BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak teh hitam (*Camelia sinensis var. Assamica*) terhadap penghambatan pembentukan *Methicillin Resistant Stapylococcus aureus.* Teh hitam termasuk salah satu jenis teh yang difermentasi secara sempurna sehingga menghasilkan warna yang hitam. Banyak sekali tipe teh hitam, sebagian besar diberi nama sesuai daerah asal, salah satunya adalah Assamica. Tipe teh ini berasal dari India dan memiliki aroma yang kuat (Kottawa-Arachchi *et al*., 2011)

Komponen kimia utama yang terkandung di dalam daun teh adalah polifenol, yang terdiri dari katekin, flavonoid, saponin dan tannin dianggap bahan yang paling potensial dan merupakan molekul bioaktif utama pada teh (Toda, 2011). Saponin yang berfungsi untuk melabilkan tegangan osmotik sel pada bakteri juga terkandung pada teh hitam (Akinpelu *et al*., 2015). Sementara pada kandungan kimia Rosella, saponin adalah senyawa kimia yang mekanisme kerjanya merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Saponin mampu berikatan dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri, menyebabkan meningkatnya permeabilitas dari dinding sel bakteri (Arabski *et al*., 2009)

Keunggulan teh hitam dibandingkan dengan jenis teh yang lain adalah kandungan tanin yang paling tinggi dibandingkan teh lainnya. Hal ini dikarenakan teh hitam mengalami proses fermentasi yang sempurna (Khasnabis *et al*., 2015). Pada teh oolong, katekin bukan zat yang diunggulkan dalam fungsinya sebagai antigenotoksis (Su *et al*., 2007).

Penelitian ini menggunakan teh hitam kemasan “Bless Tea” yang diambil bagian pucuk teh yang masih muda. Teh hitam kemudian dilarutkan pada pelarut etanol 96% lalu diekstraksi dengan metode Soxhlet (Tahir *and* Moeen, 2011). Alasan digunakan pelarut etanol 96% karena pelarut ini mudah menguap, tidak berwarna, dan dapat menghasilkan ekstrak yang murni (Bimakr *et al*., 2011). Metode soxhlet dipilih dengan memperhitungkan keefektifitasan waktu (Redfern *et al*., 2014).

Penelitian ini menggunakan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang membentuk biofilm dan telah teridentifikasi. Deteksi biofilm dilakukan dengan metode tabung. Fokus pengamatan adalah pembentukan cincin ungu kebiruan pada tabung penelitian (Hassan *et al*., 2011). Hasil pengamatan dikonversi menjadi hasil kuantitatif dengan mengukur intensitas warna untuk dihasilkan nilai *Mean Gray Value*. Hal ini bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Biofilm Minimum (*Minimum Biofilm Inhibitory concentration*).

Metode deteksi pembentukan biofilm secara kualitatif terdiri dari metode tabung, *Tissue Culture Plate,* dan *Congo Red Agar*. Pertimbangan biaya, alat, prosedur serta sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi menjadikan metode tabung lebih dipilih dibandingkan metode yang lain (Hassan *et* al., 2011). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan dua pengamatan, yaitu pengamatan kualitatif dan kuantitatif.

Konsentrasi ekstrak teh hitam yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1%, 1,25%, dan 1,50%. Konsentrasi tersebut dipilih berdasarkan penelitian eksplorasi yang telah dilakukan sebelumnya. Interval 0,25% dipilih untuk meningkatkan spesifisitas kadar hambat minimum bioflm.

Hasil kualitatif dari penelitian ini didapatkan dari pengamatan secara langsung pembentukan cincin biru keunguan pada dinding tabung penelitian (Singhai *et al*., 2012). Tebal atau tipis cincin biofilm disimpulkan dengan positif terbentuk biofilm dan ditandai dengan tanda (+) sedangkan apabila tidak terbentuk biofilm akan ditandai dengan tanda (-). Hasil pengamatan kualitatif disimpulkan bahwa cincin biofilm mengalami penurunan yang signifikan pada konsentrasi 0,75% pada hampir di seluruh pengulangan. Konsentrasi terkecil dimana pembentukan biofilm mulai dihambat ditetapkan sebagai kadar hambat minimum biofilm (Chaieb *et al*., 2011). Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa MBIC dengan ekstrak teh hitam adalah 0,75%.

Hasil kuantitatif didapatkan dengan mengukur intensitas warna cincin biru keunguan pada tabung penelitian. Nilai *Mean Gray Value* digunakan sebagai konversi nilai kuantitatif. Semakin besar nilai Mean Gray Value berarti semakin pekat intensitas warna pada tabung penelitian, sedangkan semakin kecil nilai Mean Gray Value berarti semakin pudar intensitas warna pada tabung penelitian. Demikian juga dengan semakin pekat intensitas warna berarti semakin banyak biofilm yang terbentuk.

Analisis statistik menggunakan SPSS untuk *Mac* untuk menguji hasil kuantitatif penelitian ini. Analisis statistik yang digunakan adalah Uji *One Way ANOVA* dan Uji Korelasi *Pearson*. Uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi p = 0,000 (p < 0,05), dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek yang bermakna pada tiap kelompok konsentrasi ekstrask teh hitam. Uji Korelasi *Pearson* didapatkan hasil r = 0,869, dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi ekstrak teh hitam dengan *Mean Gray Value* biofilm. Nilai korelasi

positif menunjukkan bahwa korelasi yang terbentuk bersifat searah, artinya semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar hasil *Mean Gray Value* yang dihasilkan yang berarti semakin tipis biofilm yang terbentuk (Dahlan, 2010)

Hasil penelitian ini diduga dipengaruhi oleh kandungan saponin dan polifenol pada ekstrak teh hitam. Saponin berfungsi untuk menurunkan tekanan osmotic sel bakteri (Court, 2000). Polifenol yang terdiri dari flavonoid, katekin dan tannin masing-masing berfungsi untuk mengendapkan protein membran sel, mengacaukan sinyal antar sel, dan menginaktivasi adhesion (Trentin *et al*., 2013)

Kurangnya spesifisitas terhadap penentuan jenis kandungan yang paling aktif pada penghambatan pembentukan biofilm merupakan kekurangan penelitian ini. Beberapa zat aktif yang diduga berpengaruh dalam penghambatan pemebentukan biofilm dicantumkan pada penelitian ini. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengupas kandungan ekstrak teh hitam yang paling berpengaruh terhadap pembentukan biofilm.

Bahan baku penelitian ini merupakan teh hitam kemasan “Bless Tea” yang telah dikeringkan. Oleh karena itu kurang dapat dipastikan bagian mana dari daun teh yang dipergunakan dalam penelitian ini.