

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Escherichia coli (*E. coli*) adalah bakteri yang merupakan bagian dari flora normal dalam saluran pencernaan pada manusia. Namun, meskipun termasuk flora normal, *E. coli* dapat menjadi patogen oportunistik yang menyebabkan berbagai infeksi di luar saluran cerna, salah satunya infeksi saluran kemih (ISK), terutama ketika bakteri ini berpindah ke uretra dan berkembang biak di saluran kemih. Menurut *World Health Organization*, ISK merupakan salah satu penyakit infeksi yang paling sering terjadi di dunia dan menempati urutan kedua setelah infeksi saluran pernapasan, dengan sekitar 8,3 juta kasus dilaporkan setiap tahunnya (Khabipova et al., 2022). Berdasarkan data dari Departemen Kesehatan Republik Indonesia, angka kejadian ISK di Indonesia berkisar antara 90–100 kasus per 100.000 penduduk per tahun atau setara dengan ± 180.000 kasus setiap tahun. Tingginya insiden ISK di Indonesia menunjukkan bahwa penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan yang cukup signifikan, dengan jumlah penderita yang diperkirakan mencapai 222 juta jiwa (Maugeri et al., 2022).

Kontaminasi bakteri *E. coli* yang melebihi ambang batas dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan seperti diare, meningitis, dan Sindrom Uremik Hemolitik (HUS). Menurut WHO dan UNICEF, terdapat sekitar 2 miliar kasus diare dan 1,9 juta kematian balita setiap tahun, dengan sebagian besar terjadi di negara berkembang, khususnya Afrika dan Asia Tenggara. *E. coli* menjadi salah satu penyebab utama karena kemampuannya menghasilkan toksin dan merusak mukosa usus, bahkan dapat menyebabkan kondisi serius seperti sepsis. Penanganan infeksi ini memerlukan antibiotik yang tepat, namun efektivitasnya kini menurun akibat meningkatnya resistensi antibiotik, yang berdampak pada peningkatan morbiditas dan mortalitas (Trisno et al., 2021).

Selain antibiotik, beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam suatu tanaman memiliki aktivitas sebagai antimikroba, salah satunya adalah teh hijau. Teh hijau mengandung senyawa bioaktif utama berupa polifenol (seperti katekin), saponin, alkaloid, asam amino dan protein. Kandungan polifenol yang terdapat pada teh hijau tergolong tinggi, jumlahnya bisa mencapai 67%. Katekin utama yang ditemukan dalam teh hijau adalah EGCG dan EGC. EGCG berpotensi menurunkan pertumbuhan *E. coli* sekitar 50%. Katekin teh hijau menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap berbagai macam mikroorganisme, termasuk bakteri Gram-positif, Gram-negatif, beberapa virus dan jamur (Zhao et al., 2022; Pradhan, 2020).

Teh hijau termasuk jenis teh yang tidak melalui proses fermentasi atau oksidasi, sehingga kadar katekin di dalamnya tetap tinggi dan tidak mengalami banyak perubahan (Mozumder et al., 2025). Teh hijau berasal dari pucuk daun tanaman *Camellia sinensis* L. yang segera dipanen, kemudian mengalami proses inaktivasi enzim melalui perlakuan panas, seperti penguapan (*steaming*) atau pemanasan menggunakan udara panas (*pan-heating*), dengan tujuan mencegah terjadinya oksidasi senyawa fenolik. Tahapan ini disebut *fixation*, yang berfungsi untuk menghentikan aktivitas enzim polifenol oksidase, sehingga kandungan katekin di dalam daun tetap terpelihara dalam jumlah optimal (Wong, 2022). Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Marzaman (2019), bahwa ekstrak teh hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta-Lactamase*) dan didapatkan nilai KHM sebesar 100 $\mu\text{g/mL}$.

Namun keterbatasan utama dari katekin ini terletak pada stabilitas dan bioavailabilitasnya. EGCG merupakan senyawa yang memiliki bioavailabilitas sangat rendah. Hanya sekitar 0,16% EGCG yang berhasil masuk ke dalam plasma darah, sedangkan EGC dan EC masing-masing mencapai sekitar 0,58% dan 1,1% (Hodges et al., 2021). Akibat rendahnya bioavailabilitas dari katekin khususnya EGCG, maka diperlukan upaya untuk meningkatkan kestabilan dan ketersediaan EGCG dalam tubuh. Penelitian oleh Dai et al. (2008), menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dapat menstabilkan EGCG dalam teh hijau

dengan meregenerasi bentuk aktifnya dari radikal teroksidasi. Interaksi keduanya bersifat sinergis karena perbedaan potensial redoks, di mana vitamin C berperan sebagai pereduksi dan pelindung terhadap oksidasi EGCG.

Vitamin C merupakan antioksidan yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan sering digunakan bersamaan dengan obat-obatan. Sebagai antioksidan, vitamin C berperan dalam menetralkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh bakteri, sehingga membantu mengurangi stres oksidatif. Selain memperkuat sistem imun, penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa vitamin C dapat bertindak sebagai agen modulasi yang meningkatkan efektivitas antimikroba dari bahan alami. Mekanisme yang diusulkan meliputi peningkatan penetrasi senyawa bioaktif ke dalam sel bakteri serta peningkatan reaktivitas senyawa aktif yang dapat merusak struktur dinding sel bakteri (Sebayang & Ritonga, 2021).

Modulasi ekstrak teh hijau dengan penambahan vitamin C diharapkan dapat menghasilkan sinergisme yang lebih kuat dalam aktivitas antimikroba terhadap *E. coli*. Penambahan vitamin C berpotensi memperkuat efektivitas ekstrak teh hijau, baik melalui peningkatan kelarutan senyawa aktif, peningkatan reaktivitas, maupun efek immunosupresif yang menambah daya antibakteri bahan tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis secara *in vitro* efek modulasi vitamin C terhadap aktivitas antimikroba ekstrak teh hijau terhadap pertumbuhan *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah vitamin C dapat meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak teh hijau (Camellia sinensis L.) terhadap Escherichia coli secara in vitro?

1.3 Tujuan

Mendapatkan konsentrasi vitamin C yang dapat meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, 29 September 2025 – 6 Maret 2026.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah autoklaf (*All American Model 25x-2*[®]), Biosafety Cabinet Class II (*Thermo Scientific™ 1300 Series A2*[®]), inkubator (*Memmert*[®]), oven (*Memmert*[®]), densitometer (*Biosan*[®]), vortex (*Gemmy*[®] type VM-300), spoit (*OneMed*[®]), mikropipet (*DragonLab*[®]), timbangan analitik (*Sartorius*[®]), *Microplate Reader 96-well*, *Microplate 24-well*, cawan petri alat-alat gelas, dll.

2.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak teh hijau (koleksi Prof. Dr, Sartini, M. Si, Apt), serbuk Vitamin C (*Merck*[®]), bakteri *Escherichia coli* ATCC-25922 koleksi *agavi lab*, medium *Mueller-Hinton Agar/MHA* (*Merck*[®]), medium *Mueller-Hinton Broth/MHB* (*HiMedia*[®]), Medium Nutrient Agar (*Merck*[®]), *Water for Injection*, dan reagen 2,3,5-trifeniltetrazolium klorida (TTC) 1% (*HiMedia*[®]).

2.3 Metode Kerja

2.3.1 Sterilisasi alat

Alat berbahan gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama dua jam. Alat yang berbahan logam disterilkan dengan dipanaskan di atas nyala lampu spiritus. Sementara itu, peralatan yang terbuat dari karet dan plastik disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.2 Pembuatan medium

2.3.2.1 Medium *Nutrient Agar* (NA)

Media NA ditimbang sebanyak 0,2 g kemudian dilarutkan menggunakan 10 mL air suling dengan bantuan pemanasan. Selanjutnya, medium disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.2.2 Medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA)

Media MHA ditimbang sebanyak 3,8 g kemudian dilarutkan menggunakan 100 mL air suling dengan bantuan pemanasan. Selanjutnya, medium disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.2.3 Medium *Mueller-Hinton Agar* (MHB)

Medium MHB ditimbang sebanyak 2,1 g kemudian dilarutkan menggunakan 100 mL air suling. Selanjutnya, medium disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.3 Penyiapan bakteri uji

2.3.3.1 Peremajaan bakteri uji

Peremajaan isolate bakteri *E. coli* dilakukan menggunakan media NA dengan cara mengambil satu ose bakteri dan digoreskan pada media NA miring. Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

2.3.3.2 Pembuatan suspensi bakteri

Suspensi biakan dibuat dengan mensuspensikan bakteri *E. coli* ke dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan setara dengan larutan 0,5 McFarland (densitas biakan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Kemudian, suspensi biakan diencerkan dengan mencuplik 0,1 mL suspensi biakan setara 0,5 McFarland ke dalam 9,9 mL medium MHB (densitas biakan $1,5 \times 10^6$ CFU/mL).

2.4 Pembuatan larutan uji ekstrak teh hijau tunggal

Serbuk ekstrak daun teh hijau ditimbang sebanyak 20 mg kemudian larutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO) dan air steril sebanyak 5 mL dengan perbandingan (1:1) sehingga diperoleh konsentrasi larutan stok 4.000 µg/mL. Setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat untuk memperoleh konsentrasi 2.000 µg/mL, 1.000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL.

2.4.1 Pembuatan larutan uji vitamin C

Serbuk vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan 5 mL dimetil sulfoksida (DMSO) dan air steril dengan perbandingan (1:1) untuk memperoleh konsentrasi larutan stok 2.000 µg/mL. Setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat untuk memperoleh konsentrasi 1.000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL.