

MAKALAH PENDAMPING : PARALEL E



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA IV
"Peran Riset dan Pembelajaran Kimia dalam Peningkatan Kompetensi
Profesional"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 31 Maret 2012



POTENSI PEMANFAATAN EKSTRAK AMPAS TEH HIJAU FRAKSI ETIL ASETAT SEBAGAI AGENSIA ANTIBAKTERI

Hartati Soetjipto⁽¹⁾, Yohanes Martono, Tommy Hariyadi Setiawan
*Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana
Jln. Diponegoro 52-60 Salatiga, 50712. Indonesia*

* Telp/Fax (0298) – 321212/ 321433 email: Hartatis2003@yahoo.com

ABSTRAK

Banyaknya industri minuman teh instan yang muncul menyebabkan semakin banyaknya jumlah ampas teh yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi ampas teh hijau untuk dimanfaatkan sebagai agensia antibakteri dengan cara menentukan aktivitas antibakteri dan melakukan skrining fitokimia fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau. Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau diuji terhadap bakteri *B. subtilis*, *E. coli* dan *S. aureus*. Data dianalisis menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5 % digunakan untuk membandingkan purata perlakuan. Skrining fitokimia fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau dilakukan menggunakan metode Ciulei. Fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau menunjukkan efek antibakteri secara kuat terhadap bakteri *B. subtilis* dan *S. aureus* pada dosis 750 µg, sedangkan terhadap bakteri *E. coli* pada dosis 1250 µg. Hasil skrining fitokimia menunjukkan fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau masih mengandung alkaloid, kumarin, flavonoid, tanin, saponin, sterol dan triterpen. Fraksi etilasetat ekstrak ampas teh hijau berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai agensia antibakteri.

Kata Kunci : Teh Hijau, Ampas Teh, Antibakteri,

PENDAHULUAN

Tahun 2009, Indonesia termasuk salah satu negara penghasil dan pengeksport teh dengan tingkat produksi mencapai 120.000 ton/tahun atau memenuhi sekitar 5,8 % kebutuhan dunia. Jumlah tersebut menempatkan Indonesia sebagai salah satu negara penghasil dan pengeksport teh terbanyak di dunia setelah India, China, Sri Lanka, Kenya dan Vietnam dengan biaya pendapatan sebesar 110 juta dollar per tahun [1]

Polifenol dalam teh merupakan senyawa yang berperan besar sebagai pemberi cita rasa dan berbagai khasiat bagi tubuh.[2]. Menurut [3] sifat

antioksidan dan antibakteri teh berhubungan dengan adanya polifenol. Selain itu, efek farmakologis teh yang lain terhadap tubuh yaitu sebagai antiaterosklerosis, antihipertensi, antiradiasi dan antikanker .[4]. Manfaat teh sebagai antibakteri telah diuji di berbagai penelitian. Sejumlah besar penelitian tersebut menyatakan bahwa teh dapat menunjukkan penghambatan terhadap bakteri seperti *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Cl. perfringens*, *E. coli*, *Helicobacter pylori*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococci mutans*, *Salmonella spp* dan *Staphylococci aureus* .[5]

Citra Indonesia sebagai salah satu negara penghasil teh berdampak terhadap pertumbuhan industri pengolahan teh. Banyaknya industri minuman teh instan yang ada di Indonesia menyebabkan semakin banyaknya jumlah ampas teh yang dihasilkan.

Saat ini pemanfaatan ampas teh lebih banyak digunakan sebagai bahan pembuat pupuk kompos.[6,7] melaporkan bahwa ampas teh masih memiliki aktivitas antioksidan. Sedangkan menurut [8] ampas teh, baik teh hijau maupun teh hitam, juga dapat digunakan sebagai bahan aktif dalam tabir surya. Berdasarkan manfaat polifenol teh sebagai antibakteri dan masih adanya senyawa polifenol dalam ampas teh, maka dalam penelitian ini akan dilihat bagaimana potensi ampas teh hijau dimanfaatkan sebagai agensia antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan Gram negatif (*Escherichia coli*)

Tujuan

- Menentukan aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dari ekstrak ampas teh hijau terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- Menentukan golongan kandungan senyawa kimia fraksi etil asetat dari ekstrak ampas teh hijau.

PROSEDUR PERCOBAAN

Sampel yang digunakan adalah ampas teh hijau yang diperoleh dari kedai teh di Salatiga.

Bahan kimia yang digunakan antara lain etil asetat, methanol, etanol, petroleum eter (J.T. Baker), kloroform (Merck), NaCl (Oxoid LP 0005), *Nutrient Broth* (Merck), *Mueller Hinton Agar* (Oxoid CM 0337), tetrasiklin 30 µg (Oxoid CT0054B), *paper disc* 6 mm (Whatman), plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck), *iodonitrotetrazolium chloride* (Fluka), HCl (E-Merck), reagen Mayer, reagen Dragendorff, CH₃COOH glasial (Merck), FeCl₃ (E-Merck), H₂SO₄ (Merck), logam Mg (E-Merck) dan akuades.

Bakteri uji yang digunakan adalah *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Escherichia coli* IFO 0091 dan *Staphylococcus aureus* ID 784.

Piranti yang digunakan adalah neraca 2 digit (Acis AD 300), neraca analitis (Mettler H 80), oven (WTB Binder

7200), *shaker* (Ika Labortechnik KS 501 *digital*), *rotary evaporator* (Buchi R-114), *waterbath* (Memmert), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV Mini 1240), lampu UV, mikropipet 10 µL (Eppendorf 3130), jangka sorong (Vernier Calipers 150 x 0,05 mm),

Ekstraksi dan Fraksinasi Ekstrak Ampas Teh Hijau [3]

Ampas teh hijau diekstrak menggunakan metanol 80 % dan di *shaker* selama 24 jam. Filtrat hasil penyaringan disimpan, sedangkan ampas teh dimaserasi lagi sebanyak 3x dengan metanol 80 % selama 1 jam. Semua filtrat yang diperoleh kemudian digabung dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C.

Fraksinasi ekstrak ampas teh dilakukan menggunakan petroleum eter dan etil asetat secara berurutan

Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Ampas Teh Hijau dengan Metode Difusi Agar

Satu ose bakteri diinokulasikan ke dalam *Nutrient Broth* (NB) lalu diinkubasi selama 24 jam dengan *shaker*. Larutan *Nutrient Broth* yang mengandung bakteri dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9 % sampai diperoleh kerapatan optik / *optical density* (OD) antara 0,4-0,5 pada panjang gelombang 550 nm [9]

1 ml larutan bakteri ditambah 9 mL medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) pada suhu 40-45 °C. dipadatkan dalam cawan petri. Cakram kertas diletakkan di atas medium yang berisi bakteri uji, ditetesi 20 µL fraksi etil asetat dengan variasi dosis 750, 1000, 1250, 1500, 2000 dan 3000 µg/disc. Sebagai kontrol negatif digunakan akuades, sedangkan sebagai kontrol positif digunakan tetrasiklin. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam dalam posisi terbalik. Munculnya Daerah terang di sekitar cakram menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan diukur sebagai Diameter Daerah Hambat (DDH) [10]

Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Ampas Teh Hijau dengan Metode Bioautografi

Digunakan fase diam plat silika dan fase gerak kloroform : metanol : akuades (6,5 : 3,5 : 1 v/v/v) [11]. Setelah plat dikeringkan kemudian disemprot dengan suspensi bakteri dalam medium NB (OD_{550nm} = 0,5). Plat diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Visualisasi dilakukan dengan pewarna *iodonitrotetrazolium* (INT)

5 mg/mL yang disemprotkan pada plat. Permukaan kromatogram yang ditumbuhi bakteri akan berwarna merah-ungu, sedangkan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri akan menghasilkan spot putih. Spot senyawa antibakteri dihitung nilai Rf-nya [10]

Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Ampas Teh Hijau menggunakan reagen spesifik.[12]

Identifikasi dilakukan terhadap Alkaloid, Kumarin, Flavonoid, Tanin,, Minyak atsiri, Saponin, Sterol dan Triterpen.,

Analisis Data

Data hasil dianalisis dengan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) sub sampling dengan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan. Dosis fraksi (750, 1000, 1250, 1500, 2000 dan 3000 µg/disc) Untuk membandingkan purata digunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5 % [13]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Ampas Teh Hijau Metode Difusi Agar

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ampas teh hijau (kadar air 78,65 % w/w) fraksi etil asetat dan kontrol terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada **Gambar 1 dan Tabel 1**

Besarnya DDH fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau yang muncul dipengaruhi oleh dosis yang digunakan. Semakin tinggi dosis yang digunakan semakin besar DDH yang dimunculkan, kecuali terhadap *E. coli*.

Bakteri *E. coli* merupakan salah satu jenis bakteri Gram negatif, sedangkan bakteri *B. subtilis* dan *S. aureus* termasuk bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan Gram negatif karena hanya terdiri dari satu lapisan, yaitu lapisan peptidoglikan. Sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai dua lapisan dinding sel, yaitu lipopolisakarida dan protein yang membentuk lapisan luar, dan peptidoglikan sebagai lapisan dalam [14.. Adanya lapisan luar pada dinding sel bakteri Gram negatif membuat bakteri ini relatif lebih tahan terhadap aktivitas suatu bahan antibakteri [15]

Berdasarkan DDHnya, aktivitas antibakteri suatu bahan digolongkan menjadi 'Kuat' bila DDH yang dihasilkan >8 mm; bersifat sedang bila DDH yang dihasilkan antara 6 hingga 8 mm dan bersifat lemah atau tidak aktif bila DDH yang dihasilkan <6 mm.[16]

Berdasarkan kriteria tersebut, maka dapat dikatakan bahwa aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau pada dosis 750 hingga 3000 µg/disc terhadap bakteri *B. subtilis* dan *S. aureus* tergolong kuat, sedangkan terhadap bakteri *E. coli* pada dosis 750 dan 1000 µg/disc masih menunjukkan efek yang lemah. tetapi, pada dosis 1250 hingga 3000 µg/disc memiliki sifat antibakteri yang kuat.

Hasil Skrining fitokimia ampas teh hijau disajikan pada tabel 2. Fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau masih mengandung beberapa golongan senyawa kimia, seperti alkaloid, kumarin, flavonoid, tanin, saponin, sterol dan triterpen, kecuali minyak atsiri yang mungkin telah hilang selama proses produksi minuman teh.

KESIMPULAN

1. Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau pada dosis 750 hingga 3000 µg terhadap bakteri *B. subtilis* dan *S. aureus* tergolong kuat, sedangkan terhadap bakteri *E. coli* baru tergolong kuat pada dosis 1250 µg.

2. Fraksi etil asetat ekstrak ampas teh hijau positif mengandung alkaloid, kumarin, flavonoid, tanin, saponin, sterol dan triterpen.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] <http://www.antaranews.com/berita/1266686222/produk-teh-indonesia-siap-hadapi-cafta> (Diakses tanggal 12 Januari 2011).
- [2] Chen, Zong-Mao., Hua-Fu Wang, Xiao-Qing You and Ning Xu. Dalam: Zhen, Yong-su, Zong-mao Chen, Shu-jun Cheng and Miao-lan Chen (Editor). 2002. *The Chemistry of Tea Non Volatiles*.
- [3] Erol, Nihal Turkmen., Ferda Sari, Gokce Polat and Y. Sedat Velioglu. 2009. *Antioxidant and Antibacterial Activities of Various Extracts and Fractions of Fresh Tea Leaves and Green Tea*. Tarim Bilimleri Dergisi. 15 (4). 371-378.

- [4] Li, Shen-De. *Biochemical and Cellular Bases for Tea Activity*. Dalam: Zhen, Yong-su, Zong-mao Chen, Shu-jun Cheng and Miao-lan Chen (Editor). 2002. *Tea, Bioactivity and Therapeutic Potential*. London : Taylor and Francis.
- [5] Friedman, Mendel. 2007. *Overview of Antibacterial, Antitoxin, Antiviral and Antifungal Activities of Tea Flavonoids and Teas*. Mol. Nutr. Food Res. 51, 116-134.
- [6] Agustianingrum, Novina. 2009. *Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik Total dan Epigallocatekin Galat Pada Ampas Teh dari Industri Teh di Daerah Ungaran*. Salatiga : Skripsi Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana.
- [7] Wijoyo, Dany. 2009. *Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik Total dan Epigallocatekin Galat Ampas Teh (Camellia sinensis (L.) O. Kuntze) dari Kedai Teh di Salatiga*.: Skripsi Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana.
- [8] Maidawati, Nurul, Christin A. Ratueda, Maria Gunawan, Tommy Hariadi Setiawan dan Yohanes Martono. 2010. *Pemanfaatan Limbah Teh Dalam Praformulasi Tabir Surya*. Salatiga : Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains. Vol. 1, No. 1. ISSN : 2087-0922.
- [9] Collins, L. A., M. N. Torrero and S. G. Franzblau. 1998. *Green Fluorescent Protein Reporter Microplate Assay for High-Throughput Screening of Compounds against Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 42, No. 2, p. 344-347.
- [11] Amarowicz, Ryszard, Anna Maryniak and Fereidoon Shahidi. 2005. *TLC Separation of Methylated (-)-Epigallocatechin-3-Gallate*. Czech J. Food Sci. Vol. 23, No. 1 : 36-39.
- [12] Siregar, F., Soerono Akbar S. M. and Chairul. 2001. *Phytochemical Screening and Hemolytic Activity of Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae) Latex*. International Seminar on Natural Products Chemistry and Utilization of Natural Resources. ISBN : 979-95131-6-2.
- [13] Steel, R. G. D. and Torrie, J. H., 1981. *Principles and Procedures of Statistic Biometrical Approac, 2nd*. Japan : Mc Graw Hill International Book co., p.633
- [14] Timotius, K. H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Salatiga : Universitas Kristen Satya Wacana.
- [15] Shimamura, Tadakatsu, Wei-Hua Zhao and Zhi-Qing Hu. 2007. *Mechanism of Action and Potential for Use of Tea Catechin as an Anti-infective Agent*. Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry, 6, 57-62.
- [16] Elgayyar, M., F. A. Draughon, D. A. Golden and J. R. Mount. 2001. *Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms*. J. Food Pro, Vol. 64, No. 7, Pages 1019-1024.

LAMPIRAN:



Gambar 1 Hasil Uji Antibakteri Metode Difusi Agar Fraksi Etil Asetat Ekstrak mpas Teh Hijau Pada Dosis 750 dan 3000 $\mu\text{g}/\text{disc}$ serta Kontrol Terhadap Bakteri *B. subtilis*

Tabel 1. Purata Diameter Daerah Hambat ($\bar{X} \pm \text{SE}$ (mm)) Berbagai Dosis Fraksi Etil Asetat Ekstrak Ampas Teh Hijau Terhadap Bakteri *B. subtilis*, *S. aureus* dan *E. coli*

Bakteri	Dosis ($\mu\text{g}/\text{disc}$)					
	750	1000	1250	1500	2000	3000
	Purata \pm SE					
<i>B. subtilis</i> W = 0,4066	16,20 \pm 0,14 (a)	16,65 \pm 0,17 (b)	17,54 \pm 0,18 (c)	18,11 \pm 0,11 (d)	19,16 \pm 0,18 (e)	20,34 \pm 0,21 (f)
<i>S. aureus</i> W = 0,2589	10,21 \pm 0,07 (a)	11,01 \pm 0,17 (b)	11,57 \pm 0,07 (c)	12,13 \pm 0,13 (d)	12,90 \pm 0,21 (e)	14,92 \pm 0,17 (f)
<i>E. coli</i> W = 0,2047	6,00 \pm 0,00 (a)	6,00 \pm 0,00 (a)	8,21 \pm 0,08 (b)	8,70 \pm 0,20 (c)	9,32 \pm 0,08 (d)	10,49 \pm 0,18 (e)

Keterangan : * W = BNJ 5 %

* Angka yang disertai huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antar perlakuan dosis, sedangkan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar perlakuan dosis.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Ampas Teh Hijau

No	Golongan Kandungan Kimia	Hasil
1	Alkaloid	(+)
2	Kumarin	(+)
3	Flavonoid	(+)
4	Tanin	(+)
5	Minyak atsiri	(-)
6	Saponin	(+)
7	Sterol dan triterpen	(+)

Keterangan : * (+) = mengandung golongan kimia yang diuji

* (-) = tidak mengandung golongan kimia yang diuji

Tanya Jawab :

Nama Penanya : anung pujianto

Pertanyaan :

Apa yang menyebabkan ampas teh hijau mempunyai daya anti bakteri yang rendah terhadap bakteri *E. Coli* ?

Jawaban :

Struktur sel bakteri (khususnya dinding sel) bakteri *E. Coli* khususnya Gram – lebih kompleks daripada dinding sel bakteri Gram +, sehingga lebih relatif bertahan terhadap senyawa anti bakteri.