

EFEK ANTIBAKTERIAL REBUSAN TEH HIJAU TERHADAP PERTUMBUHAN AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS SEBAGAI PERIODONTOPATOGEN PERIODONTITIS AGRESIF

(ANTIBACTERIAL EFFECT OF BREWED GREEN TEA ON THE GROWTH
OF AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS AS PERIODONTOPATHOGEN
OF AGGRESIVE PERIODONTITIS)

Ridha Andayani, Santi Chismirina, Amalia Dwi Habdani

Program Studi Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala
Jl. Kampus Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh 23111
E-mail: ridhaandayahani@yahoo.com

Abstract

Aggressive periodontitis is an inflamed condition in periodontium which caused the loss of attachment and rapidly bone resorptions. The occurrence of aggressive periodontitis is correlated to the excessive accumulation of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) on the oral pellicle. Green tea (*Camellia sinensis*) is known as one of the herb drinks which has antibacterial effects. The purpose of this experimental laboratory study was to know antibacterial effect of brewed green tea on the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as periodontopathogen of aggressive periodontitis. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* which cultured in AaGM medium and incubated in 37°C in anaerobic condition and examined for its turbidity by spectrophotometric. The effect of brewed green tea on *A. actinomycetemcomitans* growth was tested by using agar diffusion method. The result of study showed clear zone forming around disc paper of *A. actinomycetemcomitans* by brewed green tea. The inhibition ability category of brewed green tea was moderate. In conclusion, brewed green tea can affect the growth of *A. actinomycetemcomitans* as periodontopathogen of aggressive periodontitis with moderate inhibition ability.

Key words: aggressive periodontitis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, green tea

Abstrak

Periodontitis agresif adalah penyakit inflamasi pada jaringan periodonsium yang mengakibatkan terjadinya kehilangan perlekatan dan resorpsi tulang dengan cepat. Terjadinya periodontitis agresif dihubungkan dengan dominannya bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) dalam plak gigi. Teh hijau (*Camellia sinensis*) merupakan minuman kesehatan yang memiliki efek antibakteri. Penelitian dengan desain eksperimental laboratorium ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri rebusan teh hijau terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* sebagai agen penyebab periodontitis agresif. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang telah dikultur di media AaGM dan diinkubasi pada suhu 37°C dalam suasana anaerob dan penentuan kekeruhan bakteri dilakukan dengan spektrofotometri. Uji pengaruh rebusan teh hijau terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* dilakukan dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan rebusan teh hijau (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *A. Actinomycetemcomitans* di sekitar kertas cakram dengan kemampuan daya hambat sedang. Sebagai kesimpulan, rebusan teh hijau memiliki pengaruh antibakteri terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* sebagai agen penyebab periodontitis agresif.

Kata kunci: periodontitis agresif, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, teh hijau

PENDAHULUAN

Periodontitis agresif adalah penyakit yang ditandai

dengan terjadinya inflamasi pada jaringan periodonsium yang mengakibatkan terjadinya kehilangan perlekatan dan resorpsi tulang dengan cepat.¹⁻³

Penyakit ini biasanya terjadi pada usia pubertas dan dewasa muda yang secara klinis tampak sehat.¹⁻³ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan bakteri yang berperan penting sebagai faktor etiologi periodontitis agresif.³ Bakteri ini juga dihubungkan dengan beberapa penyakit infeksius ekstraoral, seperti endokarditis dan abses otak.^{4,5}

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (*A. actinomycetemcomitans*) merupakan bakteri gram negatif, nonmotil, anaerob fakultatif, pendek (0.4-1 µm), berbentuk basil dengan ujung membulat.^{4,6} Bakteri ini menggunakan sel epitelium sebagai cadangan saat perlekatan awal dan pada akhirnya berpindah ke permukaan gigi.^{5,7} Faktor virulen yang dimiliki oleh *A. actinomycetemcomitans* adalah leukotoksin, lipopolisakarida kolagenase, protease, dan *Cytolethal Distending Toxin* (CDT).^{4,5,8} Leukotoksin memainkan peran yang signifikan pada patogenisitas periodontitis agresif oleh *A. actinomycetemcomitans*.^{4,6,9}

Periodontitis agresif dapat diobati dengan menggunakan obat-obat antibakterial untuk meminimalisasi *A. actinomycetemcomitans*. Antibiotik yang selama ini digunakan untuk mengobati periodontitis agresif adalah tetrasiklin, kombinasi metronidazol dengan amoksilin, dan kombinasi metronidazol dengan ciprofloxacin.¹⁰ Meningkatnya resistensi bakteri terhadap obat antibiotik sintetis telah memicu para peneliti untuk melakukan penelitian yang mengarah ke penemuan komponen antibiotik yang terdapat pada tumbuhan, contohnya teh hijau.¹¹⁻¹³

Konsumsi teh di Indonesia adalah 0,8 kg per kapita per tahun masih jauh di bawah negara-negara lain di dunia, padahal Indonesia merupakan negara penghasil teh terbesar nomor lima di dunia setelah India, Cina, Sri Lanka, dan Kenya.^{14,15} Rendahnya tingkat konsumsi teh di Indonesia diduga karena masyarakat belum banyak mengetahui manfaat teh terhadap kesehatan.¹⁴

Teh hijau merupakan minuman kesehatan yang memiliki efek antibakteri.^{11,12,14,16-20} Teh hijau juga memiliki efek antiviral, antifungal, antitoksin, anti-karsinogenik, antidiabetik, dan dapat mereduksi penyakit kardiovaskular dan beberapa kanker.^{11,12,14,16-20} Senyawa kimia yang terkandung dalam daun teh terdiri atas empat kelompok yaitu substansi fenol, substansi bukan fenol, substansi aromatik, dan enzim-enzim.^{14,21} Komponen utama pada teh hijau yang bermanfaat bagi kesehatan adalah polifenol.²²

Efek teh hijau terhadap kesehatan periodontal yang diteliti oleh Hirasawa menunjukkan adanya aktifitas bakterisidal teh hijau melawan *Prevotella sp* dan *Porphyromonas gingivalis*.¹⁷ Penelitian yang dilakukan oleh Becker dkk. membuktikan bahwa teh hijau dengan konsentrasi 40 mg/ml yang direbus

pada suhu 90 °C selama 20 menit dan 40 menit dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan zona hambat masing-masing 11 mm dan 13 mm.¹⁶ Penelitian lain oleh Axelrod dan dkk. juga menyebutkan bahwa teh hijau yang direbus selama 20 menit memiliki efek inhibitor paling tinggi pada konsentrasi 80 mg/ml terhadap pertumbuhan dan proliferasi bakteri oral seperti *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* dan *Staphylococcus epidermis*.¹⁵ Polifenol spesifik pada teh hijau, yaitu katekin yang memainkan peranan penting sebagai antibakteri.^{11,16,17,19,20} Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antibakterial rebusan teh hijau terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* sebagai periodontopatogen periodontitis agresif.

BAHAN DAN METODE

Penelitian eksperimental laboratoris ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala untuk pengujian aktivitas antibakteri teh hijau terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) untuk uji fitokimia kandungan rebusan teh hijau (*Camellia sinensis* var. *sinensis*). Bahan uji berupa daun teh yang dikloning, dibudidayakan dan diproses menjadi teh hijau oleh PTPN XII Jawa Timur.

Tahapan pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pengkulturan *A. actinomycetemcomitans* pada media selektif yaitu *A. actinomycetemcomitans* Growth Medium (AaGM) yang terdiri atas *Trypticase Soy Agar* (TSA) 40 gram, ekstrak ragi 6 gram, sodium bi karbonat 0,4 %, dekstrosa 0,8 %. Proses kultur ini dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C dalam *anaerobic jar* yang diinkubasi dalam inkubator. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* disuspensi dengan cara mengambil satu *loop* koloni dengan menggunakan jarum ose, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi NaCl, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Kepadatan sel dihitung menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm.

Tahap selanjutnya adalah pembuatan rebusan teh hijau. Sebanyak 10 g daun teh hijau direbus dengan 100 ml air selama 20 menit dengan suhu konstan yaitu 90°C. Selanjutnya hasil rebusan diencerkan hingga mendapat konsentrasi 40, 60, dan 80 mg/ml dengan menambahkan akuades. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 2 ml lalu dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian diberi label sesuai

konsentrasinya. Sebelum rebusan teh hijau dipaparkan *A. actinomycetemcomitans*, terlebih dahulu dilakukan uji fitokimia. Selanjutnya disiapkan 15 kertas cakram steril siap pakai dengan diameter 6 mm dan 1 cakram antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg. Sebanyak 12 kertas cakram dicelupkan kedalam masing-masing cawan petri yang berisi 2 ml rebusan teh hijau dengan konsentrasi 40, 60, 80 dan 100 mg/ml. 3 kertas cakram lainnya dicelup dalam akuades sebagai kontrol negatif. Kertas cakram antibiotik digunakan sebagai kontrol positif. Kertas cakram yang telah dicelupkan ke dalam rebusan daun teh hijau dibiarkan terendam selama 1 jam. Kemudian kertas cakram dipindahkan ke tempat yang agak tinggi sampai bahan uji tidak menetes.²³

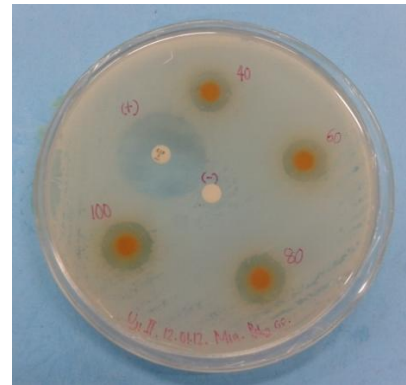
Tahap uji daya hambat rebusan teh hijau terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* dilakukan dengan menginokulasikan bakteri ke media MHA menggunakan metode *spread* (sebar) dengan teknik *swab*. Teknik ini dilakukan dengan cara *cotton swab* steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu tekan kapas pada dinding bagian dalam tabung sampai tidak ada cairan yang menetes. Kemudian dioleskan secara merata pada permukaan media MHA dengan teknik *swab* sebanyak 3 kali pengulangan dengan memutar cawan petri (rotasi) kira-kira 60° tiap pengulangan. Dibiarkan selama 5 menit hingga mengering. Selanjutnya cakram yang telah direndam ke dalam masing-masing konsentrasi rebusan teh hijau diletakkan pada permukaan media MHA yang telah diolesi suspensi bakteri lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.²³

Setelah diinkubasi, daerah daya hambat pertumbuhan bakteri pada masing-masing perlakuan diamati berupa zona terang (*clear zone*) disekitar kertas cakram lalu diukur diameternya menggunakan jangka sorong.²³ Selanjutnya, hasil pengukuran zona hambat diinterpretasikan berdasarkan klasifikasi zona hambat pertumbuhan bakteri menurut Morales.²⁴ Analisis data hasil penelitian dilakukan dengan metode Kruskal Wallis untuk mengetahui pengaruh pada tiap kategori perlakuan, kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Witney untuk mengetahui kelompok dengan pengaruh yang signifikan.

HASIL

Hasil uji daya hambat rebusan teh hijau dengan konsentrasi 40, 60, 80, dan 100 mg/ml terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* menunjukkan bahwa rebusan teh hijau dapat menghambat *A. actinomycetemcomitans*. Hal ini ditandai dengan

adanya zona hambat (*halo/ clear zone*) yang terbentuk di sekitar kertas cakram (Gambar 1).



Gambar 1. Zona hambat rebusan teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media MHA

Tabel 2 menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat yang paling besar terlihat pada cakram kontrol positif (*Ciprofloxacin* 5 µg) sebesar 27,3 mm dan rerata diameter zona hambat terkecil terlihat pada rebusan teh hijau konsentrasi 40 mg/ml sebesar 14,3 mm. Pada akuades (kontrol negatif) tidak terbentuk zona hambat. Hasil interpretasi daya hambat menurut Morales menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi rebusan teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap daya hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Tabel 2. Data hasil uji daya hambat rebusan teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *A. Actinomycetemcomitans*

Konsentrasi Rebusan Teh Hijau dan Bahan Kontrol	Diameter Zona Hambat (mm)			
	Uji I	Uji II	Uji III	Rerata
Kontrol (-)	0	0	0	0
40 mg/ml	14,5	14	14,5	14,3
60 mg/ml	15	15	15	15
80 mg/ml	16	16	16	16
100 mg/ml	16,5	16,5	16,5	16,5
Kontrol (+)	27	27,5	27	27,3

Kontrol (-): Akuades. Kontrol (+): *Ciprofloxacin* 5 µg

PEMBAHASAN

Hasil uji menunjukkan rebusan teh hijau (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* di sekitar kertas cakram. Terbentuknya zona hambat ini disebabkan oleh adanya beberapa

senyawa kimia di dalam kandungan teh hijau yang bersifat antibakteri, yaitu flavanoid (katekin), saponin dan tanin.^{10-13,25,26} Senyawa-senyawa ini bekerja dengan mekanisme yang berbeda. Katekin membuat ikatan dengan struktur membran sel bakteri melalui rantai OH-nya. Ikatan ini akan mereduksi integrasi struktur dinding sel sehingga bakteri lebih mudah lisis akibat tekanan ion dan osmotik yang rendah.¹⁰ Tanin bekerja dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma bakteri dan menghambat sintesis protein oleh bakteri, serta menginaktivasi fungsi materi genetik. Saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga dapat menyebabkan lisisnya mikroorganisme.²⁶

Tingkat kemampuan rebusan teh hijau untuk semua konsentrasi menurut Morales adalah sedang.²⁷ Kemampuan teh hijau dalam menghambat pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* tergolong sedang karena senyawa-senyawa antibakterinya tidak cukup mampu untuk merusak dinding sel bakteri dan berdifusi ke dalamnya.²⁰ Hal ini disebabkan karena *A. actinomycetemcomitans* merupakan bakteri Gram negatif yang dinding selnya tersusun dari tiga lapisan, yaitu membran luar, peptidoglikan, dan membran dalam.^{6,28} Adanya membran luar pada bakteri Gram negatif menyebabkan senyawa antibakteri sulit masuk ke dalam sel dan integritas dinding sel lebih terjaga dari kerusakan akibat paparan senyawa antibakteri.²⁸ Selain itu, pada beberapa bakteri Gram negatif ditemui suatu mekanisme transport aktif yang dapat mengeluarkan agen antibakteri dari sitoplasma ke luar sel bakteri, sehingga lebih resisten terhadap senyawa antibakteri.²⁸ Hal ini turut diperkuat oleh hasil penelitian Hirasawa dan Axelrod mengenai aktivitas antibakteri teh hijau terhadap bakteri Gram negatif seperti *Prevotella sp.* dan *P. gingivalis* yang menyatakan respons hambat pertumbuhan yang dihasilkan adalah sedang.^{13,19}

Hasil penelitian juga menunjukkan tidak ada perbedaan pengaruh yang signifikan antara kelompok konsentrasi rebusan teh hijau (*Camellia sinensis*) yaitu 40, 60, 80, dan 100 mg/ml terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans*. Masing-masing konsentrasi rebusan teh hijau memiliki tingkat kemampuan hambatan kategori sedang menurut klasifikasi Morales. Oleh karena itu, berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa rebusan teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat menghambat pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* sebagai periodontopatogen periodontitis agresif.

Daftar Pustaka

1. Novak MJ. Classification of disease and condition affecting the periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza, ed. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. St. Louis: Elsevier, 2006: 100-9.
2. Bäumer A, El Sayed N, Ti-Sun Kim, Reitmeir P, Eickholz P, Pretzl B. Patient-related risk factors for tooth loss in aggressive periodontitis after active periodontal therapy. J Clin Periodontol 2011; 38: 347-54.
3. Fidary H, Lessang R. Periodontitis agresif; karakteristik dan perawatannya. Maj Ked Gigi 2008; 15: 187-90.
4. Kesić L, Petrović M, Obradović R, Pejčić A. The Importance of aggregatibacter actinomycetemcomitans in etiology of periodontal disease-Mini Review. Acta Medica Medianae 2009; 48: 35-7.
5. Fine DH, Makowitz K, Furgang D, Vellyagounder K. Aggregatibacter actinomycetemcomitans as an early colonizer of oral tissue: epithelium as a resevoir? J Clin Microbiol 2010; 48: 4464-73.
6. Quirynen M, Teughels W, Haake SK, Newman MG. Microbiology of periodontal disease. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, eds., Carranza's Clinical Periodontology. 10th ed. St. Louis: Elsevier, 2006: 134-69.
7. Taughels W, Haake SK, Sliepen I, Pauwels M, Van Eldere J, Cassiman JJ, et al. Bacteria interfere with *A. actinomycetemcomitans* colonization. J Den Res 2007; 86: 611-7.
8. Nakanishi FA, Avila-Campos MJ, Kamiji NH, Itano EN. Immunoglobulin G proteolytic activity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Braz J Microbiol 2006; 37: 42-6.
9. Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Fairlie K, Ferrandiz J, Nasri C, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans and its relationship to initiation of localized aggressive periodontitis: longitudinal cohort study of initially healthy adolescents. J Clin Microbiol 2007; 45: 3859-69.
10. Jolkovsky DL, Ciancia S. Chemotherapeutic agents. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, eds. Carranza's clinical periodontology. 10th ed., St. Louis: Elsevier, 2006: 798-812.
11. Barnum T, Castellano S, Annie Chen, Jariwala N, Andrew Jung, Kelvin Mei, et al. The antimicrobial activity of green tea (*Camellia sinensis*) on *Staphylococcus aureus* in combination with ascorbic acid, acetic acid, and sodium chloride. <www.drew.edu/govschool/files/Team2.pdf> (29 Juli 2011).
12. Ogle N. Green tea (*Camellia sinensis*). Aust J Med Herb 2009; 21: 44-8.
13. Cushnie TPT, Andrew JL. Antimicrobial activity of flavanoid. Int J Microb Agents 2005: 343-56.
14. Soraya N. Sehat dan cantik bersama teh hijau. Jakarta: Penebar Plus, 2007; 10: 15-21.
15. FAO. Agricultural Commodities: Profiles and Rele-

- vant WTO Negotiating Issues, <<http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4343E/y4343e05.htm#To of Page>> (2 Februari 2012).
16. Becker R, Hirsh S, Hu Emily, Jamil A, Mathew S, Newcomb K, et al. Inhibitory effect of *Camellia sinensis* (Green Tea) on *Streptococcus mutans*. <http://www.thebigteas.com/uploads/2009/0915/jasminea_tibacteria.pdf> (29 Juli 2011).
 17. Taylor, Peter W, Jeremy M.T. Hamilton-Miller, Paul D.S. Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Techno Bull* 2005; 2: 71-81.
 18. Lee SS, Wu Zhang, Yiming Li. The microbial potential of 14 natural herbal dentifrices: result of an in vitro diffusion method study. *JADA* 2004; 135: 1133: 41.
 19. Axelrod M, Berkowitz S, Dhir R, Gould V, Gupta A, Eric Li, et al. The inhibitory effects of green tea (*Camellia sinensis*) on growth and proliferation of oral bacteria. <www.drew.edu/govschool/files/Team3.pdf> (29 Juli 2011).
 20. Friedman M. Review: Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 116-34.
 21. Syah ANA. Taklukan penyakit dengan the hijau. Jakarta: Argomedia Pustaka, 2006: 44-54.
 22. Carbrera C, Artacho R, Giménez R. Beneficial effects of green tea-a review. *J Am Coll Nutr* 2006; 25: 79-99.
 23. Lakio L. Evolutionary lineages of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bear diverse traits to support roles as a member of normal flora and as a pathogen. Dissertation Finland: University of Helsinki, 2005.
 24. Doss A, Mubarack HM, Dhanabalan R. Antibacterial activity of tannins from the leaves of *Solanum trilobatum* Linn. *Indian J Sci and Technol* 2009; 2: 41-3.
 25. Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Iwatsuki K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chem* 2001; 48: 487-91.
 26. Sumono A, Wulan A. Kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha* W) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus* sp. *Majalah Farm Ind* 2009; 20: 112-7.
 27. Morales G, Sierra P, Mancilla A, Paredes A, Loyola LA, Gallardo O. Secondary metabolites from four medicinal plants from northern Chile: antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *J Chil Chem Soc* 2003; 48
 28. Rodrigues RMJ, Gonçalves C, Souto R, Filho-Feres EJ, Uzeda M, Colombo APV. Antibiotic resistance profile of the subgingival microbiota following systemic or local tetracycline therapy. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 420-7.