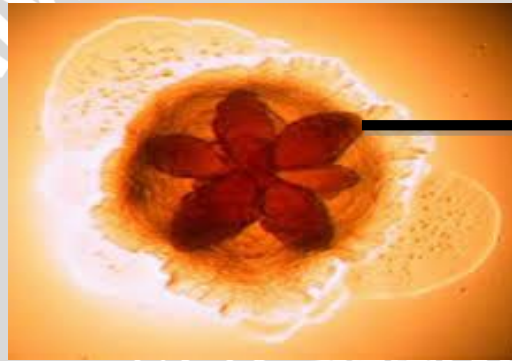


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan oral mikrobiota yang dapat ditemukan pada primata dan mamalia. Habitat primer bakteri ini belum diketahui pasti, namun banyak ditemukan di dalam plak pada servikal gingiva (Rateitschak *et al.*, 2004).



Bentukan bunga dari koloni *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Gambar 2.1 Koloni *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara mikroskopis (Samaranayake, 2006).

2.1.1 Kultur dan Karakteristik

Aggregatibacter actinomycetemcomitans sebelumnya *Actinobacillus actinomycetemcomitans* merupakan bakteri gram negatif fakultatif anaerob kokobasil berbentuk tidak spora, tidak motil yang sering mengakibatkan komplikasi *actinomycosis* (Nield-Gehrig *et al.*, 2011). Sifat bakteri ini adalah sakarolitik, kapnopilik batang yang berakhir bulat (*rod-shaped*), dan membentuk koloni kecil berbentuk cekung dengan bagian tengah yang menyerupai bintang kecil ketika dibiakkan pada *blood agar* (Samaranayake, 2006). Bakteri ini pertama kali dikenal sebagai patogen periodontal. Hal ini diketahui karena tingginya angka kejadian periodontitis bila dibandingkan dengan

jumlah plak sampel dari kondisi klinis lainnya, yakni gingivitis dan periodontal yang sehat (Rateitschak et al., 2004). *A. actinomycetemcomitans* memiliki tiga faktor virulensi, yaitu (i) pembentukan inflamasi, (ii) menginduksi destruksi jaringan, (iii) menghambat regenerasi jaringan. Bakteri ini memiliki keterlibatan dalam proses patologi jaringan, meliputi inflamasi gingiva serta destruksi ligament periodontal dan tulang alveolar yang dikenal sebagai jembatan antar tulang dan gigi (Henderson et al., 2002).

Strain *A. actinomycetemcomitans* akan terkultur di dalam kondisi *microaerophilic* dengan suhu 37°C pada *Brain Heart Infusion (BHI)*. Medium ini berisi 40mg NaHCO₃ dalam satu liter (Periasamy dan Kolenbrander, 2009).

2.1.2 Taksonomi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah genus dari bakteri gram negatif. Berikut adalah taksonomi dari bakteri *A. actinomycetemcomitans*

Regnum	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Classis	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pasteurellales</i>
Family	: <i>Pasteurellaceae</i>
Genus	: <i>Actinobacillus</i>
Species	: <i>A. actinomycetemcomitans</i> (Samaranayake, 2006).

2.1.3 Patogenesis

Aggregatibacter actinomycetemcomitans merupakan salah satu bakteri yang membentuk biofilm dan menempel pada rongga mulut sehingga menimbulkan patogen periodontal, secara in vitro bakteri ini dapat menginduksi beberapa sitokin dan kemoksin yang terlibat dalam mediasi pergerakan leukosit

ke jaringan yang dituju (Garlet et al., 2005). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* memiliki beberapa cara untuk menghindari reaksi pertahanan sel tubuh antara lain menghambat kemotaksis leukosit *polymorphonuclear* (PMN), membunuh PMN dan monosit, memproduksi faktor immunosupresan, mensekresi protease yang mampu membelah IgG, dan memproduksi *Fc-binding protein* (Henderson, 2002). Adapun faktor virulensi yang diproduksi oleh *A. actinomycetemcomitans* dan memiliki peran utama terhadap kerusakan jaringan adalah lipopolisakarida (LPS). Substansi ini merupakan stimulan penting produksi *nitric oxide* yang merupakan pencetus kehadiran sitokin dan mediator pro inflamasi lainnya (Blix, 2003).

2.1.4 Identifikasi Karakteristik *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

2.1.4.1 Pewarnaan Gram

Bakteri adalah suatu mikroorganisme yang transparan, tidak berwarna dan sulit untuk dilihat secara langsung. Maka diperlukan suatu pewarnaan pada bakteri untuk mengidentifikasi bakteri tersebut. Struktur dinding sel bakteri mempengaruhi perbedaan hasil antara bakteri gram positif dan gram negatif. Warna akhir tes pewarnaan gram untuk bakteri gram negatif adalah merah. Pasca bakteri ditentukan jenisnya gram positif atau negatif, kemudian dilihat bentuknya dengan menggunakan mikroskop (Burton dan Engelkrik, 2004). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* berukuran sangat kecil dan berbentuk kokobasil (Åberg, 2013).

2.1.4.2 Uji Katalase

Uji ini digunakan untuk membedakan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dari *Aggregatibacter segnis* dan *Aggregatibacter aphrophilus*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* memiliki enzim katalase

yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , sehingga akan menunjukkan adanya gelembung udara apabila dilakukan uji katalase (Tortora *et al.*, 2010).

2.1.4.3 Uji Urease

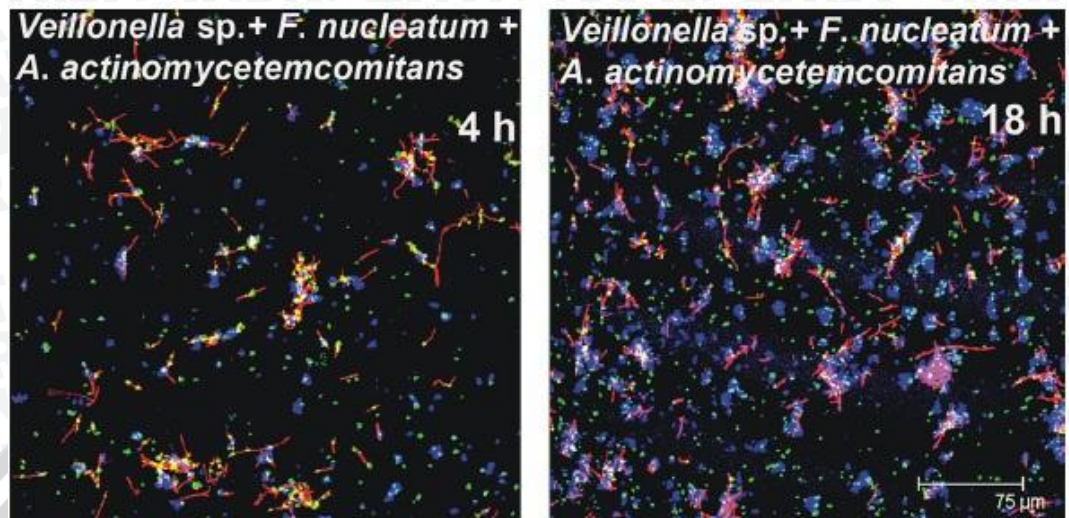
Uji Urease bertujuan untuk mengetahui kemampuan degradasi urea oleh bakteri menjadi karbon dioksida dan amonia oleh enzim urease. Amonia akan meningkatkan pH media pertumbuhan bakteri sehingga akan merubah warna media menjadi merah muda. Namun *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tidak dapat mendegradasi urea sehingga warna media pertumbuhan bakteri tidak berubah menjadi merah muda (Kumala, 2006).

2.1.4.4 Uji Biokimia

Reaksi biokimia dipakai untuk melakukan identifikasi dan klasifikasi bakteri sehingga dapat melihat perbedaan metabolisme bakteri. Untuk bertahan hidup, setiap bakteri membutuhkan energi. Fermentasi karbohidrat merupakan salah satu sumber energi. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dapat menfermentasi glukosa, maltosa, galaktosa namun *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tidak dapat menfermentasi sukrosa, laktosa, sorbitol. Untuk mengetahui ada atau tidaknya fermentasi laktosa maka dilakukan uji pada agar MacConkey. Apabila tidak terjadi fermentasi laktosa, maka warna agar tidakakan berubah. Selanjutnya dilakukan pula uji pada agar TSI (*Triple Sugar Iron*) yang memiliki komposisi glukosa, laktosa dan sukrosa. Karena *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* hanya dapat menfermentasi glukosa maka media bagian *slant* berwarna merah dan bagian *butt* akan bewarna kuning (Aneja, 2003; Kumala, 2006).

2.2 Biofilm *A. actinomycetemcomitans*

Biofilm adalah suatu istilah yang digunakan untuk menggambarkan suatu lingkungan kehidupan yang khusus dari sekelompok mikroorganisme, yang melekat pada suatu permukaan padat dalam lingkungan perairan. Biofilm terdiri dari sel-sel mikroorganisme yang melekat erat ke suatu permukaan sehingga berada dalam keadaan diam (*sessil*), tidak mudah lepas atau berpindah tempat (*irreversible*). Pelekatan ini seperti pada mikroba disertai oleh penumpukan bahan-bahan organik yang diselubungi oleh matrik polimer ekstraseluler yang dihasilkan oleh mikroba tersebut. Matrik ini berupa struktur benang-benang bersilang satu sama lain yang dapat berupa perekat bagi biofilm. Biofilm terbentuk khususnya secara cepat dalam sistem yang mengalir dimana suplai nutrisi tersedia secara teratur bagi mikroba. Pertumbuhan mikroba secara ekstensif disertai oleh sejumlah besar polimer ekstraseluler, menyebabkan pembentukan lapisan biofilm (Jamilah, 2003). Pada *A. actinomycetemcomitans*, umumnya pembentukan biofilm terjadi dengan kolonisasi antara *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Veillonella sp.* Namun, *Fusobacterium nucleatum* dan *Veillonella sp.* dapat bertahan hidup jika ada asupan glukosa yang diproduksi *A. actinomycetemcomitans*. Sehingga *A. actinomycetemcomitans* sendiri dapat membentuk biofilm tanpa harus berkolonisasi dengan *Fusobacterium nucleatum* dan *Veillonella sp.* (Periasamy dan Kolenbrander, 2009).



Gambar 2.2 Representasi Biofilm dari Tiga Spesies Dilihat Melalui Mikroskop Konfokal (Periasamy dan Kolenbrander, 2009).

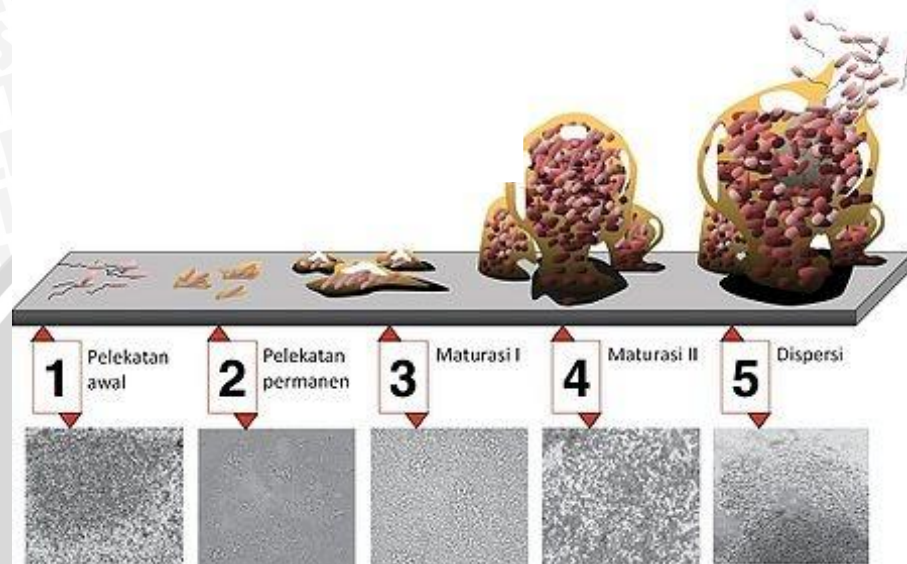
2.2.1 Komposisi dan Struktur Biofilm

Biofilm terdiri dari berbagai macam bahan, antara lain sel-sel mikroorganisme, polisakarida sebagai bahan pelekat, produk ekstraseluler, dan air yang merupakan bahan penyusun utama biofilm dengan kandungan mencapai 97%. Mikroba memproduksi bahan pelekat Polisakarida (polimer dari monosakarida atau gula sederhana) yang digunakan untuk membentuk biofilm. EPS (Eksopolisakarida) yaitu polisakarida yang dikeluarkan dari dalam sel, nantinya akan disintesis oleh sel mikroba yang berbeda-beda komposisi dan sifat kimiawi serta fisiknya. Selain itu, bahan-bahan penyusun biofilm yang lain contohnya adalah protein, lipid, dan lektin (Rohmat, 2013).

Kandungan nutrisi dan keadaan fisik lingkungan mempengaruhi struktur dari suatu biofilm., pada umumnya, sangat jarang terdapat biofilm yang hanya terdiri dari satu spesies, biasanya biofilm tersusun dari beberapa spesies dalam lapisan-lapisan yang berbeda, contohnya *A. actinomycetemcomitans* yang berkoloni dengan *F. nucleatum* dan *Veillonella sp.* di dalam rongga mulut (Periasamy dan Kolenbrander, 2009).

2.2.2 Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm terdiri dari 5 tahap yaitu pelekatan awal, pelekatan permanen, maturasi I, maturasi II, dan dispersi, seperti yang terlihat pada gambar



Gambar 2.3 Siklus Pembentukan Biofilm (Baetsle, 2014).

2.2.2.1 Perlekatan *Reversibel*

Fase ini merupakan fase pertama dari pelekatan bakteri. Organel ekstraseluler (flagella, pili, fimbriae, curli fibers, dan membran protein terluar) dan protein digunakan untuk merekatkan diri pada permukaan substrat. Sel menempel pada substrat yang terkontak dengannya, juga cairan yang mengandung elektrolit dan makromolekul (misalnya, DNA, protein, dan asam humat, yang dibentuk oleh degradasi biomolekul). Komponen larut ini menyerap pada permukaan dan menyaring sifat kimia dan fisik intrinsik material-material (Renner, 2011).

2.2.2.2 Perlekatan *Ireversibel*

Setelah melekat pada permukaan, bakteri mensekresi zat yang terdiri dari DNA, protein, lipid, dan lipopolisakarida atau disebut zat polimer ekstraseluler (EPS) yang fungsinya memfasilitasi adhesi antara sel dan permukaan. Karena

terdapat sekresi EPS itulah dapat terjadi perlekatan ireversibel, proliferasi, dan akumulasi sel kluster (Maier, 2009).

2.2.2.3 Maturasi Biofilm I

Setelah mengalami perlekatan ireversibel, sel-sel terabsorpsi pada permukaan. Bakteri kemudian mengeluarkan EPS dan terkapsulasi kemudian membentuk barrier fisik seperti selimut yang melapisi koloni dengan lapisan substrat yang dilekatinya. Komposisi EPS yang dikeluarkan bakteri bervariasi antara kondisi spesies dan pertumbuhan, serta komunikasi kimiawi antar sel-sel yang dinamakan *Quorum sensing* (QS) (Renner, 2011).

2.2.2.4 Maturasi Biofilm II

Komuni bakteri tersebut tumbuh menjadi struktur tiga dimensi dan mengalami maturasi seiring dengan sel-sel yang bereplikasi dan terakumulasinya EPS. Sel-sel yang terikat dalam biofilm menempel satu sama lain dan bersifat tahan tekanan mekanis dan pelepasan komuni dari permukaan substrat (Maier, 2009).

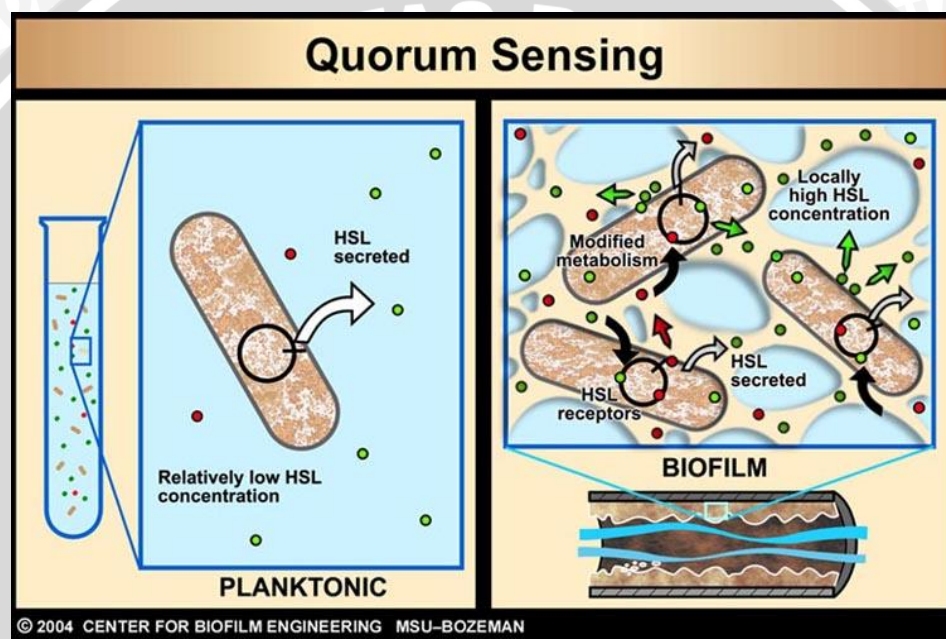
2.2.2.5 Pelepasan atau *Detachment* Biofilm

Setelah membentuk biofilm, beberapa bakteri akan melepaskan diri dan kembali menjadi bentuk planktonik kemudian menyebar ke dalam cairan massal, di mana mereka dapat menempel pada permukaan dan membentuk biofilm di lingkungan yang baru (Otto, 2013).

2.2.3 *Quorum sensing* *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Quorum sensing (QS) adalah komunikasi antar sel bakteri yang dimediasi oleh *autoinduser* (AI) untuk mengatur ekspresi gen-gen tertentu (Rukayadiet *al.*, 2009). AI adalah senyawa berbobot molekul rendah, pada umumnya merupakan *homoserine lactone* (HSL) yang disekresikan bakteri dan

diakumulasikan sehingga AI dikenali sel bakteri lainnya sebagai kode. Jika sinyal HSL yang dihasilkan memiliki konsentrasi yang rendah, maka aktivitas bakteri lain di sekitarnya tidak akan terpengaruh. Sebaliknya, jika sinyal HSL meningkat, maka bakteri lain akan menangkap sinyal tersebut melalui reseptor HSL nya. Tingginya HSL yang tertangkap bakteri lain dapat memicu aktivitas metabolik untuk kemudian membentuk biofilm (Costerton, 2004).



Gambar 2.4 Ilustrasi *Quorum sensing* pada biofilm (Costerton, 2004).

2.2.4 Resistensi Bakteri terhadap Antibiotika

Resistensi antibiotika yang diperantarai oleh biofilm saat ini telah menjadi tantangan baru di dunia kesehatan. Pasca pemberian antibiotika dengan dosis bakteriosidik, galur bakteri yang lebih resisten terhadap terapi antibiotika akan terbentuk pada sebuah populasi kecil bakteri yang selamat dan dapat berkoloni pada permukaan substrat lainnya (Wood, 2009). Substansi biosidik membutuhkan konsentrasi 50-600 kali lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi bakteriosidik minimal. Oleh karenanya organisme pada biofilm sangat sulit dieradikasi. (Kumar, 2006).

Kelebihan bakteri pembentuk biofilm dibandingkan bakteri lain adalah, dengan struktur biofilm, bakteri dapat terlindung dari agen topikal, mencegah migrasi dan proliferasi dari sel keratinosit, dan terlindung dari antibiotik sistemik (Wood, 2009).

Dibandingkan sel bakteri planktonik, biofilm dapat menimbulkan resistensi antibiotika hingga tiga kali lebih banyak. Namun, bila sel bakteri tersebut melepaskan diri dari biofilm, maka sel bakteri berubah kembali menjadi sel yang sensitif terhadap antibiotika (Pace *et al.*, 2006).

2.2.5 Uji Pembentukan Biofilm

2.2.5.1 Metode Tabung

Digunakan TSB dengan 2% sukrosa dalam metode ini. TSB dengan sukrosa diinokulasi dengan satu ose penuh mikroorganisme dari kultur semalam dan diinkubasi selama 24 jam pada 37 ° C. Tabung kemudian dituang dan dicuci dengan PBS, kadar pH 7,2 untuk menghilangkan sel-sel *non-adheren*. Kemudian tabung dikeringkan serta diwarnai dengan 0,1% kristal violet selama 30 menit. Selanjutnya kelebihan pewarnaan dicuci dengan air dan tabung dibiarkan mengering di posisi terbalik dan diamati untuk pembentukan biofilm. Dapat terlihat sebuah film melapisi sisi dan dasar tabung. Hal ini diyakini sebagai indikasi pembentukan biofilm. Jumlah biofilm dinilai sebagai 0 = tidak ada, 1 = lemah, 2 = sedang atau 3 = kuat. Metode ini mengukur MIC (Minimum Inhibitory Concentration) atau KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan MBC (Minimum Bactericidal Concentration) atau KBM (Kadar Bunuh Minimum). Keuntungan metode ini adalah akan didapatkan larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya

dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri selama 24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Praharaj *et al.*, 2013).

2.2.5.2 Metode Congo Red Agar

Metode ini dapat mendeteksi kemampuan produksi bakteriakan biofilm. *Agarplate* diberi 5% sukrosa dan *stain Congo Red* (0,8 g/L) dan diinkubasi selama 24 sampai 72 jam dalam suhu 37°C. Produsen biofilm akan membentuk koloni hitam pada Congo Red Agar, sedangkan *non*-produsen biofilm membentuk koloni merah. Pewarnaan *Congo Red Agar* akan berinteraksi langsung dengan polisakarida tertentu dan membentuk kombinasi warna yang kompleks. Pada kultur ini, terdapat lima skala warna. Dua jenis warna diantaranya hitam terang (*Bright Black*) dan hitam kering-opak (*dry-opaque Black*) diklasifikasikan sebagai produsen biofilm. Sementara warna merah, merah muda, dan *bordeaux* diklasifikasikan sebagai biofilm negatif atau *non*-produsen biofilm. Ditemukandalam beberapa kasus, subkoloni merah dan *bordeaux* muncul di tengah koloni hitam setelah 48 jam kultur. Subkoloni ini selanjutnya harus diambil dan dikultur pada Congo Red Agar selama 24 jam untuk menentukan varian produsen atau *non*-produsen (Oliveira, 2010).



Gambar 2.5 Perbedaan Warna Bakteri Pembentuk Biofilm dan Tidak Ada Pembentukan Biofilm pada Congo Red Agar (Praharaj et al., 2013)

Keterangan: Gambar 2.5 menunjukkan perbedaan warna antara bakteri pembentuk biofilm dengan bakteri yang tidak membentuk biofilm pada media Congo Red Agar. Warna hitam seperti yang ditunjuk oleh panah membuktikan bahwa biofilm terbentuk. Sementara warna merah seperti yang ditunjuk panah membuktikan tidak ada biofilm yang terbentuk.

2.2.5.3 Metode *Microtiter Plate-Test*

Tes untuk melihat pembentukan biofilm oleh bakteri dapat digunakan *microtiter plate-test*. Tahapannya, koloni bakteri yang telah tumbuh dalam semalam pada agar darah diinokulasi di kaldu kedelai triptycase (TSB) dengan 2% sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37 °C semalam. Selanjutnya pertumbuhan semalam ini diencerkan 1 : 100 di TSB dengan sukrosa. 200 uL inokulum yang telah diencerkan ini ditambahkan ke *microtiter plate*. *Microtiter plate* diinkubasi secara aerob pada suhu 37 °C selama 48 jam. Pada akhir 48 jam, koloni dibuang dari *well*. *Well* dicuci dengan PBS (pH 7,2) untuk mengangkat sel planktonik nonadherent. Biofilm yang adheren kemudian difiksasi dengan menggunakan 2% natrium asetat selama 20 menit. *Microtiter*

plate kemudian dikeringkan pada suhu kamar dan akhirnya diwarnai dengan 0,1 % safranin selama 20 menit . Kemudian *Plate* dicuci lima kali dan dikeringkan. Absorbansi biofilm pada permukaan bawah setiap *well* ditentukan pada 490 nm dengan metode ELISA . Semua strain diinokulasi rangkap tiga pada *microtiter plate* dan semua percobaan diulang harus tiga kali (Praharaj *et al.*, 2013).



Gambar 2.6 Tampak Perbedaan Warna Bakteri Pembentuk Biofilm dan Tidak ada Pembentukan Biofilm pada *Microtiter Plate* (Praharaj *et al.* 2013)

Keterangan: Gambar 2.6 menunjukkan warna merah tua pada *microtiter plate* membuktikan bakteri yang diinokulasi tersebut telah membentuk biofilm

2.2.6 Analisa dan Pertumbuhan Biofilm *A. actinomycetemcomitans*

Biofilm *A. actinomycetemcomitans* akan berkembang pada *saliva-coated cover glass* di dalam *polycarbonate flow chamber*. Dimensi *chamber* yakni 50,5 mm x 12,7mm x 2,54mm pada suhu 25°C. Saliva dapat diperoleh dari donor yang kemudian disterilisasi dan diinkubasi dalam *cover glass* berukuran 60x24 mm selama 20 menit dalam suhu 37°C. Lalu *saliva-coated cover glass* dicuci

dengan larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) selama 10 menit dengan kecepatan aliran 60 ml/jam menggunakan pompa peristaltic.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans yang akan ditumbuhkan pada *saliva-coated cover glass* sebelumnya diikultur semalaman pada medium BHI yang kemudian ditentukan kepadatannya dengan OD (*Optical Density*) 0,5 pada 600 nm dan dicuci dengan PBS selama 30 menit.

Setelah *saliva-cover coated glass* diberikan kultur *A. actinomycetemcomitans*, dilakukan inokulasi selama satu jam untuk menumbuhkan biofilm. Biofilm yang terbentuk diwarnai dengan 0.2mg/ml *fluorescein-isothiocyanate* selama satu jam dalam ruangan gelap dan dicuci dengan PBS selama dua jam. Biofilm dapat tervisualisasi dengan mikroskop konfokal dengan perbesaran 600x (Andiyani, 2014).

2.3 Klasifikasi Teh

Teh diproduksi dari pucukdaun muda tanaman teh (*Camellia sinensis*). Produk daun teh dapat menjadi berbeda satusama lain karena melalui berbagai metode atau cara pengolahan yang berbeda. Berdasarkan tingkat oksidasinya, teh dibagi menjadi empat jenis, yaitu teh putih, teh hijau, teh oolong, dan teh hitam (Syahriyanti, 2009).

2.3.1 Teh Putih

Teh putih merupakan teh yang mahal dan jarang di pasaran. Teh ini merupakan teh yang olahannya paling lembut dan juga paling sedikit jenisnya di dunia. Secara proses, daun teh dibiarkan layu secara alami sehingga warnanya menjadi putih (Syahriyanti, 2009). Daun teh putih adalah daun teh yang paling sedikit mengalami pemrosesan dari semua jenis teh, sedangkan teh jenis yang lain umumnya mengalami empat sampai lima langkah pemrosesan. Dengan

proses yang lebih singkat tersebut, kandungan zat katekin pada teh putih adalah yang tertinggi. Pucuk daun muda (kuntum daun yang baru tumbuh) tidaklah dioksidasi; pucuk-pucuk ini dihindarkan dari sinar matahari demi mencegah pembentukan klorofil. Karenanya teh putih diproduksi hanya sedikit dibandingkan jenis teh lain, dan akibatnya menjadi lebih mahal dibandingkan teh lainnya (Juniaty, 2013).

2.3.2 Teh hijau

Teh hijau umumnya diproses dengan cara langsung yakni pucuk teh dipanaskan untuk menghentikan aktivasi enzim sehingga warnanya tetap hijau dan masih mengandung katekin yang tinggi (Syahriyanti, 2009). Pada teh ini, proses pertama yang dilakukan adalah pelayuan dengan melewati daun teh pada silinder panas untuk menghentikan aktivasi enzim sehingga proses fermentasi terhambat dan kadar air dapat turun hingga 60-70%. Selanjutnya adalah proses pendinginan diikuti penggulungan daun lalu pengeringan dan terakhir proses sortasi (Alamsyah, 2006).

2.3.3 Teh Oolong

Teh oolong memiliki proses yang sama dengan teh hitam, namun proses fermentasinya hanya sebagian (yakni lebih singkat sekitar 30-70% dan terjadi perubahan setengah sempurna sehingga masih mengandung katekin dan tannin). Hal ini membuat teh oolong memiliki aroma dan warna di antara teh hitam dan teh hijau. Teh ini umumnya diproduksi dari tanaman teh yang tumbuh di daerah semi tropis (Syahriyanti, 2009).

Bahan baku teh oolong diambil dari 3 daun teh teratas, yang dipetik tepat pada waktunya, yaitupada saat tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua.

Langkah pertama pengolahan tehoolong adalah membuat daun menjadi layu

yaitu daun dibiarkan layu selama beberapa jam dibawah sinar matahari, tapi kurang dari satu hari. Setelah daun layu, daun diaduk untuk mengeluarkan tetes kecil air dari daun sehingga proses oksidasi bisa dimulai. Ketika daun terpapar udara, maka akan berubah warna menjadi lebih gelap. Lamanya waktu daun mengalami oksidasi tergantung dari jenis oolong, beberapa jenis hanya 10% teroksidasi, sedangkan yang lain bisa sampai 50% yang teroksidasi. Daun teh kemudian dipanaskan untuk menghentikan proses oksidasi dan mengeringkannya (Juniaty, 2013).

2.3.4 Teh Hitam

Teh hitam adalah teh yang diproses dengan cara fermentasi melalui proses oksidasi polifenol sederhana, yakni katekin dan tanin akan terfermentasi menjadi molekul yang lebih kompleks sehingga teh hitam berwarna pekat yang merupakan warna ciri khasnya (Syahriyanti, 2009). Teh ini umumnya disebut juga sebagai teh merah, hal ini dikarenakan kebiasaan orang timur menyebut teh merah karena larutan teh yang dihasilkan dari teh ini akan berwarna merah, sedangkan orang barat menyebutnya teh hitam karena daun teh yang digunakan untuk penyeduhan biasanya berwarna hitam. Di Indonesia Teh hitam merupakan jenis teh yang paling banyak diproduksi, dan Indonesia merupakan pengekspor teh hitam ke-5 terbesar di dunia (Juniaty, 2013).

2.4 Morfologi Teh (*Camellia sinensis*)

Daun teh berbau khas aromatik, rasanya agak sepet. Selain itu daun teh mempunyai ciri-ciri (morfologi) sebagai berikut. Helai-helai daun yang cukup tebal, kaku, berbentuk sudip melebar sampai sudip memanjang, panjangnya tidak lebih dari 5 cm, bertangkai pendek. Kemudian permukaan daun bagian atas mengkilat, pada daun muda permukaan bawahnya berambut jika telah tua

menjadi licin. Selain itu tepi daun bergerigi, agak tergulung ke bawah, berkelenjar yang khas dan terbenam (Kartasapoetra, 1992). *Camellia sinensis* sendiri memiliki dua varietas yakni *var.assamica* yang berasal dari Assam (India) dan *var.sinensis* yang berasal dari Cina. Varietas *assamica* daunnya agak besar dengan ujung yang runcing. Varietas ini biasanya digunakan untuk memproduksi jenis minuman teh hitam. Sedangkan varietas *sinensis* daunnya lebih kecil dan ujungnya agak tumpul. Daun teh jenis ini biasanya digunakan untuk memproduksi jenis teh hijau atau *green tea* (Zustinah, 2013)



Gambar 2.7 Daun-daun *Camellia sinensis* (Boldt, 2004).

2.4.1 Taksonomi Teh Hijau

Taksonomi dari tanaman teh hijau (*Camellia sinensis var.assamica*) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ericales
Famili	: Theaceae
Genus	: Camellia

Spesies : *C. Sinensis*

Varietas : var. *assamica*

(Alamsyah, 2006).

Daun teh hijau mengandung lebih dari 36%-40% polifenol yang memberikan rasa sepat dan pahit, walaupun jumlah ini masih dipengaruhi oleh pengaruh cuaca, jenis tanah, varietas, dan tingkat kemasakan (Sibuea, 2003). Kandungan terbesar polifenol adalah katekindan flavanol (flavonoid), namun umumnya katekin juga disebut polifenol (Alamsyah, 2006). Kandungan tannin dalam teh hijau mencapai 17,68% -25% , lebih besar daripada kandungan tannin pada teh hitam maupun teh oolong yang masing masing hanya 7,99% dan 15,13% (Gunawijaya dan Bambang. 1995). Daun teh hijau mengandung 4%-5% minyak atsiri,selebihnya 30%-35% adalah asam amino, kafein,karbohidrat (sukrosa,glukosa, fruktosa), alkaloid,karotenoid,saponin,klorofil, dan mineral (Dekker, 1995).

Senyawa Kandungan Teh Hijau

No	Senyawa Kandungan Teh Hijau	Persentase (%)
1	Katekin	28%-32%
2	Flavanol	8,01%-12,04%
3	Tannin	17,68%-25%
4	Minyak Atsiri	4,32%-5,18%

Tabel 2.1 Senyawa Kandungan Teh Hijau (Madhavi, *et al.*, 1995)

2.5 Senyawa Penghambat Biofilm

2.5.1 Tanin

Tanin memiliki kemampuan untuk menghambat sintesis protein. Sintesis protein yang terhambat menyebabkan rusaknya membran sel mikroorganisme *A. Actinomycesetecomitans* (Koenig dan Heck, 1988). Tanin dapat juga menghambat sinyal pada mekanisme *Quorum sensing* meskipun efek yang ditimbulkan tidak signifikan (Huber *et al.*, 2003).

2.5.2 Flavanol

Flavanol berperan sebagai antibakteri yang mekanismenya merusak membran sel. Membran sel yang terdistruksi berakibat menurunnya aktivitas bakteri sehingga bakteri kehilangan kemampuan untuk melekatkan awal pada substrat (Koenig dan Heck, 1988). Flavanol yang terdapat pada teh hijau mempunyai efek inhibisi terhadap molekul adhesin dimana adhesin merupakan salah satu faktor utama yang mempengaruhi pembentukan biofilm selain eksopolisakarida (EPS) pada transkripsi dan perlekatan sel bakteri di permukaan substrat, adhesin berperan penting (Pathol, 1995).

2.5.3 Katekin

Senyawa katekin pada teh hijau terdiri dari empat komponen senyawa utama yakni epikatekin (EC), epigalokatekin (EGC), epikatekin galat (ECG), dan epigalokatekin galat (EGCG). Senyawa EGCG yang terdapat dalam polifenol ini mampu menghambat biofilm dengan cara menurunkan pertumbuhan sel bakteri pada dosis tinggi dan menghambat quorum-sensing. Pada pemberian yang mencapai konsentrasi tertentu, EGCG dapat mereduksi intensitas sinyal pada quorum-sensing bakteri hingga 50%. Selain itu EGCG yang terdapat dalam

polifenol dapat mengurangi daya motilitas dan ketebalan biofilm yang dibentuk bakteri secara signifikan (Huber, 2003). Selain itu EGCG berperan dalam aktivitas perusakan biofilm. Aktivitas ini meliputi penempelan pada koloni bakteri, pendegradasian eksopolisakarida, dan perusakan membran pada bakteri (Maeyama *et al.*, 2004). EGCG mengintervensi polisakarida yang membentuk glycocalix, dan menghambat interaksi antar sel maupun dengan dinding sel sehingga mereduksi jumlah lendir yang diproduksi untuk perlekatan koloni. EGCG juga dapat mengikat peptidoglikan dan merusak kekuatan dinding sel bakteri sehingga fase awal pembentukan biofilm yang membutuhkan interaksi hidrofobik antar dinding sel bakteri dengan permukaan yang akan terkolonisasi dapat diintervensi (Rita *et al.*, 2005).

2.5.4 Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan minyak esensial yang merupakan metabolis sekunder dan merupakan senyawa sangat tinggi berdasarkan struktur isoprenenya. Minyak Atsiri apabila mengandung komponen utama lain seperti oksigen adalah terpene, yang biasa dinamakan terpenoid. Terpene atau terpenoid berperan aktif dalam fungsinya melawan bakteri, jamur dan protozoa. Mekanisme terpenoid diperkirakan berhubungan dengan disrupsi membran oleh komponen lipofilik (Cowan, 1999). Minyak atsiri berpotensi sebagai penghambat biofilm dengan merusak dinding sel bakteri, menghambat pertumbuhan dinding sel dan melisiskan membran sel sehingga mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma. Senyawa minyak atsiri yang bersifat non polar dengan konsentrasi tinggi akan berdifusi dan ditangkap oleh sensor hidrofilik. Hal ini menyebabkan lisisnya membran lipoprotein, sehingga menghambat pertumbuhan dinding sel (Tambunan, 2014)