

Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Air Teh Hitam (*Camellia Sinensis*) terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*

Muhammad Indra Alexandra Koswara¹, Usep Abdullah Husin², Arief Budi Yulianti³

^{1,2}*Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung,*

Jl. Hariangbanga No.20 Bandung 40116

Abstrak: Demam tifoid merupakan *foodborne disease* yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Obat herbal merupakan salah satu pengobatan alternatif yang sering dipergunakan dikalangan masyarakat, salah satunya adalah teh hitam (*Camellia sinensis*). Teh memiliki kandungan polifenol yang dikenal sebagai katekin salah satunya epigallocatekin gallat (EGCG). dan Kandungan EGCG telah terbukti memiliki daya antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Pada bakteri gram negatif EGCG mampu menghambat sintesis dari dinding bakteri sehingga dinding bakteri yang terdiri dari lipoprotein mengalami lisis. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan metode rancangan acak lengkap menggunakan metode difusi Kirby bauer untuk melihat konsentrasi hambat minimal (KHM) dan dilanjutkan dilusi Broth untuk melihat konsentrasi bunuh minimal (KBM) dengan perlakuan menggunakan ekstrak air teh hitam dengan konsentrasi 80%; 40%; 20%; 10%; 5% dan 2,5%. Hasil konsenstrasi hambat minimal (KHM) menunjukkan bahwa konsentrasi 80% sensitif dengan mean 2,6 cm, 40% sensitif dengan mean 2,53 cm dan 20% sensitif dengan mean 2,3 cm, 10% intermediet dengan mean 1,8 cm, 5% intermediet dengan mean 1,6 cm dan 2,5% intermediet dengan mean 1,43 cm dengan konsentrasi 80% yang paling signifikan untuk KHM dengan nilai P=0,025 dan konsentrasi 40% merupakan konsentrasi bunuh minimal (KBM). Kesimpulan dari penelitian ini bahwa konsentrasi 80%; 40%; 20%; 10%; mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan pada konsentrasi 40% memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.

Kata kunci: *Camellia sinensis*, Epigallocatekin gallat (EGCG), Teh hitam

Abstract: Tifoid fever is infection foodborne disease caused by *Salmonella typhi*. Herbal medicine is the one alternative that always used by community, one of herbal medicine is black tea (*camellia sinensis*). The composition of the tea is polyphenol is most known as catechin, Consisty of epicatechin (EC), Epicatechin 3- gallat (ECG) and epigallocatechin gallate (EGCG). In negative gram bacterias EGCG is able inhibit bacterial wall synthesis then the wall is composed by lipoproteins lyses. This study used experimental with complete randomized design method diffusion Kirby bauer metode to see minimal inhibitory concentration (MIC) and continued dilution Broth method to see minimum bactericidal concentration (MBC) with treatment using a water extract of black tea withs concentration of 80%; 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%. The result obtained are at a concentration of 80% sensitive *salmonella typhi* with mean 2,6 cm, concentration 40% sensitive *Salmonella typhi* with mean 2,53 cm, concentration 20% sensitive *Salmonella typhi* with mean 2,3 cm, concentration 10% intermediated *Salomonella typhi* with mean 1,8 cm, concentration 5% intermediated to salmonella typhi with mean 1,6, concentration 2,5% intermediated with mean 1,43 cm and a concentration of 40% is the minimum bactericidal concentration (MBC). It can be concluded that concentration of 80%; 40%; and 20% can delay growth *Salmonella typhi* and had a minimal inhibitory concentration (MIC) of 40% extract water of black tea has the ability antibacterial against *Salmonella typhi*.

Keyword: Black tea, *Camellia sinensis*, Epigallocatechin gallate (EGCG)

A. Pendahuluan

Demam tifoid merupakan *foodborne diseas* yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Morfologi kuman *S.typhi* berbentuk batang, tidak berspora, pada pewarnaan gram negatif, berukuran 1-3,5 um x 0,5-0,8 um dan dengan besar koloni rata-rata 2- 4 mm.^{1,2}

World health organization (WHO) memperkirakan jumlah kasus demam tifoid di seluruh dunia mencapai 16-21 juta dengan 250-500 kematian pertahunnya. Demam tifoid menyerang mulai dari usia balita, anak-anak dan dewasa. Anak-anak merupakan usia yang paling rentan terkena demam tifoid. di Asia pada tahun 2008 tercatat sebanyak 441.435 orang terkena demam tifoid dan sebanyak 33 orang per 1000 penduduk di Indoensia terkena demam tifoid.³

Demam tifoid merupakan penyakit yang terdapat di seluruh dunia namun merupakan masalah utama bagi negara-negara di Asia Tenggara termasuk Indonesia, Malaysia dan Thailand. Pada tahun 2007, *The Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) melaporkan prevalensi kasus demam tifoid di Indonesia sekitar 358-810 per 100.000 penduduk dengan 64% terjadi pada usia 3 sampai 19 tahun.⁴

Berdasarkan laporan Ditjen Pelayanan Medis Depkes RI, pada tahun 2008, demam tifoid menempati urutan kedua dari 10 penyakit terbanyak pasien rawat inap di rumah sakit di Indonesia dengan jumlah kasus 81.116 dengan proporsi 3,15%.⁵

Menurut Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tahun 2011. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *S.typhi* sensitif terhadap kloramfenikol (65%); amoksisilin (15%); dan kotrimoksazol (80%); resisten terhadap kloramfenikol (10%); amoksisilin (85%); dan kotrimoksazol (20%); dan intermediat terhadap kloramfenikol (25%) dan masih ada kemungkinan masih adanya resistensi terhadap antibiotik lainnya.⁶

Teh hitam (*Camellia sinensis*) termasuk golongan tanaman obat herbal terstandar (OHT) dan merupakan minuman yang digemari oleh hampir seluruh penduduk dunia. Teh hitam adalah hasil fermentasi pucuk daun teh yang menghasilkan aroma dan menurunkan rasa pahit, hampir semua kalangan dan usia menggemari teh hitam karena aroma dan rasa pahitnya yang berkurang.^{7,8}

Obat terbagi atas 3 macam yaitu jamu, obat herbal terstandar (OHT) dan fitofarmaka. Menurut badan pengawasan obat dan makanan (BPOM) tahun 2014 mendefinisikan jamu adalah sediaan bahan alam yang khasiatnya belum terbukti secara ilmiah preklinik dan hanya berdasarkan empiric, obat herbal terstandar (OHT) merupakan sediaan obat bahan alam seperti dedaunan dan hewan yang telah dibuktikan keamanan dan efeknya secara ilmiah dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah distandarisasi dan belum dilakukan uji klinis, fitofarmaka merupakan sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan efeknya secara uji preklinik dan klinik

dan bahan terstandarisasi.¹⁰

Teh hitam merupakan daun teh yang diolah melalui fermentasi dengan menggunakan panas sinar matahari. Teh memiliki kandungan polifenol yang dikenal sebagai katekin, yaitu epikatekin (EC), epikatekin 3 – gallat (ECG) dan epigallocatekin gallat (EGCg). Senyawa-senyawa tersebut memiliki efek antioksidan, anti mutagenik, anti karsinogen, hipokolesterolemia dan anti mikroba. EGCg merupakan 50% dari jumlah katekin, EGC sekitar 20%, EKG 13% dan 6% EC.⁸⁻¹⁰

Beberapa penelitian telah dilakukan tentang efektifitas teh hitam terutama efek antibakteri yang menunjukkan bahwa teh hitam mampu menghambat pertumbuhan koloni dari beberapa bakteri gram negatif ; seperti *Streptococcus mutan*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pseudomallei*. Kandungan EGCg di dalam teh hitam telah terbukti memiliki daya antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Pada bakteri gram negatif EGCg mampu menghambat sintesis dari dinding bakteri sehingga dinding bakteri yang terdiri dari lipoprotein mengalami lisis.¹⁰⁻¹²

B. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap, kemudian akan dinilai efek anti bakteri dengan menggunakan metode difusi Kirby Bauer untuk konsentrasi hambat minimal (KHM) dan dilusi Broth untuk Konsentrasin hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal(KBM).

Objek yang digunakan adalah bakteri *salmonella typhi* yang didapatkan dari biakan mikrobiologi UNPAD dan bahan yang dipergunakan adalah teh hitam ciwidey yang diekstrak dengan air.

Dapat dikatakan sensitif apabila hasil KHM adalah >1,8 cm, intermediet 1,3-1,7 cm dan <1,2 cm dikatakan resisten. Untuk menilai KBM terdapat 2 tahapan pertama menilai kekeruhan untuk KHM dikatakan memiliki daya hambat jika tidak terdapat kekeruhan yang dibandingkan dengan kontrol dan untuk menilai KBM adalah dengan mengkultur hasil KHM dengan metode dilusi broth kemudian dilihat terdapat koloni atau tidak, dikatakan memiliki KBM jika tidak terdapat koloni.

Hasil penelitian ini akan dianalisis dengan oneway ANOVA untuk homogenitas apabila homogen, jika terdapat perbedaan tiap kelompok makan akan dilanjutkan dengan Bonfferoni untuk melihat perbedaan setiap kelompok.

C. Hasil Penelitian

Hasil dari metode difusi *Kirby Bauer* untuk menentukan konsentrasi hambat minimal dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Perlakuan dengan pemberian ekstrak air teh hitam (*Camellia sinensis*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan konsentrasi yang digunakan adalah 2,5%; 5%; 10%; 20%; 40%; 80%. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dan kontrol negative dengan pemberian konsentrasi Aquabidest. Hasil yang dinilai adalah diameter zona hambat yang diukur dengan menggunakan jangka sorong

2 Tabel Hasil Konsentrasi Hambat Minimal

Kelompok Pengulangan	Konsentrasi ekstrak air teh hitam						Kontrol	
	80%	40%	20%	10%	5%	2,5%	Kloramfenikol	Aquabidest
1	2,8	2,6	2,5	2	1,5	1,3	2	0
2	2,4	2,5	2,1	1,8	1,6	1,7	1,8	0
3	2,6	2,5	2,3	1,7	1,7	1,3	2,3	0
Rata-rata	2,6	2,5	2,3	1,8	1,6	1,2	2	0
Std Dev	0.2	0.057	0.11	0.15	0.1	0.23	0.25	0

keterangan: dikatakan sensitive bila >1,8 cm, intermediet 1,3-1,7cm dan resisten <1,2cm

Dari hasil diatas dapat peneliti nilai bahwa konsentrasi 80%; 40%; 20% sensitif terhadap *Salmonella typhi* dan konsentrasi 80% merupakan konsentrasi yang paling memberikan daya hambat.

3 Tabel distribusi frekuensi diameter hambat

Median	Mean	SD	P (Z) Saphiro-Wilk
2	1,7	0,81	0,28

Asumsi distribusi normal terpenuhi, uji parametrik Anova dapat digunakan untuk melihat perbedaan diameter hambat dalam setiap grup.

4 Tabel Analisis Bivariat Konsentrasi Hambat Minimal

Konsentrasi teh hitam	Mean diameter hambat	SD	Frekuensi
Kontrol – (aquabidest)	0	0	3
Kontrol + (Kloramfenikol)	2,03	0,25	3
Konsentrasi 80%	2,6	0,19	3
Konsentrasi 40%	2,53	0,06	3
Konsentrasi 20%	2,3	0,2	3
Konsentrasi 10%	1,83	0,15	3
Konsentrasi 5%	1,6	0,10	3
Konsentrasi 2,5%	1,43	0,23	3
Total	2,05	0,46	24

Dari uji Bartlett didapatkan asumsi variasi dalam setiap grup adalah sama (homogen, $P=0,67$), sehingga uji Anova dilanjutkan ke dalam uji bonferroni untuk melihat perbedaan dalam setiap grup.

5 Tabel Perbandingan Antara Kloramfenikol Dengan Berbagai Konsentrasi

Konsentrasi	Hasil	Kesimpulan
80%	0.025	Terdapat perbedaan
40%	0.069	Terdapat perbedaan
20%	1.000	Tidak terdapat perbedaan
10%	1.000	Tidak terdapat perbedaan
5%	0.190	Tidak terdapat perbedaan
2,5%	0.015	Terdapat perbedaan
(-)	0.000	Tidak terdapat perbedaan

Konsentrasi teh hitam 80%, 40%, 2,5% dan kontrol negatif memiliki perbedaan diameter hambat yang signifikan dengan kloramfenikol, dimana konsentrasi 80% memiliki mean 0,57 cm lebih besar dibanding kloramfenikol, konsentrasi 40% memiliki mean 0,5 cm lebih besar dibandingkan kloramfenikol. Sedangkan konsentrasi 2,5% memiliki mean 0,60 cm lebih kecil dibanding kloramfenikol dan kontrol negatif memiliki mean 2,3 cm lebih kecil dibandingkan kloramfenikol. Konsentrasi 20%, 10%, dan 5% tidak memiliki perbedaan diameter hambat yang signifikan dengan kloramfenikol.

Hasil dari metode dilusi *broth* untuk menentukan konsentrasi hambat dan konsentrasi bunuh minimal dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Konsentrasi yang dipergunakan adalah hasil dari metode difusi Kirby Bauer yaitu konsentrasi 10%; 20% dan 40%. Konsentrasi 80% tidak dilakukan uji coba karena perbedaan antara konsentrasi 40% berbeda tipis 0,1 dan terlalu pekat untuk dilakukan metode dilusi. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol dan kontrol negative adalah aquabidest. pada metode ini dilakukan 2 tahapan yaitu pengenceran pada titer 10^5 kemudian diinkubasi dan dilihat kekeruhan kemudian dilakukan tahap selanjutnya yaitu kultur untuk melihat jumlah koloni.

6 Tabel Hasil Dilusi Broth Konsentrasi Hambat Minimal

Pengulangan	Konsentrasi Ekstrak Air Teh Hitam		
	40%	20%	10%
1	Jernih	Jernih	Jernih
2	Jernih	Jernih	Jernih
3	Jernih	Jernih	Jernih

Maka didapat dinilai konsentrasi 40%;20%;10% memiliki daya hambat dengan konsentrasi 10% sebagai konsentrasi hambat minimal dan 40% sebagai konsentrasi hambat maksimal. Maka selanjutnya akan dilakukan analisis perbedaan antar kelompok secara kategorik dengan metode Fisher's.

7 Tabel Proporsi Konsentrasi Berdasarkan kelompok

Kelompok	Konsentrasi			Total
	10%	20%	40%	
1	1	1	1	3

2	1	1	1	3
3	1	1	1	3

Berdasarkan tabel diatas dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 40%; 20% dan 10% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan hasil Fisher's exact 1.000.

8 Tabel Hasil Konsentrasi Bunuh Minimal

Kelompok Pengulangan	Konsentrasi Ekstrak Air Teh Hitam			Kontrol	
	40%	20%	10%	Kloramfenikol	Aquabidest
1	Tidak berkoloni	Berkoloni	Berkoloni	Tidak berkoloni	Berkoloni
2	Tidak berkoloni	Berkoloni	Berkoloni	Tidak berkoloni	Berkoloni
3	Tidak berkoloni	Berkoloni	Berkoloni	Tidak berkoloni	Berkoloni

Berdasarkan tabel diatas dapat dinilai bahwa hanya konsentrasi 40% yang memiliki daya bunuh terhadap *Salmonella typhi*. selanjutnya dilakukan analisis perbedaan antar kelompok secara kategorik dengan metode Fisher's.

9 Tabel Hubungan Konsentrasi Dengan KBM

Gambaran	Konsentrasi			Total
	10%	20%	40%	
Tidak berkoloni	3	3	0	6
Berkoloni	0	0	3	3
Total	3	3	3	9

Dari hasil analisis tabel diatas dapat dinilai bahwa Terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi 40% dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 10% dengan nilai Fisher's exact 0.036.

D. Pembahasan

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Olosundae dkk (2012), menguji efektifitas dengan berbagai ekstrak teh hitam sebagai antimikroba dan didapatkan hasil *Pseudomonas aeruginosa* sensitif pada konsenttrasi 2-10% dengan

ekstrak air intermediet pada konsentrasi 6%, 8%, 10% dengan ekstrak methanol. *E. coli* sensitif pada konsentrasi 6%, dan 10% dengan ekstrak air. Pada konsentrasi 2-10% dengan ekstrak methanol.¹¹

Penelitian yang dilakukan oleh Sylvia widiaty tentang daya hambat ampas teh hitam terhadap *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan bahwa ampas teh hitam yang diekstrak dengan menggunakan etanol mampu menghasilkan diameter 0.630cm² dan dengan metode dilusi menghasilkan konsentrasi hambat minimal adalah 40mg/ml.¹²

Hasil dari penelitian ini didapatkan Konsentrasi hambat minimal (KHM) menunjukkan ekstrak air teh hitam memiliki efek untuk menghambat perumbuhan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10%; 20%; 40% dan 80%. Kemungkinan besar katekin yang terkandung dalam teh hitam yang didapatkan dari perkebunan teh Ciwidey mampu menjadi penghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu konsentrasi bunuh minimal (KBM) menunjukkan ekstrak air teh hitam yang memiliki efek konsentrasi bunuh minimal adalah konsentrasi 40% menunjukkan hasil kultur *S.typhi* yang diberikan ekstrak air teh hitam pada konsentrasi 40% tidak terdapat koloni dari bakteri. hasil ini menunjukkan bahwa jumlah katekin teh hijau perkebunan teh Ciwidey pada konsentrasi 40% memiliki daya antibakteri.

Teh memiliki kandungan polifenol yaitu *catechin*, didalam teh terdapat 4 macam *catechin* yaitu *epicatechin* (EC), *epicatechin-3-gallate* (ECG), *epigallocatechin* (EGC), and *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG).

EGCG memiliki daya antibakteri terhadap bakteri gram negatif, EGCG dapat mengikat peptidoglucan pada gram negatif peptidoglucan terlindungi oleh membran luar yang terdiri dari liposakarida bermuatan negative oleh karena itu EGCG memiliki muatan negatif bagi membran sel bakteri yang akan menghambat aktivitas bakteri gram negative. beberapa penelitian telah dilakukan dan membuktikan bahwa EGCG memiliki efek antibakteri terhadap gram negatif dan enterobakter dengan konsentrasi yang berbeda-beda.

E. Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi 80% sensitif terhadap *Salmonella typhi* dengan mean 2,6 cm, konsenstrasi 40% sensitif terhadap *Salmonella typhi* dengan mean 2,53 cm dan 20% sensitif dengan mean 2,3 cm, konsentrasi 10%

intermediet dengan mean 1,8 cm, konsentrasi 5% intermediet dengan mean 1,6 cm dan konsentrasi 2,5% intermediet dengan mean 1,43 cm dengan konsentrasi 80% yang paling signifikan untuk KHM dengan nilai $P=0,025$.

Untuk hasil penelitian KHM dengan metode dilusi broth menunjukkan bahwa konsentrasi 40%; 20% dan 10% mampu menghambat *salmonella typhi* dan KBM menunjukkan bahwa konsentrasi 40% yang mampu membunuh *salmonella typhi*

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada yang terhormat Prof. Dr. dr. M. Thaufiq S Boesoirie, MS., Sp. THT KL-(K) selaku Rektor Unisba dan Prof. Dr. Hj. Ieva B. Akbar dr.,AIF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Unisba. Secara khusus, penulis mengucapkan terimakasih kepada Lab Mikrobiologi UNPAD dan seluruh pihak yang telah berpartisipasi dalam pelaksanaan penelitian ini sehingga penulis dapat menyelesaikan artikel ini.

Pertimbangan Masalah Etik

Karena objek penelitian ini adalah bakteri yang termasuk dalam *Archived Biological Material*, semua tahapan pemanfaatan bahan biologik tersimpan mencakup aspek pengumpulan, penyimpanan, pemanfaatan, dan pemusnahannya harus dipertanggung jawabkan secara etik.

Daftar Pustaka

Geo B. Medical Microbiology. 24th ed. chapter 16 Gram negative rods McGraw-Hill Medical, 2007.hlm 300-327

Hogg S. Essential Microbiology, 14th ed. chapter 16 Enterobacteriae. Jhon Wiley & Sons, 2005.hlm 479-483

A study of typhoid fever in five Asian countries: disease burden and implications for controls: world health organization (WHO). tersedia dari: <http://www.who.int/bulletin/volumes/86/4/06-039818/en/>

Foodborne disease active surveillance network: centers for disease for control and prevention (CDC) [diunduh 15 desember 2014]. tersedia di: <http://www.cdc.gov/nceid/dfwed/edeb/reports.html#labbased>

Angka kejadian demam tifoid: Departemen Kesehatan Republik Indonesia (DEPKES) [diunduh 15 desember 2014]. tersedia dari: www.hukor.depkes.go.id

National antimicrobial resistance monitoring system. Enteric Bacteria (NARMS) 2011 [diunduh 15 desember 2014]. tersedia dari: <http://www.cdc.gov/narms/reports/index.html>

Haryanto, A. Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan. PTPN. 2003.

Andi Nur AS. Taklukan Penyakit Dengan Teh. Jakarta: PT Agro Media Pustaka, 2006.

Steinmann J, Buer J, Pietschmann T, Steinmann E. Anti-infective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a component of green tea. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2013 Mar [diunduh 28 januari 2015];168(5):1059–73. tersedia dari: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3594666&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Olosunde OF, Abu-Saeed K, Abu-Saeed MB. Phytochemical Screening and Antimicrobial Properties of a Common Brand of Black Tea (*Camellia sinensis*) Marketed in Nigerian Environment. *Adv Pharm Bull* [Internet]. 2012 Jan [diunduh 15 desember 2014];2(2):259–63. tersedia dari: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3845987&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Reygaert WC. The antimicrobial possibilities of green tea. *Front Microbiol* [Internet]. 2014 Jan [diunduh 28 januari 2015];5(August):434. tersedia dari: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4138486&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Graham, *Chemical Composition Of Tea*. vol. 51, 1987.

Pasteur L. *Laboratory Exercise in MICROBIOLOGY*, 15th ed. 2002.

Prescott H. *Laboratoy exercises in microbiology. Communications*. 2002;