LAPORAN AKHIR

PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

PENGUJIAN EFEKTIVITAS TANIN SEBAGAI ANTIBAKTERI

Chlamydia trachomatis

BIDANG KEGIATAN:

PKM PENELITIAN

Oleh

Bayu Dwi Arianto	G44050100 (2005) Ketua
Hari Bowo	G44051004 (2005) Anggota
Malia Apriani	G44054236 (2005) Anggota
Aulia Ilmiawati	G44051414 (2005) Anggota
Soko Andika Perdana	G44062256 (2006) Anggota

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Departemen Pendidikan Nasional
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah
Program Kreativitas Mahasiswa

Nomor 001/BAP.DP2M/II/2008 tanggal 26 Februari 2008

LEMBAR PENGESAHAN

PROGRAM KREATIFITAS MAHASISWA

Judul Kegiatan	: Pengujian Efektivitas Tanin sebagai Antibakteri *Chlamydia trachomatis*
Bidang kegiatan	: PKM Penelitian
Bidang Ilmu	: MIPA
Ketua pelaksana	
a. Nama lengkap	: Bayu D Arianto
b. NIM	: G44050100
c. Departemen	: Kimia
d. Institut	: Institut Pertanian Bogor
e. Alamat Rumah	: Wisma Meteor House Gg. Kesadaran No. 52 Babakan tengah RT 02 RW 09 Kec. Darmaga Kab. Bogor
Anggota pelaksana	: 4 Orang
Dosen Pembimbing	
a. Nama lengkap	: Dr. Purwantiningsih Sugita, M.S.
b. NIP	: 131779513
c. Alamat	: Departemen Kimia IPB
Biaya kegiatan Total	: Rp 5.337.500

Jangka waktu pelaksanaan: Februari sampai dengan Mei 2008

Menyetujui

Ketua Departemen Kimia
Fakultas MIPA Institut Pertanian bogor

Prof. Dr. Ir. Tun Tedja Irawadi, M.S.
NIP 130536664

Ketua Pelaksana

Bayu Dwi Arianto
NIM. G64050100

Wakil Rektor Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 131437999

Dosen Pembimbing

Dr. Purwantiningsih Sugita, M.S.
NIP. 131779513

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Bakteri *Chlamydia trachomatis* merupakan satu dari tiga jenis bakteri dalam genus *Chlamydia* yang temasuk dalam ordo *Chlamydiales*, famili *Chlamydiaceae*. Bakteri ini kurang dikenal oleh masyarakat pada umumnya, namun akibat dari pertumbuhan bakteri ini ternyata cukup membahayakan bagi kesehatan karena dapat menyerang beberapa bagian vital tubuh. Hasil penelitian Karmila (2001) menunjukkan bahwa bakteri *C. trachomatis* merupakan penyebab utama infeksi yang ditularkan melalui hubungan seksual pada penduduk di banyak negara. Laporan WHO menunjukan bahwa pada akhir abad ke-20 jumlah orang yang menderita infeksi *Chlamydia* sekitar 89 juta orang dan umumnya banyak ditemukan di negara-negara berkembang. Gejala awal pada infeksi ini memang tidak begitu terlihat, tetapi jika keadaan ini terus dibiarkan dan tidak cepat ditanggulangi, maka penyakit ini akan terus berkembang dan menyebar sehingga akan lebih sulit diobati dan berbahaya bagi kesehatan.

Wanita remaja umumnya rentan terinfeksi bakteri ini. Berdasarkan hasil laporan kesehatan diperoleh data bahwa 70 % kasus infeksi *Chlamydia* menyerang wanita dan 40 % sisanya pria. Bayi yang dilahirkan dari ibu yang terinfeksi bakteri ini dapat menderita radang paru dan kebutaan. Menurut hasil penelitian Umenai T. (1999) didapatkan hasil bahwa pada wanita hamil ditemukan infeksi bakteri *C. trachomatis* sebanyak 24,5%. Resiko ancaman persalinan *preterm* (bayi yang lahir prematur) pada wanita hamil yang terinfeksi *C. trachomatis* 12 kali lebih besar dibandingkan dengan wanita hamil normal. Penelitian Shenoy (2002) terhadap 450 wanita hamil menghasilkan data 70 wanita (15%) positif untuk antigen *C. trachomatis*, sebagian besar (89,1%) usianya di bawah 30 tahun. Dari 98 wanita yang mengalami persalinan preterm, 42 kasus (42,8%) positif terinfeksi *C. trachomatis*. Dari permasalahan ini, maka dibutuhkan antibakteri untuk mengahambat aktivitas bakteri ini.

Penggunaan berbagai bahan alami sebagai antibakteri semakin meningkat seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi. Dewasa ini, para peneliti berlomba-lomba untuk menemukan antibakteri baru sebagai pencegah atau pengobatan berbagai penyakit dengan slogan "*back to nature*". Selain karena mudah didapat dan harganya yang murah, penggunaan tanaman sebagai antibakteri juga tidak menyebabkan efek samping terhadap kesehatan.

Antibakteri yang dikenal dapat menghambat sintesis bakteri *C. trachomatis* adalah Azitromisin. Azitromisin adalah antibiotik golongan makrolida pertama yang termasuk dalam kelas *azalide*. Senyawa ini beraksi menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat ribosom subunit 50S dan tidak mengusik pembentukan asam nukleat. Selain Azitromisin, terdapat bahan alam lain yang dapat dijadikan sebagai antibakteri, salah satunya adalah tanin.

Menurut Okuda (2004) tanin berpotensi menjadi antibakteri, sedangkan penelitian Mulyadi (1996) membuktikan bahwa tanin mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tanin dalam teh hijau merupakan jenis katekin yang memiliki banyak manfaat seperti antioksidan, penghilang bau busuk, antijamur, antitumor, dan antivirus (Takeda 1994). Mahmud (1993) menyatakan bahwa larutan teh yang banyak mengandung katekin dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus viridans* penyebab plak gigi. Senyawa polihidroksi fenol golongan katekin juga mampu menghambat pertumbuhan jamur *Hypoxylon serpens*, kecuali (+)-katekin (Onsando dan Owuor 1990). Ekstrak tanin dalam teh hijau juga bersifat toksik terhadap mikroorganisme penyebab diare (Scalbert 1991). Menurut hasil penelitian Marudut (2006) dari 25 gram serbuk daun teh hijau yang ditimbang, diperoleh kadar polifenol hasil ekstraksi sebesar 596,89 ppm.

Sifat tanin dapat menghambat sintesis protein oleh bakteri diharapkan dapat menjadi obat alami untuk infeksi bakteri *C. trachomatis*. Selain itu, tanin juga mudah didapatkan dari berbagai tanaman herba dan jenis berkayu seperti daun teh dan mudah diisolasi dengan metode yang sederhana sehingga diharapkan dapat membantu mengurangi penyebarluasan bakteri *C. trachomatis*. Oleh karena itu, diperlukan penelitian tentang isolasi tanin dari daun teh untuk menguji efektivitasnya sehingga dapat dimanfaatkan oleh masyarakat luas.

Perumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah seberapa efektif (dalam konsentrasi) *tanin dalam membunuh* ***C. trachomatis?***

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan menguji keefektifan senyawa tanin sebagai antibakteri *C. trachomatis.*

Luaran Yang Diharapkan

Luaran yang diharapkan dari penelitian ini adalah penyajian data mengenai aktivitas tanin sebagai antibakteri *C. trachomatis*. Luaran lain sebagai hasil penelitian ialah paten dan artikel ilmiah yang akan diajukan keberkala di bidang kimia.

Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat (1) memberikan manfaat bagi masyarakat untuk menambah informasi mengenai bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat tradisional, (2) dapat mengurangi penyebarluasan infeksi bakteri *C. trachomatis* dan mengurangi jumlah penderita penyakit yang disebabkan bakteri ini, serta (3) dapat menciptakan sumber penghasilan baru bagi industri farmasi.

METODE DAN PELAKSANAAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah freeze drier, mortir, sentrifuge, pipet volumetrik, pipet mohr, cawan petri, erlenmeyer, corong pisah, jarum ose, tabung reaksi, rotavapor, oven, *hot plate*, eksikator, *magnetic stirer*, dan gelas piala.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi dua bahan utama, yaitu daun teh dan bakteri *C. trachomatis*.

Bahan kimia utama yang digunakan untuk ekstraksi dan pengujian tanin, yaitu aseton 70% dan metanol-air (1:1)

Metode Pelaksanaan

Isolasi Tanin

Beberapa daun teh diambil untuk dilakukan pengeringan di dalam oven pada suhu 105°C. Daun teh yang sudah kering dihaluskan menggunakan mortar sampai halus. Kemudian daun tersebut diekstrak menggunakan pelarut metanol-air (1:1). Setelah mendapatkan ekstrak, dipekatkan menggunakan rotavapor dan diuji dengan larutan $FeCl_3$ 1% ditambahkan gelatin 10%. Jika terbentuk endapan putih menandakan bahwa ekstrak tersebut merupakan tanin (Hagermae 2002)

Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan berupa cawan petri, tabung reaksi kosong, tabung reaksi yang berisi air suling 19 ml, tips pipet Eppendrof, air suling serta larutan media agar disterilkan dalam oven pada suhu 100°C

Pengembangbiakan Bakteri pada Media Tanam

Dengan gelas ukur yang sesuai dituangkan akuades ke dalam erlenmeyer atau piala gelas besar kira-kira setengah dari kebutuhan, lalu ditimbang media PCA ke dalam kaca arloji, setelah itu media PCA dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi akuades. Bilas sisa media yang menempel pada kaca arloji dan masukkan semua sisa akuades. Erlenmeyer diletakkan di atas *hot plate* yang dilengkapi dengan *magnetic stirer*. Larutan di panaskan hingga mendidih dan semua bahan larut. Setelah itu, nmedia itu dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan media menjadi padat. Setelah padat, media dibalik sehingga tutupnya berada di bawah. Bagian luar cawan petri tersebut dibagi menjadi empat bagian (segmen) dengan menggunakan spidol.

Bakteri *C. trachomatis* diambil dengan menggunakan jarum ose, kemudian diletakkan pada bagian tepi dari segmen pertama pada lempeng agar. Setelah itu tetesan inokula bakteri *C. trachomatis* disebarkan dengan cepat menggunakan jarum ose, dengan cara goresan paralel rapat dalam segmen pertama kemudian dalam segmen kedua, ketiga, dan keempat. Cawan petri ditutup dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 27 °C selama 1 hari. Pada saat diinkubasi, cawan dibalik dengan tutupnya berada di bawah. Semua proses dilakukan dengan tehnik aseptik.

Pengujian Tanin pada Media Bakteri

Ekstrak tanin yang telah disiapkan dilarutkan menggunakan larutan fisiologis 0,85% dengan konsentrasi 5%, 7.5%, 10%, 12.5%, dan 15% di dalam tabung reaksi. Disiapkan kertas saring berabu dengan diameter 1 cm dan dicelupkan ke dalam masing-masing larutan tanin yang konsentrasinya berbeda selama 5 menit. Setelah itu, kertas saring diangkat dan dimasukkan ke dalam medium biakan bakteri. Objek diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening yang terbentuk diukur untuk mengetahui adanya bakteri dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak

Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan dua kali pengulangan. Perlakuan yang dicobakan adalah perlakuan konsentrasi ASPARFIN; masing-masing 5%, 7.5%, 10%, 12.5%, dan 15%. Model rancangan percobaan yang digunakan menurut Steel dan Torrie (1991) adalah sebagai berikut:

$$\hat{Y}_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Dengan $i = 1, 2, 3, 4, 5$

$J = 1, 2$

Keterangan:

$\hat{Y}_{ij}$ = Nilai pengamatan perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai rata-rata pengamatan

α_i = Faktor pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan ke-j dan perlakuan ke-i

Peubah dalam Penelitian

Peubah yang akan diukur untuk menentukan keberhasilan penelitian adalah mutu ekstrak daun teh setelah proses pengujian, diantaranya konsentrasi tanin yang efisien untuk menghambat pertumbuhan bakteri oleh tanin.

Agar hasil yang didapatkan lebih akurat dilakukan ekstraksi tanin agar penghambatan pertumbuhan bakteri lebih efektif yang hanya dipengaruhi oleh konsentrasi hanya dari senyawa tersebut. Selain itu, bakteri yang diuji menggunakan media tanam dalam skala laboratorium agar mendapatkan kondisi yang optimum untuk diuji.

Rancangan Analisis Data Pengamatan

Untuk mendapatkan hasil yang optimum, dilakukan analisis dari data yang didapat dari pengamatan selama penelitian. Untuk mengidentifikasi data tersebut digunakan metode perbandingan zone yang terbentuk dari bakteri dengan mengukur jarak bakteri pada setiap konsentrasi.

HASIL

A. Hasil

Waktu dan Tempat

Pengambilan daun teh sebagai sampel dilaksanakan pada tanggal 27 *Februari* 2008 bertempat di Puncak, Bogor. Uji fitokimia tanin pada penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 29 Februari 2008 dan ekstraksi tanin dari daun teh dilaksanakan dari tanggal 2 Maret 2008 sampai 10 Mei 2008 bertempat di laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia IPB Dramaga. *Freeze Drying* untuk pengeringan tanin tahap 1 dilaksanakan pada tanggal 17 Maret 2008 sampai 20 Maret 2008 bertempat di Bioteknologi PAU (Pusat Antar Universitas) Institut Pertaninan Bogor. Pencarian bakteri *Chlamydia trachomatis* dilakukan mulai tanggal 27 Februari 2008 sampai 20 Maret 2008 di Balai-balai Penelitian yang tergabung dalam Forkomikro (Forum Komunikasi Mikrobiologi), di berbagai Rumah Sakit, dan di beberapa Universitas di Indonesia.

Prosedur dan Tahapan Pelaksanaan

Sampel yang digunakan adalah pucuk daun teh. Daun basah tersebut sebanyak 1.0 g dihancurkan dengan mortar yang kemudian direndam dengan menggunakan metanol dengan perbandingan 1:10 dan di *seeker* hingga warna daun tersebut terekstrak oleh pelarut. Setelah ekstrak didapat dilakukan uji fitokimia tannin dengan menggunakan $FeCl_3$ 1%. Setelah positif mengandung tannin (warna biru tua atau hijau kehitaman) maka dilakukan *Freeze drying* untuk mendapatkan hasil keringnnya. Setelah hasil kering didapat, dilakukan perendaman dengan metanol kembali selama 1 hari. Setelah itu disaring dan dilakukan uji fitokimia kembali. Dari hasil ini didapat murni tannin basah dan dilakukan *Freeze drying* kembali.

Hasil yang diperoleh

Uji fitokimia yang dilakukan pada daun teh segar (basah) dan daun teh yang sudah dikeringkan menghasilkan tanin yang lebih banyak pada daun teh yang masih segar. Hal ini terlihat dari kepekatan warna tanin yang dihasilkan. Warna tanin yang didapatkan pada daun teh segar lebih pekat (hijau kehitaman) daripada daun teh yang sudah kering, sehingga pada percobaan selanjutnya, ekstraksi tanin dilakukan dari daun teh yang masih segar.

Daun teh ditimbang pada tiga buah erlenmeyer yang masing-masing bobot daun teh nya sebesar 20.0472g, 20,1550g, dan 20.2307g sehingga bobot daun teh total yang digunakan sebanyak 60.4329g. Ekstrak tanin yang didapat dari hasil *freeze drying* tahap 1 sebesar 3.5600g. Sehingga rendemen yang didapat sebesar 5.89% dari bobot basah. Rendemen ini direndam dengan metanol selama sehari dan di uapkan menggunakan *rotavapor*. Hasil dari penguapan berupa tanin basah yang akan dilakukan *freeze drying*.

Rencana Lanjutan

Rencana selanjutnya dari penelitian ini adalah *freeze drying* tahap 2 dari ekstrak tanin basah yang didapat untuk menghasilkan ekstrak tanin yang kering, kemudian dilakukan uji fitokimia kembali untuk menunjukkan bahwa tanin yang didapatkan merupakan tanin murni. Tanin ini kemudian dibuat dengan variasi konsentrasi 5% b/v, 7.5% b/v, 10% b/v, 12.5% b/v, dan 15% b/v untuk diujikan pada bakteri *Chlamydia trachomatis*.

B. Kendala yang Dihadapi

Penelitian ini mengalami beberapa kendala, diantaranya sulitnya dalam mendapatkan bakteri *Chlamydia trachomatis* yang merupakan bakteri langka dan sudah jarang ditemukan di berbagai tempat. Selain itu sifat bakteri yang patogen menyebabkan kekhawatiran dalam kontak langsung antara tubuh dan bakteri tersebut.