

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sebagian besar infeksi disebabkan oleh bakteri, jamur, virus, dan parasit (Brooks *et al.*, 2008). 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 *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus* yang merupakan bakteri penyebab utama karies gigi. Ekstrak air menghasilkan kadar hambat minimal (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. Xu *et al.*, (2011) mengemukakan kandungan senyawa aktif pada teh yang berpengaruh pada pengobatan karies gigi adalah senyawa epigalokatekin galat (EGCG), senyawa tersebut menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. mutans* dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) 15,6 µg/mL (penghambatan sedikitnya 90% dari pembentukan biofilm 625 µg/mL). Senyawa EGCG merupakan salah satu senyawa dari jenis katekin. 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.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus* serta bioautografinya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat disusun perumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah fraksi metanol daun teh hijau mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*, serta berapa Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM)?
2. Senyawa kimia apakah yang terkandung dalam fraksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui fraksi metanol teh hijau mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*, serta Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM).
2. Mengetahui senyawa kimia fraksi metanol ekstrak etanol teh hijau yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman teh

Tanaman teh dapat tumbuh pada ketinggian 200-2.300m di atas permukaan laut. Ada dua kelompok varietas teh yang terkenal, yaitu var. *assamica* yang berasal dari Assam dan var. *sinensis* yang berasal dari Cina. Pohon kecil, karena seringnya pemangkasan maka tampak seperti perdu. Bila tidak dipangkas, akan tumbuh kecil ramping setinggi 5-10 m dengan bentuk tajuk seperti kerucut (Dalimartha, 2008).

Teh diklasifikasikan menjadi 3 jenis yaitu teh hijau (*green tea*), teh oolong (*oolong tea*), dan teh hitam (*black tea*). Teh hijau dibuat dengan cara menginaktivasi oksidase/ fenolase yang ada dalam pucuk daun teh segar, dengan cara pemanasan atau penguapan menggunakan uap panas, sehingga oksidasi enzimatis terhadap katekin dapat dicegah. Teh hitam dibuat dengan cara memanfaatkan terjadinya oksidasi enzimatis terhadap kandungan katekin teh. Teh oolong dihasilkan melalui proses pemanasan yang dilakukan segera setelah proses rolling penggulungan daun, dengan tujuan untuk menghentikan proses fermentasi (Hartoyo, 2003).



Gambar 1. Tanaman Teh dari Perkebunan Teh Kemuning, Jawa Tengah

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman teh sebagai berikut (Backer & Van den Brink, 1965):

Devisi	: Spermatophyte
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Dialypetalae
Ordo (bangsa)	: Guttiferales (Clusiales)
Famili (suku)	: Camelliaceae (Tehaceae)
Genus (marga)	: Camellia
Spesies (jenis)	: <i>Camellia sinensis</i>

b. Nama Daerah tanaman teh hijau (*Camellia sinensis* L.) (Anonim, 2010):

Tabel 1. Nama daerah dari teh hijau

Daerah	Nama Lain
Jawa	Teh (Jawa), Nteh (Sunda).
Nusa Tenggara	Rembiga (Sasak), Kore (Bima), Krokoh, Kapauk (Roti).
Sulawesi	Rambega (Bugis).

c. Kandungan

Alkaloid purin/metil santin (kafein, teobromin, teofilin), saponin, triterpen (aglikon baringtogenol C, RI-baringenol), katekin (epikatekin, epigalokatekin, epigalokatekin galat, teaflavin, tearubigen), flavonoid (kuarsetin, kaemferol,

mirisetin), derivat asam kafeat: (asam klorogenat dan teogalin), Minyak atsiri (linalool, 2-metil-hepta-2-en-6-on, á-ionon dan â-ionon) (Anonim, 2010). Polifenol didominasi oleh senyawa katekin (Hirasawa, 2006).

d. Manfaat daun teh

Kuncup daun teh diyakini berkhasiat sebagai obat kuat, anti kejang, peluruh keringat, perangsang syaraf, pelancar dahak, obat batuk, penenang, pelancar pencernaan, antidiare, dan menurut hasil penelitian air teh hijau kental dapat membasmi kuman dan virus, mencegah penyakit kanker, menguatkan email gigi dan mencegah kerusakan gigi (Astawan, 2004).

2. Metode ekstraksi dan fraksinasi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan zat pokok yang diinginkan dengan menggunakan pelarut tertentu agar zat yang diinginkan dapat larut (Ansel, 2005). Salah satu metode ekstraksi dikenal dengan maserasi yaitu proses dengan cara perendaman dalam *menstruum* atau pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Bahan yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bersama *menstruum* atau pelarut, kemudian ditutup dan dikocok berulang-ulang selama 2-14 hari (Sarker *et al.*, 2005).

Fraksinasi adalah suatu proses untuk memisahkan berbagai macam senyawa baik senyawa utama atau yang lainnya yang terkandung dalam ekstrak. Prosedur fraksinasi dilakukan berdasarkan tingkat kepolarannya. Hal ini akan memberikan hasil yang berbeda tergantung dengan jumlah dan jenis senyawa yang terkandung di dalam tanaman tersebut (Sarker *et al.*, 2005). Fraksinasi partisi padat-cair dengan dekantasi dilakukan untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak (Badan POM, 2000).

3. Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme bersel satu, berkembang biak dengan membelah diri, dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop (Jawetz *et al.*, 2005).

a. *Streptococcus mutans*

1). Klasifikasi

Kingdom : Monera
Divisio : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Lactobacilalles
Famili : Sterptococcaceae
Genus : Streptococcus
Spesies : *Streptococcus mutans* (Tuminah, 2004).

2). Morfologi dan identifikasi

Streptococcus mutans adalah flora normal rongga mulut, mempunyai bentuk sel bulat atau lonjong dengan garis tengah sekitar 2 μ m. Koloninya berpasangan atau berantai, bergerak dan tidak berspora, metabolismenya anaerob, namun dapat hidup secara anaerob fakultatif dan mempunyai 8 serotipe (Suprastiwi, 2006).

3). Gambaran klinis

Pada karies setelah memakan sesuatu yang mengandung gula, terutama adalah sukrosa glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) bertahan pada gigi untuk mulai pembentukan plak. Pada waktu yang bersamaan bakteri *Streptococcus mutans* juga bertahan pada glikoprotein itu. Bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhir dari glikolisis di bawah kondisi-kondisi anaerobik adalah asam laktat. Asam laktat ini menciptakan kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH yang dalam jumlah tertentu menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi dan mendorong ke arah pembentukan suatu rongga atau lubang. Bakteri *S. mutans* mempunyai suatu enzim yang disebut glukosil transferase di atas permukaannya yang dapat menyebabkan polimerisasi glukosa pada sukrosa dengan pelepasan dari fruktosa, sehingga dapat mensintesa molekul glukosa yang memiliki berat molekul yang tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) dan alfa (1-3). Pembentukan alfa (1-3) ini sangat lengket, sehingga tidak larut dalam air. Hal ini dimanfaatkan oleh

bakteri *S. mutans* untuk berkembang dan membentuk plak pada gigi. Enzim yang sama melanjutkan untuk menambahkan banyak molekul glukosa ke satu sama lain untuk membentuk dextran yang mana memiliki struktur sangat mirip dengan amylose dalam tajin. Dextran bersama dengan bakteri melekat dengan erat pada gigi enamel dan menuju ke pembentukan plak pada gigi. Hal ini merupakan tahap dari pembentukan rongga atau lubang pada gigi (Nugraha, 2008).

b. Lactobacillus acidophilus

1). Klasifikasi

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacillales
Family	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Species	: <i>Lactobacillus acidophilus</i> (NCBI, 2012).

2). Morfologi dan identifikasi

Lactobacillus acidophilus ditemukan dalam usus manusia, sehingga bakteri ini dapat dikategorikan sebagai bakteri probiotik. Bakteri ini tergolong Gram positif dan tidak membentuk spora. *Lacidophillus* merupakan *Lactobacilli* yang bersifat obligat homofermentatif dan non-motil serta dapat memproduksi asam laktat sebanyak 0,3-1,9% (Tamime dan Robinson, 1989). *Lactobacillus* merupakan genus terbesar dalam kelompok bakteri asam laktat dengan hampir 80 spesies berbeda. Bakteri ini berbentuk batang panjang serta bersifat anaerob fakultatif dan katalase negatif (Prescott *et al.*, 2002).

3). Gambaran klinis

Lactobacillus merupakan bakteri yang dapat memajukan lesi progresif. Produksi asam organik oleh *Lactobacillus* dianggap sebagai penyebab dekalsifikasi dari matriks dentin (Byun *et al.*, 2004).

4. Antibakteri

Istilah yang digunakan pada awalnya adalah antibiotis, yang berarti substansi yang dapat menghambat pertumbuhan organisme hidup yang lain, dan berasal dari mikroorganisme. Namun, dalam perkembangannya antibiotis ini disebut sebagai antibiotik dan istilah ini tidak hanya terbatas untuk substansi yang berasal dari mikroorganisme, melainkan semua substansi yang diketahui memiliki kemampuan untuk menghalangi pertumbuhan organisme lain khususnya mikroorganisme (Pratiwi, 2008).

Berdasarkan mekanisme aksinya, antibiotik dibedakan menjadi :

a. Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel

Antibiotik ini bekerja dengan cara merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

b. Antibiotik yang merusak membran plasma

Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transport metabolik ke dalam dan keluar sel. Kerusakan pada membran plasma dapat menghambat kemampuan membran plasma sebagai penghalang (barrier) osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran (Pratiwi, 2008).

c. Antibiotik yang menghambat sintesis protein

Sintesis protein merupakan salah satu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi (yaitu DNA ditranskripsi menjadi mRNA) dan proses translasi (yaitu mRNA ditranslasi menjadi protein) antibiotik yang dapat menghambat proses-proses tersebut akan menghambat sintesis protein (Radji, 2010).

d. Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA)

Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme.

e. Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial

Penghambatan ini antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolik, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme karena

memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme (Pratiwi, 2008).

5. Uji aktivitas antibakteri

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz *et al.*, 2005). Metode dilusi dilakukan dengan cara mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau kadar hambat minimum (KHM) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau kadar bunuh minimum (KBM) (Pratiwi, 2008). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri konsentrasi kemudian dilarutkan dengan media, setelah memadat ditambahkan suspensi bakteri dan diratakan dengan ose. Kadar terkecil yang dapat menghambat bakteri disebut Kadar Hambat Minimum (KHM). Kemudian tabung yang tidak terdapat pertumbuhan dilakukan subkultur pada media padat. Media yang tidak terlihat adanya pertumbuhan disebut dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Suprastiwi, 2008)

6. Bioautografi

Metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan kromatografi kertas yang mempunyai aktivitas antibakteri, antifungi, antibiotik dan antiviral disebut bioautografi (Djie, 2003). Keuntungan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut (Pratiwi, 2008).

Bioautografi dibagi menjadi tiga metode, yaitu bioautografi langsung, bioautografi *overlay*, dan bioautografi kontak. Bioautografi kontak dilakukan dengan meletakkan lempeng kromatografi hasil elusi senyawa yang akan diuji diatas media padat yang sudah diinokulasi dengan mikroba uji. Adanya senyawa antimikroba ditandai dengan adanya daerah jernih yang tidak ditumbuhi mikroba (Kusumaningtyas dkk, 2008).

E. Landasan Teori

Tahir dan Moeen (2011) membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak air dan ekstrak etanol teh hijau terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*. Ekstrak air menghasilkan kadar hambat minimal (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.

Polifenol dari teh hijau Jepang dapat menghambat pertumbuhan semua jenis bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 10^{-2} ml dengan kisaran zona inhibisi 2,00 – 3,40 mm (Suprastiwi, 2006). Pada penelitian lain senyawa epigalokatekin galat (EGCG) menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) 15,6 $\mu\text{g/mL}$ (penghambatan sedikitnya 90% dari pembentukan biofilm 625 $\mu\text{g/mL}$) (Xu *et al.*, 2011). Senyawa EGCG merupakan salah satu senyawa dari jenis katekin yang dapat larut dalam air (Hartoyo, 2003).

F. Hipotesis

Fraaksi metanol ekstrak etanol daun teh hijau mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*. Senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri dimungkinkan senyawa katekin.