

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang secara alami berkolonisasi pada kulit dan mukosa manusia maupun hewan. Secara global, bakteri ini dikenal sebagai penyebab utama infeksi pada manusia. Berdasarkan data dari *China Antimicrobial Resistance Surveillance System* (CARSS), *S. aureus* menempati peringkat pertama dalam tingkat isolasi di antara bakteri gram positif, dengan prevalensi sebesar 33% pada tahun 2017. Laporan WHO melalui *Global Antimicrobial Resistance Surveillance System* (GLASS) pada tahun 2022 juga mencatat bahwa *S. aureus* merupakan bakteri ketiga paling umum di dunia, dengan lebih dari 135.000 kasus infeksi aliran darah (WHO, 2022). *S. aureus* juga dilaporkan menjadi penyebab utama kematian di 135 negara dan merupakan satu-satunya bakteri patogen yang menyebabkan lebih dari 1 juta kematian terkait secara global. Tingginya prevalensi kasus infeksi ini mendorong perlunya pendekatan alternatif dalam pengendalian infeksi, salah satunya melalui pemanfaatan bahan alam seperti ekstrak teh hijau dari tanaman teh yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Yuan et al., 2025; Grosso et al., 2024).

Tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) mengandung beragam senyawa bioaktif, termasuk polifenol (seperti katekin), flavonoid, asam fenolik, kafein, dan asam amino seperti *L-theanine* yang berperan penting dalam aktivitas biologis dan manfaat kesehatan. Senyawa katekin utama meliputi epigallocatekin-3-galat (EGCG), epikatekin (EC), epigallocatekin (EGC), dan epikatekin galat (ECG), dan kandungannya sangat dipengaruhi oleh kultivar, lingkungan tumbuh, serta metode pengolahan (Zhao et al., 2022; Wong, et al., 2022). Jenis teh umumnya dikategorikan berdasarkan proses pengolahannya. Salah satu jenis teh yang penting dalam pengobatan adalah teh hijau. Teh hijau merupakan jenis teh yang tidak mengalami proses fermentasi/oksidasi sehingga kandungan katekin tetap terjaga dalam jumlah tinggi (Mozumder et al., 2025; Wang et al., 2022).

Salah satu senyawa bioaktif teh hijau berpotensi sebagai antibakteri (Alkufeidy et al., 2024). Katekin utama, terutama EGCG, mampu menghambat *S. aureus* melalui kerusakan membran sel, penghambatan enzim, dan gangguan metabolisme mikroba (Radeva-Illieva et al., 2025; Mokra et al., 2023; Renzetti et al., 2020). Hasil penelitian Sartini et al. (2019), ekstrak teh hijau menunjukkan aktivitas antimikroba dengan nilai KHM sebesar 0,3 mg/mL. Hal ini menguatkan peran senyawa katekin dalam aktivitas antibakteri teh hijau.

Meskipun teh hijau memiliki potensi besar sebagai agen antimikroba alami, keterbatasan utama dalam pemanfaatan senyawa katekin terletak pada kestabilannya yang rendah secara *in vitro*. Sejumlah penelitian melaporkan bahwa katekin, terutama EGCG, sangat rentan terhadap degradasi dan oksidasi saat berada dalam medium pengujian. Selain itu, ketersediaan senyawa dalam tubuh setelah konsumsi oral sangat rendah, yaitu hanya terserap sekitar 1,68% (Radeva-

Illieva et al., 2025). Pada penelitian lainnya, EGCG hanya memiliki bioavailabilitas sebesar 0,1% (Grosso et al., 2024). Fenomena ini menyebabkan penurunan konsentrasi senyawa aktif dan berujung pada menurunnya efektivitas antibakteri ekstrak teh hijau. Kondisi ini menuntut adanya strategi untuk meningkatkan stabilitas, efektivitas, dan bioavailabilitas katekin, salah satunya melalui kombinasi dengan senyawa antioksidan seperti vitamin C sebagai agen pemodulator. Modulator merupakan senyawa yang dapat meningkatkan aktivitas antibiotik dengan menurunkan nilai KHM. Faktor modulasi digunakan untuk mengukur efek modulator terhadap konsentrasi hambat minimum (KHM) antibiotik (Coelho et al., 2015).

Vitamin C (asam askorbat) merupakan antioksidan larut air yang berperan penting dalam sistem imun. Sejumlah penelitian melaporkan bahwa vitamin C mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* melalui mekanisme gangguan metabolisme oksidatif bakteri dan peningkatan stres oksidatif intraseluler (Carr & Maggini, 2017; Rahim et al., 2025; Mousavi, et al., 2019). Penelitian Widyaningrum et al. (2019) melaporkan bahwa penambahan vitamin C pada larutan ekstrak teh hijau dapat meningkatkan kestabilan EGCG dengan menekan oksidasi dan mempertahankan bentuk tereduksinya. Kombinasi ini berpotensi meningkatkan efektivitas antibakteri ekstrak teh hijau terhadap *S. aureus* sekaligus menjaga kestabilan senyawa aktif selama proses pengujian *in vitro* dengan metode mikrodilusi dan difusi cakram.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui efek penambahan vitamin C terhadap aktivitas antibakteri ekstrak teh hijau pada pertumbuhan *S. aureus*. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan terapi berbasis bahan alam untuk mengatasi permasalahan kasus infeksi yang tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Apakah vitamin C mampu meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak teh hijau pada *S. aureus*?
2. Pada perbandingan konsentrasi berapakah kombinasi ekstrak teh hijau dan vitamin C menghasilkan aktivitas antibakteri paling optimal?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Untuk mengetahui apakah vitamin C mampu meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak teh hijau pada *S. aureus*
2. Untuk mengetahui perbandingan konsentrasi kombinasi antara ekstrak teh hijau dan vitamin C yang menghasilkan aktivitas antibakteri paling optimal

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian adalah autoklaf (*All American Model 25x-2*[®]), *biological safety cabinet* (BSC) (*Thermo Scientific™ 1300 Series A2*), inkubator (*Memmert*[®]), kompor elektrik (*Memmert*[®]), McFarland Densitometer (*DEN 1B Biosan*[®]), *microplate 24-wells* (*Biologix*[®]), *microplate 96-wells* (*ServiceBio*[®]), mikropipet (*DragonLab*[®]), oven (*Memmert UN55*[®]), seperangkat alat gelas (*Pyrex*[®]), timbangan analitik (*Sartorius*[®]), *vortex mixer* (*Gemmy*[®]).

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah *aquadest*, bakteri *Staphylococcus aureus* WDCM 00032 Vitroids, dimetil sulfoksida (DMSO) (*Merck*[®]), ekstrak etanol teh hijau (koleksi Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.), larutan NaCl 0,9%, medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (*Oxoid*[®]), medium *Mueller-Hinton Broth* (MHB) (*Himedia*[®]), reagen 2,3,5-trifeniltetrazolium klorida (TTC) 1% (*Himedia*[®]), vitamin C (*Asian*[®]).

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Pembuatan medium

2.2.1.1 Medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA)

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

2.2.1.2 Medium *Mueller-Hinton Broth* (MHB)

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

2.2.2 Sterilisasi alat

Alat – alat gelas tanpa skala dan alat berbahan logam disterilkan menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 1 jam. Sementara, alat – alat gelas berskala serta alat berbahan plastik dan karet disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

2.2.3 Penyiapan bakteri uji

2.2.3.1 Peremajaan bakteri uji

Peremajaan isolat bakteri *S. aureus* dilakukan menggunakan media MHA dengan cara mengambil satu ose bakteri dan digoreskan pada media MHA miring. Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

2.2.3.2 Pembuatan suspensi bakteri

Suspensi biakan dibuat dengan mensuspensikan bakteri *S. aureus* 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). Selanjutnya, 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).

2.2.4 Pembuatan larutan uji ekstrak teh hijau tunggal

Larutan uji ekstrak teh hijau dibuat dengan melarutkan ekstrak teh hijau sebanyak 20 mg dalam 5 mL pelarut DMSO 20% sehingga diperoleh konsentrasi 4000 µg/mL. Lalu, dilanjutkan dengan melakukan pengenceran bertingkat untuk memperoleh konsentrasi 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, dan 125 µg/mL.

2.2.5 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tunggal ekstrak teh hijau dengan metode mikrodilusi

Uji penentuan nilai KHM tunggal ekstrak teh hijau dilakukan menggunakan metode mikrodilusi pada mikrotiter 24-*well*. Medium MHB sebanyak 800 µL ditambahkan ke dalam setiap *well*, 100 µL larutan uji ekstrak teh hijau dengan beberapa variasi konsentrasi seperti pada **Tabel 1**. Kemudian, ditambahkan suspensi biakan *S. aureus* (densitas biakan $1,5 \times 10^6$ CFU/mL) sebanyak 100 µL sehingga total volume menjadi 1 mL. Adapun kontrol yang digunakan tertera pada **Tabel 2**. Selanjutnya, mikrotiter diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya, reagen TTC 1% sebanyak 50 µL dimasukkan ke setiap *well* dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Hasil diamati secara visual berdasarkan perubahan warna menjadi merah dengan konsentrasi terendah tanpa perubahan warna ditetapkan sebagai nilai KHM.

Tabel 1. Variasi konsentrasi ekstrak teh hijau

Variasi Konsentrasi Ekstrak Teh Hijau (µg/mL)	Konsentrasi Akhir Ekstrak Teh Hijau dalam Well (µg/mL)
4000	400
2000	200
1000	100
500	50
250	25
125	12,5

Tabel 2. Kontrol pengujian KHM tunggal ekstrak teh hijau

Kontrol Pengujian	Jumlah Cuplikan
Kontrol Sampel (ETH 4000 µg/mL)	100 µL ekstrak teh hijau + 900 µL MHB
Kontrol Bakteri	100 µL suspensi biakan + 900 µL MHB
Kontrol Pelarut	100 µL DMSO 20% + 100 µL suspensi biakan + 800 µL MHB
Kontrol Media	1000 µL MHB

2.2.6 Pembuatan larutan uji kombinasi ekstrak teh hijau dan vitamin C

Larutan uji ekstrak teh hijau tunggal dibuat pada konsentrasi 400 µg/disk. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,1 g kemudian dilarutkan dengan DMSO 20% hingga volume akhir 5 mL. Untuk uji kombinasi, ekstrak teh hijau dipertahankan pada konsentrasi tetap (400 µg/disk) dan dikombinasikan dengan vitamin C pada beberapa variasi konsentrasi, yaitu 200 µg/disk (0,1 g ETH + 0,05 g vitamin C), 100 µg/disk (0,1 g ETH + 0,025 g vitamin C), 50 µg/disk (0,1 g ETH + 0,0125 g vitamin C), dan 25 µg/disk (0,1 g ETH + 0,0062 g vitamin C). Masing-masing campuran dibuat dalam volume akhir 5 mL.

2.2.7 Uji daya hambat dengan metode difusi cakram

Uji daya hambat dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan tiga kali replikasi. Suspensi biakan (densitas biakan $1,5 \times 10^6$ CFU/mL) digoreskan secara bertumpuk pada permukaan media MHA menggunakan metode *streak plate*. Setelah digoreskan, pada cawan petri diletakkan 7 kertas cakram dengan jarak yang teratur sesuai skema pada Lampiran 2. Sebanyak 20 μ L larutan uji dipipet dan diteteskan pada kertas cakram steril hingga meresap sempurna. Larutan uji yang digunakan tertera pada **Tabel 3**. Kemudian, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 16–18 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter. Efek modulasi dikonfirmasi apabila di sekitar cakram kombinasi lebih besar dibandingkan dengan zona hambat pada perlakuan tunggal, sedangkan kontrol negatif menunjukkan tidak adanya hambatan pertumbuhan bakteri.

Tabel 3. Kelompok sampel pengujian daya hambat

Sampel	Konsentrasi (μ g/disk)
A	400
B	400:200
C	400:100
D	400:50
E	400:25
K+	30
K-	-

Keterangan: A = Sampel ekstrak teh hijau tunggal; B-E = Sampel kombinasi ekstrak teh hijau dan vitamin C; K+ = Kontrol positif (Cefoxitin); K- = Kontrol negatif (DMSO 20%)

2.2.8 Analisis data

Hasil uji KHM dilanjutkan dengan uji daya hambat. Data diameter zona hambat yang diperoleh dari uji difusi cakram dicatat dalam satuan milimeter dan disajikan sebagai nilai rata-rata dari tiga kali replikasi. Data tersebut kemudian dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak teh hijau tunggal dengan diameter zona hambat pada kombinasi ekstrak teh hijau dan vitamin C.