

RESEARCH ARTICLE

Antibacterial Effect of Black Ethanol Extract (*Camellia sinensis*) on The Growth of *Porphyromonas gingivalis* Bacteria

Dewi Kartika¹, Nita Nurniza², Chaerita Maulani², Fathimah Azzahra Attamimi³, Siti Nur Riani⁴

¹Faculty of Dentistry, Universitas YARSI, Indonesia

²Departement of Periodontics, Faculty of Dentistry, Universitas YARSI, Indonesia

³Departement of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Universitas YARSI, Indonesia

⁴Departement of Islamic Studies, Faculty of Dentistry, Universitas YARSI, Indonesia

Abstract

Background: Chronic periodontitis is one of the inflammatory diseases in the oral cavity that can cause damage to the structure of the supporting tissues of the teeth. The bacterium *Porphyromonas gingivalis* is the cause of chronic periodontitis which has specific virulence factors that produce lipopolysaccharides by destroying the host cell wall mechanism. Black tea with the Latin name *Camellia sinensis* contains theaflavins with antibacterial effects. **Materials and methods:** This study was an in vitro experimental laboratory study with disc diffusion method (Kirby Bauer), minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC). The samples of this study were black tea ethanol extract with a concentration of 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% with positive control group is chlorhexidine 0,2%, and negative control group is BHI broth, which tested *Porphyromonas gingivalis*. The Kruskal Wallis test results showed that there were statistically significant differences between the diameter of the bacterial inhibitory zone produced from the concentration group of black tea ethanol extract (7 mm), 40% (8,6 mm), 60% (10 mm), 80% (10,6 mm), and 100% (11,2 mm) ($P < 0.05$). The Spearman correlation test results ($r=0.431$) showed a positive correlation with moderate strength between an increase in the concentration of black tea ethanol extract to the diameter of the bacterial inhibitory zone. **Result:** The MIC value in this study is 10% and the result of MBC is 20%. **Conclusion:** the ethanol extract of black tea has an antibacterial effect on *Porphyromonas gingivalis*. There is an increase in inhibition zone diameter along with an increase in the concentration of black tea extract, which indicates black tea ethanol extract has concentration-dependent antibacterial properties.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, antibacterial effect of black tea , MIC & MBC

Corresponding Author:

Email: nita.nurniza@yarsi.ac.id

EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TEH HITAM (*Camellia sinensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis*

Abstrak

Pendahuluan: Periodontitis kronis merupakan salah satu penyakit inflamasi di rongga mulut yang dapat menyebabkan kerusakan pada struktur jaringan pendukung gigi. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah penyebab periodontitis kronis yang memiliki faktor virulensi spesifik yang memproduksi lipopolisakarida dengan mekanisme perusakan dinding sel *host*. Teh hitam dengan nama latin *Camellia sinensis* memiliki kandungan theaflavin dengan efek antibakteri. **Material dan Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium *in vitro* dengan metode difusi cakram (*Kirby Bauer*), konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Sampel dari penelitian ini yaitu ekstrak etanol teh hitam dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan kelompok kontrol positif klorheksidin 0,2%, kelompok kontrol negatif BHI *broth*, yang diujikan terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. **Hasil:** Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik diantara diameter zona hambat bakteri yang dihasilkan dari kelompok konsentrasi ekstrak etanol teh hitam 20% (7 mm), 40% (8,6 mm), 60% (10 mm), 80% (10,6 mm), dan 100% (11,2 mm) ($P < 0.05$). Hasil uji korelasi Spearman ($r = 0,431$) menunjukkan nilai korelasi positif dengan kekuatan sedang antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam terhadap diameter zona hambat bakteri. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol teh hitam memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Terdapat peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak teh hitam, yang mengindikasikan efek antibakteri ekstrak etanol teh hitam bersifat *concentratio-dependent*. Hasil nilai KHM pada penelitian ini 10% dan KBM menunjukkan hasil 20%.

Kata Kunci: *Porphyromonas gingivalis*, efek antibakteri dari the hitam, MIC & MBC

PENDAHULUAN

Periodontitis kronis merupakan penyakit inflamasi yang diakibatkan oleh mikroorganisme yang merusak ligamentum periodontal dan tulang alveolar dengan meningkatnya kedalaman poket, resesi, atau keduanya.¹ Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), prevalensi periodontitis kronis pada populasi orang dewasa dilaporkan 30-35%, dengan sekitar 10–15% didiagnosis dengan periodontitis kronis berat. Data Nasional Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2004 menyatakan bahwa prevalensi penyakit periodontal di Indonesia mencapai 96,58%.² Ada berbagai faktor risiko yang berkaitan dengan periodontitis kronis seperti diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, merokok, dan kegemukan (obesitas).³

Mikroorganisme yang berperan dalam proses terjadinya periodontitis kronis yaitu *Porphyromonas gingivalis* dan mikroorganisme lainnya yaitu *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros*, *Treponema*, dan spesies *Eubacterium*.^{1,4} Bakteri *Porphyromonas gingivalis* ini ditemukan di 85,75% dari sampel plak subgingival pasien dengan periodontitis kronis.⁵ *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri Gram

negatif anaerob obligat berpigmen hitam, bakteri non-motil, *asaccharolytic*, pleomorfik (bulat dan oval), tidak berspora. Gram-negatif ini merupakan batang anaerobik yang dianggap sebagai patogen utama pada periodontitis kronis.⁶

Adanya *Porphyromonas gingivalis* dalam poket periodontal menunjukkan hubungan signifikan pada perkembangan penyakit yaitu antara *Porphyromonas gingivalis* dengan kedalaman poket.⁷ *Porphyromonas gingivalis* merupakan patogen periodontal paling penting jika jumlahnya meningkat dan karena memiliki faktor virulensi spesifik. Salah satunya karena lipopolisakarida yang terkait sebagai perusak dinding sel. *Porphyromonas gingivalis* dapat menstimulasi kerusakan resorpsi tulang, menghambat pembentukan tulang, dan menginduksi kerusakan tulang.⁸

Epitel gingiva merupakan bagian dari jaringan periodontal yang memiliki peran penting protektif mencegah mekanisme invasi dari periodontopatogen. Epitel gingiva bereaksi dengan *Porphyromonas gingivalis* karena adanya interaksi signal terhadap integrasi respon imun bawaan yang di dapat dari *host*. *Porphyromonas gingivalis* dapat mendestruksi jaringan secara struktural maupun fungsional epitel gingiva dengan cara adhesi, penetrasi, dan bereplikasi. Enzim proteolitik yang dihasilkan dapat mendestruksi sel matriks dan sel dari sel - sel epitel yang dapat menyebabkan sel epitel *junctional* terlepas dari permukaan akar gigi sehingga membentuk kedalaman poket gingiva. Interaksi antara *Porphyromonas gingivalis* dengan sel - sel epitel mengarah pada beberapa aktivasi kaskade pensinyalan kompleks. Akhirnya menjadi mengatur dan transkripsi gen target terhadap respons imun seperti efektor sistem kekebalan tubuh permanen yang termasuk sitokin proinflamasi, chemokine, dan matriks (MMPs), serta regulasi yang memungkinkan dampak langsung pada perkembangan penyakit periodontal dan proses peradangan.⁹

Teh merupakan minuman populer setelah air, terbuat dari daun tanaman teh. Teh berasal dari daun *Camellia sinensis*, dapat diklasifikasikan menjadi empat jenis (putih, hijau, oolong, dan hitam) yang berbeda dalam hal prosedur manufaktur dan komposisi kimiawinya.¹⁰ Berdasarkan tingkat fermentasinya, teh dikategorikan ke dalam tiga jenis utama: tidak difermentasi (teh hijau dan putih), fermentasi sebagian (teh oolong) dan fermentasi penuh (teh hitam). Meskipun proses ini sering diasumsikan sebagai fermentasi, tetapi istilah yang paling tepat adalah oksidasi yang diikuti oleh polimerisasi, berarti ada paparan udara merupakan reaksi yang dikatalisis oleh enzim polifenol oksidase.¹¹ Teh hitam terutama banyak di konsumsi di India, Eropa, Rusia, Amerika Utara, Timur Tengah, Indonesia, Afrika Utara, Chili, Hong Kong, Australia, dan Selandia Baru. Sistem pengolahan teh hitam dapat di bagi dua yaitu sistem ortodoks dan sistem CTC.¹² *Theaflavins* adalah pigmen merah terang yang memberikan ciri khas minuman teh yang digambarkan sebagai “kecerahan” dan “kesegaran”. *Theaflavin* adalah campuran dari empat senyawa yang disebut sebagai *theaflavin (TF1)*, *theaflavin-3-gallate (TF2A)*, *theaflavin-3'-gallate (TF2B)*, dan *theaflavin-3, 3'-digallate (TF3)*.¹³

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorik. Penelitian ini lolos kelayakan etik dengan nomor surat 383/KEP-UY/BIA/XII/2018 dan dilaksanakan di Laboratorium Biologi Oral FKG UI Salemba Jakarta pada bulan November 2018 – Desember 2018. Proses pembuatan ekstrak teh hitam dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor. Pembuatan ekstrak ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.

Sampel dalam penelitian ini adalah *Porphyromonas gingivalis* ATCC (*American Type Culture Cell*) 33277 yang berasal dari Laboratorium Biologi Oral FKG UI Salemba. Teh hitam yang

digunakan pada sampel ini adalah daun teh yang berasal dari perkebunan PT VIII Wilayah Puncak dan Cipanas, tempat pengolahan di Cianjur (Pabrik Gede), Gunung mas.

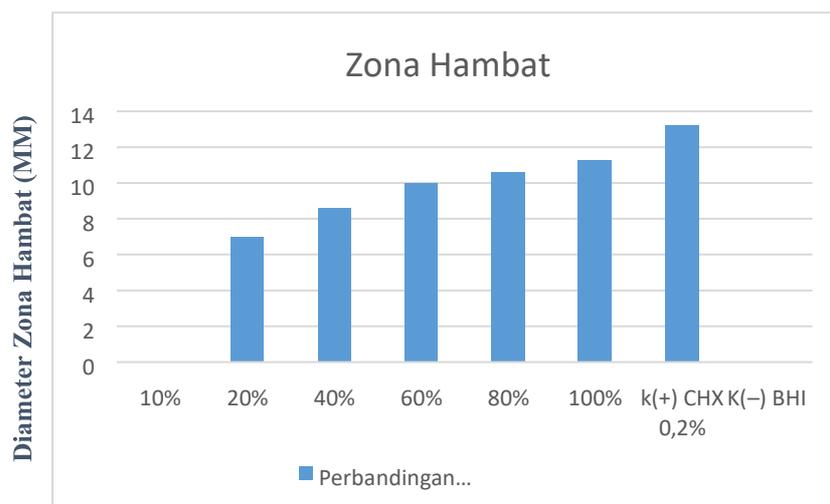
Metode penelitian ini dilakukan dengan uji difusi cakram Kirby-Bauer yaitu metode yang paling sering dilakukan untuk pengujian kerentanan antimikroba, menggunakan metode dilusi dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah yang akan menghambat pertumbuhan dari suatu antimikroba yang terlihat setelah semalam diinkubasi, dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) untuk mengetahui pada konsentrasi berapa bakteri tidak tumbuh. Penelitian ini melakukan dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol teh hitam, pengukuran kemudian dibandingkan dengan hasil pengukuran kontrol positif Chlorhexidine gluconate 0,2% dan kontrol negatif BHI broth. Kelompok perlakuan terdiri dari 6 kelompok konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

HASIL

Hasil uji ekstrak etanol teh hitam (*Camellia sinensis*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar *disc* pada berbagai konsentrasi hasil tersebut dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat (mm) ekstrak etanol teh hitam terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dengan berbagai pengenceran.

Zona Hambat	Konsentrasi						k(+) CHX 0,2%	k(-) BHI
	10%	20%	40%	60%	80	100%		
Uji I	0	7	9	10	11	12	13,3	0
Uji II	0	7	8,5	9,5	10	11	13,3	0
UJI III	0	0	8,5	10,5	11	11	12,9	0
Rata - Rata	0	7	8,6	10	10,6	11,3	13,2	0



Gambar 1. Diagram hasil zona hambat ekstrak etanol teh hitam dalam menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

Hasil pengukuran zona hambat pada uji antibakteri ekstrak etanol teh hitam terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* didapatkan hasil yaitu, pada perbandingan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam konsentrasi 10% dan kontrol negatif dengan BHI broth tidak didapatkan zona hambat atau tidak terlihatnya zona bening disekitar *disc*. Zona hambat ditemukan pada konsentrasi 20% (7mm), 40% (8,6mm), 60% (10mm), 80% (10,6mm), dan 100% (11,2mm). Diagram pada Gambar 1 menunjukkan peningkatan sejalan dengan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam yang semakin besar, diameter zona hambat. Ekstrak etanol teh hitam pada konsentrasi 100% menunjukkan zona hambat paling besar.



Gambar 2. Pembentukan zona hambat dari konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif klorheksidin glukonat 0,2% dan kontrol negatif BHI broth.

Tabel 2. Hasil tabel perbandingan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Zona Hambat	Median (Minimum- Maksimum)	Nilai P
10%	0	0,002
20%	7,0000 (0,00-7,00)	
40%	8,5000 (8,50 – 9,00)	
60%	10,0000 (9,50 – 10,50)	
80%	11,0000 (10,00 – 11,00)	
100%	11,0000 (11,00 – 12,00)	
K(+) CHX 0,2% K(-) BHI	13,0000 (12,83 – 13,30) 0	

* uji *Kruskal wallis*

P < 0,05 = Signifikan (terdapat perbedaan bermakna)

P > 0,05 = Tidak signifikan (tidak terdapat perbedaan bermakna)

Hasil uji *Kruskal Wallis* pada Tabel 2. menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara diameter zona hambat dari berbagai konsentrasi ekstrak teh hitam karena nilai p adalah 0,002 ($p < 0.05$), karena ditemukan perbedaan bermakna maka perlukan uji *post hoc* dengan uji Mann-whitney.

Pengujian antibakteri dengan metode dilusi didahului dengan mempersiapkan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% yang dimasukkan ke dalam *microplate* dengan perbandingan 1:1 menggunakan mikropipet 100 μ l ekstrak teh hitam dengan 100 μ l bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang telah diencerkan dengan BHI *broth*. Kemudian tutup dengan aluminium foil lalu di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Setelah di inkubasi hasil dibaca dengan menggunakan alat *ELISA reader*.

Tabel 3. Hubungan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam dengan *Porphyromonas gingivalis*

Variabel	Nilai r*	Nilai p**
Konsentrasi ekstrak teh hitam	0,431	0,036
Zona hambat		

* Uji korelasi Spearman

* Nilai r = uji korelasi berdasarkan Korelasi Spearman

** Nilai p = uji kemaknaan berdasarkan Korelasi Spearman

Dari hasil uji korelasi Spearman Tabel 3, terlihat nilai p 0,036 yang artinya $p < 0,05$ terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol teh hitam 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan penghambatan pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Nilai

korelasi Spearman sebesar 0,431 menunjukkan korelasi positif sedang. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol teh hitam sebagai antibakteri bersifat *concentration-dependent*.¹⁴

Tabel 4. Hasil KHM dengan microplate reader

Zona Hambat	Konsentrasi						k(+) CHX 0,2%	k(-) BHI
	10%	20%	40%	60%	80	100%		
Uji I	1,432	2,063	2,867	3,177	3,197	3,207	1,229	1,655
Uji II	1,530	2,016	2,867	3,161	3,141	3,206	1,232	1,619

Hasil pengujian antibakteri dengan metode dilusi yang telah dibaca dengan menggunakan *ELISA reader* di dapatkan konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi ekstrak etanol teh hitam 10% karena hasil pada diagram tersebut hampir sama dengan chlorhexidine gluconate 0,2% yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi terkecil sudah bisa menghambat pertumbuhan bakteri.

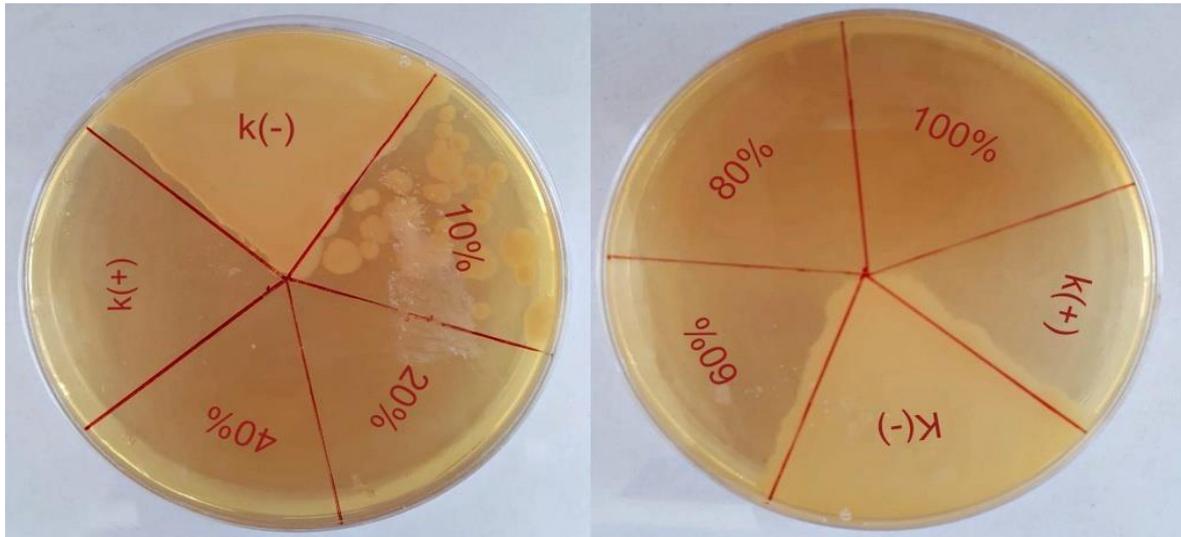
Tabel 5. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol teh hitam terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* melalui metode dilusi

KBM	Konsentrasi						k(+) CHX 0,2%	k(-) BHI
	10%	20%	40%	60%	80%	100%		
I	+	-	-	-	-	-	-	+
II	+	-	-	-	-	-	-	+
III	+	-	-	-	-	-	-	+
Rata - Rata	+	-	-	-	-	-	-	+

*Konsentrasi bunuh minimum

Keterangan: + = ada pertumbuhan bakteri

- = tidak ada pertumbuhan bakteri



Gambar 3. Hasil uji konsentrasi bunuh minimum konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, dan klorheksidin glukonat 0,2% dan kontrol negatif BHI broth.

Hasil pengukuran dengan menggunakan uji dilusi ekstrak etanol teh hitam terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari berbagai kelompok konsentrasi dapat dilihat dalam Tabel 5. Kelompok konsentrasi 10% dan kelompok pembandingan kontrol negatif BHI broth menunjukkan hasil positif yang artinya terdapat pertumbuhan koloni bakteri pada medium BHI agar. Kelompok konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, dan kelompok pembandingan kontrol positif klorheksidin 0,2% menunjukkan hasil negatif yang artinya tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri terhadap medium BHI agar. Pada konsentrasi 10% ini merupakan hasil konsentrasi hambat minimum (KHM) dan pada konsentrasi 20% dianggap sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM).

PEMBAHASAN

Metode ekstraksi simplisia teh hitam pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Ekstraksi adalah pemisahan bagian tanaman yang aktif secara medis menggunakan pelarut selektif melalui prosedur standar.¹⁵ Zat aktif berada di dalam sel, sehingga untuk dapat mengeluarkan zat aktif dari dalam sel diperlukan suatu cairan penyari atau pelarut tertentu. Cairan penyari yang biasa digunakan adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat.¹⁶ Pelarut ekstrak teh hitam yang digunakan penelitian ini adalah pelarut etanol 96%. Penelitian Valle et al., (2016) yang menggunakan pelarut etanol untuk ekstraksi daun sirih yang diujikan bakteri Gram negatif dan positif menyatakan bahwa pelarut etanol lebih efektif dibandingkan pelarut metanol.¹⁷ Cairan penyari yang masuk akan membuat zat aktif di dalam sel terlarut sehingga mengakibatkan perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, pada akhirnya akan terjadi proses difusi.¹⁶

Metode uji antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *disc diffusion* atau uji Kirby Bauer. Steril *disc* ini diletakkan pada permukaan media BHI agar yang telah diinokulasi secara merata, diinkubasi dan diamati mengenai pembentukan zona hambat terhadap kelompok bakteri. Efektivitas pada metode difusi ini memiliki sifat *sensitive*, *intermediate*, atau *resistant*.

Dengan metode ini juga dapat mendeterminasi sensitivitas dan estimasi konsentrasi hambat minimum (KHM), yaitu konsentrasi terendah antibiotika yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara visual. Tetapi kelemahan metode difusi yaitu tidak dapat menentukan efek bakterisidal suatu uji.¹⁸

Hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 1 dan Gambar 2 dengan konsentrasi 20% (7 mm), 40% (8,6 mm), 60% (10 mm), 80% (10,6 mm), dan 100% (11,2 mm). Penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh J Niakan M et al., (2017) bahwa ekstrak air teh hitam dengan konsentrasi 20% (8 mm), 30% (8 mm), 40% (10 mm), 50% (12 mm) dapat menghambat bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hasil ekstrak metanol teh hitam yang digunakan dapat menghambat bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan konsentrasi 20% (8 mm), 30% (10 mm), 40% (12 mm), dan 50 % (15 mm). Hasil studi penelitian Kalyan P et al., (2015) menunjukkan bahwa teh hijau dan teh hitam pada konsentrasi 100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, dan 400 mg/ml mempunyai efek antibakteri yang dapat menghambat *Streptococcus mutans*. Efek zona hambat teh hitam terhadap bakteri *Streptococcus mutans* memiliki hasil zona hambat lebih tinggi dibandingkan teh hijau.¹⁹

Teh hitam memiliki beberapa kandungan zat bioaktif, antaranya adalah golongan flavonoid. Turunan senyawa flavonoid adalah katekin. Senyawa flavonoid memiliki efek biologis seperti antikanker, antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri. Penelitian Chung et al., dan Peter et al., menunjukkan dalam studi mikroba *in vitro* bahwa konsumsi 3-4 cangkir teh hitam per hari menunjukkan sifat resistensi karies. Keadaan ini disebabkan tingginya kandungan komponen fluoride dan katekin polifenol. Efek penghambatan teh hitam pada *Streptococcus mutans* lebih tinggi daripada teh hijau.²⁰ Kandungan katekin dalam daun teh yang utama adalah *epicatechin* (EC), *epicatechin gallate* (ECG), dan *epigallocatechin gallate* (EGCG). Katekin memiliki sifat tidak berwarna, larut dalam air, serta membawa sifat pahit dan sepat pada seduhan teh.²¹ Dalam proses pembuatan teh hitam, katekin dioksidasi secara enzimatik mengubah flavonoid sederhana menjadi theaflavin dan thearubigin.²² G. Sen dan B. Bera (2013) dalam penelitiannya menyatakan teh dapat digunakan sebagai obat alami untuk penyakit periodontal. Survey secara random telah melaporkan bahwa teh hitam dapat mengurangi insiden *dental caries*. Polifenol dalam teh menghambat pertumbuhan bakteri penyebab plak, mengurangi infeksi mulut, dan menghambat proses enzim amilase pada saliva, sehingga mencegah pertumbuhan bakteri di dalam rongga mulut. Senyawa polifenol bioaktif yang paling penting dalam teh hitam adalah theaflavin yang terdiri dari *theaflavin-3-gallate* (TF3G), *theaflavin-3'-gallate* (TF3'G), dan *theaflavin-3,3-digallate* (TFDG).²³

Berdasarkan uji *Kruskal wallis* pada Tabel 2 terdapat perbedaan signifikan yang bermakna secara statistik antara diameter zona hambat bakteri yang dihasilkan dari kelompok konsentrasi ekstrak etanol teh hitam. Berdasarkan uji korelasi pada Tabel 3 menunjukkan nilai ($r=0,431$) korelasi positif dengan kekuatan sedang. Hasil tersebut menggambarkan adanya peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak teh hitam, yang mengindikasikan efek antibakteri ekstrak etanol teh hitam yang bersifat *concentration dependent*. Dimana sifat dari *concentration dependent* memiliki arti semakin tinggi kadar kelompok konsentrasi ekstrak etanol teh hitam dalam menghambat bakteri melampaui KHM maka semakin tinggi pula daya bunuhnya terhadap bakteri.

Kandungan katekin, polifenol, pro-anthocyanidin, dan tanin pada teh menunjukkan aktivitas antimikroba.²² Penelitian Bedran et al., (2015) menyampaikan bakteri periodontopatogen yaitu *Porphyromonas gingivalis* sangat rentan terhadap ekstrak teh hitam. Efek antibakteri dari teh hitam memiliki kandungan *theaflavin* yang dapat menghambat enzim proteinase bakteri *Porphyromonas gingivalis* sehingga dapat melemahkan produksi *matrix metalloproteinase* (MMP) oleh sel fibroblas gingiva.¹⁰ Touyz dan Amsel telah menunjukkan

bahwa penggunaan teh hitam selama dua minggu memiliki efek antikariogenik pada percobaan tikus selama 18 hari. Gramza dan Korczak (2005) menyatakan bahwa polifenol dapat menghambat pertumbuhan *Clostridia* dan *Helicobacter pylori* tetapi tidak pada beberapa bakteri laktat usus.¹⁸

Penelitian Niakan M et al., (2017) menyatakan bahwa *Porphyromonas gingivalis* merupakan mikroorganisme yang terlibat dalam inisiasi periodontitis. Bakteri ini menghasilkan enzim proteolitik seperti kolagenase dan *dipeptidyl aminopeptidase IV*. Epitel gingiva merupakan bagian dari jaringan periodontal yang memiliki peran penting untuk mencegah mekanisme invasi dari perodontopatogen. Epitel gingiva bereaksi dengan *Porphyromonas gingivalis* karena adanya interaksi dengan integrasi respons imun bawaan yang didapat dari *host*. *Porphyromonas gingivalis* dapat mendestruksi jaringan epitel gingiva secara struktural dan fungsional dengan cara adesi, penetrasi, dan replikasi. Enzim proteolitik yang dihasilkan dapat mendestruksi sel matiks dan sel adesi dari sel - sel epitel sehingga dapat menyebabkan sel epitel *junctional* terlepas dari permukaan akar gigi. Akibatnya membentuk kedalaman poket gingiva. Interaksi antara *Porphyromonas gingivalis* dengan sel - sel epitel mengarah pada beberapa aktivasi kaskade pensinyalan kompleks yang pada akhirnya mengatur transkripsi gen target terhadap respons imun seperti efektor sistem kekebalan tubuh permanen termasuk sitokin proinflamasi, *chemokine*, dan *matrix metalloproteinase* (MMPs). Regulasi sejauh ini memungkinkan dampak langsung pada perkembangan penyakit periodontal dan proses peradangan.⁹

Polifenol yang diturunkan dari teh menghambat produksi enzim protease pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*.¹⁹ *Theaflavin* memiliki efek antimikroba terhadap kultur planktonik dan biofilm *Porphyromonas gingivalis*. Mekanisme penghambatan senyawa tersebut juga dapat menghambat aktivitas enzim proteinase dari faktor virulensi kolagenase dan *gingipain* tergantung pada dosis yang digunakan.²⁴ Kandungan *theaflavin* dalam teh hitam memiliki efek antibakteri, cara berinteraksi dengan membran bakteri serta menyebabkan kerusakan secara permanen. Ini didukung oleh penelitian terbaru oleh Sirk, et al., (2011) yang menunjukkan bahwa *theaflavin* teh memiliki afinitas terhadap permukaan bilayer melalui ikatan hidrogen.¹⁰ L Zhao et al., (2013) meneliti berbagai ekstrak teh hijau, teh putih, teh oolong dan teh hitam. Dari semua kandungan ekstrak ini ditemukan dapat menghambat perlekatan bakteri *Porphyromonas gingivalis* terhadap sel ephitelial oral. Menurut penelitiannya *theaflavin* juga merupakan salah satu polifenol yang teroksidasi dalam teh hitam. *Theaflavin* memiliki aktivitas oksidan yang sama dengan katekin teh hijau yang dapat menghambat ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 yang diinduksi LPS dalam sel epitel dan teh hitam sehingga dalam penelitian tersebut efek penghambat yang paling menonjol adalah ekstrak teh hitam.⁹

Penelitian ini juga memeriksa kadar KHM dan KBM dari teh hitam. Metode yang digunakan adalah metode dilusi dengan melakukan seri pengenceran. Metode dilusi ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) yang didefinisikan sebagai konsentrasi ekstrak terendah yaitu ketika tidak terjadi pertumbuhan bakteri. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah ketika tidak ada koloni yang tumbuh.⁹ Dalam penelitian ini digunakan metode dilusi dengan *micropelate* dan *ELISA reader*.

Untuk mengetahui hasil nilai OD (*Optical density*) yang dibaca menggunakan *ELISA reader* yaitu dengan adanya cahaya yang diproyeksikan untuk membaca sampel perlakuan. Banyaknya jumlah cahaya yang diabsorpsi merupakan indikasi adanya biomassa di dalam suspensi. Suspensi yang bisa dilihat dengan mata memiliki biomassa yang tampak keruh karena warna dari konsentrasi teh hitam yang pekat. Konsentrasi yang berwarna keruh akan menghasilkan nilai OD tinggi. Pada penelitian ini didapatkan nilai KHM 10% pada Tabel 4 dengan konsentrasi tersebut ekstrak etanol teh hitam dapat menghambat pertumbuhan koloni

bakteri *Porphyromonas gingivalis*, karena pada diagram tersebut nilai OD dengan konsentrasi 10% (hasil rata-rata 1,481) hampir sebanding dengan nilai khlorheksidin 0,2% (hasil rata-rata 1,2305).

Penelitian T. Bedran et al., (2015) menyatakan nilai KHM dari ekstrak teh hitam berada di kisaran 500 – 2000 µg sedangkan nilai KBM berada di kisaran 1000 – 8000 µg/ml. Bakteri yang paling rentan terhadap ekstrak teh hitam dan *theaflavin* adalah dua bakteri berpigmen hitam yaitu *Porphyromonas gingivalis* dan *P. intermedia*. Selain sebagai antibakteri kandungan teh hitam dapat menghambat inflamasi dari sekresi IL-8 dari kandungan ekstrak teh hitam yang berkisar 200 µg/ml sebagaimana masuknya sel-sel inflamasi ke respons yang sakit dan amplifikasi proses inflamasi yang diinduksi LPS.¹⁰

Pada penelitian ini dilakukan pengujian dilusi dengan menentukan hasil KBM. Hasil dilusi dapat dilihat setelah melakukan swab bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada medium BHI agar karena jernih atau keruhnya suatu larutan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam pada tabung reaksi tidak dapat dilihat secara visual akibat warnanya yang terlalu pekat. Pada Tabel 5 dan Gambar 3 diketahui bahwa konsentrasi 10% dan kelompok pembanding kontrol negatif BHI *broth* memberikan nilai positif yang berarti adanya pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, dan kelompok pembanding kontrol positif khlorheksidin 0,2% menunjukkan hasil negatif yang berarti tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Dengan demikian nilai KHM kelompok ekstrak etanol teh hitam terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah 10% sedangkan pada konsentrasi 20% memiliki aktivitas bakterisidal yang dianggap sebagai nilai KBM.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian J Niakan et al., (2017) dengan menggunakan ekstrak etanol teh hitam Iranian menunjukkan hasil nilai KBM pada konsentrasi 10% yaitu hasilnya positif berarti adanya pertumbuhan koloni bakteri. Pada konsentrasi 20% dan 40% menunjukkan hasil nilai KBM negatif yang berarti tidak adanya koloni pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian Niakan J M et al., (2017) juga menguji ekstrak teh hitam dengan menggunakan aquades, sedangkan hasil yang didapatkan ekstrak aquades teh hitam Iranian pada konsentrasi 10% dan 20% menunjukkan hasil positif yang berarti adanya pertumbuhan koloni bakteri dan nilai KBM yang didapatkan yaitu pada konsentrasi 40% yang menunjukkan hasil negatif tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri.¹⁹

KESIMPULAN

Hasil analisa ekstrak etanol teh hitam yang digunakan dalam penelitian ini dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 70%, 80% dan 100% mempunyai efek antibakteri dalam diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol teh hitam. Ekstrak etanol teh hitam yang digunakan dalam penelitian ini memiliki nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) 10% dan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) 20%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Michael G. Newman, Henry Takei PR. Newman and Carranza's Clinical Periodontology E-Book. In: 13th ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2015. p. 62–70.
2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Survei Kesehatan Nasional. Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004. Jakarta, Indonesia; 2005. p. 18–20.
3. Khan S, Saub R, Vaithilingam RD, Safii SH, Vethakkan SR, Baharuddin NA. Prevalence of chronic periodontitis in an obese population: A preliminary study. *BMC Oral Health*. 2015;15(114):1–7.
4. Haraguchi A, Miura M, Fujise O, Hamachi T, Nishimura F. Porphyromonas gingivalis gingipain is involved in the detachment and aggregation of Aggregatibacter actinomycetemcomitans biofilm. *Mol Oral Microbiol* 2014;29(3):131–43.
5. How KY, Song KP, Chan KG. Porphyromonas gingivalis: An overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Front Microbiol* 2016;7(53):1–14.
6. Lakshman Samaranayake. Essential Microbiology For Dentistry. In: 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2012. p. 266–97.
7. Bostanci N, Belibasakis GN. Porphyromonas gingivalis: An invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol Lett*. 2012;333(1):1–9.
8. Richard J. Lamont, Robert A. Burne, Marilyn S. Lantz DJL. Oral Microbiology and Immunology. In: American Society Mic Series. USA, Washington DC: ASM Press; 2006. p. 115–281.
9. Zhao L, La VD, Grenier D. Antibacterial, Antiadherence, Antiprotease, and AntiInflammatory Activities of Various Tea Extracts: Potential Benefits for Periodontal Diseases. *J Med Food* 2013;16(5):428–36.
10. Bedran TBL, Morin MP, Spolidorio DP, Grenier D. Black tea extract and its theaflavin derivatives inhibit the growth of periodontopathogens and modulate interleukin-8 and β -defensin secretion in oral epithelial cells. *PLoS One*. 2015;10(11):1–11.
11. Dias T R., Tomás G., Teixeira N F, Alves M G, Oliveira BMS. White Tea (Camellia Sinensis (L.)): Antioxidant Properties And Beneficial Health Effects T. *Int J Food Sci , Nutr Diet (IJFS)*. 2013;2(2):19–28.
12. Waugh DT, Godfrey M, Limeback H, Potter W. Black Tea Source , Production , and Consumption : Assessment of Health Risks of Fluoride Intake in New Zealand. 2017;1–27.
13. M. S. Butt , A. Imran , M. K. Sharif , Rabia Shabir Ahmad , Hang Xiao MI& HAR. Black Tea Polyphenols: A Mechanistic Treatise. 2014;54(8):1002–11.
14. Gould IM, Meer JW van Der. Antibiotic Policies: Fighting Resistance. In New York: Springer; 2008. p. 213.
15. NN A. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med Aromat Plants*. 2015;04(03):3–8.
16. Najib A. Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. In: 1st ed. Yogyakarta, Indonesia: Deepublish; 2018. p. 39–40.
17. Valle DL, Cabrera EC, Puzon JJM, Rivera WL. Antimicrobial activities of methanol, ethanol and supercritical CO₂ extracts of philippine Piper betle L. on clinical isolates of Gram positive and Gram negative bacteria with transferable multiple drug resistance. *PLoS One*. 2016;11(1):1–14.
18. Almajano MP, Carbó R, Jiménez JAL, Gordon MH. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem*. 2007;108(1):55–63.

19. Niakan M, Jalayer Naderi N, Jamshidian H JF. Antibacterial Effect of Iranian Green Tea and Black Tea against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* , *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. *Med Lab J*. 2017;11(4):13–8.
20. Kalyan P, K T, CG A, Wadhwa M. Antibacterial Activity of Green Tea and Black Tea on *Streptococcus mutans*: An in Vitro Study. *Int J Prev Clin Dent Res*. 2015;2(2):26–30.
21. Hartoyo A. Teh & Khasiatnya Bagi Kesehatan, Sebuah Tinjauan Ilmiah. In Yogyakarta, Indonesia: Kanisius; 2003. p. 15–9.
22. Naderi NJ, Niakan M, Fard MJK, Zardi S. Antibacterial Activity of Iranian Green and Black Tea on *Streptococcus Mutans*: An In Vitro Study. *J Dent*. 2011;8(2):55–9.
23. Sen G, Bera B. Black tea as a part of daily diet : A boon for healthy living. *Int J Tea Sci*. 2013;9(October):51–9.
24. Kong L, Qi X, Huang S, Chen S, Wu Y, Zhaod L. Theaflavins inhibit pathogenic properties of *P. gingivalis* and MMPs production in *P. gingivalis*-stimulated human gingival fibroblasts. *Arch Oral Biol*. 2015;60(1):12–22.