

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL EKSTRAK
ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* (L.) O.K)
TERHADAP *Streptococcus mutans* DAN *Lactobacillus acidophilus*
SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**DARU WIYARTI
K 100 090 183**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL EKSTRAK
ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* (L.) O.K)
TERHADAP *Streptococcus mutans* DAN *Lactobacillus acidophilus*
SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

Oleh :
DARU WIYARTI
K.100 090 183

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Selasa
Tanggal : 14 Mei 2013

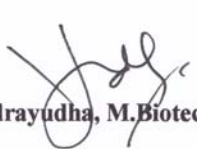
Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,


Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt

Penguji I


Dr. Muhtadi, M.Si

Pembimbing Utama


Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Penguji II


Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Pembimbing Pendamping


Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Mahasiswa


Daru Wiyarti

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL EKSTRAK ETANOL
DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* (L.) O.K) TERHADAP *Streptococcus*
mutans DAN *Lactobacillus acidophilus* SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY METHANOL FRACTION OF ETHANOLIC
EXTRACT OF TEA LEAVES (*Camellia sinensis* (L.) O.K) AGAINST
Streptococcus mutans AND *Lactobacillus acidophilus* AND
BIOAUTOGRAPHY**

**Peni Indrayudha*, Daru Wiyarti, Rima Munawaroh
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Ahmad Yani, Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura 57162
*Email: peni.indrayudha@gmail.com**

ABSTRAK

Ekstrak etanol daun teh hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab karies gigi *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi metanol daun teh hijau terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus* serta untuk mengetahui golongan senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri.

Ekstraksi teh hijau menggunakan penyari etanol 96% dengan metode maserasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode enap-tuang (dekantasi), pelarut yang digunakan meningkat kepolarannya n-heksan, etil asetat, dan metanol. Fraksi metanol diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode dilusi padat untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Analisis kandungan senyawa dengan KLT menggunakan fase gerak n-butanol:etil asetat (9:1) v/v dan fase diam silika GF₂₅₄, serta uji bioautografi untuk mengetahui senyawa yang aktif sebagai antibakteri.

Aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus* memiliki KHM yang sama sebesar 0,5%, sedangkan KBM sampai dengan 1% tidak diperoleh. Hasil uji bioautografi menunjukkan senyawa yang aktif sebagai antibakteri adalah fenolik dan flavonoid pada Rf 0,83.

Kata kunci : *Camellia sinensis* L., *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, antibakteri.

ABSTRACT

The ethanolic extract of green tea leaves have antibacterial activity against the bacteria that causes dental caries Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus. The aim of this study is to determine antibacterial activity of the methanol fraction of ethanol extract of green tea leaves against Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus to know the active constituent as antibacterial.

The extraction method was performed by maceration using 96% ethanol. Method of Fractionation is ponder-cast (decantation), which is used to increase solvent polarity n-hexan, ethyl acetate, and methanol. Methanol fractions were tested antibacterial activity using solid dilution method to observed levels of MIC. The results of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Analysis of the active constituent carried TLC using a mobile phase of n-butanol: ethyl acetate (9:1) v / v and GF₂₅₄ nm silica stationary phase, and bioautography test to determine active constituent as antibacterial.

Antibacterial activity against Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus have the same MIC of 0.5%, while MBC not obtained until 1%. Bioautografi test results showed the antibacterial active compounds are phenolic and flavonoid at R_f 0.83

Keywords: Camellia sinensis L., Streptococcus mutans, Lactobacillus acidophilus, Antibacterial

PENDAHULUAN

Infeksi pada rongga mulut yang sering ditemui adalah karies gigi. Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yang disebabkan oleh bakteri. Kerusakan gigi tersebut dimulai dari permukaan email gigi yang seluruhnya non seluler mengalami demineralisasi dan terus berkembang ke arah dalam. Hal ini merupakan akibat dari produk fermentasi bakteri yang bersifat asam kemudian terjadi dekomposisi dentin matriks protein oleh bakteri (Jawetz *et al.*, 2005). Mikroorganisme penyebab karies tersebut di antaranya adalah bakteri dari jenis *Streptococcus* dan *Lactobacillus* (Beighton *et al.*, 2004).

Kesehatan gigi dan mulut masyarakat Indonesia termasuk penyakit karies gigi merupakan hal yang masih perlu mendapat perhatian serius dari tenaga kesehatan. Hal ini digambarkan menurut data terbaru yang dikeluarkan Departemen Kesehatan dari Riskesdas tahun 2007, sekitar 72% penduduk Indonesia mempunyai pengalaman karies dan 46,5 di antaranya merupakan karies aktif yang belum dirawat (Badan POM, 2012).

Tanaman obat pada saat ini banyak digunakan sebagai alternatif untuk pengobatan karena dalam beberapa hal tertentu lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan obat sintetik atau modern. Salah satu tanaman tersebut adalah tanaman teh yang berfungsi untuk mengobati karies gigi (Hartoyo, 2003).

Hasil penelitian Tahir dan Moeen (2011) menunjukkan ekstrak air dan ekstrak etanol teh hijau mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus* yang merupakan bakteri penyebab utama karies gigi. Ekstrak air menghasilkan KHM terhadap masing-masing bakteri sebesar 0,9 dan 0,8 mg/mL, sedangkan untuk ekstrak etanol memberikan KHM yang sama sebesar 0,7 mg/mL.

Suprastiwi (2006) menyatakan polifenol dari teh hijau Jepang dapat menghambat pertumbuhan semua jenis bakteri *Streptococcus mutans*. Polifenol didominasi oleh senyawa katekin (Hirasawa, 2006). Erol (2009) meneliti adanya kandungan polifenol pada ekstrak etanol, metanol, dan air. Katekin mengandung 2 cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu (Hartoyo, 2003). Robinson (1995) menyatakan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus hidrofil memiliki tingkat kelarutan yang besar dalam pelarut polar, sehingga dalam hal ini dipilih pelarut metanol untuk melarutkan senyawa aktif sebagai penghambat pertumbuhan bakteri penyebab karies gigi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Vacuum rotary evaporator (Heidolph), *waterbath* (Memmert), neraca analitik, mikropipet (Socorex), *Chamber KLT*, inkubator (Memmert), ose, lampu bunsen, alat-alat gelas, lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, *Laminar Air Flow* (LAF) (Astari Niagara), mikroskop (Olympus), autoklaf (My Life), dan oven (Memmert)..

Daun teh hijau, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, metanol teknis, cat Gram, media *Kliger Iron Agar* (KIA) (Merck), media *Lysine Iron Agar* (LIA) (Oxoid), media *Motility Indole Ornithine* (MIO) (Difco), media Agar darah, media *Manitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid), akuades, media *Mueller Hinton* (MH) (Oxoid), media *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid), *Nutrien Agar* (NA) (Oxoid), bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus*, DMSO 5% (Merck), standar Mc. Farland III $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Remel), NaCl 0,9% (Sigma). Metanol, butanol, etil asetat, fase

diam (*silica gel* GF₂₅₄), pereaksi semprot menggunakan FeCl₃, Dragendroff, I/HCl, Lieberman Burchard, dan Sitroborat pro analisis.

Ekstraksi dan fraksinasi daun teh hijau

Serbuk simplisia sebanyak 1000 gram dimaserasi menggunakan 7500 ml etanol 96% selama 3 hari. Hasil maserat diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental etanol 96% daun teh hijau.

Fraksinasi dilakukan dengan metode enap-tuang (dekantasi) menggunakan 50 mL pelarut n-heksan tiap 2,5 g ekstrak etanol kental. Ekstrak yang tidak larut n-heksan ditambahkan 50 mL pelarut etil asetat, dipisahkan antara yang larut dan tidak larut etil asetat. Ekstrak yang tidak larut etil asetat ditambahkan 50 mL metanol, dipisahkan antara yang larut dan tidak larut metanol. Ekstrak yang larut dalam metanol disebut fraksi metanol. Fraksi metanol dievaporasi dan diuapkan di atas *waterbath* pada suhu <60°C. Fraksi ditimbang untuk menghitung rendemen. Total ekstrak yang digunakan untuk fraksinasi adalah 79,96 g.

Pengecatan Gram dan uji biokimia bakteri

Pengecatan Gram dilakukan dengan cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D. Preparat diperiksa di bawah mikroskop pada perbesaran lensa okuler x lensa obyektif sebesar 1000 kali.

Uji biokimia untuk bakteri *S. mutans* yaitu uji katalase, kultur pada media media MSA dan kultur di media agar darah. Uji biokimia untuk *L. acidophilus* yaitu dengan media KIA, LIA, MIO. Inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Pembuatan Larutan Stok dan Seri Konsentrasi Fraksi Metanol Ekstrak Etanol Daun Teh hijau

Larutan stok dibuat dengan menimbang 0,3 g fraksi metanol dilarutkan dalam 6 mL DMSO 5%. Fraksi polar ekstrak etanol daun teh hijau untuk pengujian terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus* masing masing dibuat seri konsentrasi 1%, 0,75%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, dan 0,075% (b/v). Dari stok 5% diambil 1000 µL, 750 µL, 500 µL, 250 µL, 100 µL, dan 75 µL, ditambahkan DMSO 5% (0 µL, 250 µL, 500 µL, 750 µL, 900 µL, dan 1250 µL), dan masing masing ditambahkan media NA 4 mL.

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi Padat

25 µL bakteri setara Mc Farland $1,5 \times 10^6$ CFU /mL diteteskan pada media, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. KHM merupakan kadar terkecil yang menunjukkan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditandai oleh tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media. Tabung yang tidak ada pertumbuhan bakteri dilakukan subkultur dengan menggoreskan 1 ose ke media NA baru dan diinkubasi. KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media padat.

Uji kandungan senyawa dengan KLT

Larutan stok 2% (v/v) dalam metanol ditotolkan pada plat KLT sebanyak 5 µL, dielusi dengan n-butanol:etil asetat (9:1) (v/v). Deteksi kandungan senyawa kimia menggunakan UV 254_{nm}, UV 366_{nm}, pereaksi semprot FeCl₃, Dragendroff, I/HCl, Lieberman Burchard, dan Sitroborat. Deteksi senyawa saponin dengan uji buih dengan cara menambahkan air panas (1:1) pada sampel sambil dikocok selama ± 5 menit, jika menimbulkan busa stabil selama minimal 15 menit menunjukkan positif senyawa saponin (Setiawan, 2012).

Uji kandungan senyawa aktif antibakteri dengan metode bioautografi kontak

Frakasi metanol 2% (b/v) ditotolkan 5 µL pada plat. Plat diletakkan pada permukaan media NA dalam petri yang masing-masing telah diinokulasi bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus* 10^8 CFU/ml sebanyak 200 µL selama 20 menit kemudian plat diangkat dan diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat ditandai dengan terbentuknya zona jernih pada media dengan latar belakang keruh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengecatan Gram

Berdasarkan pengamatan bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus* berwarna ungu. Warna ungu tersebut terjadi karena kedua bakteri tersebut menyerap cat Gram A (karbol ungu kristal) di dinding sel dan protoplasma (Radji, 2010). Hasil pengecatan Gram setelah diamati di bawah mikroskop menunjukkan ciri-ciri yang sesuai dengan pustaka, bahwa bakteri *S. mutans* berbentuk bulat dan susunan

berantai dan bakteri *L. acidophilus* berbentuk batang pendek dan susunan menyebar.

Hasil Uji Biokimia

Hasil uji katalase terhadap bakteri *S. mutans* menunjukkan katalase negatif, hal ini sesuai dengan teori yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara (O_2) (Kleyn *et al.*, 2001). Pada bakteri katalase negatif tidak memiliki enzim katalase sehingga hidrogen peroksida (H_2O_2) yang diberikan tidak diuraikan oleh bakteri, sehingga tidak menghasilkan oksigen dan air (Hart dan Shears, 1997).

Hasil uji media MSA menunjukkan bahwa terjadi perubahan warna dari merah menjadi kekuningan pada bagian atas dan bawah media. Hal ini membuktikan bahwa bakteri *S. mutans* memiliki karakteristik dapat menfermentasi manitol sesuai dengan percobaan yang dilakukan oleh Herdiyati (2007). Uji biokimia selanjutnya yaitu pada media agar darah. Percobaan Jebur (2012) menyatakan bahwa *S. mutans* mampu menghemolisis darah. Hasil uji terlihat adanya pertumbuhan bakteri dan mampu menghemolisis sebagian darah dan ditandai dengan warna hijau di sekeliling koloni sehingga disebut alfa hemolitik. Hasil uji biokimia secara keseluruhan membuktikan bahwa identifikasi *S. mutans* sesuai dengan teori.

Hasil uji katalase terhadap bakteri *L. acidophilus* menunjukkan katalase negatif, hal ini sesuai dengan pernyataan (Kleyn *et al.*, (2001) yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara (O_2). Hasil uji identifikasi pada media KIA sesuai dengan pernyataan Nizori *et al.*, (2007) yaitu bakteri *L. acidophilus* dapat meningkatkan produksi asam laktat dengan cara memfermentasi glukosa dan laktosa yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari merah menjadi kuning. Pada uji media LIA terjadi pemecahan lisin dan tidak terbentuk H_2S , pada media bagian miring memberikan warna ungu yang menandakan bahwa produk hasil reaksi dekarboksilasi lisin bersifat basa (Brisse *et al.*, 2009). Hasil pengujian media MIO terjadi perubahan berwarna ungu sehingga dapat menunjukkan *L. acidophilus* memiliki enzim *ornithine* dekarboksilase, dan bersifat non motil dengan tidak adanya awan pada medium (Raghavan *et al.*, 2011). Hasil

uji membuktikan bahwa identifikasi biokimia pada *L. acidophilus* sesuai dengan teori.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Pelarut etanol digunakan karena merupakan pelarut yang tidak beracun, bersifat netral, tidak mudah ditumbuhi jamur, absorpsi simplisia baik ke dalam jaringan simplisia, serta merupakan pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar maupun nonpolar karena kemampuannya dalam meningkatkan permeabilitas dinding sel dan panas untuk pemekatan lebih kecil sehingga dapat menghindari kerusakan senyawa yang terkandung (Sarker *et al.*, 2006).

Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Keuntungan dari alat ini yaitu dapat mempercepat proses pemekatan dengan panas yang tidak terlalu tinggi (60°C) sehingga memperkecil kemungkinan rusaknya senyawa. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 60°C untuk menghilangkan kandungan air hingga diperoleh ekstrak kental yang tidak mengandung air. Rendemen ekstrak etanol 96% yang diperoleh sebesar 8,00%, yaitu dari 1000 g serbuk daun teh hijau menjadi 80,00 g ekstrak.

Metode yang digunakan untuk memfraksinasi ekstrak adalah fraksinasi padat cair dengan dekantasi. Ekstrak kental difraksinasi berturut-turut menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu n-heksan dan etil asetat. Fraksi yang tidak larut etil asetat dilarutkan dalam metanol dan disebut fraksi metanol. Hasil fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau dari dua kali fraksinasi diperoleh rendemen 42,28%.

Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Metanol

Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri Gram positif yang merupakan penyebab utama karies gigi (Shivakumar *et al.*, 2009). Metode dilusi padat dilakukan karena fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau yang digunakan berwarna gelap atau kecoklatan, sehingga dengan menggunakan metode ini homogenitas antara fraksi dan media akan lebih baik serta akan mempermudah dalam pengamatan hasil. Uji aktivitas dengan metode ini dilakukan secara kualitatif yaitu dengan membandingkan pertumbuhan bakteri dengan kontrol media, bakteri, dan pelarut.

Kontrol media yang digunakan adalah NA yang berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi pada media. Bakteri akan mengubah protein menjadi asam amino dengan menggunakan enzim atau asam sehingga protein dapat dicerna oleh bakteri. Kontrol pertumbuhan bakteri dibuat dengan media NA dan suspensi bakteri untuk mengetahui pertumbuhan bakteri. Kontrol pelarut berisi media NA, pelarut DMSO 5% dan suspensi bakteri yang digunakan untuk mengetahui pengaruh pelarut DMSO terhadap pertumbuhan bakteri. DMSO merupakan pelarut yang digunakan untuk membantu melarutkan fraksi metanol agar terdistribusi merata pada media NA.

Hasil KHM dan KBM diperoleh dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi. Inkubasi dilakukan selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C karena pada suhu dan rentang waktu tersebut pertumbuhan bakteri dapat optimal. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu 1%, 0,75%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, dan 0,75% (b/v), KHM yang diperoleh adalah 0,5% serta KBM sampai dengan 1% tidak diperoleh (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil penentuan KHM dan KBM fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus* (n= 4)

No	Konsentrasi % b/v	Hasil Pengamatan			
		<i>Streptococcus mutans</i>		<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
		Dilusi padat	Subkultur media padat	Dilusi padat	Subkultur media padat
1	1,00%	--	++	--	++
2	0,75%	--	++	--	++
3	0,50%	--	++	--	++
4	0,25%	++	X	++	X
5	0,10%	++	X	++	X
6	0,075%	++	X	++	X
7	K1	++	X	++	X
8	K2	++	++	++	++
9	K3	--	--	--	--
Ket	(--)	: tidak ada pertumbuhan		K1	: kontrol DMSO 5%
	(++)	: ada pertumbuhan bakteri		K2	: kontrol suspensi bakteri
	(X)	: tidak dilakukan		K3	: kontrol media

Tahir dan Moeen (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak air teh hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus*. Berdasarkan hasil pengamatan fraksi metanol dari ekstrak etanol daun teh hijau juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus* dengan KHM 0,5 %. Bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus* merupakan suatu bakteri Gram positif (Hart dan Shears, 1997) yang memiliki komponen dinding sel terdiri dari tiga lapisan selaput sitoplasma, serta lapisan peptidoglikan yang tebal (Jawetz *et al*, 2001). Menurut Hertiani *et al.*, (2003) komponen dinding sel bakteri Gram

positif mempunyai komposisi yang bersifat polar, sehingga senyawa dari fraksi metanol yang bersifat polar akan mudah masuk dalam dinding sel kemudian menghambat pertumbuhan sel bakteri.

Menurut Mitscher *et al.* (1972) dalam Astuti *et al.*, (2002) suatu ekstrak dikatakan poten jika mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi $\leq 0,1\%$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi metanol dari ekstrak daun teh hijau tidak poten terhadap bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus*. Penelitian lain dari fraksi air ekstrak air menyebutkan daun teh hijau juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif *Streptococcus pyrogenesis* (Kim *et al.*, 2008).

Kromatografi

Komposisi pucuk teh daun muda yang bersifat polar diantaranya adalah flavanol termasuk golongan senyawa katekin, flavonol glukosida, proantosianidin, kafein, asam amino, karbohidrat, asamorganik, saponin, pigmen, vitamin, dan mineral (Setiawan, 2012).

Menurut Harborne (1996) pereaksi semprot FeCl_3 digunakan untuk mendeteksi senyawa fenolik. Secara visual akan memberikan warna hijau, biru, merah atau hitam. Hasil KLT menunjukkan adanya senyawa fenolik dengan bercak hitam pada R_f 0,24, R_f 0,67, dan R_f 0,83. Senyawa fenolik atau polifenol yang terkandung dalam teh adalah tanin (Jambang, 2004). Penelitian Gao *et al.*, (2008) melakukan isolasi fenolik menggunakan metode HPLC. Tanin dalam teh memiliki khasiat untuk obat penyakit gula, pengaturan keseimbangan hormon yang dikeluarkan oleh pankreas, obat cacing, dan antibiotik (Depadua *et al.*, 1999).

Senyawa saponin secara visual dengan peraksi semprot Liebermann-Burchard (LB) memberikan warna hijau atau biru untuk saponin steroid dan warna merah muda, merah, ungu atau violet untuk saponin triterpenoid (Farnsworth, 1966). Hasil deteksi menunjukkan bercak keunguan pada R_f 0,55 dan 0,70 yang menandakan adanya senyawa saponin triterpenoid pada fraksi metanol dari ekstrak etanol daun teh hijau. Hal ini diperkuat dengan hasil positif pada uji buih yaitu adanya busa yang stabil lebih dari 15 menit dan tinggi 1 cm. senyawa saponin yang terkandung di dalam teh diantaranya triterpenoid dan steroid (Robinson, 1995). Uji buih juga dilakukan oleh Herdiyati (2007) yang

menyatakan adanya saponin triterpenoid pada daun teh. Saponin merupakan senyawa yang memberikan rasa pahit pada teh, saponin memiliki khasiat menghambat pertumbuhan kanker kolon dan menjaga kadar kolesterol (Widiana, 2012).

Deteksi Senyawa derivat purin (kafein, teobromin) dapat dideteksi menggunakan reagen I/HCl yang secara visual pada kafein memberikan warna coklat tua, sedangkan teobromin memberikan warna abu-abu (Wagner dan Bladt, 1996). Hasil deteksi menunjukkan bercak coklat tua pada Rf 0,16, Rf 0,37, Rf 0,70, dan Rf 0,91 yang menandakan adanya sanyawa alkaloid purin. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Gao *et al.*, (2008) yang melakukan isolasi kafein pada daun teh menggunakan metode HPLC. Kafein dalam daun teh memiliki khasiat diantaranya adalah untuk pengobatan jantung, stimulant, dan peluruh kencing (Yu *et al.*, 2009).

Senyawa alkaloid menggunakan Dragendorff memberikan warna *orange* atau coklat setelah dipanaskan selama 5-10 menit pada suhu 100°C (Wagner dan Bladt, 1996). Hasil analisis menunjukkan bercak warna coklat pada Rf 0,16, Rf 0,37, Rf 0,67, dan Rf 0,91 menandakan adanya alkaloid.

Tabel 2. Hasil KLT fraksi metanol dari ekstrak etanol daun teh hijau dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ nm dan fase gerak n-butanol: etil asetat (9:1) v/v dengan jarak pengembangan 6 cm.

Rf	Bercak sebelum disemprot		Deteksi pereaksi semprot					Perkiraan senyawa
	Sinar UV (nm)		FeCl ₃	LB	I/HCl	DG	STB	
	254	366	Vis	Vis	Vis	Vis	UV 366	
0,16	Pem	F. merah	-	-	C. tua	C	-	Klorofil, alkaloid purin, alkaloid
0,24	-	-	-	C	-	-	KH	Fenolik, flavonoid
0,37	Pem	-	H	-	C. tua	C	-	Alkaloid purin, alkaloid
0,48	-	-	-	-	-	-	Biru	-
0,55	-	F. merah	-	Ungu	-	-	Orange	Klorofil, Saponin triterpenoid
0,67	-	-	H	-	-	C	-	Fenolik, alkaloid
0,70	-	-	-	Ungu	C. tua	-	Biru	Saponin triterpenoid, Alkaloid purin
0,83	-	F. merah	H	-	-	-	KH	Klorofil, Fenolik, flavonoid
0,91	Pem	-	-	-	C. tua	C	-	Alkaloid purin, alkaloid
Ket	Pem	: Pemadaman				DG	: Dragendorff	
	LB	: Liebermann-Burchard				KH	: Kuning Kehijauan	
	C	: Coklat				Vis	: Visual	
	F	: Fluoresensi				H	: Hitam	
	STB	: Sitroborat						

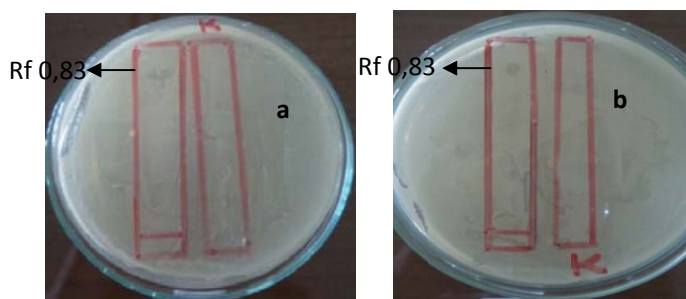
Deteksi senyawa flavonoid dilakukan dengan pereaksi sitroborat. Setelah dipanaskan selama 5-10 menit pada suhu 100°C akan terjadi fluoresensi kuning, kehijauan pada UV 366_{nm} (Markham, 1988). Pada hasil pengamatan adanya fluoresensi kuning kehijaun pada Rf 0,24 dan Rf 0,83 menandakan adanya

senyawa flavonoid. Isolasi flavonoid pada teh telah dilakukan oleh Peterson *et al.*, (2004). Flavonoid teh Teh hijau terdiri dari sekitar 30% polifenol seperti flavanol, flavandiols, flavonoid dan asam fenol. Polifenol telah dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis yang sangat baik seperti antikanker, penghambatan alergi, pencegahan gout, penghambatan oksidasi, dan antimikroba (Hoh, 2007).

Berdasarkan hasil KLT tersebut, dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau mengandung senyawa diantaranya fenolik, saponin triterpenoid, alkaloid derivat purin (kafein), alkaloid, dan flavonoid.

Bioautografi

Hasil penelitian menunjukkan fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus*, sehingga dilakukan uji bioautografi untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa aktif ditandai dengan adanya area jernih pada media NA dengan latar belakang keruh, kemudian Rf bercak dicocokkan dengan deteksi KLT.

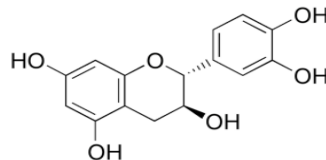


Gambar 1. Hasil uji bioautografi terhadap (a) *S. mutans* (b) *L. acidophilus*

Hasil analisis bioautografi menunjukkan adanya area jernih pada media NA dengan Rf 0,83 pada masing-masing bakteri *S. mutans* (Gambar 1a) dan *L. acidophilus* (Gambar 1b). Berdasarkan hasil deteksi kandungan senyawa pada fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau dengan KLT Rf 0,83 menunjukkan senyawa fenolik dan flavonoid kecil, sehingga dapat disimpulkan senyawa yang bertanggungjawab sebagai antibakteri terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus* adalah fenolik dan flavonoid.

Penelitian Yulia (2006) fenol pada daun teh Var. *Assamica* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans*. Senyawa fenolik memiliki aktivitas

antimikroba dengan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme, sehingga menyebabkan isi sel keluar dan menyebabkan kematian pada bakteri. Senyawa fenolik atau polifenol yang terkandung dalam teh adalah tanin. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang larut dalam pelarut polar karena adanya kandungan gugus hidroksil (Jambang, 2004).



Gambar 2. Struktur katekin

Penelitian Hoh (2007) menyatakan flavonoid teh Sabah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Listeria monocytogene*. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat di alam. Flavonoid dapat digolongkan menjadi enam kelas, yaitu flavon, flavanon, isoflavon, flavonol, flavanol, dan antosianin. Kelas utama flavonoid yang ditemukan di dalam teh adalah flavanol dan flavonol (Robinson, 1995). Katekin yang terdapat dalam daun teh merupakan flavonoid jenis flavanol yang larut dalam pelarut polar (Hartoyo, 2003). Katekin bekerja dengan cara merusak membrane sitoplasma sehingga sel bakteri akan rusak dan mati (Cushnie, 2005).

KESIMPULAN

1. Fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus*. Hasil KHM terhadap kedua bakteri tersebut sama yaitu masing-masing sebesar 0,5%, sedangkan KBM tidak diperoleh sampai dengan konsentrasi 1%.
2. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus* adalah fenolik dan flavonoid.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau terhadap bakteri lain, serta penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang lebih spesifik bertanggungjawab sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. mutans* dan *L. acidophilus* menggunakan senyawa pembanding katekin.

DAFTAR ACUAN

- Badan POM, 2010, *Acuan Sediaan Herbal*, 64-65, Direktorat OAI, Deputi II, Jakarta, Badan POM
- Beighton, D., Brailsford, S., Samarayanake, L. P., Brown, J. P., Ping, F. X. & Mils, D. G., *et al.*, 2004, A Multi Country Comparison of Caries Associated Microflora in Demografihically Diverse Dhildren, *Community Dental Health*, 21(1), 96 – 1
- Brisse, S., Fevre, C., Passet, V., Sylvie, I., Tournebize, R., Diancourt, L., *et al.*, 2009, Virulent Clones of *Klebsiella pneumoniae*: Identification and Evolutionary Scenario Based on Genomic and Phenotypic Characterization, *PLOS ONE*, 4 (3), 1-13
- Cushnie, T. P., & Andrew J. Lamb, 2005, Antimicrobial Activity of flavonoids, *Internasional Journal of Antimicrobial Agents*, 26(1) 343–356
- DePadua, L.S., N.B. Praphatsara, & R.H.M.J. Lemmens. 1999. Prosea Plant Resources of South-East Asia, *Medical and Poisonus Plants 1*, Backhuyus Publisher, Leiden, Netherland, 12(1), 711
- Erol, T.N., Sari, F., Polat, G., Velioglu, S. Y., 2009, Antioxidant and Antibacterial Activities of Various Extract and Fraction of Fresh Tea Leaves and Green Tea, *Tarim Bilimleri Dergisi*, Ankara Univesitesi Ziraat Fakultesi, 15 (4), 371-378
- Farnsworth, N. R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 (3), 225-276
- Gao, D, F., Zhang, Y., Yang, C., Chen, K., & Jiang, H., 2008, Phenolic Antioxidants from Green Tea Produced from *Camellia taliensis*, *China J. Agric. Food Chem*, 56, 7517–7521 7517
- Hartoyo, A., 2003, *Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan*, 15, 28-29, Yogyakarta, Kanisius
- Hart, Tony & Shears, Paul., 1997, *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*, 73, 76, 80, 82, 93, 111, Jakarta, Penerbit Hipokrates
- Herdiyati, Y., 2007, Keberadaan Bakteri – Bakteri Pembawa Gen Gtf B/C yang Mengekspresikan Enzim Glukosiltransferase Pada Anak Rampan Karies, *Tesis*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran Bandung
- Hertiani, T., Palupi, S.I., Sanliteriati, & Nurwindasari, D. H., 2003, Uji In Vitro Potensi Antimikroba terhadap *Staphilococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysentriae* dan *Candida albicans* dari Beberapa Tanaman Obat

- Tradisional untuk Penyakit Infeksi, *Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon*, 4(2), 89-95
- Hirasawa, M., Takada, K. & Otake B., 2006, Inhibitoin of Acid Production in Dental Plaque Bacteria by Green Tea Catechins. *Caries J.Research*, 40 (3), 265-270
- Hoh, S.N., & Chye, F. Y., 2007, Antimicrobial Activity of Flavonoid Extracts from Sabah Tea (*Camelia Sinensis*) against *E.Coli* and *L. monocytogenes*, *J.Trop. Agric. And Fd. Sc*, 35(2), 254-251
- Jambang, N., 2004, Study Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan pada 10 Merk Teh Hitam yang Beredar di Pasaran Kota Malang, *Skripsi*, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang
- Jawetz, E., Melnick, J. L. & Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Maulany, R. F. & Edinugroho, 280, Jakarta, Salemba Medika
- Jebur, Mohammed Sh., 2012, Impacts of Virulence Factors of Streptococcus mutans Isolates on the Pathogenesis of Acute Vaginitis, *International Journal of Nursing and Midwifery*, 4(2), 16-20
- Kim, S. H., Lee, L. S., Bae, S. M., Han, S. J., Lee, B. R. & Ahn, W. S., 2008, Antimicrobial and Antifungi Effects of a Green Tea Extract Against Vaginal Pathogens, *Journal of Women's Medicine*, 1 (1), 27-36
- Kleyn, J. & Bicknell, M., 2001, *Microbiology Experiments: A Health Science Perspective*, Third Edition, 40, 199-202, 323, New York, McGraw-Hill
- Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., 1-53, Bandung, ITB
- Nizori, A., Suwita, V., Surhaini, Mursalin, Melisa, Sunarti, T. C. & Warsiki, E., 2007, Pembuatan Soyghurt Sinbiotik Sebagai Makanan Fungsional dengan Penambahan Kultur Campuran *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus acidophilus*, *J Tek. Ind Pert*, 18(1), 28-33
- Radji, M., 2010, Buku Ajar *Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 99, Jakarta, EGC.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, 54, Bandung, ITB.

- Suprastiwi, E., 2006, Efek Antimikroba Polifenol dari Teh Hijau Jepang terhadap *Streptococcus Mutans*, *Laporan Penelitian*: Dep.I.Konservasi Gigi FKG-UI.
- Setiawan, T. H., 2012, Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Akstrak Ampas Teh Hijau, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana Salatiga
- Tahir, A. & Moeen, R., 2011, Comparison of Antibacterial Activity of Water and Ethanol Extracts of *Camellia sinensis (L.)* Kuntze Against Dental Caries and Detection of Antibacterial Components, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(18), 1996-0875
- Wagner, H. & Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Edition, 6, 152, 197, German, Springer
- Widiana, R., 2012, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Teh (*Camellia Sinensis L.*) pada *Escherichia Coli* dan *Salmonella sp*, *e-Jurnal pelangi STKIP PGRI Sumbar*, 4 (2), 2252-7168
- Yulia, R., 2006., Kandungan Tanin dan Potensi Anti *Streptococcus Mutans* Daun Teh Var. *Assamica* pada Berbagai Tahap Pengolahan, *skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor