

Pemanfaatan ekstrak etil asetat buah merah sebagai zat warna primer pada teknik pengecatan negatif kapsul bakteri

Hishna Muthiah¹, Warta Dewi^{1*}, Indrati Sudjarwo¹

¹Departemen Oral Biologi, Fakultas kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran

*Korespondensi: warta.dewi@fkg.unpad.ac.id

Doi: [10.24198/jkg.v29i1.18602](https://doi.org/10.24198/jkg.v29i1.18602)

ABSTRAK

Pendahuluan: Bakteri memiliki salah satu struktur sel yang penting untuk diamati dan dipelajari, yaitu kapsul. Kapsul merupakan salah satu struktur bakteri yang berkaitan erat dengan virulensinya pada manusia dan sel inang. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak etil asetat buah merah dapat digunakan sebagai alternatif pengganti zat warna primer pada teknik pengecatan negatif kapsul. **Metode:** Penelitian ini mendeskripsikan efektif atau tidaknya ekstrak etil asetat buah merah jika digunakan sebagai zat warna primer pada teknik pengecatan negatif kapsul. **Hasil:** Pewarnaan berhasil dilakukan. Hasil pewarnaan yang diperoleh selanjutnya disesuaikan dengan lembar degradasi warna berdasarkan RHS Colour Chart. **Simpulan:** Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa penggunaan ekstrak etil asetat buah merah dapat mewarnai struktur bakteri dengan warna yang beragam dan mampu mendekati zat warna karbol fuksin.

Kata kunci: Ekstrak etil asetat buah merah, teknik pengecatan negatif, kapsul bakteri, zat warna primer

Utilization of ethyl acetate extract of red fruit as primary negative staining substance for bacterial capsule

ABSTRACT

Introduction: Bacteria have one of the important cell structures to be observed and studied, namely capsules. The capsule is a bacterial structure that is closely related to its virulence in humans and host cells. This study aims to prove that the red fruit ethyl acetate extract can be used as an alternative to primary dyes in the capsule negative staining technique. **Methods:** This study describes the effectiveness of the red fruit ethyl acetate extract if it is used as a primary dye in the capsule negative staining technique. **Result:** Coloring is successful. The coloring results obtained are then adjusted to the color degradation sheet based on the RHS Color Chart. **Conclusion:** Based on the observations it is known that the use of red fruit ethyl acetate extract can color the structure of bacteria with a variety of colors and is able to approach the fusion carbolic dye.

Keywords: Ethyl acetate extract of red fruit, negative staining technique, bacterial capsule, primary staining substance

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan mikroorganisme yang jumlahnya paling banyak dan tempat hidupnya tersebar luas mulai dari tanah, air, tubuh manusia, sampai hidup di organisme lain. Bakteri yang terdapat di dalam tubuh manusia bersifat komensal, namun ada juga beberapa yang bersifat patogen. Bakteri dapat diklasifikasikan dari bentuk tubuhnya menjadi tiga kelompok utama, yaitu coccus (bulat), basil (batang), dan spirochaetes (heliks). Bakteri ini juga dapat membentuk formasi sepasang (diplo), rantai (strepto), dan rangkaian seperti anggur (staphilo).¹

Bakteri memiliki ukuran yang sangat kecil berkisar 0,2 μm sampai 5 μm sehingga tak dapat dilihat dengan mata telanjang.¹ Struktur sel bakteri terdiri dari dinding sel, membran sitoplasma, mesosom, sitoplasma, nukleosida, ribosom, cytoplasmic inclusions, serta struktur eksternal yang terdiri dari flagella, fimbriae, pili, glycocalyx dan kapsul. Kapsul merupakan salah satu struktur bakteri yang amat penting untuk diamati dan dipelajari, karena hal ini berkaitan erat dengan virulensinya pada manusia dan sel inangnya. Kapsul merupakan suatu lapisan yang terdiri dari polisakarida yang mengelilingi bakteri dan berfungsi sebagai media perlekatan bakteri pada jaringan manusia.¹ Faktor virulensi yang berperan di dalam patogenesisnya untuk menimbulkan penyakit.

Pengamatan terhadap bakteri sangat sulit bukan hanya karena ukurannya yang kecil, juga karena strukturnya yang transparan dan tidak berwarna. Kombinasi antara prosedur pewarnaan dan pencahayaan mikroskopis menjadi alat utama pada bidang mikrobiologi untuk mempelajari sifat dan mengelompokkannya ke dalam grup yang lebih spesifik.²

Beragam teknik pewarnaan dapat digunakan untuk menggambarkan, membedakan dan membagi bakteri ke dalam beberapa istilah morfologi dan struktur sel. Tipe teknik pewarnaan yakni pewarnaan sederhana (*simple staining*) yang menggunakan satu jenis zat warna untuk menggambarkan bentuk morfologi dan formasi dari bakteri sedangkan *differential staining* menggunakan dua jenis zat warna untuk membagi bakteri ke dalam kelas (pewarnaan gram) dan

untuk menggambarkan struktur bakteri (pewarnaan kapsul).² Pewarnaan gram ini membagi bakteri menjadi dua kelompok, yakni gram positif yang menghasilkan warna ungu dan gram-negatif yang menghasilkan warna merah muda.¹ Bakteri tidak mengadsorpsi ataupun membiaskan cahaya, hal inilah yang menjadi penyebab bakteri sulit dilihat dengan mikroskop cahaya secara langsung, oleh karena itu zat warna digunakan untuk mewarnai mikroorganisme ataupun latar belakangnya. Zat warna ini mampu mengadsorpsi dan membiaskan cahaya.³

Para peneliti biasa menggunakan teknik pengecatan negatif kapsul untuk mengamati morfologi kapsul bakteri. Teknik ini menggunakan zat warna primer karbol fuksin. Penelitian morfologi kapsul bakteri yang menggunakan zat warna berbahan kimia tersebut banyak menimbulkan kesulitan antara lain mendapatkannya harus impor dari luar negeri dan harga yang ditawarkan terbilang sangat mahal. Indonesia kaya akan sumber daya alamnya, oleh karena itu, perlu adanya penelitian untuk menemukan alternatif bahan pewarnaan alami sebagai pengganti zat warna primer pada teknik pengecatan tersebut.

Buah merah merupakan salah satu tanaman obat herbal yang saat ini menjadi fenomena dikalangan masyarakat. Kandungan betakaroten yang terdapat pada buah merah menyebabkan warna merah pada buah tersebut. Penelitian tentang buah merah ini telah banyak dilakukan tetapi baru terbatas pada penelitian mengenai antioksidan, antikanker, antiinfeksi, antiinflamasi, dan sebagainya. Karotenoid ini juga telah dimanfaatkan sebagai pewarna makanan, namun, belum ada penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan buah merah sebagai bahan pewarnaan alami sebagai pengganti zat warna primer pada teknik pengecatan negatif kapsul bakteri.

Uraian diatas mendorong penulis untuk meneliti menggunakan ekstrak etil asetat buah merah sebagai alternatif pengganti zat warna primer pada teknik pengecatan negatif kapsul. Sifat semi polar pada pelarut etil asetat ini diharapkan mampu menghasilkan rendeman ekstraksi yang cukup besar. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etil asetat buah merah dapat digunakan sebagai pengganti zat warna primer pada teknik pengecatan negatif kapsul bakteri.

METODE

Penelitian ini bersifat deskriptif experimental berupa mendeskripsikan efektif atau tidaknya ekstrak etil asetat buah merah jika digunakan sebagai zat warna primer pada teknik pengecatan negatif kapsul bakteri. Populasi dalam penelitian ini adalah buah merah yang ada di Papua sedangkan sampel yang digunakan adalah ekstrak etil asetat buah merah. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 96%, karbol fuksin, tinta cina, koloni *Klebsiella pneumonia*, dan ekstrak etil asetat buah merah. Alat yang digunakan antara lain timbangan, oese, kaca objek, gelas ukur, bunsen, kertas saring, serta mikroskop.

Tahapan penelitian, yang pertama menyiapkan suspensi bakteri uji *Klebsiella pneumonia* yang telah diinkubasi selama 24 jam, kemudian membuat preparasi pada kaca objek caranya seperti membuat preparat apus darah dengan meletakkan 1 oese bakteri pada ujung kaca objek; meletakkan 1 oese tinta cina di samping 1 oese bakteri; mengambil kaca objek lain dengan pinggiran yang rata dan halus; mencampurkan kedua tetes diatas dengan menggunakan ujung kaca objek yang kedua sampai homogen dan membuat preparat setipis mungkin, preparat dikeringkan dan di fiksasi sebentar, menuangkan ekstrak etil asetat buah merah ke atas preparat yang sudah di fiksasi tersebut. Biarkan 2-3 menit, membuang larutan ekstrak etil asetat buah merah, keringkan dengan kertas saring (tanpa melakukan pencucian), preparat selesai di cat dan siap untuk dilihat dibawah mikroskop, membuat preparasi dengan prosedur yang sama, pengecatan negatif kapsul bakteri dengan zat warna primer karbol fuksin yang diencerkan 10 kali sebagai kontrol, hasil pewarnaan pengecatan negatif kapsul bakteri dengan zat warna primer buah merah dibandingkan dengan zat warna primer karbol fuksin yang diencerkan 10 kali.

HASIL

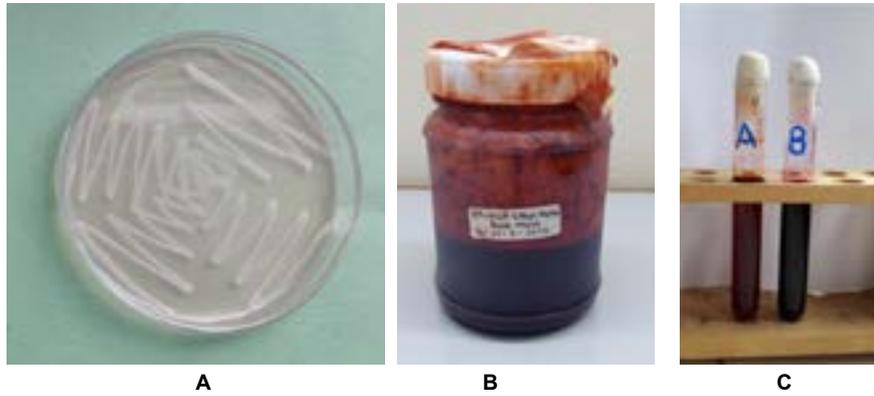
Hasil subkultur *Klebsiella pneumonia* pada lempeng agar biasa setelah diinkubasi pada suhu ruang $\pm 37^{\circ}$ selama kurang lebih 24 jam menunjukkan koloni yang besar, berlendir, berwarna putih dan melekat erat pada media. Pada pemeriksaan pengecatan negatif kapsul bakteri

menggunakan zat warna primer karbol fuksin memperlihatkan bakteri yang berbentuk basil, berwarna merah, dikelilingi lapisan transparan yang menunjukkan kapsul, dan latar belakangnya yang berwarna gelap.

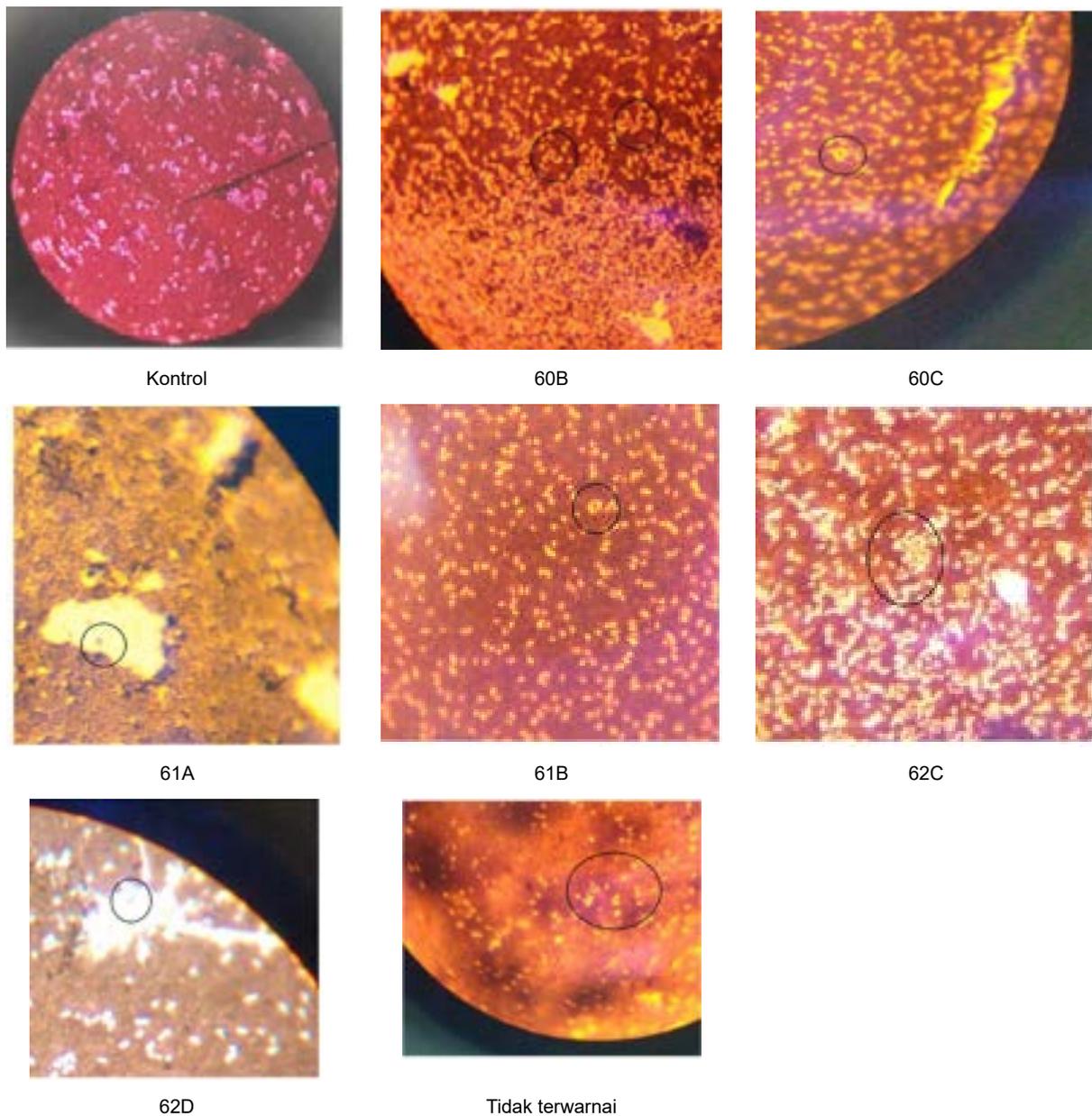
Hasil ekstraksi buah merah yang dilakukan dengan cara maserasi selama kurang lebih 24 jam pada suhu kamar menggunakan pelarut etil asetat, setelah dilakukan penyaringan dan penguapan menggunakan *rotary vacuum evaporator* menghasilkan larutan yang kental dan berwarna merah. Hasil ekstraksi ini kemudian dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan di lemari pendingin untuk menjaga sterilitas.

Tabel 1. Hasil penelitian pendahuluan pengecatan negatif kapsul bakteri

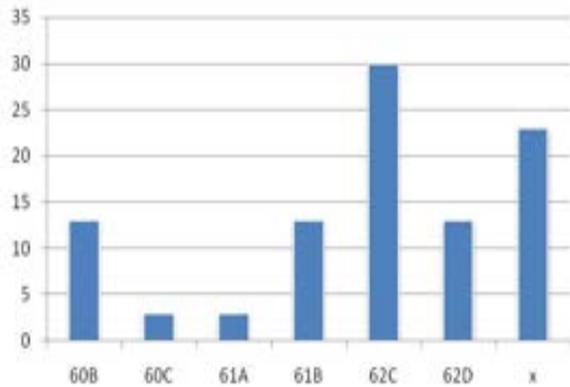
No	Kode warna	Keterangan
Kontrol	62A	<i>Strong purplish red</i>
1	-	Bakteri tidak terwarnai
2	-	Bakteri tidak terwarnai
3	61A	<i>Deep purplish red</i>
4	61B	<i>Strong purplish red</i>
5	61B	<i>Strong purplish red</i>
6	62D	<i>Pale purplish pink</i>
7	-	Bakteri tidak terwarnai
8	62C	<i>Light purplish pink</i>
9	62C	<i>Light purplish pink</i>
10	62C	<i>Light purplish pink</i>
11	-	Bakteri tidak terwarnai
12	62C	<i>Light purplish pink</i>
13	-	Bakteri tidak terwarnai
14	60B	<i>Strong purplish red</i>
15	62D	<i>Pale purplish pink</i>
16	-	Bakteri tidak terwarnai
17	61B	<i>Strong purplish red</i>
18	62C	<i>Light purplish pink</i>
19	60B	<i>Strong purplish red</i>
20	62C	<i>Light purplish pink</i>
21	61B	<i>Strong purplish red</i>
22	60B	<i>Strong purplish red</i>
23	62D	<i>Pale purplish pink</i>
24	-	Bakteri tidak terwarnai
25	62C	<i>Light purplish pink</i>
26	60C	<i>Strong purplish red</i>
27	62D	<i>Pale purplish pink</i>
28	62C	<i>Light purplish pink</i>
29	62C	<i>Light purplish pink</i>
30	60B	<i>Strong purplish red</i>



Gambar 1. A. Hasil subkultur bakteri klebsiella pneumonia pada perbenihan lempeng agar biasa; B. Ekstrak etil asetat buah merah; C. Zat warna (a) ekstrak etil asetat buah merah (b) karbol fuksin



Gambar 2. Preparat hasil warna 60B *Strong purplish red*, 60C *strong purplish red*, 61A *deep purplish red*, 61B *strong purplish red*, 62C *Light Purplish Pink*, 62D *Pale Purplish Pink*, dan tidak terwarnai



Gambar 3. Hasil persentase larutan zat warna ekstrak etil asetat buah merah

Pembuatan zat warna dari ekstrak etil asetat buah merah dilakukan dengan memisahkan sebanyak 10gr ekstrak etil asetat buah merah, kemudian sejumlah ekstrak tersebut dicampurkan ke dalam 100ml alkohol 96% sehingga menghasilkan larutan zat warna yang berwarna merah pekat. Hasil uji pendahuluan seperti yang telah dijelaskan pada metode penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat buah merah dapat menggambarkan morfologi *Klebsiella pneumonia* yang berbentuk basil, berwarna merah, dikelilingi lapisan kapsul transparan, dan latar belakang gelap.

Penelitian ini dilakukan teknik pengecatan negatif kapsul bakteri dengan pengulangan sebanyak 30 preparat, hal ini diharapkan agar hasil yang didapatkan lebih akurat. Hasil uji larutan zat warna ekstrak etil asetat buah merah pada teknik pengecatan negatif kapsul bakteri ini dapat menghasilkan gambaran morfologi *Klebsiella pneumonia*, menunjukkan bakteri yang berbentuk basil, berwarna merah, lapisan kapsul yang mengelilingi bakteri berwarna transparan, dan latar belakang yang berwarna gelap. Hasil mikroskopis yang didapatkan dari preparat *Klebsiella pneumonia* kemudian disesuaikan dengan lembar degradasi warna.

Preparat yang menggunakan zat warna karbol fuksin selanjutnya dijadikan kontrol dan setelah disesuaikan dengan lembar degradasi warna, didapatkan bakteri yang terwarnai mendekati warna (62A) Strong Purplish Pink.

Tabel menunjukkan bahwa larutan zat warna ekstrak etil asetat buah merah pada teknik pengecatan negatif kapsul bakteri dapat menghasilkan beberapa warna yang hampir

menyerupai karbol fuksin. Sebanyak empat preparat mendekati warna (60B) Strong Purplish Red, satu preparat mendekati (60C) Strong Purplish Red, satu preparat mendekati (61A) Deep Purplish Red, empat preparat mendekati (61B) Strong Purplish Red, sembilan preparat mendekati (62C) Light Purplish Pink, empat preparat mendekati (62D) Pale Purplish Pink, dan tujuh preparat bakteri tidak dapat terwarnai.

Hasil pengamatan kemudian dibuat persentasenya, (60B) Strong Purplish Red 13%, (60C) Strong Purplish Red 3%, (61A) Deep Purplish Red 3%, (61B) Strong Purplish Red 13%, (62C) Light Purplish Pink 30%, (62D) Pale Purplish Pink 13%, dan tidak terwarnai 23%. Preparat yang dihasilkan dengan warna (62C) Light Purplish Pink paling banyak sehingga pada tabel menempati posisi tertinggi sebanyak 30%.

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan preparat dibawah mikroskop yang menggunakan larutan zat warna ekstrak etil asetat buah merah didapatkan hasil mikroskopis preparat yang dapat menggambarkan morfologi *Klebsiella pneumonia*, berbentuk basil berwarna merah, dikelilingi oleh kapsul yang terlihat sebagai lapisan transparan, dan latar belakang yang berwarna gelap, meskipun pada akhirnya hasil yang didapatkan menghasilkan warna yang cukup beragam mendekati zat warna primer karbol fuksin.

Ekstrak etil asetat buah merah ini mampu melewati membran sel bakteri, namun karena ukuran molekul yang dihasilkan relatif beragam ukurannya atau besar sehingga tidak semua larutan dapat melewati pori membran sel bakteri dengan baik. Proses pembuatan karbol fuksin menggunakan teknologi dan peralatan modern menghasilkan molekul bubuk dengan ukuran yang lebih halus dengan ukuran molekul yang relatif kecil, hal ini membuat karbol fuksin mampu melewati membran sel bakteri dan mampu mewarnai bakteri dengan baik.

Pelarut etil asetat pada proses pembuatan larutan zat warna ekstrak etil asetat buah merah mampu mengeluarkan semua komponen zat aktif yang terdapat pada buah merah, hal ini diduga juga menjadi salah satu faktor penghambat proses pewarnaan bakteri. Proses pembuatan zat warna

ekstrak etil asetat buah merah jika didukung dengan adanya pemisahan kandungan penyebab warna merah pada buah merah, yaitu betakaroten dan karotenoid diduga dapat mewarnai bakteri dengan baik.

Hasil teknik pengecatan negatif kapsul bakteri yang dilakukan pada 30 preparat, dapat diketahui hasil dari pengecatan ini mampu mendekati zat warna karbol fuksin, dimana jika karbol fuksin disesuaikan dengan lembar degradasi warna mendekati (62A) Strong Purplish Pink, dan hasil preparat terbanyak sejumlah 9 preparat yang menggunakan ekstrak etil asetat buah merah jika disesuaikan dengan lembar degradasi warna mendekati (62C) Light Purplish Pink.

Buah merah memiliki kandungan betakaroten, yang merupakan turunan senyawa karotenoid dan banyak terkandung dalam buah merah. Betakaroten inilah yang menyebabkan warna merah pada buah merah.⁴ Karotenoid tersebut telah banyak dimanfaatkan sebagai pewarna, baik pewarna makanan, pakan ternak, dan kosmetika.⁵ Namun, sejauh ini belum ada penelitian mengenai zat warna yang menggunakan bahan baku buah merah. Kandungan karotenoid yang dominan dan menyebabkan warna merah pada buah merah ini diharapkan mampu masuk ke dalam membran sel bakteri dan selanjutnya memberikan warna pada bakteri.

Bakteri memiliki dinding sel yang terdiri dari membran sitoplasma dan berbagai komponen

lain untuk memberikan bentuk badan bakteri dan melindungi cairan protoplasma. Dinding sel terdiri dari struktur yang berlapis, berpori, dan permeabel terhadap molekul kecil. Salah satu fungsi utama membran sitoplasma yaitu sebagai transport aktif dan difusi selektif molekul dan zat terlarut ke dalam atau keluar sel.¹

SIMPULAN

Ekstrak etil asetat buah merah dapat digunakan sebagai alternatif zat warna pada teknik pengecatan negatif kapsul bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Samaranayake L. *Essential Microbiology for Dentistry*. Churchill Livingstone: Elsevier Limited. 3th ed. 2006. h. 7-9, 103, 142.
2. Cappuccino JG, Sherman N. *Microbiology: A laboratory manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Co; Inc. California. 5th ed. 1987. h. 16-7.
3. Dwidjoseputro, D. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Malang: Djambatan 1998. h. 19.
4. Budi IM, Paimin FR. *Buah merah*. Depok: Penebar Swadaya 2005. h. 12-9, 22-6, 43-5, 47-8.
5. Palupi IA, Martosupono M. *Buah merah: potensi dan manfaatnya sebagai antioksidan*. *J Tumbuh Ob Indo* 2009;2(1):42-8.