

Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* oleh berbagai jenis teh dan seduhannya

Inhibitory activity of Escherichia coli by type of teas and its liquors

Dadan Rohdiana¹ Dede Zainal Arief², Arista Budiman²

¹Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung

²Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung

Diajukan: 8 Maret 2013; diterima: 9 April 2013

Abstract

Study of analysis polyphenol content on tea, liquor, and its activity as antibacterial on Escherichia coli has been done conducted in Laboratory of Research, Department of Food Technology, Pasundan University, and Laboratory of Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Mathematic and Natural Science, Padjadjaran University. The result of this research showed that green tea sample has the highest polyphenol content, i.e. 23,18% followed orthodox and CTC (crushing tearing curling) black tea samples i.e. 14,23% and 13,93% respectively. Activity of inhibitory on E. coli showed that ratio tea and water 2 : 50 w/v has the best inhibition i.e. 117,71 mm².

Keywords: tea, liquor, polyphenol, antibacterial, *E. coli*

Abstrak

Penelitian analisis kandungan polifenol total jenis teh, seduhan, serta aktivitasnya sebagai antibakteri pada *Escherichia coli* telah dilakukan di Laboratorium Penelitian, Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Pasundan, dan Laboratorium Kimia, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran. Hasil analisis polifenol terhadap tiga sampel jenis teh memperlihatkan bahwa sampel teh hijau mempunyai kandungan polifenol total tertinggi, yaitu 23,18%, kemudian diikuti sampel teh hitam orthodox dan CTC (*crushing tearing curling*) masing-masing sebesar 14,23% dan 13,93%. Sementara itu, aktivitas penghambatan pertumbuhan *E. coli* memperlihatkan bahwa sampel teh hijau pada perbandingan teh dengan air 2 : 50 (b/v) mempunyai luas hambatan terbaik, yaitu 117,71 mm².

Kata kunci: teh, seduhan, polifenol, antibakteri, *E. coli*

PENDAHULUAN

Diare dapat didefinisikan sebagai malabsorpsi garam dan air yang mengakibatkan berkurangnya cairan dalam tubuh. Hal tersebut dapat terjadi ketika mukosa usus distimulasi untuk menge-

luarkan garam dan air. Sejumlah racun bakteri, seperti racun *cholera* dan bakteri enterotoksin, sangat berhubungan erat dengan penyakit diare (Eley, 1992). Salah satu bakteri yang sangat identik dengan diare tersebut adalah *Escherichia coli* (*E.*

coli).

E. coli merupakan bakteri yang selalu terdapat pada sistem pencernaan manusia dan hewan berdarah panas dan telah umum dianggap sebagai indikator pencemaran kotoran. Beberapa jenis *E. coli* umum ditemukan pada penderita diare dan keracunan makanan. Jenis-jenis *E. coli* tersebut di antaranya EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*), EIEC (*Enteroinvasive Escherichia coli*), ETEC (*Enterotoxigenic Escherichia coli*), dan EHEC (*Enterohaemorrhagic Escherichia coli*).

Setelah makanan masuk ke dalam saluran cerna, mikroba yang berada pada lingkungan asing di perut melakukan penetrasi pada mukosa lapisan usus yang tipis. Selanjutnya, mikroba-mikroba tersebut memproduksi dua jenis enterotoksin, yaitu LT (*heat - labile*) dan ST (*heat - stabile*), yang dapat mengakibatkan diare berair (Eley, 1992).

Mengingat kasus diare ini sangat penting dan frekuensinya tinggi, maka para ahli berupaya untuk mengatasi masalah ini termasuk di dalamnya adalah melalui perlakuan pemberian teh yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Funmilayo *et al.*, 2012; Mbata, 2007; Isogai *et al.*, 2001). Sebenarnya, mekanisme penghambatan bakteri oleh ekstrak teh masih menjadi perbincangan para ahli. Namun, secara umum mereka berpendapat bahwa mekanismenya berhubungan dengan dinding sel bakteri, terutama pada lapisan fosfolipid sehingga dapat mengganggu proses kunci yang berhubungan dengan membran sitoplasma bakteri (Taylor, 2005). Rohdiana (2011) menyatakan bahwa untuk memperoleh manfaat yang optimal, maka jenis dan teknik penyeduhan teh harus mendapat perhatian yang serius. Jenis dan teknik penyeduhan yang baik akan menghasilkan kandungan

polifenol total dan aktivitas yang tinggi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan polifenol sebagai senyawa antibakteri pada *E. coli* dengan cara memperlakukan jenis dan rasio pada proses penyeduhan.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa sampel teh hijau yang diperoleh dari supermarket, sedangkan teh hitam CTC dan orthodox diperoleh dari salah satu perkebunan besar di Indonesia.

Ketiga jenis teh tersebut diseduh masing-masing dengan perbandingan 1 : 50 b/v, 2 : 50 b/v, dan 3 : 50 b/v pada suhu 95°C. Seduhan selanjutnya dianalisis kandungan polifenol totalnya dengan menggunakan metode Follin-Ciocalteu (Chen dan Ho, 1995) dan analisis antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* dengan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Isogai *et al.* (2001). Kertas cakram dicelupkan dalam air seduhan dengan perbandingan teh dengan air 1 : 50 b/v, 2 : 50 b/v, dan 3 : 50 b/v hingga seduhan teh terserap (selama ± 30 menit). Selanjutnya, satu gesekan ose *E. coli* dimasukkan ke dalam 10 ml larutan fisiologis, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu dipipet sebanyak 1 ml ke dalam agar ENDO cair (suhu $\pm 45-50^\circ\text{C}$). Setelah membeku, tempelkan kertas cakram yang telah dicelupkan pada seduhan teh di tengah-tengah agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, diukur diameter penghambatannya dengan menggunakan milimeterskrup.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Pasundan, Bandung, dan di La-

boratorium Kimia Bahan Alam dan Lingkungan, Jurusan Kimia, Universitas Padjadjaran, Bandung, pada bulan Mei sampai dengan Agustus 2006.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis kandungan total polifenol dari seduhan berbagai jenis teh (teh hijau, teh hitam CTC, dan teh hitam orthodox) dengan perbandingan air seduhan yang berbeda pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan polifenol setiap jenis dan perbandingan teh adalah berbeda. Berdasarkan perbandingan antara teh dengan air seduhan, hasil analisis menyatakan bahwa perbandingan 1 : 50 menghasilkan polifenol dengan konsentrasi tertinggi, diikuti perbandingan 2 : 50 dan 3 : 50. Hal ini terjadi karena pelarut (air) tidak dapat lagi mengekstrak senyawa yang terdapat dalam bahan disebabkan konsentrasi media pelarut menjadi lebih pekat dibandingkan di dalam bahan sehingga proses difusi terhenti (larutan menjadi jenuh).

Secara umum, kandungan senyawa polifenol total yang dapat larut dalam air seduhan maksimalnya adalah 80%. Semakin pekat perbandingan antara teh dengan air sebagai pelarut, maka polifenol yang berada di dalam teh tidak akan banyak keluar karena pelarut yang digunakan terlalu sedikit atau terlalu pekat. Di samping itu, terekstraknya senyawa organik lain di luar polifenol dapat menyebabkan seduhan menjadi lebih pekat sebelum senyawa polifenol dari dalam teh benar-benar keluar seluruhnya.

Sementara itu, berdasarkan jenis teh,

kandungan polifenol teh hijau lebih tinggi daripada teh hitam orthodox dan teh hitam CTC. Menurut Bambang (2006), teh hitam lebih sedikit mengandung katekin (polifenol) daripada teh hijau karena dalam proses pengolahannya sengaja mengoksidasi katekin untuk memperbaiki warna, citarasa, dan aromanya.

Terbukti bahwa perbedaan proses pengolahan menghasilkan kandungan polifenol yang berbeda pula. Senyawa polifenol utama pada teh hijau adalah katekin, sedangkan pada teh hitam adalah theaflavin dan thearubigin. Penurunan kandungan senyawa polifenol (katekin) pada pengolahan teh hijau tidak sebanyak yang terjadi pada pengolahan teh hitam. Hal ini dimungkinkan karena sejak awal telah diupayakan inaktivasi enzim polifenoloksidase selama proses pelayuan.

Proses pengolahan teh akan mempengaruhi keberadaan senyawa polifenol (katekin) dalam pucuk teh. Pada pengolahan teh hitam, yang terdiri atas proses pelayuan, penggulungan, oksidasi polifenol enzimatis, pengeringan, sortasi, dan pengepakan, penurunan senyawa polifenolnya (katekin) sangat nyata terjadi (Bambang, 2006).

Pada proses pengolahan teh hitam, senyawa polifenol teh dalam bentuk katekin akan teroksidasi menghasilkan orthoquinon. Orthoquinon secara cepat akan terkondensasi dan bergabung membentuk bisflavanol. Senyawa ini akan terkondensasi lebih lanjut membentuk theaflavin (pemberi warna kuning) serta membentuk thearubigin (pemberi warna merah kecoklatan). Akhirnya, beberapa bagian thearubigin akan terpresipitasi oleh protein daun membentuk senyawa yang tidak larut (Harler, 1970).

TABEL 1

Kandungan polifenol total jenis teh dan seduhannya

| Jenis teh | % polifenol teh kering | Polifenol terekstrak (%) | | |
|--------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | 1 : 50 | 2 : 50 | 3 : 50 |
| Teh hijau | 23,18 ± 1,22 | 3,38 ± 0,18 ^a | 3,27 ± 0,22 ^b | 3,11 ± 0,15 ^c |
| Teh hitam CTC | 13,93 ± 0,87 | 3,38 ± 0,21 ^a | 2,99 ± 0,16 ^d | 2,71 ± 0,21 ^e |
| Teh hitam orthodox | 14,23 ± 0,91 | 3,29 ± 0,15 ^b | 3,02 ± 0,18 ^d | 2,72 ± 0,11 ^e |

Keterangan:

Rata-rata perlakuan yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan pada taraf 5%

TABEL 2

Luas penghambatan pertumbuhan oleh seduhan teh

| Jenis teh | Luas hambatan (mm ²) | | |
|--------------------|----------------------------------|-----------------|----------------|
| | 1 : 50 (b/v) | 2 : 50 (b/v) | 3 : 50 (b/v) |
| Teh hijau Tong Tji | 56,54 ± 2,47 c | 117,71 ± 3,71 a | 72,20 ± 2,67 b |
| Teh hitam CTC | 29,89 ± 2,01 e | 33,64 ± 2,33 e | 45,02 ± 2,19 d |
| Teh hitam orthodox | 30,24 ± 1,92 e | 31,53 ± 2,07 e | 48,47 ± 2,49 d |

Keterangan:

Rata-rata perlakuan yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan pada taraf 5%

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa jenis teh, perbandingan seduhan teh, dan interaksinya berpengaruh terhadap luas daerah penghambatan pertumbuhan *E. coli*. Hasil analisis penghambatan pertumbuhan *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 2.

E. coli merupakan salah satu bakteri berbentuk batang gram negatif anaerob fakultatif yang terdapat sebagai flora dalam usus manusia dan hewan berdarah panas. *E. coli* tidak membentuk spora, tumbuh baik dalam medium yang sederhana, dan stabil serta mengandung glukosa, ammonium sulfat, dan sedikit garam mineral. Racun dari *E. coli* berupa enterotoksin dapat menyebabkan diare (Salle, 1978).

Tabel 2 memperlihatkan bahwa sampel teh dengan jenis dan perbandingan se-

duhan yang berbeda menunjukkan aktivitas antibakteri yang bervariasi mulai dari luas hambatan terendah 29,89 mm² (teh hitam CTC dengan perbandingan 1 : 50 b/v) hingga luas hambatan tertinggi 117,71 mm² (teh hijau dengan perbandingan 2 : 50 b/v).

Teh hijau menghasilkan luas penghambatan tertinggi terhadap bakteri *E. coli* dibanding dengan teh hitam CTC dan teh hitam orthodox. Secara umum, kandungan zat aktif yang terdapat pada teh yang bersifat sebagai antibakteri adalah senyawa polifenol dalam bentuk katekin. Pada teh hijau, katekin merupakan komponen utama, terutama dalam bentuk epigallocatekin galat (EGCG). Sedangkan pada teh hitam, katekin diubah menjadi theaflavin dan thearubigin (Pambudi, 2000).

Keefektifan senyawa antibakteri di-

dasarkan pada zona penghambatan yang berada di sekeliling kertas cakram yang telah diresapi zat dengan konsentrasi tertentu. Bagaimana pun, zona penghambatan bervariasi bergantung pada kemampuan difusibilitas zat, jenis medium, dan banyak faktor lainnya. Ketika suatu senyawa kontak dengan bahan pada waktu yang lama, senyawa tersebut akan menentukan sifat bakteriostatik, di samping bakteriosida (Benson, 1998).

Senyawa-senyawa aktif yang terkandung teh diakibatkan oleh senyawa fenolnya. Persenyawaan fenol dapat bekerja terutama dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel. Persenyawaan fenol dapat bersifat bakterisidal maupun bakteriostatik bergantung pada konsentrasi yang digunakan. Spora bakteri dan virus lebih resisten terhadap persenyawaan tersebut dibanding dengan sel vegetatif bakteri (Pelczar, 1988).

Dari hasil pengujian terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi teh hitam, maka diameter luas hambatannya pun akan semakin besar. Pada teh hijau, perbandingan teh dengan air 2 : 50 (b/v) menghasilkan luas hambatan yang lebih besar daripada perbandingan 1 : 50 (b/v) dan 3 : 50 (b/v). Pada perbandingan 1 : 50 (b/v), tidak semua komponen antibakteri terekstrak, sedangkan pada perbandingan 3 : 50 (b/v) diperoleh penurunan aktivitas antibakteri karena konsentrasi senyawa antibakteri yang terekstrak dalam pelarut semakin rendah.

Teh hijau menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi dibandingkan teh hitam jenis CTC dan orthodox. Perbandingan teh hijau dengan air 2 : 50 (b/v) mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan menghasilkan luas daerah hambatan sebesar 117,71 mm². Sedangkan teh hitam orthodox

dan CTC hanya menghasilkan luas daerah hambatan sebesar 48,47 mm² dan 45,02 mm² pada perbandingan 3 : 50 (b/v).

Pada teh hijau, luas penghambatan tertinggi terdapat pada kandungan polifenol 19,73% yang dihasilkan dari perbandingan 2 : 50 (b/v). Berbeda dengan teh hitam, semakin tinggi perbandingan yang diberikan pada teh hijau, tidak menghasilkan penghambatan yang lebih besar. Pada konsentrasi yang rendah, tidak semua komponen antibakteri terekstrak dan terserap kertas cakram. Sedangkan pada konsentrasi yang tinggi, konsentrasi senyawa yang terekstrak dan terserap semakin rendah karena larutan menjadi sangat pekat sehingga senyawa antibakteri yang masih terdapat dalam sel daun sudah tidak dapat berdifusi lagi.

Penghambatan teh hitam baik CTC maupun orthodox sangat rendah akibat reaksi enzimatik (fermentasi) selama proses. Kandungan theaflavin juga rendah (hanya 2-6%) sehingga memerlukan perbandingan teh yang lebih tinggi daripada teh hijau untuk mendapatkan sifat antibakterinya (Lee and Lee, 2002).

Substansi fenol dalam konsentrasi tinggi akan mengkoagulasi protein dalam sel. Sedangkan dalam konsentrasi rendah, mengakibatkan bocornya isi sitoplasma. Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar-masuk bahan lain. Kerusakan pada membran akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar, 1988).

Mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri di antaranya adalah meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel yang menyebabkan kebocoran sel, serta mengendapkan protein sel bakteri pa-

da konsentrasi tinggi, sedangkan pada konsentrasi rendah, menghambat sintesis enzim yang esensial.

Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan silang peptidoglikan dalam upayanya menerobos dinding sel. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol dapat menyebabkan kebocoran nutrient sel dengan merusak ikatan hidrofobik komponen penyusun membran sel seperti protein dan fosfolipid serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofobik yang berakibat meningkatnya permeabilitas membran. Terjadinya kerusakan pada membran sel berakibat terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Brannen, 1993).

KESIMPULAN

Hasil analisis memperlihatkan bahwa jenis dan teknik penyeduhan menghasilkan kandungan polifenol total dan aktivitas yang bervariasi. Kandungan polifenol total tertinggi terdapat pada sampel teh hijau dengan perbandingan teh dengan air 1 : 50 (b/v), yaitu sebesar 20,04%. Teh hijau pada perbandingan 2 : 50 (b/v) memperlihatkan luas hambatan terbaik, yaitu 117,71 mm².

DAFTAR PUSTAKA

- Bambang, K. 2006. *Prospek Teh Indonesia sebagai Minuman Fungsional*, www.ipard.com/artperkebunan/artikellist.asp.
- Benson, J.H. 1998. *Microbiological Application (Laboratory Manual in General Microbiology)*, WCB/McGraw-Hill, Boston.
- Brannen, L.A. dan Davidson P.M. 1993. *Antimicrobials in Foods*. New York: Marcel Dekker.
- Eley, A.R. 1992. *Microbial Food Poisoning*. London: Chapman & Hall.
- Friedman, M., P.R. Henika, C.E. Levin, R.E. Mandrell, dan N. Kozuke. 2006. Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavin and tea extract against *Bacillus cereus*. *Journal of Food Protection* Vol. 69.
- Funmilayo, Abu-Saeed Kamaldeen dan Abu-Saeed Muhammad Buhari. 2012. Phytochemical screening and antimicrobial properties of a common brand of black tea (*Camellia sinensis*) marketed in Nigerian environment. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 2(2): 259-263.
- Harler, C.R. 1970. *Tea Manufacture*. London: Oxford University Press.
- Isogai, E, H. Isogai, K. Hirose, S. Hayashi, K. Oguma. 2001. In vivo synergy between green tea extract and levofloxacin against enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157 infection. *Curr Microbiol* 42: 248-51.
- Lee, K.W. dan H.J. Lee. 2002. *Antioxidant Activity of Black Tea vs Green Tea*. www.nutrition.org.
- Mbata, T.I. 2007. Preliminary studies of the antibacterial activities of processed Kenyan and Nigerian tea. *African Journal of Biotechnology* 6(3):278-279.
- Pambudi, J. 2004. Teh Minuman Kesehatan, www.gizi.net

- Pelczar, M.J. Jr. dan E.C.S. Chan. Dasar-Dasar Mikrobiologi 1. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Rohdiana, D. 2011. *Teh Ini Menyehatkan, Telaah Ilmiah Populer*. Edisi kedua. Bandung: Alfabeta.
- Salle, A.J. 1978. *Fundamental Principles of Bacteriology*. New York: McGraw-Hill.
- Taylor. P.W., M.T. Jeremy, Miller, P.D. Stapleton. 2005. Antimicrobial Properties of Green Tea Catechins. *Food Science and Technology Bulletin*.