁴ Sifat permukaan bakteri berhubungan dengan kemampuannya menempel pada berbagai substrat.⁵ Adhesi (perlekatan) bakteri adalah tahap awal yang menentukan kemampuan bakteri dapat tidaknya menginfeksi induk semang. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai hidrofobisitas permukaan sel bakteri setelah diketahui bahwa sirih merah mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Penelitian dilakukan dengan mengamati hidrofobisitas permukaan sel setelah paparan ekstrak etanol dan ekstrak air sirih merah pada *Staphylococcus aureus*. Bakteri patogen yang mengalami penurunan hidrofobisitas akan berkurang kemampuannya menginfeksi hingga dapat menjadi inaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol dan ekstrak air sirih merah terhadap hidrofobisitas permukaan sel bakteri *Staphylococcus aureus*. Di samping itu juga untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan efek terhadap hidrofobisitas antara pemaparan ekstrak etanol dan ekstrak air sirih merah.

A. Hidrofobisitas Permukaan Sel Bakteri

Hidrofobisitas (hidrofi : menolak air) merupakan salah satu sifat fisika bakteri. Prinsip fisika dasar ini sangat vital bagi suatu mikroorganisme, seperti untuk asupan makanan, pertukaran informasi genetik, atau perlekatan dengan sel jaringan dalam proses infeksi.⁶ Sifat permukaan bakteri berhubungan dengan kemampuannya menempel pada berbagai substrat. Adhesi bakteri adalah tahap awalnya yang kemudian menentukan kemampuan kolonisasi bakteri tersebut terhadap inang/host.⁷ Perlekatan bakteri yang diikuti terjadinya kolonisasi pada inang yang peka adalah suatu hal penting dan diperlukan

untuk memulai terjadinya patogenesis penyakit. Interaksi hidrofobik telah diketahui sebagai salah satu penentu untuk mengidentifikasi galur patogenik suatu bakteri.^{7,8} Adesi bakteri pada permukaan sel memperpendek jarak antara bakteri dengan permukaan tubuh hospes sehingga mempermudah toksin atau metabolit lain yang dihasilkan oleh bakteri melekat pada reseptornya pada permukaan sel hospes. Proses adesi merupakan tahap awal infeksi bakteri yang berperan dalam kolonisasi pada permukaan sel hospes⁹. Terdapat 2 bentuk proses adesi bakteri yaitu adesi yang bersifat non-spesifik dan adesi yang bersifat spesifik. Pada adesi yang bersifat non-spesifik, perlekatannya tidak melibatkan peran reseptor permukaan tetapi disebabkan karena adanya sifat hidrofobisitas agen dan perbedaan muatan listrik permukaan bakteri dengan permukaan sel hospes inang sehingga perlekatan umumnya tidak kuat dan bersifat irreversibel. Sedangkan adesi spesifik, perlekatan diperantarai oleh reseptor permukaan sel inang yang mampu berikatan dengan antigen permukaan bakteri.¹⁰

Dengan demikian dapat dipahami bahwa hidrofobisitas permukaan dari mikroorganisme dapat mempunyai peranan integral dalam patogenesis penyakit. Untuk itu perlu dipelajari karakter utama seperti hidrofobisitas dari permukaan sel bakteri.

Hidrofobisitas permukaan berbagai sel mikroba dapat ditentukan dengan mengukur kemampuan penempelan sel terhadap berbagai polimer, atau afinitas bakteri terhadap pelarut hidrokarbon dalam sistem 2 fase atau daya lekat dan pertumbuhan pada hidrokarbon.¹¹ Heksadekan adalah hidrokarbon yang dapat digunakan untuk mengetahui hidrofobisitas permukaan sel bakteri³.

B. Sirih Merah (*Piper crocatum*)

B.1. Ciri – ciri Sirih Merah

Sirih merah termasuk famili *Piperaceae* daunnya berwarna merah keperakkan dan mengkilap saat kena cahaya. Sirih merah (*Piper*

crocatum) sudah cukup lama dikenal sebagian masyarakat, khususnya untuk acara adat di Kraton (Yogyakarta). Pada tahun 1990-an sirih merah difungsikan sebagai tanaman hias oleh para hobis, karena penampilannya yang menarik. Beberapa tahun terakhir ramai dibicarakan karena khasiatnya sebagai tanaman obat yang diyakini dapat menyembuhkan beberapa jenis penyakit, baik secara sendiri maupun bersama tanaman lain. Khasiat yang dimiliki di antaranya untuk mengobati penyakit seperti diabetes melitus, tekanan darah tinggi, penyakit infeksi dan lain-lain.¹² Taksonomi sirih merah adalah sebagai berikut.³

Kingdom : Plantae
 Divisio : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Order : Piperales
 Family : Piperaceae
 Genus : *Piper*
 Species : *Piper crocatum* Ruiz & Pav

Ciri khas tanaman tropis ini, batangnya bulat hijau keunguan dan tidak berbunga. Daun sirih merah bertangkai membentuk jantung hati dan bagian atasnya meruncing. Permukaan daun mengkilap dan tidak merata. Seperti halnya sirih hijau, sirih merah juga tumbuh merambat di pagar atau pohon. Daunnya berasa pahit getas, namun beraroma lebih wangi dibanding sirih hijau. Jika disobek, daun sirih merah akan berlendir. Tanaman ini menyukai tempat teduh, berhawa sejuk dan sinar matahari 60-75%. Tanaman sirih merah tumbuh subur dan bagus di daerah pegunungan. Bila tumbuh pada daerah panas, sinar matahari langsung, batangnya cepat mengering. Selain itu warna merah daunnya akan pudar.

B.2. Zat Antibakteri Yang Terdapat Pada Sirih Merah

Secara kromatografi sirih merah telah diteliti mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri.¹²

Flavonoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri telah diketahui memiliki sifat antibakteri.

Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri.¹⁵ Flavonoid merupakan senyawa fenol sementara senyawa fenol dapat bersifat sebagai koagulator protein.¹⁶

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.¹⁷

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut: toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah kemampuan toksisitas tanin itu sendiri.¹⁸ Tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.¹⁹ Teori lain kemampuan antibakteri tanin diperkirakan dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui: reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik.²⁰

Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna.¹⁹ Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Turunan

fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis.²¹

C. *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*)

S. aureus bersifat nonmotil, Gram positif, berukuran 0,5 – 1 µm, penampakan pada mikroskop dapat berpasangan, rantai pendek atau berkelompok seperti buah anggur. *S. aureus* sering ditemukan pada tubuh manusia, dapat juga di lingkungan seperti di air, udara, feses, pakaian atau perkakas rumah tangga. Di samping sebagai patogen yang penting, juga merupakan flora normal di hidung, tenggorokan, perineum atau di kulit.²

Klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut²³:

Kingsom	: Procaryota
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Orde	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

S. aureus merupakan kuman penyebab penyakit yang sering terjadi di masyarakat maupun sebagai infeksi nosokomial. Kolonisasi *S. aureus* seringkali tidak bergejala dan hidup secara komensal pada hidung manusia.²⁴ Manusia adalah reservoir utama untuk dan kolonisasi terdapat sekitar 30-50% pada manusia dewasa. Kolonisasi meningkat pada pasien Diabetes Mellitus (DM) tipe 1, pengguna obat-obat intravena, pasien-pasien hemodialisis, pasien bedah, dan pasien dengan sindrom imunodefisiensi, serta pasien dengan defek fungsi leukosit.²⁵

Kuman ini dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan,

dan menyebar luas ke dalam jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler seperti katalase, koagulase, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, Toksin Sindroma Syok Toksik (*Toxic Shock Syndrome Toxin*), enterotoksin dan enzim lain.²⁶ *S. aureus* juga memproduksi enzim beta-laktamase yang dapat menginaktifkan penisilin.²⁵

Pada *S. aureus* yang mempunyai hemaglutinin, mempunyai kemampuan adhesi pada sel epitel jauh lebih besar dari pada yang tidak mempunyai hemaglutinin. Hemaglutinin diduga sebagai faktor virulensi yang penting.²⁷

S. aureus ada yang bersifat hidrofob dan ada yang bersifat hidrofil. *S. aureus* yang bersifat hidrofob dan hemaglutinasi positif, lebih banyak melekat pada sel-sel epitel dan lebih banyak difagosit oleh sel-sel polimorfonuklear (PMN) dibanding isolat yang bersifat hidrofob tetapi hemaglutinasi negatif dan juga isolat yang bersifat hidrofil. Isolat yang bersifat hidrofil tidak mampu mengaglutinasi eritrosit dan lebih sedikit melekat pada sel-sel epitel dan lebih sedikit difagositosis oleh sel-sel polimorfonuklear (PMN).²⁸

METODE PENELITIAN

A. Metode yang digunakan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, untuk mengetahui efek ekstrak etanol dan ekstrak air sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap hidrofobitas permukaan sel terhadap bakteri standar laboratorium. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif.

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, yang merupakan bakteri standar yang masih sensitif terhadap terapi standar. Bakteri diperoleh dari koleksi laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Indonesia.

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol 70% dan ekstrak air sirih merah. Pembuatan ekstrak etanol dilakukan dengan

metode maserasi, sementara untuk ekstrak air dilakukan dengan metode infundasi. Proses pembuatan ekstrak dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi, Universitas Islam Indonesia.

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini, sebagai variabel bebas adalah konsentrasi ekstrak etanol sirih merah yang diencerkan secara serial. Konsentrasi yang digunakan mengacu pada penelitian sebelumnya.

Variabel terikat pada penelitian ini adalah tingkat hidrofobisitas permukaan sel bakteri *Staphylococcus aureus* setelah pemaparan ekstrak etanol dan ekstrak air sirih merah. Pemaparan ekstrak etanol dan ekstrak air dilakukan secara terpisah.

Metode yang digunakan pada penelitian ini untuk menentukan hidrofobisitas permukaan sel menggunakan metode yang dilakukan oleh Koga *et al.* (1990)² yang dimodifikasi. Hidrofobisitas permukaan sel bakteri dibandingkan antara sebelum dan setelah pemaparan ekstrak etanol atau ekstrak air sirih merah pada beberapa konsentrasi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer.

B. Tahap Penelitian

- a. Identifikasi dan Pengambilan sirih merah
Identifikasi dilakukan sesuai literatur, kemudian dideterminasi terlebih dahulu di laboratorium Biologi Universitas Gadjah Mada. Pengambilan sirih merah memenuhi kriteria tertentu seperti usia tanaman telah berumur 4 bulan, usia daun minimal 1 bulan. Hal ini dimaksudkan agar kandungan bahan yang diuji dalam kondisi optimal.
- b. Preparasi Sampel
Sirih merah yang telah diperoleh dan memenuhi persyaratan dicuci bersih selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan lemari pengering pada suhu 40-60°C selama 4-6 hari (jika sudah kering bila dipegang rapuh). Setelah kering, dibuat

serbuk dengan menggunakan *grinder* dan siap untuk dilakukan proses ekstraksi.

- c. Pembuatan ekstrak etanol
Sirih merah yang telah berbentuk serbuk dilakukan maserasi dengan cara merendam dengan pelarutnya dan diaduk menggunakan strirer. Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol. Kemudian dilakukan penyaringan (filtrasi) dengan corong buchler. Untuk menghilangkan pelarutnya ekstrak dalam bentuk cair diuapkan (evaporasi) menggunakan rotary evaporator. Diperoleh ekstrak yang sudah jadi, dalam bentuk ekstrak kental. Pelarut yang masih tersisa dihilangkan dengan meletakkan di waterbath.
- d. Pembuatan ekstrak air (infusa)
Pembuatan ekstrak air dilakukan dengan metode infundasi yaitu dengan cara memanaskan serbuk sirih merah yang telah dicampur dengan air, hingga mencapai suhu 90°C selama 15 menit. Air memiliki sifat yang lebih polar dibanding etanol. Dengan metode ini diharapkan hasil yang diperoleh optimal.
Pembuatan ekstrak air dilakukan
- e. Sterilisasi alat
Semua alat yang digunakan dalam kondisi bersih dan steril. Sterilisasi alat dengan menggunakan oven pada suhu 120°C selama 8 jam.
- f. Pembuatan suspensi bakteri
Bakteri *Staphylococcus aureus* diambil kurang lebih 8-10 koloni di kultur pada 3 ml media BHI dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya bakteri disentrifus pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang, kemudian pelet dicuci sebanyak 2 kali menggunakan NaCl. Untuk mendapatkan kepadatan 10⁸ ditambah NaCl kemudian diambil 1 mL dimasukkan *cuvette*, kemudian dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm hingga diperoleh nilai 0,6.

g. Pengukuran hidrofobisitas permukaan sel
 Pengukuran hidrofobisitas permukaan sel bakteri dilakukan dengan mengacu pada metode yang digunakan oleh Koga *et al.*, (1990). Disiapkan tabung reaksi sebanyak 8 tabung. Tabung pertama hingga tabung ke-7 diisi 1,5 mL DMSO, selanjutnya tabung pertama ditambah 1,5 mL ekstrak etanol. Setelah tabung pertama dihomogenisasi kemudian diambil 1,5 mL dimasukkan ke tabung ke-2. dengan cara yang sama dari tabung ke-2 dimasukkan ke tabung ke-3, begitu seterusnya sampai tabung ke-7. Sisa tabung ke-7 dibuang. Pada saat ini konsentrasi tabung pertama sampai tabung ke-7 adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,67%, 0,84%. Kemudian diambil 1,5 ml NaCl, dihomogenkan dengan cara divortek. Suspensi tersebut kemudian dibaca Kerapatan Optiknya/Optical Density (OD) pada gelombang 550 nm dan 600 nm. Hasil tersebut sebagai kontrol hidrofobisitas bakteri sebelum diberi hexadekan. Selanjutnya ditambahkan 200 μ l heksadekan ke dalam suspensi tersebut, divortek dengan kuat selama 1 menit dan didiamkan selama 15 menit. Dengan hati-hati diambil 1 ml suspensi kurang lebih 2 ml di bawah hexadekan. Diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 dan 600 nm. Nilai sebelum diberi hexadekan dikurangi nilai setelah diberi hexadekan dibagi nilai sebelum merupakan nilai hidrofobisitas bakteri sebelum dipaparkan dengan ekstrak. Selanjutnya satu demi satu, mulai dilusi konsentrasi terendah ditambah 1,5 mL suspensi bakteri 10^8 . Divortek selama 1 menit, dimasukkan ke dalam *cuvette* sebanyak 1 mL. Selanjutnya dibaca pada gelombang 550 dan 600 nm. Suspensi yang berada di *cuvette* dikembalikan ke tabung, kemudian ditambahkan 200 μ l heksadekan ke dalam suspensi tersebut, divortek dengan kuat selama 1 menit dan didiamkan selama 15

menit. Dengan hati-hati diambil 1 mL suspensi kurang lebih 2 mL di bawah hexadekan. Diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 dan 600 nm. Nilai sebelum diberi hexadekan dikurangi nilai setelah diberi hexadekan dibagi nilai sebelum merupakan nilai hidrofobisitas bakteri setelah dipaparkan dengan ekstrak ditambahkan bakteri, konsentrasi menjadi setengahnya. Adapun konsentrasi-konsentrasi ekstrak tersebut, mulai yang terendah : 0 (kontrol), 0,42%, 0,82%, 1,67%, 3,13%, 6,25%, 12,5% dan 25%. Pada penggunaan bahan uji air, pada prinsipnya sama, hanya pengencer yang digunakan bukan DMSO namun aquades.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil.

Pengukuran hidrofobisitas permukaan sel bakteri dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Penyerapan optik suspensi bakteri diukur pada panjang gelombang 550 dan 600 nm. Pengukuran juga dilakukan pada panjang gelombang 600 nm, dikarenakan keterbatasan alat yang dimiliki. Pada konsentrasi 12,5% dengan pembacaan pada panjang gelombang 550 nm spektrofotometer sudah tidak dapat membaca (dibaca >). Sementara dengan panjang gelombang 600 nm masih terbaca, namun pada konsentrasi 25% sudah tidak terbaca (dibaca >). Spektrofotometer yang digunakan adalah merk Genesis. Hasil pengukuran disajikan pada tabel 1 dan 2 dan gambar 4-7.

B. Pembahasan

Dari hasil yang telah disajikan dapat diketahui bahwa hidrofobisitas permukaan sel *Staphylococcus aureus* berada di bawah 25%. Menurut Natalia dan Priadi (2006)⁵ pembagian tingkat hidrofobisitas, jika ≥ 75 dinyatakan kuat. Antara 25% - 75% sedang, sementara di bawah 25% termasuk rendah/lemah. Dengan demikian

tingkat hidrofobisitas permukaan *S. Aureus* pada bakteri yang diuji pada penelitian ini termasuk yang rendah. Penelitian yang dilakukan oleh peneliti lain menunjukkan terdapat *S.Aureus* yang bersifat hidrofob dan ada yang bersifat hidrofilik.²⁸ Dimungkinkan bahwa bakteri yang di uji merupakan *S.aureus* jenis hidrofilik.

menit dengan menggunakan vortex mixer kemudian dibiarkan selama 15 menit sehingga fase yang awalnya tercampur dapat dipisahkan dengan baik. Dari fase encer (*aqueous*) yang lebih rendah diambil sampel sedikit demi sedikit dan dimasukkan ke dalam *cuvette* (tabung sampel) dengan menggunakan mikropipet yang steril yang absorbansi optikalnya (A_t) diukur

Tabel 1. Nilai Optical Density (OD) dan Hidrofobisitas Permukaan Sel *Staphylococcus aureus* Dengan Pemaparan Ekstrak Etanol Sirih Merah

KONSENTRASI	PEMBERIAN HEKSADEKAN				HASIL	
	Sebelum		Setelah		HD : 550	HD : 600
	PJ : 550	PJ : 600	PJ : 550	PJ : 600		
Kontrol	0,437	0,394	0,366	0,331	16,25	15,99
0,42	0,506	0,424	0,54	0,456	-6,72	-7,55
0,84	0,570	0,456	0,618	0,490	-8,42	-7,46
1,67	0,744	0,561	0,792	0,601	-6,45	-7,13
3,13	1,186	0,833	1,177	0,844	0,76	-1,32
6,25	1,903	1,275	1,886	1,282	0,89	-0,55
12,5	>3,135	2,205	>3,106	2,152	VALUE	2,40
25	>3,308	>2,681	>3,325	>2,708	VALUE	VALUE

Keterangan :

PJ : panjang gelombang

HD : hidrofobisitas

Hidrofobisitas pada permukaan bakteri menentukan kemampuan bakteri untuk melekat pada sel inang. Bakteri yang permukaannya bersifat hidrofob mempunyai sifat adesi yang kuat.²⁹ Bakteri yang bersifat hidrofob apabila dikultur lebih banyak melekat pada sel-sel epitel dan lebih banyak difagosit oleh sel-sel polimorfonuklear (netrofil) jika dibandingkan dengan kultur yang bersifat hidrofili.³⁰

Pada penelitian ini, diukur penyerapan optik dari suspensi sel total masing-masing bakteri pada saat heksadekan tidak ada. Proses selanjutnya, 200 μ L heksadekan dialirkan dengan menggunakan pipet ke dalam masing-masing tabung tes. Tabung-tabung tersebut diaduk dengan kuat dalam waktu 1

pada 550 nm, karena keterbatasan alat, sehingga juga dibaca pada 600 nm. Prosentase adsorpsi sel bakteri terhadap heksadekan (A_b) dihitung sebagai pengurangan prosentase dalam densitas optik yang bersifat relatif terhadap suspensi sel total pada saat tidak adanya heksadekan (A_t) dikurangi ketika ada heksadekan (A_d) dibagi ketika tidak ada heksadekan, sehingga dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$A_b = \frac{A_t - A_d}{A_t} \times 100$$

Keterangan:

A_b : Prosentase adsorpsi sel bakteri

A_t : Densitas optik saat belum diberi hexadekan

A_d : Densitas optik setelah diberi hexadekan.

Dari pengukuran yang dilakukan dapat diketahui bahwa terjadi penurunan hidrofobisitas yang drastis pada pemberian ekstrak yang pertama, selanjutnya penurunan menjadi lebih rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian lain yang meneliti ekstrak jambu biji dan ekstrak sirih (hijau) terhadap *Strep mitis*, *Strep. Sanguis* dan *Actinomyces sp.*³

ekstrak etanol maupun pada ekstrak air sirih merah.

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Ekstrak etanol dan ekstrak air sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki efek menurunkan hidrofobisitas permukaan sel *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Antara pemaparan ekstrak etanol dan ekstrak air sirih

Tabel 2. Nilai Optical Density (OD) dan Hidrofobisitas Permukaan Sel *Staphylococcus aureus* Dengan Pemaparan Ekstrak Air Sirih Merah

KONSENTRASI	PEMBERIAN HEKSADEKAN				HASIL	
	Sebelum		Setelah		HD : 550	HD : 600
	PJ : 550	PJ : 600	PJ : 550	PJ : 600		
Kontrol	0,435	0,361	0,378	0,341	13,10	5,54
0,42	0,516	0,428	0,528	0,438	-2,33	-2,34
0,84	0,656	0,523	0,643	0,509	1,98	2,68
1,67	0,941	0,683	0,971	0,718	-3,19	-5,12
3,13	1,4	0,995	1,43	1,022	-2,14	-2,71
6,25	2,349	1,621	2,336	1,613	0,55	0,49
12,5	>3,270	2,478	>3,269	2,478	VALUE	0,00
25	>3,319	>2,705	>3,321	>2,708	VALUE	VALUE

Keterangan :

PJ : panjang gelombang

HD : hidrofobisitas

Hasil yang negatif dimungkinkan karena bakteri mengalami penurunan hidrofobisitas sehingga cenderung ke bawah dan terambil pada saat pemeriksaan dengan memasukkan ke dalam *cuvette*. Dengan demikian pada penelitian ini dapat diketahui bahwa sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki efek menurunkan hidrofobisitas permukaan sel *Staphylococcus aureus*.

Permukaan hidrofobisitas permukaan *Staphylococcus aureus* tidak berbeda secara bermakna antara pemaparan ekstrak etanol dan ekstrak air sirih merah ($p > 0,05$). Demikian juga pada pengukuran dengan panjang gelombang yang berada yaitu 550 dan 600 nm, baik pada

merah tidak berbeda secara bermakna, pada penurunan hidrofobisitas permukaan sel *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Saran

- 1) Dapat dilakukan uji untuk bakteri maupun ekstrak lain.
- 2) Perlu digunakan alat spektrofotometer terbatas dengan kemampuan baca yang tinggi.

Jika kemampuan spektrometer dapat dipertimbangkan dilakukan pengenceran untuk mendapatkan hasil mendapatkan hasil yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rachmawaty, F.J., Mahardina, D.A.C., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., 2009, Pemanfaatan Ekstark Etanol Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif, JKKI, Vol. 1 (1)
2. Koga, T., Okashaishi, N., Takashi, I., Kanamoto, T., Asakawa, H., Iwaki, M., 1990, Surface Hydrophobicity Adherence and Aggregation of cell Surface Protein Antigen Mutans of *Streptococcus mutan* serotipe C, *Infect. Immun.*, 58: 289-96
3. Razak, F.A., Othaman, R.Y., Rahmin, Z.H.A., 2006, The effect of *Piper bettle* and *Psidium guajava* Extract on The Cell Surface Hydrophobicity of Selected Early Settlers of Dental Plaque, *Journal of Oral Science*, Vol. 48 (2) : 71-5
4. Seltmanm, G. T. P., Tschape, H., 1986. Surface Hydrophobicity of Plasmidcarrying Virulent *Shigella flexneri* and their avirulent variants. *J. Basic Microbiol.* 26 : 283-287
5. Natalia, L., Priadi, A., 2006, Sifat Lactobacilli Yang Diisolasi Dari Usus Ayam Sebagai Probiotik, *Makalah seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2006*, 801-11
6. BSNmedical, 2009, *Mekanisme Interaksi*, diakses pada tanggal 18 Mei 2009 dari <http://www.cutimedSORBACT.com/indonesia/faq.htm>.
7. Das, S.C and Kapoor, K.N., 2004, Effect of growth medium on hydrophobicity of *Staphylococcus epidermidis*, *Indian J. Med. Res.* 119: 107-9
8. Pascu, C., S. Hirno, A. Ljungh and T. Wadstrom. 1996. A Particle Agglutination Assay for rapid Identification of Heaprin Binding to Coagulase-negative Staphylococci. *J. Med. Microbiol.* 45:263-269
9. Wibawan, I W.T., Lammler Ch. 1991 Influence of capsular neuraminic acid on properties of streptococci of serological group B. *J. Gen. Microbiol.* 137: 2721-2725
10. Wibawan, I.W.T., Harlina, E., Chandramaya Siska Damayanti dan Zarkazie, K. 2005. *Preparasi Antiserum Terhadap Hemaglutinin Streptococcus agalactiae dan Staphylococcus aureus serta Perannya sebagai Anti Adesin dan Opsonin.*
11. Rosenberg, M.D., Gutnic, D., Rosenberg, E., 1980. Adherence Bacteria To Hydrocarbons: A Simple Method For Measuring Cell-Surface Hydrophobicity. *Ferms Microbiology Letters* 9: 29-33
12. Sudewo, B., 2008, *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*, cetakan ke-5, PT Agromedia Pustaka, Jakarta.
13. Backer, C.A., van den Brink, B.J.R., 1963, *Flora of Java*, Published under The auspices of the rijks herbarium, Leyden. P. : 167
14. Manoi, F., 2007, Sirih merah Sebagai Tanaman Multi Fungsi, *Warta Puslitbangbun*. Vol. 13(2)
15. Cowan, M.M., 1999, Plant Product as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews* Vol. 12, No. 4 : 564-82
16. Dwidjoseputro, D., 1994, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan, Jakarta
17. Robinson, T., 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, ITB, Bandung : 132-6
18. Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, o., oono, T., Iwatsuki, T., 2001 Antibacterial Action of Several Tannis Againsts *Staphylococcus aureus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol. 48 : 487-91
19. Ajizah, A., 2004 Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. *Bioscientiae*, Vol. 1, No. 1 : 31-8
20. Masduki I., 1996. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Cermin Dunia Kedokteran* 109 : 21-4

21. Parwata, I.M.O.A. & Dewi, P.F.S., 2008, Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak atsiri Dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia Galanga* L.) *Jurnal Kimia* 2 (2) : 100-4
22. Bremer, P.J., Fletcher, g.C., and Osborne, C., 2004, *Staphylococcus aureus*, New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited A Crown Research Institute
23. Capuccino, J.G., Natalie, S., 2001, *Microbiology : A Laboratory Manual*, Benjamin Cummings, San Fransisco.
24. Fournier & Philpott, 2005, Recognition of *Staphylococcus aureus* by the Innate Immun System, *Blin. Microbial. Rev.* Vol. 18 (3) : 521-40
25. Lowly, F.D., 1998, *Staphylococcus aureus* Infection, *The New England of Medicine.* 39:520-32
26. Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen, A.M., 2001, *Jawetz, Melnick, and Adelberg's, Mikrobiologi Kedokteran*, Alih bahasa oleh Mudihardi, E., kuntaman, Waskito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L., Penerbit Salemba Medika, Jakarta
27. Wahyuni, A.E.T.H., Wibawan, I.W.T., Wibowo, M.H., 2005< Karakterisasi Hemaglutinin *Streptococcus Agalictiae* Dan *Staphylococcus Aureus* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah, *J. San Vet.* Vol. 23 (2)
28. Khusnan, Salasia S.I.O., 2006, Respon Neutrofil, Adesi Pada Sel Epitel, Aglutinasi Eritrosit Terhadap *Staphylococcus aureus* : Kajian Hidrofobisitas In Vitro, *J. Sain Vet.*, Vol. 24 (1)
29. Salasia, S.I.O., Lammer, C., 1995, Distribution of serotype, virulence markers and further characteristics of *Steptococcus suis* isolates from pigs. *J Ve. Med* (B42): 78-83
30. Salasia, S.I.O., Khusnan, Z., Lammer, C, M. zshock M, 2004. Comparative studies on pheno-and genotypic propertis of *Staphylococcus aureus*, isolated from bivine subclinical mastitis in Centarl Java, Indonesia and Hesse, Germany. *J Vet SC.* 5 : 103-9