

**UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI-FRAKSI TEH HITAM
(*Camellia sinensis* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC
25923 DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

TESIS



Oleh :

Wilson James Asamau

SBF131710178

PROGRAM STUDI S-2 ILMU FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2019

**UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI-FRAKSI TEH HITAM
(*Camellia sinensis* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC
25923 DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**



TESIS

*Diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan
Mencapai Derajat Sarjana Sratata-2
Program Pascasarjana Ilmu Farmasi
Minat Farmasi Sains*

Oleh :

Wilson James Asamau

SBF131710178

PROGRAM STUDI S-2 ILMU FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2019

PENGESAHAN TESIS

berjudul
**UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI-FRAKSI TEH HITAM
(*Camelia sinensis* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*
ATCC 27853 DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh:
**Wilson James Asamau
SBF131710178**

Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 11 Mei 2019

Mengetahui,

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Dekan,



(Prof. Dr. R.A. Oetari, SU.,MM., M.Sc.,Apt)

Pembimbing Utama,

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

Dr. Titik Sunarni, M.Si.,Apt

Penguji:

1. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc.,Apt
2. Dr. Opstaria Saptarini, M.Si.,Apt
3. Dr. Titik Sunarni, M.Si.,Apt
4. Dr. Ana Indrayati M.Si.

1.
2.
3.
4.

Halaman persembahan

“Apapun juga yang kamu perbuat, perbuatlah dengan segenap hatimu seperti untuk Tuhan dan bukan untuk manusia (Kolose 3:23)”

“Kita tahu sekarang, bahwa Allah turut bekerja dalam segala sesuatu untuk mendatangkan kebaikan bagi mereka yang mengasihi Dia, yaitu bagi mereka yang terpanggil sesuai dengan rencana Allah (Roma 8:28)”

“Orang yang hidup dengan selalu mengandalkan Tuhan akan selalu dipenuhi oleh berkat Tuhan”

(Penulis)

Tesis ini ku persembahkan kepada:

Tuhan Yesusku yang baik, luar biasa dan selalu ada dalam setiap pergumulan doaku,

Bapak, Mama, kakak, terima kasih sudah jadi Penyemangatku dalam melewati semuanya hingga tahap ini dan keluarga besar ku tercinta sebagai ungkapan terima kasihku yang terdalam atas semua dukungan dan doa kalian semua.

Terima kasihku buat sahabat-sahabatku, Tuty, Ricky, Ona, alfret ,in, agung, julio ,semua teman S2 angkatan 2017 yang tidak dapat disebutkan satu persatu dan thankz buat MBA SISKA buat semua kerja keras kita selama praktek sampai perjuangan buat ujian Tesis ini..sukses buat kita semua,,,,

Agama, Bangsa dan Almamaterku.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tesis ini hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, Juni 2019



Wilson James Asamau

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan yang Maha Esa atas segala berkat, rahmat, dan tuntunan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI-FRAKSI TEH HITAM (*Camelia sinensis* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853”** Penyusunan tesis ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Magister Farmasi Sains di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Banyak hal yang penulis dapatkan dalam proses pembuatan tesis ini baik berupa bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini dengan tulus penulis mengucapkan terimah kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi di Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU.,MM., M.Sc.,Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan dalam penyusunan tesis ini.
4. Dr. Titik Sunarni, M.Si.,Apt selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan tesis ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan tesis ini.

6. Dosen, asisten dosen dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi terimakasih buat bantuan dan kerjasamanya.
7. Bapak, Mama, yang tak pernah berhenti mendoakan dan memberikan dukungan.
8. Untuk sahabat-sahabat terbaikku terima kasih untuk waktu, semangat dan dukungan yang kalian berikan. Teman – teman S2 Manajemen dan S2 Sains sukses terus Semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih banyak kekurangan dan kelamahan karena keterbatasan penulis untuk itu kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca untuk perkembangan dunia farmasi yang lebih baik.

Surakarta, 11 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Kegunaan Penelitian.....	5
E. Keaslian Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Biofilm.....	7
1. Definisi biofilm	7
2. Mekanisme pembentukan biofilm	7
3. Struktur biofilm	8
4. Cara mengatasi biofilm	9
5. Metode uji biofilm	9
6. Penelitian antibiofilm	11
B. Teh (<i>Camellia sinensis</i> L.).....	14
1. Klasifikasi tanaman	14
2. Morfologi dan taksonomi tanaman teh	14
3. Jenis-Jenis Teh	15
4. Kandungan kimia dan khasiat teh hitam	16
C. Uraian tentang bakteri	18
1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	19
D. Media	20
E. Sterilisasi.....	20
F. Landasan Teori.....	21

G. Hipotesis	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
A. Populasi dan Sampel.....	23
B. Variabel Penelitian	23
1. Identifikasi variabel utama	23
2. Klasifikasi variabel utama.....	23
3. Definisi operasional variabel utama	24
C. Alat, Bahan, dan Bakteri.....	24
1. Alat.....	24
2. Bahan	24
D. Jalannya Penelitian	25
1. Pengambilan sampel	25
2. Determinasi tanaman	25
3. Pembuatan serbuk.....	25
4. Pembuatan ekstrak etanol teh hitam	25
5. Karakterisasi ekstrak.....	26
6. Fraksinasi	26
7. Identifikasi kandungan ekstrak etanol teh hitam	27
8. Penetapan kadar polifenol	28
9. Penyiapan larutan uji	29
10. Peremajaan biakan murni bakteri uji	29
11. Identifikasi bakteri	30
12. Penentuan jumlah bakteri	30
13. Optimasi waktu pembentukan biofilm <i>P.aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i>	31
14. Uji aktivitas penghambatan pembentukan biofilm	32
15. Uji aktivitas degradasi biofilm	33
E. Kerangka Konsep	35
F. Analisis Data.....	36
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	38
A. Identifikasi Tanaman Teh (<i>Camellia sinensis</i> L.).....	38
B. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Daun Teh	38
1. Pembuatan ekstrak etanol daun teh	
2. Penetapan susut pengeringan ekstrak teh hitam	39
3. Penetapan kadar air ekstrak teh hitam	39
4. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol teh hitam	40
4.1 Identifikasi dengan metode reaksi pengendapan.....	40
4.2 Identifikasi kualitatif kromatografi lapis tipis ekstrak teh hitam.....	41
5. Fraksinasi ekstrak teh hitam.....	42
C. Penentuan Fenolik Total.....	43
1. Penentuan waktu operasional (<i>operating time</i>).....	43
2. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum	43

3. Penentuan kurva serapan asam galat	44
D. Identifikasi Bakteri	45
1. Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	45
1.1. Identifikasi bakteri berdasarkan koloni.....	45
1.2. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara mikroskopis.....	45
1.3. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara biokimia	46
2. Identifikasi bakteri uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	47
2.1. Identifikasi bakteri berdasarkan koloni.....	47
2.2. Identifikasi bakteri secara <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 mikroskopis	47
2.3. Identifikasi biokimia <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853.....	47
E. Uji Antibiofilm.....	49
1. Uji antibiofilm <i>S. aureus</i> ATCC 25923	49
1.1. Optimasi pembentukan biofilm <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	49
1.2. Uji aktivitas penghambatan dan degradasi biofilm <i>S. aureus</i> ATCC 25923	50
1.3. Perhitungan nilai IC ₅₀ dari persen penghambatan biofilm <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	54
2. Optimasi waktu pembentukan biofilm <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853.	55
2.1. Uji aktivitas penghambatan dan degradasi biofilm <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	56
2.1. Hasil perhitungan nilai IC ₅₀ dan dari persen penghambatan biofilm <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853. ..	59
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	 64
A. Kesimpulan	64
B. Saran	64
 BAB VIRINGKASAN.....	 65
DAFTAR PUSTAKA	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme pembentukan biofilm	8
2. Daun teh	14
3. Struktur teafavin	17
4. Skema pembuatan fraksi ekstrak etanol teh hitam	27
5. Diagram alir uji aktivitas penghambatan biofilm	35
6. Diagram alir uji aktivitas degradasi biofilm	36
7. Uji penghambatan biofilm fraksi-fraksi teh hitam terhadap <i>S. aureus</i> ATCC 2592.....	51
8. Uji degradasi biofilm fraksi-fraksi teh hitam terhadap <i>S. aureus</i> ATCC 2592	52
9. Hasil perhitungan IC ₅₀ <i>S. aureus</i> ATCC 2592	54
10. Uji penghambatan biofilm fraksi-fraksi teh hitam terhadap <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	56
11. Uji degradasi biofilm fraksi-fraksi teh hitam terhadap <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	57
12. Hasil perhitungan IC ₅₀ <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Prekursor teaflavin	17
2. Hasil pembuatan ekstrak etanol teh hitam	39
3. Hasil penetapan kadar air ekstrak teh hitam	39
4. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak teh hitam secara kualitatif	40
5. Hasil KLT ekstrak teh hitam	41
6. Hasil penetapan fraksi-fraksi teh hitam	42
7. Hasil penetapan fenolik total fraksi-fraksi teh hitam	44
8. Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dan koagulase	46
9. Hasil identifikasi biokimia <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	48
10. Hasil optimasi <i>S. aureus</i> ATCC 25923	50
11. Hasil uji penghambatan biofilm <i>S. aureus</i> ATCC 25923	51
12. Hasil uji degradasi biofilm <i>S. aureus</i> ATCC 25923	52
13. Hasil optimasi <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	55
14. Hasil uji penghambatan <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	56
15. Hasil uji degradasi biofilm <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat ijin penelitian Universitas Sebelas Maret	76
2. Surat hasil identifikasi teh hitam	77
3. Foto pembuatan ekstrak dan fraksinasi teh hitam	79
4. Foto hasil identifikasi kualitatif ekstrak teh hitam	81
5. Foto hasil uji KLT	82
6. Foto hasil identifikasi <i>S. aureus</i> ATCC 27853	84
7. Foto hasil identifikasi <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	85
8. Perhitungan persen rendemen ekstrak dan fraksi-fraksi te hitam	89
9. Perhitungan kadar air dan susut pengeringan ekstrak teh hitam	90
10. Hasil perhitungan kurva baku kadar polifenol teh hitam	91
11. Perhitungan nilai OD dan persentasi penghambatan dan degradasi biofilm <i>S. aureus</i> ATCC 27853 dan <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	94
12. Hasil uji statistik penghambatan dan degradasi biofilm <i>S. aureus</i> ATCC 27853 dan <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	96
13. Perhitungan nilai IC ₅₀ <i>S. aureus</i> ATCC 27853	117
14. Perhitungan nilai IC ₅₀ <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	120

INTISARI

ASAMAU, W.,J., 2019, UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI-FRAKSI TEH HITAM (*Camellia sinensis* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Penelitian dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibiofilm fraksi-fraksi teh hitam (*Camellia sinensis* L.) terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853 serta penentuan kadar polifenol teh hitam.

Uji aktivitas antibiofilm berupa penghambatan pembentukan dan degradasi biofilm dilakukan dengan metode *microplate round bottom polystyrene 96 wells* dalam media BHI. Penetapan kadar polifenol ekstrak dan fraksi-fraksi teh hitam dengan menggunakan *Folin-Ciocalteu*. Konsentrasi fraksi-fraksi teh hitam yang digunakan yaitu 2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL dan 8 mg/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi-fraksi teh hitam memiliki aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853 yaitu fraksi air konsentrasi 8 mg/mL 82,92% dan 82,35% dalam menghambat dan mendegradasi biofilm *S. aureus* ATCC 25923 sedangkan, pada *P. aeruginosa* ATCC 27853 persentase penghambatan pembentukan dan degradasi biofilm masing-masing sebesar 76,06% dan 77,61%. Kadar polifenol fraksi-fraksi teh hitam paling tinggi pada fraksi air sebesar 3,1%. Aktivitas penghambatan biofilm diperoleh nilai IC_{50} fraksi air terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853 masing-masing sebesar 2,89 mg/mL dan 1,30 mg/mL.

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi-fraksi teh hitam memiliki aktivitas dalam menghambat dan mendegradasi biofilm pada bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Kata kunci : antibiofilm, *Camellia sinensis* L, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

ASAMAU, W., J., 2019, TEST ACTIVITIES ANTIBIOFILM FRACTION-FRACTION OF BLACK TEA (*Camellia sinensis* L.) ON *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 AND *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.

The objective of the study is to determine antibiofilm activity of fractions from the black tea (*Camellia sinensis* L.) against *S. aureus* ATCC 25923 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 as well as the determination of black tea polyphenols.

Antibiofilm activity test in the form inhibition of biofilm formation and degradation were calculated using a *microplate round bottom polystyrene 96 wells* in BHI media. Assay of polyphenol extracts and fractions of black tea by using the *Folin-Ciocalteu*. Concentration fractions of black tea used is 2 mg / mL, 4 mg / mL, 6 mg / ml and 8 mg / mL. The results showed that black tea fractions have antibiofilm activity against *S. aureus* ATCC 25923 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 is the fraction of water concentration of 8 mg/mL 82.92% and 82.35% in inhibiting *S. aureus* biofilm while *P. aeruginosa* ATCC 27853 percentage inhibition of biofilm formation and degradation of respectively 76.06% and 77.61%. Total phenolic concentration from the fractions of black tea is highest in the water fraction of 3.1%.

The conclusion of the study was that black tea fractions have an activity in inhibiting and degrade biofilm *S. aureus* ATCC 25923 and *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Keywords: antibiofilm, *Camellia sinensis* L, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Biofilm merupakan suatu kumpulan bakteri yang terbentuk dan terakumulasi dalam suatu matriks polimer yang diproduksi bakteri itu sendiri agar mampu melekat pada permukaan hidup maupun tak hidup (Moghadam *et al.*, 2014). Biofilm mengandung matriks ekstraselular yang melekatkan sel satu dengan sel lainnya. Matriks ini terdiri dari biopolimer polisakarida bersama dengan komponen lain seperti protein atau DNA. Sifat dari matriks ekso polisakarida sangat bervariasi tergantung pada kondisi pertumbuhan, media dan substrat (Lo'pez *et al.*, 2010).

Staphylococcus aureus memproduksi biofilm bergantung pada kemampuan bakteri untuk menempel pada permukaan hidup maupun tidak hidup, berproliferasi dan menghasilkan matriks ekstraselular, yang terbentuk dari *Polysaccharide Intercellular Adhesion* (PIA) pada *S. aureus* (Klein *et al.*, 2015). Kemampuan bakteri dalam memproduksi biofilm merupakan salah satu faktor virulensi dari *S. aureus* yang akan mempersulit manajemen pengobatan (Lewis, 2001). Menurut data yang diumumkan WHO, lebih dari 60 % infeksi mikroba disebabkan oleh biofilm (NIH, 2002).

S. aureus merupakan jenis bakteri Gram positif, patogen utama pada manusia dan hewan, menyebabkan berbagai macam penyakit infeksi kulit dan jaringan tubuh kemudian menyebar melalui pembuluh darah yang mengancam jiwa (Chessa *et al.*, 2015). *S. aureus* akan tumbuh membentuk suatu koloni sekitar 30% dari populasi manusia. Oleh karena itu *S. aureus* sering menjadi penyebab pada bakteremia dan infeksi endokarditis serta osteoartikular, infeksi kulit, pleuropulmonari, dan infeksi yang terkait penggunaan implan pada peralatan kesehatan (Tong *et al.*, 2015).

Patogenesis *S. aureus* disebabkan oleh efek gabungan dari faktor ekstraselular dan toksin, bersama dengan sifat invasifnya seperti perlekatan, pembentukan biofilm, dan ketahanan terhadap fagositosis. Produksi biofilm pada

S. aureus difasilitasi oleh adanya gen *ica*, yang merupakan suatu gen operon terdiri dari gen *ica A, B, C* dan *D* (O'Neil *et al.*, 2007). Diketahui pula bahwa adanya mutasi pada gen *icaR* (*intercellular adhesion regulator*), *agr* (*accessory gene regulator*), *SigB* (*Sigma factor B*) dan *SarA* (*staphylococcal accessory regulator*) dapat meningkatkan produksi PIA (Götz, 2002; O'Gara, 2007).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif, bersifat patogen oportunistik menjadi salah satu penyebab utama infeksi nosokomial (Obritsch *et al.*, 2005). *P. aeruginosa* memiliki mekanisme pembentukan biofilm yang berbeda. Matriks biofilm *P. aeruginosa* terdiri atas beberapa bagian seperti eksopolisakarida, *extracellular DNA* (eDNA), protein, dan beberapa bahan lain seperti *fimbriae*, *type IV pili* (T4P), dan *flagella*. Eksopolisakarida yang terbentuk terdiri atas alginat, *polysaccharide encoding locus* (*pel*), dan *polysaccharide synthesis locus* (*psl*). Infeksi yang disebabkan *P. aeruginosa* menimbulkan angka kematian yang tinggi hal ini disebabkan karena *P. aeruginosa* sudah resisten terhadap antibiotik (Kang *et al.*, 2003; Livermore 2001).

Pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* sangat tergantung pada keberadaan *psl* dan *pel*. Dalam hal ini, *psl* berfungsi sebagai pelindung terhadap reaksi imun tubuh berupa fagositosis oleh neutrofil dan sebagai pelindung terhadap adanya antibiotik yang ada di lingkungan sekitarnya. Sedangkan *pel* merupakan salah satu bahan yang menjadi penyebab terjadinya resistensi pada golongan beta-laktamas, fluorokuinolon, dan aminoglikosida (Baker *et al.*, 2016). *P. aeruginosa* membentuk biofilm untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya saat membentuk koloni pada inang, sehingga hal ini dapat menyebabkan *P. aeruginosa* resistensi terhadap antibiotik dikarenakan bakteri ini dapat dengan mudah membentuk biofilm hanya dalam waktu 24 jam (Tolker-Nielsen, 2013).

Infeksi yang disertai dengan pembentukan biofilm menjadi masalah yang serius, dikarenakan sulit ditangani secara efektif oleh sistem kekebalan tubuh inang dan tahan terhadap pengobatan dengan antimikroba. Mekanisme perlindungan tersebut dianggap menghalangi penyerapan dan penetrasi antibiotik melalui matriks biofilm (Cavaliere *et al.*, 2014). Biofilm diketahui terlibat dalam berbagai macam infeksi mikroba dalam tubuh, diperkirakan hampir 80% dari

semua infeksi (Ghafourian *et al.*, 2013).

Tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) memiliki khasiat sebagai antibakteri. Teh merupakan minuman yang sering dikonsumsi masyarakat di seluruh dunia selain air. Tanaman teh mengalami proses pengolahan tertentu dan dikategorikan menjadi tiga, yaitu tanpa fermentasi (teh hijau dan teh putih), semi- fermentasi (teh oolong) dan melalui proses fermentasi (teh hitam) (Bancirova, 2010; McKay & Blumberg, 2002). Diantara keempat jenis teh tersebut yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat di dunia adalah jenis teh hitam (Jigisa *et al.*, 2012).

Kandungan kimia dalam teh hitam lebih kompleks dibandingkan dengan jenis teh yang lainnya, hal ini disebabkan karena proses oksidasi pada saat fermentasi. Perbedaan proses tersebut, menyebabkan perbedaan produk teh baik secara fisik maupun komposisi senyawa polifenol. Pada proses pengolahan teh hitam, sebagian katekin yang terdapat dalam teh berubah menjadi tehflavin, tehribigin, dan tehnapthoquinone melalui proses oksidasi enzimatis. Meski tidak sepopuler katekin, tehflavin sudah banyak dipelajari oleh beberapa peneliti. Sejumlah penelitian menyatakan bahwa aktivitas tehflavin setara katekin. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lagha *et al.*, (2017), untuk mengetahui pengaruh ekstrak teh hijau dan hitam serta dua komponen bioaktif polifenol yaitu Epigalokatekin galat (EGCG) dan tehflavin, pada pertumbuhan dan virulensi sifat-sifat *F. Nucleatum* dan pembentukan biofilm. Ekstrak teh hijau dan hitam menunjukkan konsentrasi hambat minimum sebesar $\leq 125 \mu\text{g/ml}$ dan menghambat pembentukan biofilm masing-masing sebesar 62.5% dan 55.4%, EGCG dan tehflavin sebesar 35,8%. EGCG dan tehflavin dapat menghambat proliferasi sel *F. Nucleatum* dengan cara merusak dinding sel bakteri.

Penelitian lain terkait aktivitas teh hitam sebagai antibakteri yaitu dengan melakukan skrining fitokimia dan uji antibakteri pada bakteri Gram positif dan negatif. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan kimia dan aktivitas senyawa kimia teh hitam sebagai antimikroba. Ekstrak air dan metanol teh hitam pada masing-masing konsentrasi 1%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% dapat membunuh bakteri bakteri Gram positif maupun negatif (Funmilayo *et al.*, 2012).

Uji aktivitas antibakteri teh telah banyak dilakukan. Salah satu penelitian

yaitu uji potensi antimikroba daun teh (*Camellia sinensis* L.) yang difermentasi (teh hitam) dan tidak difermentasi (teh hijau) pada beberapa isolat klinis patogen. Ekstrak etanol dan ekstrak air teh hitam dan teh hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada isolat patogen klinis *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* dan *Candida albicans* dengan KHM masing-masing ekstrak 3,125 dan 6,25 mg/ml (Ghamba *et al.*, 2013), sedangkan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ekstrak teh hitam dengan konsentrasi 8 dan 10 mg/mL mampu menghambat biofilm *S. mutans* dengan KHM sebesar 6% dan 12.5%, pada ekstrak teh hijau konsentrasi 4 sampai 10 mg/mL menghambat biofilm *S. mutans* masing-masing 24%; 45%; 48%, dan 53% (Arjuna *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian diatas telah banyak dilaporkan aktivitas ekstrak teh hitam (*Camellia sinensis* L.) sebagai antibakteri, sedangkan penelitian terkait antibiofilm teh hitam belum banyak dilakukan, terutama aktivitasnya dalam menghambat pembentukan biofilm dan degradasi biofilm pada bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853?. Telah dilaporkan bahwa *S. aureus* dan *P. aeruginosa* memiliki mekanisme pembentukan biofilm yang berbeda dan gen yang berperan dalam pembentukan biofilm pada bakteri tersebut juga berbeda sehingga dalam penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas teh hitam dalam menghambat dan mendegradasi biofilm pada bakteri Gram positif dan negatif serta penentuan kadar polifenol pada fraksi-fraksi teh hitam dengan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*.

B. Perumusan Masalah

Dengan memperhatikan uraian latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

1. Berapakah kadar polifenol dari fraksi-fraksi teh hitam berdasarkan metode *Folin-Ciocalteu*?
2. Berapakah waktu inkubasi optimum yang diperlukan untuk pembentukan biofilm?
3. Apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air teh hitam (*Camellia sinensis* L.)

dapat menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

4. Apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air teh hitam (*Camellia sinensis* L.) dapat mendegradasi biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?
5. Berapakah nilai IC₅₀ dari persen penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka tujuan penelitian yang akan dilakukan yaitu :

1. Mengetahui kadar polifenol pada fraksi-fraksi teh hitam menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*.
2. Mengetahui waktu optimum yang diperlukan dalam pembentukan biofilm.
3. Mengetahui aktivitas fraksi-fraksi teh hitam terhadap penghambatan pembentukan biofilm pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
4. Mengetahui aktivitas fraksi-fraksi teh hitam dalam mendegradasi biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
5. Mengetahui nilai IC₅₀ dari rata-rata persen penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853..

D. Keaslian Penelitian

Ghamba *et al.*, (2013), melaporkan bahwa ekstrak teh hitam memiliki khasiat sebagai antibakteri dengan KHM 3,125 dan 6,25 mg/mL terhadap beberapa bakteri patogen. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antimikroba ekstrak metanol dan air teh hitam dilakukan oleh Funmilayo *et al.*, (2012) bertujuan untuk menentukan kandungan kimia dan aktivitas antimikroba dari teh hitam. Dari hasil penelitian menunjukkan masing-masing konsentrasi 1%, 2%, 4%, 6%,

8% dan 10% ekstrak metanol dan air teh hitam mampu membunuh bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus*. Konsentrasi hambat minimum *P. aeruginosa* sensitif pada konsentrasi 2% sampai 10% ekstrak air dan menengah untuk 6%, 8% dan ekstrak metanol 10%. *E. Coli* sensitif pada konsentrasi 6%, 8% dan 10% ekstrak air dan 2% sampai 10% ekstrak metanol. *B. subtilis* sensitif pada konsentrasi 4%, 6% dan 8% ekstrak air dan 4% sampai 10% ekstrak metanol. *S. aureus* sensitif pada konsentrasi 4% sampai 10% tetapi ekstra *S. aureus* sensitif pada 10% ekstrak air teh hitam.

Teh hitam yang mengalami proses fermentasi akan menghasilkan reaksi secara enzimatis sehingga mengubah senyawa katekin menjadi senyawa polifenol dengan berat molekul lebih tinggi seperti teaflavin dan tearubigins yang memberikan warna dan rasa yang khas pada teh hitam (Cabrera *et al.*, 2006). Komponen non katekin, seperti tanin dan tearubigins, merupakan komponen utama yang bertanggung jawab untuk aktivitas antioksidan dari teh hitam (Arts *et al.*, 2002). Berdasarkan uraian diatas, akan diteliti aktivitas teh hitam dalam menghambat pembentukan biofilm dan degradasi biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, serta menentukan kadar polifenol dari fraksi-fraksi teh hitam.

E. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk memberi informasi kepada dunia pendidikan, para peneliti, maupun masyarakat bahwa teh hitam dapat dimanfaatkan sebagai obat bahan alam terutama untuk antibakteri antibiofilm *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dan kadar polifenol yang terkandung dalam teh hitam.