
PENURUNAN HIDROFOBISITAS PERMUKAAN SEL BAKTERI PLAK GIGI SETELAH DIPAPAR REBUSAN DAUN SIRIH MERAH KONSENTRASI 10%

**(REDUCTION OF CELL-SURFACE HYDROPHOBICITY OF DENTAL PLAQUE
BACTERIA AFTER EXPOSED BY 10% RED BETEL LEAVES DECOCTION)**

Tetiana Haniastuti

Departemen Biologi Oral
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Denta Sekip Utara, Yogyakarta 55281
E-mail: haniastuti@yahoo.com

Abstract

The adhesion of dental plaque bacteria to the tooth surface has an important role in the initiation of the development of dental plaque. The hydrophobic surface properties of the bacteria cell wall are responsible for the adhesion of the bacteria cell to the acquired pellicle on the tooth surfaces. The aim of this research was to study the effect of 10% red betel leaves decoction on the cell surface hydrophobicity of dental plaque bacteria *in vitro*. Dental plaque bacteria were obtained from the upper first maxillary molar buccal surface of a healthy subject. Cell surface hydrophobicity of the bacteria was evaluated using the microbial adhesion to hydrocarbon method. The cell suspension was mixed with an equal volume of 10% red betel leaves decoction or aquadest as a control. After standing for 15 mins, n-hexadecane was added and agitated uniformly. The optical density of the aqueous phase was determined with turbidimetry. The result showed that the hydrophobicity of the dental plaque bacteria exposed to 10% red betel leaves decoction was less compare to the control group. Independent T-test showed a significant difference of the hydrophobicity of the dental plaque bacteria between the groups. In conclusion, treatment of dental plaque bacteria with 10% red betel leaves decoction reduces their cell surface hydrophobicity.

Key words: dental plaque bacteria, hydrophobicity, 10% red betel leaves decoction

Abstrak

Perlekatan bakteri plak pada permukaan gigi berperan penting dalam inisiasi perkembangan plak gigi. Struktur permukaan dinding sel bakteri yang bersifat hidrofobik berperan dalam perlekatan sel bakteri pada pelikel yang melapisi permukaan gigi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% terhadap hidrofobisitas permukaan sel bakteri plak gigi *in vitro*. Bakteri plak diperoleh dari permukaan bukal gigi molar pertama rahang atas sukarelawan sehat. Hidrofobisitas permukaan sel bakteri dievaluasi dengan menggunakan metode perlekatan bakteri pada hidrokarbon. Suspensi sel dicampur dengan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% atau akuades sebagai kontrol dengan volume yang sama. Setelah dibiarkan dengan posisi tabung berdiri tegak selama 15 menit, ditambahkan n-hexadecane dan dikocok secara merata. Densitas optik dari fase air ditentukan secara turbidimetri. Hasil penelitian diketahui bahwa hidrofobisitas bakteri plak yang terpapar rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hasil uji T menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kedua kelompok. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa paparan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% menurunkan hidrofobisitas permukaan sel bakteri plak gigi.

Kata kunci: bakteri plak gigi, hidrofobisitas, rebusan daun sirih merah konsentrasi 10%

PENDAHULUAN

Plak gigi adalah lapisan lunak yang menempel pada permukaan gigi, mengandung bakteri, produk-produk bakteri, matriks ekstraseluler dan air dalam suatu sistem mikrobial yang kompleks.¹ Plak merupakan faktor etiologi penting terjadinya karies dan

penyakit periodontal. Lapisan ini terbentuk melalui proses kolonisasi dan koagregasi bakteri pada permukaan gigi. Pada awalnya, terjadi perlekatan bakteri Gram positif kokus yang bersifat *facultative anaerob* misalnya *Streptococcus sanguinis*, *S. mutans*, *S. mitis*, dan *S. oralis* pada permukaan gigi yang telah dilapisi *acquired pellicle*. Apabila sudah

terbentuk kolonisasi awal pada permukaan gigi, akan diikuti kolonisasi sekunder oleh bakteri Gram positif batang dan filamen antara lain *Actinomyces viscosus*, *A. israelii*, dan *A. gerencseriae* serta bakteri Gram negatif kokus misalnya *Veillonella parvula*.²

Kemampuan bakteri untuk melekat pada permukaan gigi merupakan salah satu faktor penting terbentuknya plak gigi. Perlekatan bakteri pada permukaan gigi tergantung pada interaksi antara bakteri dengan permukaan gigi, yang bersifat non-spesifik dan spesifik. Interaksi spesifik baru akan terjadi bila sudah terjadi interaksi yang bersifat non-spesifik antara lain gaya Van der Waals, ionik, dan interaksi hidrofobik antara bakteri dan permukaan gigi.³

Hidrofobisitas adalah kemampuan mikroorganisme untuk menjauh dari media cair yang dapat mengganggu perlekatannya terhadap suatu permukaan. Interaksi hidrofobik berperan penting dalam perlekatan bakteri pada permukaan gigi. Hidrofobisitas tergantung pada struktur permukaan sel bakteri dan sifat fisikokimiawi dari substrat.⁴

Penggunaan obat kumur merupakan salah satu upaya kontrol plak yang biasa dilakukan oleh masyarakat.⁵ Obat kumur yang efektif harus mampu mengurangi plak yang sudah terbentuk dan mencegah akumulasi plak pada permukaan gigi. Mekanisme obat kumur dalam mengurangi akumulasi plak adalah dengan cara menghambat perlekatan dan kolonisasi bakteri pada permukaan gigi, menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri, melepas bakteri plak dari permukaan gigi, serta memodifikasi ekologi dan sifat biokimiawi plak.⁶

Sirih merah merupakan salah satu tanaman yang banyak ditanam oleh masyarakat Indonesia. Daun sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tannin dan minyak atsiri yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Secara tradisional, rebusan daun sirih merah banyak digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit rongga mulut, antara lain gusi berdarah, sariawan, gigi berlubang, bau mulut, dan radang tenggorokan.⁷ Hasil penelitian terdahulu membuktikan efektivitas rebusan sirih merah konsentrasi 10% dalam menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik *S. sobrinus*.⁸ Amanda dkk.⁹ melaporkan bahwa berkumur dengan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% dapat menurunkan jumlah bakteri plak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% terhadap hidrofobisitas sel bakteri plak gigi *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang dilaksanakan di Laboratorium Riset

Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

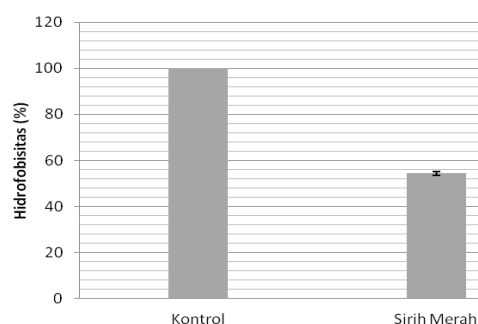
Rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% dibuat dengan cara merebus 10 gram daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan 200 ml akuades sampai mendidih dan air rebusan tersisa 100 ml.

Bakteri plak gigi diambil dari permukaan gigi molar 1 atas sukarelawan sehat dengan menggunakan eks-kavator, kemudian dimasukkan dalam media *brain heart infusion* (BHI) cair dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah dicuci dengan *phosphate-buffered saline* (PBS) sebanyak 3 kali, sel kemudian disuspensikan ke dalam PUM *buffer* (*potassium phosphate buffer* yang mengandung 30 mM urea dan 0,8 mM MgSO₄), dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland (1,5X10⁸ cfu/ml). Sebanyak 1,5 ml suspensi bakteri kemudian dicampur dengan rebusan daun sirih merah 10% atau akuades sebagai kontrol dengan volume yang sama. Tabung didiamkan dengan posisi berdiri selama 15 menit pada temperatur kamar, kemudian ditambahkan *n-hexadecane* dan dikocok dengan *vortex* selama 2 menit. Setelah tabung dibiarkan dalam posisi berdiri selama 30 menit, fase *aqueous* diambil dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Dilakukan pengulangan sebanyak 15 kali pada seluruh perlakuan. Hidrofobisitas (Ab) merupakan persentase absorbansi dari fase *hexadecane*, dengan dihitung absorbansi suspensi sel awal sebelum dicampur dengan *hexadecane* (At) dikurangi absorbansi fase *aqueous* (Au).¹⁰

$$Ab = \frac{At - Au}{At} \times 100$$

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kontrol, rerata hidrofobisitas sel bakteri plak adalah sebesar 99,97% ± 0,02% hal tersebut menunjukkan bahwa sel bakteri plak bersifat hidrofobik. Hidrofobisitas sel bakteri plak tampak menurun (54,33% ± 0,79%) setelah dipapar dengan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% (Gambar 1).



Gambar 1. Hidrofobisitas sel bakteri plak setelah dipapar rebusan daun sirih merah konsentrasi 10%

Hasil uji normalitas dengan Levene test menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$), sehingga memenuhi syarat untuk diuji dengan uji T. Hasil uji dengan *independent T-test* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara hidrofobisitas sel bakteri plak setelah dipapar rebusan daun sirih merah dibandingkan dengan kontrol, menunjukkan bahwa paparan rebusan daun sirih merah mampu menurunkan hidrofobisitas sel bakteri plak.

PEMBAHASAN

Bakteri yang terdapat dalam plak antara lain *Streptococcus mutans*, *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. oralis*, *Actinomyces viscosus*, dan *A. israelii*.² Pada awal pembentukan plak, terjadi adhesi bakteri yang bersifat non spesifik dengan permukaan gigi, antara lain melalui interaksi yang bersifat hidrofobik. Hidrofobisitas permukaan sel bakteri merupakan salah satu faktor penting perlekatan bakteri pada permukaan gigi.¹¹ Untuk menguji hidrofobisitas, pada penelitian ini digunakan metode *the microbial adhesion to hydrocarbon*. Metode tersebut dapat membuktikan kemampuan bakteri untuk melekat pada permukaan hidrokarbon. *Hexadecane* merupakan hidrokarbon yang digunakan pada penelitian ini sebagai representatif dari permukaan hidrofobik dari gigi.^{10,12}

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa permukaan sel bakteri plak bersifat hidrofobik. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian terdahulu mengenai hidrofobisitas permukaan sel bakteri plak termasuk bakteri *S. sanguinis*, *S. mitis*, *Actinomyces* sp.¹⁰ dan *S. mutans*.¹³ Bakteri *S. sanguinis*, *S. mitis*, dan *Actinomyces* sp. diketahui mempunyai komponen sel dengan domain hidrofobik yang mengandung asam amino non polar. Keberadaan komponen tersebut meningkatkan kemampuan interaksi hidrofobik sel bakteri dengan permukaan gigi sehingga memungkinkan terjadinya adhesi.¹⁰ Hidrofobisitas permukaan sel *S. mutans* terutama berhubungan dengan molekul protein permukaan sel yaitu PAC.¹³ Selain itu, *S. mutans* juga mempunyai fimbria¹⁴, yang menentukan hidrofobisitas permukaan sel¹⁵ karena asam amino hidrofobik terkonsentrasi pada fimbria tersebut.¹⁶ Hasil penelitian ini membuktikan sifat hidrofobik permukaan sel bakteri plak mengindikasikan bahwa bakteri plak mampu melekat pada permukaan gigi.

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa hidrofobisitas sel bakteri plak menurun setelah dipapar dengan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10%. Hidrofobisitas permukaan sel bakteri ditentukan oleh komponen struktur permukaan sel.¹⁰ Bahan-bahan antibakteri dapat mempengaruhi struktur permukaan sel, sehingga mengganggu kemampuan adhesi dan kolonisasi bakteri. Daun sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tannin dan minyak atsiri yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.⁷ Menurunnya hidrofobisitas permukaan sel bakteri plak setelah dipapar dengan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% menunjukkan bahwa zat aktif yang terkandung dalam rebusan daun sirih merah yaitu flavonoid, tanin, dan saponin dapat mempengaruhi struktur permukaan sel. Senyawa flavonoid dan tanin merupakan turunan fenol yang mampu berinteraksi dengan protein, enzim, dan lipid dari membran sel bakteri, sehingga merubah permeabilitas sel dan menyebabkan lepasnya proton, ion dan makromolekul. Hal tersebut berakibat penurunan hidrofobisitas permukaan sel bakteri.^{17,18} Selain itu, menurut Kumar dan Pandey (2013)¹⁹ flavonoid mampu menonaktifkan adhesin dari bakteri, sehingga berpengaruh terhadap kemampuan perlekatan-nya. Saponin bersifat sebagai *surfactant agent* yang kuat, karena dapat menurunkan tegangan permukaan antar sel. Saponin yang diabsorpsi pada permukaan sel akan menyebabkan kerusakan sel bakteri dengan meningkatnya permeabilitas membran, sehingga bahan-bahan esensial (protein dan enzim) yang terdapat dalam bakteri hilang dan menyebabkan penurunan hidrofobisitas.²⁰

Dari hasil penelitian Arnanda dkk.⁹ diketahui bahwa berkumur dengan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% dapat menurunkan jumlah bakteri plak. Hasil penelitian ini menjelaskan fenomena tersebut. Menurunnya hidrofobisitas permukaan sel bakteri plak setelah paparan rebusan daun sirih merah 10%, akan menyebabkan berkurangnya kemampuan bakteri untuk melekat pada permukaan gigi.

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa hidrofobisitas permukaan sel bakteri plak menurun setelah paparan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10%. Penurunan hidrofobisitas sel bakteri plak akan menyebabkan berkurangnya jumlah bakteri plak yang melekat pada permukaan gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Filoche S, Wong L, Sissons CH. Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *J Dent Res* 2010; 89(1):8-18.
2. Marsh PD, Nyvad B. The oral microflora and biofilm on teeth. In: Fejerskov O, Kidd E, editor. *Dental caries the disease and its clinical management*. 2nd ed., Oxford: Blackwell Munksgaard Ltd, 2008: 166-76.
3. Scannapieco FA. The oral environment. In: Lamont RJ, Burne RA, Lantz MS, LeBlanc DJ, eds. *Oral microbiology and immunology*. Washington: ASM Press, 2006: 53-63.
4. Arezoo T, Rooha KK, Rasool S, Abdolreza N. The relationship between cell surface hydrophobicity and antibiotic resistance of streptococcal strains isolated from dental plaque and caries. *Iran J Basic Med Sci* 2008; 10(4): 251-5.
5. Li L, Guo L, Lux R, Eckert R, Yarbrough D, He J, et al. Targeted antimicrobial therapy against *Streptococcus mutans* establishes protective non-cariogenic oral biofilms and reduces subsequent infection. *Int J Oral Sci* 2010; 2: 66-73.
6. Jeon JG, Rosalen PL, Falsetta ML, Koo H. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. *Caries Res* 2011; 45: 243-63.
7. Werdhany WI, Marton A, Setyorini. *Sirih merah*. Sleman: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta, 2008: 1-3.
8. Haniastuti T, Asih R. Penurunan produksi asam dan pertumbuhan bakteri *Streptococcus sobrinus* setelah terpapar rebusan daun sirih merah 10%. *dentika Dent J* 2013; 10(4): 324-8.
9. Arnanda BB, Tandelilin RTC, Haniastuti T. Pengaruh berkumur air rebusan daun sirih merah (*Piper crocatum*) konsentrasi 10% terhadap jumlah bakteri plak gigi pada penderita gingivitis kategori sedang. Skripsi. Yogyakarta: Program Pendidikan Dokter Gigi FKG UGM, 2014: 47.
10. Razak FA, Othman RY, Rahim ZHA. The effect of *Piper betle* and *Psidium guajava* extracts on the cell-surface hydrophobicity of selected early settlers of dental plaque. *J Oral Sci* 2006; 48(2): 71-5.
11. Nakano K, Tsuji M, Nishimura K, Nomura R, Ooshima T. Contribution of cell surface protein antigen PAc of *Streptococcus mutans* to bacteremia. *Microbes Infect* 2006; 8: 114-21.
12. Lucena PH, Biondi L, Torres R. Hydrophobicity test in *mutans streptococci*. *Acta Odontol Latinoam* 2010; 23(3): 210-5.
13. Prabu GR, Gnanamani A, Sadulla S. Guaijaverin – a plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. *J Appl Microbiol* 2006; 101: 487-95.
14. Moreira M, Vicente VA, Glienke C. Genetic variability of *Streptococcus mutans* isolated from low-income families, as shown by rapd markers. *Braz J Microbiol* 2007; 38: 729-35.
15. Ljungh A, Yanagisawa N, Wadstrom T. Using the principle of hydrophobic interaction to bind and remove wound bacteria. *J Wound Care* 2006 15(4): 175-180.
16. Jenkinson HF, Lamont RJ. Oral microbial ecology. In: Lamont RJ, Burne RA, Lantz MS, LeBlanc DJ, editor. *Oral microbiology and immunology*. Washington: ASM Press, 2006: 89-105.
17. Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: a review. *J Dent* 2009; 37: 413-423.
18. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules* 2011; 16: 1486-1507.
19. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Sci World J*. 2013; 1-16.
20. Shihabudeen MS, Priscilla H, Thirumurugan K. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian folk medicinal plants. *Int J Pharm Sci Res* 2010; 1(10): 430-4.