

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Amoksisilin merupakan antibiotik spektrum luas yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai infeksi akibat Gram positif maupun Gram negatif. Selain itu, amoksisilin memiliki bioavailabilitas oral yang tinggi, dengan konsentrasi plasma puncak dicapai dalam waktu sekitar 1–2 jam setelah dikonsumsi (Kaur *et al*, 2011; Sofyani *et al*, 2018). Permenkes RI No.28 tahun 2021 dan pedoman WHO tahun 2023 mengelompokkan amoksisilin dalam kategori *ACCESS* yang berarti tersedia di semua fasilitas pelayanan kesehatan dan digunakan sebagai terapi lini pertama pada infeksi umum sesuai pedoman praktik klinis. Namun, terdapat kekurangan dari amoksisilin yakni telah banyak bakteri yang resisten atau tidak sensitif, salah satunya ialah *Staphylococcus aureus* (Yao *et al*, 2019; Valzon *et al*, 2021). Strategi alternatif yang dapat dilakukan untuk meningkatkan aktivitas antibakteri dari suatu antibiotik ialah dengan mengombinasikannya dengan bahan alam.

Tanaman teh (*Camellia sinensis*) diketahui memiliki berbagai potensi biologis melalui senyawa bioaktifnya salah satunya ialah sebagai agen antimikroba. Senyawa bioaktif tanaman teh antara lain, polifenol (seperti katekin, flavonoid, dan asam fenolat), asam amino, polisakarida, alkaloid, makromineral, kafein, vitamin, dan lain-lain (Liu *et al*, 2020). Katekin merupakan senyawa bioaktif utama dari teh karena menyumbang 70% dari polifenol teh, yang terbagi menjadi *epigallocatechin gallate* (EGCG), *epicatechin gallate* (ECG), *epigallocatechin* (EGC), dan *epicatechin* (EC) (Yan *et al*, 2020).

Salah satu produk dari tanaman teh ialah teh hijau. Ekstrak teh hijau merupakan bahan alam yang banyak dimanfaatkan karena kandungan utamanya yakni EGCG diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sartini *et al.*, (2019) yang melaporkan beberapa bahan maupun produk alam yang memiliki aktivitas antibakteri khususnya pada bakteri *S.aureus*. Salah satu yang terkuat diantaranya ialah ekstrak teh hijau yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* (KHM = 300 µg/mL). Menurut Radji *et al.*, (2023) ekstrak teh hijau menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923 dan MRSA (KHM = 400 µg/mL). Kandungan katekin dalam ekstrak teh hijau diketahui memiliki efek sinergis saat dikombinasikan dengan antibiotik (Radeva-Ilieva *et al.*, 2025), yang terbukti mampu meningkatkan aktivitas antibakteri amoksisilin hingga dua kali lipat serta menurunkan nilai KHM-nya (Sartini *et al.*, 2020).

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa ekstrak teh hijau mampu meningkatkan aktivitas antibakteri amoksisilin pada pengujian *in vitro*. Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh Sartini *et al.*, 2020 secara *ex vivo* dengan dosis 50 mg/kgBB tikus belum terlihat adanya perbedaan zona hambat, karena

senyawa katekin dalam hal ini EGCG memiliki bioavailabilitas oral yang rendah. Hal ini didukung oleh penelitian Fernandez *et al.*, (2020) bahwa pada manusia, bioavailabilitas EGCG dilaporkan hanya berkisar antara 0,1–0,3% dan pada studi *in vivo* juga telah dilaporkan bahwa katekin memiliki bioavailabilitas yang rendah pada hewan uji (Baba *et al*, 2001).

Sistem penghantaran obat berbasis mikrostruktur merupakan pendekatan yang saat ini berkembang pesat untuk meningkatkan bioavailabilitas obat. Enkapsulasi EGCG berbasis mikro memungkinkan pelepasan yang terkontrol serta meningkatkan bioavailabilitas, meskipun digunakan pada dosis yang lebih rendah dibandingkan dengan sediaan konvensional. Beragam bahan enkapsulasi, seperti lipid, protein, dan karbohidrat, dapat digunakan sebagai pembawa untuk meningkatkan bioavailabilitas katekin, termasuk EGCG, melalui peningkatan kelarutan, perlindungan terhadap degradasi saluran cerna, dan peningkatan absorpsi usus halus (Cai *et al*, 2018).

Hingga kini, penelitian mengenai efek modulasi mikrokapsul ekstrak teh hijau terhadap aktivitas antibakteri masih terbatas. Berdasarkan potensi senyawa aktif dalam teh hijau yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri serta kemampuan dalam meningkatkan efektivitas antibiotik, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh ekstrak teh hijau yang diformulasi dalam bentuk mikrokapsul terhadap aktivitas antibakteri amoksisilin melalui pengujian *ex vivo* menggunakan plasma tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah mikrokapsul ekstrak teh hijau dapat meningkatkan aktivitas antibakteri amoksisilin dibanding ekstrak teh hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *ex vivo* menggunakan plasma tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan penelitian ini yaitu untuk membandingkan pemberian mikrokapsul ekstrak teh hijau dengan ekstrak teh hijau terhadap peningkatan aktivitas antibakteri amoksisilin pada bakteri *Staphylococcus aureus* secara *ex vivo* menggunakan plasma tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (S/S 24lt W/Timer YX-280 DI®), Biosafety Cabinet Class II (Thermo Scientific™ 1300 Series A2®), densitometer (Biosan®), Scanning Electron Microscopy (SEM) (JEOL®: Tipe JCM 6000 PLUS), Particle Size Analyzer (PSA) (NKT®), inkubator (Memmert®), jangka sorong digital (Krisbow®), kertas cakram (Oxoid®), magnetic stirrer hot plate (Thermo Scientific™), homogenizer turrax (IKA®), mikropipet (Memmert®), oven (Memmert UN55®), pipa kapiler, sentrifuge (Gemmy®), spoit (OneMed®), timbangan analitik (Sartorius®), vacutainer EDTA, vortex mixer (Gemmy®), alat-alat gelas laboratorium, dll.

2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak teh hijau (koleksi Prof. Sartini), maltodextrin DE 10-12, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (koleksi Laboratorium Mikrobiologi Farmasi), medium *Mueller-Hinton Agar/MHA* (Merck®), medium *Tryptic Soy Agar/TSA* (Merck®), paper disc amoxycillin 25 µL (Oxoid®), diethyl ether, purified water (WaterOne®), tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar betina.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Pembuatan medium

2.2.1.1 Medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA)

Medium MHA ditimbang sebanyak 3,8 g, lalu disuspensikan dalam 100 mL *aquadest* dibantu dengan pemanasan pada tangas air. Setelah itu, medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.2.1.2 Medium *Tryptic Soy Agar* (TSA)

Medium TSA ditimbang sebanyak 1,2 g, lalu disuspensikan dalam 30 mL *aquadest* dibantu dengan pemanasan pada tangas air. Kemudian, medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.2.2 Sterilisasi alat

Alat-alat gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat berbahan karet dan plastik disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.2.3 Penyiapan bakteri uji

2.2.3.1 Peremejaan bakteri uji

Isolat bakteri *S.aureus* diremajakan menggunakan medium TSA dengan menggoreskan satu ose biakan pada permukaan agar miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

2.2.3.2 Pembuatan suspensi bakteri

Suspensikan bakteri uji ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% hingga mencapai tingkat kekeruhan setara dengan standar 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Selanjutnya, suspensi tersebut diencerkan dengan mengambil 0,1 mL dari suspensi setara 0,5 McFarland dan dimasukkan ke dalam 9 mL larutan NaCl 0,9%, sehingga diperoleh konsentrasi akhir sebesar $1,5 \times 10^6$ CFU/mL.

2.2.4 Pembuatan mikrokapsul teh hijau

Mikrokapsul ekstrak teh hijau dibuat dengan menimbang sebanyak 5 g ekstrak teh hijau dan 20 g maltodekstrin (perbandingan 1:4). Ekstrak teh hijau kemudian dilarutkan dalam 100 mL etanol 50% dengan bantuan *magnetic stirrer hot plate* kecepatan 600 rpm, suhu 50°C selama 3 menit (campuran 1). Pada wadah lain, maltodekstrin dilarutkan dalam 50 mL air panas dengan suhu 70°C dengan bantuan *magnetic stirrer* kecepatan 600 rpm (campuran 2). Masukkan campuran 1 ke campuran 2 hingga menghasilkan volume akhir 150 mL, kemudian homogenkan dengan bantuan *homogenizer turrax* (8.000 rpm) selama 5-10 menit. Campuran kemudian melalui proses *spray drying* dengan suhu *outlet* 70°C dan suhu *inlet* 125°C untuk memperoleh hasil akhir berupa mikrokapsul.

2.2.5 Prosedur pengujian efisiensi enkapsulasi mikrokapsul teh hijau

Mikrokapsul ekstrak teh hijau ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian ditambahkan metanol (UFLC *grade*) sebanyak 1 mL hingga mencapai konsentrasi 10.000 ppm. Campuran divortex hingga seluruh mikrokapsul terdispersi secara homogen. Setelah itu, sampel disonikasi pada suhu 25°C selama 30 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan UFLC (*Ultra Fast Liquid Chromatography*).

Rumus efisiensi enkapsulasi:

$$EE (\%) = \frac{\text{kadar EGCG pada mikrokapsul}}{\text{kadar EGCG pada ekstrak}} \times 100 \quad (1)$$

2.2.6 Analisis bentuk partikel dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Analisis bentuk partikel dengan alat SEM dilakukan di Laboratorium Mikrostruktur, Fakultas Teknik, Universitas Muslim Indonesia, Makassar. Sampel mikrokapsul diambil sebanyak 1/4 bagian menggunakan spatula dan diletakkan pada permukaan *stage block* yang telah dilapisi *carbon tape*. Sampel kemudian dibersihkan dengan alat elektrik untuk menghilangkan kelebihan serbuk. Jika

sampel bersifat kurang konduktif, dilakukan proses *coating* menggunakan *smart coater*. Selanjutnya, *stage block* dipasang pada *stage holder* dan dikunci menggunakan kunci L. Alat SEM dinyalakan dan dibiarkan hingga proses vakum selesai (± 3 menit). Tombol *Chamber Open* ditekan untuk membuka ruang *chamber*, kemudian *stage holder* yang berisi sampel dimasukkan ke dalamnya. *Chamber* ditutup kembali, lalu dianalisis menggunakan SEM untuk mengamati morfologinya.

2.2.7 Analisis ukuran partikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Analisis ukuran partikel dengan alat PSA dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar. Sampel mikrokapsul yang telah ditimbang, kemudian ditambahkan etanol 50% sebagai pendispersi dan dimasukkan ke dalam kuvet hingga batas yang telah ditentukan. Suhu diatur menjadi 25°C dan kuvet kemudian dimasukkan ke dalam *holder* alat PSA, lalu dilakukan pengukuran partikel.

2.2.8 Pembuatan larutan uji

2.2.8.1 Pembuatan larutan koloidal NaCMC 1%

Sebanyak 5 g NaCMC ditimbang, kemudian didispersikan dalam 500 mL air hangat. Campuran diaduk hingga terdispersi sempurna dan terbentuk larutan koloidal.

2.2.8.2 Pembuatan suspensi amoksisilin

Suspensi amoksisilin dibuat dengan dosis 10 mg/200 g bb. Serbuk amoksisilin ditimbang sebanyak 250 mg kemudian didispersikan dalam larutan koloidal NaCMC 1% hingga mencapai volume 50 mL. Homogenkan dengan bantuan *vortex*, lalu larutan dimasukkan dalam botol coklat.

2.2.8.3 Pembuatan suspensi ekstrak teh hijau

Suspensi ekstrak teh hijau dibuat dalam dengan dosis 16 mg/200 g bb. Ekstrak teh hijau ditimbang sebanyak 200 mg kemudian didispersikan dalam larutan koloidal NaCMC 1% hingga mencapai volume 25 mL. Homogenkan dengan bantuan *vortex*, lalu larutan dimasukkan dalam botol coklat.

2.2.8.4 Pembuatan suspensi mikrokapsul teh hijau

Suspensi mikrokapsul teh hijau dibuat dalam dengan dosis 40 mg/200 g bb (setara dengan ekstrak teh hijau 16 mg/200 g bb). Mikrokapsul teh hijau (F3) ditimbang sebanyak 500 mg kemudian didispersikan dalam larutan koloidal NaCMC 1% hingga mencapai volume 25 mL. Homogenkan dengan bantuan *vortex*, lalu larutan dimasukkan dalam botol coklat.

2.2.9 Pengujian aktivitas antibakteri secara *ex vivo*

2.2.9.1 Perlakuan hewan uji

Hewan uji yang digunakan ialah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar betina sebanyak 24 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar. Seluruh

perlakuan telah memperoleh izin etik dari komisi etik Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, dengan nomor registrasi UH012511237. Hewan uji akan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 6-8 hari sebelum diberi perlakuan.

Selanjutnya, tikus dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih. Kemudian, tikus dipuasakan selama $\pm$ 18 jam dan tetap diberikan minum sehari sebelum diberi perlakuan. Berikut merupakan kelompok perlakuan:

- a. Kelompok 1 : Tikus diberikan per oral suspensi amoksisilin dengan dosis 10 mg/200 g bb tikus/2 mL.
- b. Kelompok 2 : Tikus diberikan per oral suspensi ekstrak teh hijau dengan dosis 16 mg/200 g bb tikus/2 mL. Setelah 30 menit, tikus diberikan per oral suspensi amoksisilin 10 mg/200 g bb tikus/2 mL.
- c. Kelompok 3 : Tikus diberikan per oral suspensi mikrokapsul teh hijau dengan dosis 40 mg/200 g bb tikus/2 mL (setara dengan ekstrak teh hijau 16 mg/200 g bb tikus/2 mL). Setelah 30 menit, tikus diberikan per oral suspensi amoksisilin 10 mg/200 g bb tikus/2 mL.

Selama masa perlakuan, seluruh hewan uji tetap diberikan pakan dan air minum, serta dipelihara dalam ruangan dengan kondisi pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap.

2.2.9.2 Pengambilan sampel plasma

Sampel darah dikumpulkan 1,5 jam setelah hewan uji diberi perlakuan. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui vena orbitalis atau vena marginalis sebanyak 3-5 mL per ekor dengan bantuan *diethyl ether* sebagai anestesi pada dosis 80-100 mg/kg bb. Darah yang diperoleh dikumpulkan dalam tabung *vacutainer* EDTA untuk mencegah pembekuan. Selanjutnya, sampel disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit untuk memisahkan plasma dari komponen darah lainnya. Plasma dipisahkan lalu disaring menggunakan *syringe filter* dan dimasukkan ke dalam tabung *effendorf* steril.

2.2.9.3 Uji aktivitas antibakteri sampel plasma dengan metode difusi

Sebanyak 15 mL media MHA steril dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan, lalu didiamkan hingga memadat. Selanjutnya, 100 μ L suspensi bakteri *S.aureus* (10^6 CFU/mL) dicuplik menggunakan mikropipet, lalu disebarkan diatas media tersebut menggunakan *spreader* steril. Kemudian, sebanyak 3 buah kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah diteteskan 20 μ L plasma dari masing-masing perlakuan (kelompok 1, kelompok 2, dan kelompok 3), serta kertas cakram yang telah mengandung amoksisilin baku diletakkan di atas media MHA yang mengandung bakteri *S.aureus*. Kemudian, dilakukan pra-inkubasi selama 15 menit di dalam kulkas. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong digital.

2.2.10 Analisis data

Hasil uji aktivitas antibakteri secara *ex vivo* berupa data hasil pengukuran diameter zona bening yang kemudian dianalisis menggunakan aplikasi *GraphPad Prism* untuk memperoleh histogram. Data hasil analisis akan dibahas dan disimpulkan sesuai dengan tujuan penelitian.