

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Amoksisilin merupakan antibiotik semi sintetik golongan β -laktam turunan penisilin yang memiliki bioavailabilitas oral tinggi dengan puncak konsentrasi plasma dalam waktu 1-2 jam (Sofyani *et al.*, 2018). Karena spektrum aktivitasnya yang luas dan toksisitas yang relatif rendah, amoksisilin banyak diresepkan penggunaannya di seluruh dunia sebagai terapi infeksi saluran pernapasan, kulit, dan saluran kemih terutama untuk penanganan kasus infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) yang merupakan patogen utama pada *Skin and Soft Tissue Infection* (SSTIs) (Sodhi *et al.*, 2021; Eiamphungporn *et al.*, 2018; Del Giudice, 2020). Secara global, infeksi oleh *S. aureus* mencapai 24,8% dan strain *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA) sebesar 5,8% (Adeiza *et al.*, 2024). Sapkota *et al.* (2019) mengungkapkan bahwa 19,96% spesimen klinis yang diuji dari rumah sakit perawatan tersier telah terinfeksi *S. aureus* dan 70,64% diantaranya adalah strain MRSA. Meningkatnya resistensi ini menegaskan perlunya penemuan atau pengembangan agen antibakteri baru. Namun, proses penemuan antibiotik baru sangat kompleks, memerlukan biaya besar, dan waktu yang panjang (Eiamphungporn *et al.*, 2018).

Pemanfaatan bahan alam yang memiliki sifat antibakteri sebagai adjuvan untuk meningkatkan efektivitas antibiotik terhadap bakteri resisten dalam terapi infeksi menjadi alternatif menarik untuk mengatasi resistensi antimikroba. Salah satu bahan alam yang banyak dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba adalah teh hijau (*Camellia sinensis* L.). Sartini *et al.* (2019) melaporkan bahwa ekstrak teh hijau menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara signifikan dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 300 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, pengujian secara *in vitro* oleh Radji *et al.* (2013) juga menunjukkan ekstrak teh hijau mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan diameter zona hambat sebesar $19,130 \pm 0,250$ mm dengan KHM 400 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian lebih lanjut mengungkapkan bahwa kombinasi teh hijau dan antibiotik β -laktam memberikan efek sinergis terhadap MRSA (Sartini *et al.*, 2020). Hasil-hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai kandidat adjuvan terapi antibiotik dalam meningkatkan efektivitas pengobatan infeksi khususnya terhadap *S. aureus*.

Namun, kelemahan utama penggunaan ekstrak teh hijau adalah masalah bioavailabilitas dan stabilitas dari senyawa bioaktif utamanya yakni katekin, khususnya *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG). Cai *et al.* (2018) melaporkan bahwa EGCG memiliki bioavailabilitas <5%, waktu paruh yang pendek, dan mudah terdegradasi oleh suhu, pH, cahaya, oksigen, dan aksi enzimatis dalam saluran pencernaan, sehingga hanya sebagian kecil dari senyawa ini yang mencapai target biologis. Selain itu, studi *ex vivo* oleh Sartini *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa

pemberian ekstrak teh hijau pada tikus tidak mampu meningkatkan aktivitas antibakteri amoksisilin karena kadarnya yang rendah di dalam darah. Untuk mengatasi hal ini, teknologi mikroenkapsulasi dapat menjadi alternatif untuk meningkatkan stabilitas kimia, melindungi bahan aktif dari degradasi, serta mengatur pelepasan senyawa secara bertahap guna meningkatkan bioavailabilitasnya (Morales *et al.*, 2025). Silva *et al.* (2023) melaporkan bahwa mikrokapsul polifenol teh hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* yang lebih baik dibandingkan bentuk ekstraknya.

Selain mikrokapsul, penambahan vitamin C sebagai adjuvan pada pemberian teh hijau juga diharapkan dapat meningkatkan aktivitas serta menjaga kestabilan dari ekstrak teh hijau. Widyaningrum *et al.* (2019) melaporkan kemampuan vitamin C dalam mempertahankan senyawa EGCG dalam teh hijau melalui sifat antioksidan serta keasamannya. Selain itu, studi *in vivo* oleh Peters *et al.* (2011) menunjukkan terjadi peningkatan bioavailabilitas EGCG dari ekstrak teh hijau yang dikombinasikan dengan vitamin C. Uji klinis oleh Fernandez *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa vitamin C dapat menjaga kestabilan EGCG dari pH saluran pencernaan. Oleh karena itu, penelitian ini akan mengevaluasi kemampuan modulasi dari kombinasi mikrokapsul ekstrak teh hijau dan vitamin C terhadap aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap *S. aureus* secara *ex vivo*

I.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah pemberian kombinasi mikrokapsul ekstrak teh hijau dan vitamin C dapat memodulasi aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap *S. aureus* secara *ex vivo*?

I.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek modulasi dari kombinasi mikrokapsul ekstrak teh hijau dan vitamin C terhadap aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap *S. aureus* secara *ex vivo*.

BAB II

METODE PENELITIAN

II.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

II.2 Alat dan Bahan

II.2.1 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®), inkubator (Mettler®), oven (Mettler UN55®), *centrifuge* (Gemmy®), *vortex mixer* (Gemmy®), spuit (OneMed®), timbangan analitik (Sartorius®), jangka sorong digital (Krisbow®), mikropipet (Mettler®), dan alat-alat gelas.

II.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *S. Aureus* ATCC 29213 (koleksi laboratorium mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin), tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar betina, larutan eter, kanula, medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (Merck®), medium *Tryptic Soy Agar* (TSA) (Merck®), mikrokapsul ekstrak teh hijau (koleksi Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.), serbuk vitamin C (Merck®), kertas cakram Amoksisilin baku (25 µg/disc) (Oxoid®), kertas cakram *blank* (Oxoid®), pipa kapiler (Yingmed®), *purified water* (Sartorius®), serbuk Natrium Karboksimetilselulosa (NaCMC) (Merck®), serbuk Amoksisilin Trihidrat (Merck®), tabung vacutainer EDTA (Vaculab®), microtube (Eppendorf®) dan *syringe filter* 0,45 µm (Membrane Solution®).

II.3 Metode Kerja

II.3.1 Penyiapan medium

Medium MHA sebanyak 3,8 g disuspensikan dalam 100 mL *aquadest* yang dibantu dengan pemanasan. Kemudian, medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium TSA sebanyak 4 g disuspensikan dalam 100 mL *aquadest* yang dibantu dengan pemanasan. Kemudian, medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Nurhayati *et al.*, 2020).

II.3.2 Sterilisasi alat

Alat-alat kaca yang tidak memiliki skala disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam. Alat-alat yang berbahan dasar karet, plastik, dan alat

gelas berskala disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Otu *et al.*, 2021)

II.3.3 Penyiapan bakteri uji

II.3.3.1 Peremajaan bakteri

Peremajaan bakteri *S. aureus* menggunakan medium TSA dilakukan dengan menginokulasi *S. aureus* pada agar miring dilanjutkan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

II.3.3.2 Pembuatan suspensi bakteri

Kultur bakteri *S. aureus* disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl 0,9% steril hingga kekeruhan setara dengan larutan standar 0,5 McFarland (densitas biakan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Hassuna *et al.*, 2023).

II.3.4 Pembuatan sampel uji

II.3.4.1 Pembuatan larutan koloidal NaCMC 1%

Larutan uji koloidal NaCMC 1% b/v dibuat sebanyak 500 mL. Sebanyak 5 g serbuk NaCMC dilarutkan menggunakan *aquadest* yang telah dipanaskan kemudian diaduk hingga terbentuk larutan koloidal.

II.3.4.2 Pembuatan suspensi amoksisilin

Pembuatan sampel uji amoksisilin dibuat dengan dosis 50 mg/kgBB tikus (10 mg/200 g tikus) dengan cara mendispersikan sebanyak 250 mg serbuk amoksisilin dalam larutan NaCMC 1% dengan volume akhir 50 mL.

II.3.4.3 Pembuatan suspensi mikrokapsul ekstrak teh hijau

Pembuatan sampel uji mikrokapsul ekstrak teh hijau dibuat dengan dosis 200 mg/kgBB tikus (40 mg/200 g tikus). Mikrokapsul ekstrak teh hijau ditimbang sebanyak 500 mg kemudian didispersikan dalam NaCMC 1% dengan volume akhir 25 mL.

II.3.4.4 Pembuatan suspensi mikrokapsul ekstrak teh hijau-vitamin C

Mikrokapsul kombinasi ekstrak teh hijau didispersikan dalam larutan NaCMC 1% hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 40 mg/2 mL. Dengan cara yang sama, sampel vitamin C konsentrasi 4 mg/2 mL disiapkan dalam larutan NaCMC 1%. Kedua larutan dicampurkan dengan perbandingan 1:1 dengan volume akhir 20 mL.

II.3.5 Penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas

Farmasi Universitas Hasanuddin dengan jumlah 18 ekor yang berjenis kelamin betina dalam kondisi sehat dengan bobot sekitar 150-200 gram. Hewan uji menjalani masa aklimatisasi selama 6-8 hari sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan percobaan. Selama periode ini, hewan uji diberi perawatan yang mencakup pemberian pakan standar dan penggantian sekam secara rutin tiga kali seminggu. Sebelum pengujian, protokol penelitian yang dilakukan akan diajukan ke Komite Etik Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin untuk memperoleh izin etik penelitian.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 3 kelompok perlakuan, setiap kelompok terdiri dari 6 ekor hewan uji. Sehari sebelum pengujian, tikus dipuasakan selama ± 18 jam dan tetap diberikan minum. Hewan uji diberi perlakuan sebanyak 1 kali menggunakan kanula dengan volume pemberian 2 mL (Samlan *et al.*, 2023). Adapun kelompok perlakuan seperti berikut:

- a. Kelompok 1: hewan uji yang diberikan per oral suspensi Amoksisilin 50 mg/kgBB tikus.
- b. Kelompok 2: hewan uji yang diberikan per oral suspensi Amoksisilin 50 mg/kgBB dan suspensi mikrokapsul ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB tikus.
- c. Kelompok 3: hewan uji yang diberikan suspensi Amoksisilin 50 mg/bb, mikrokapsul ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB tikus dan vitamin C 20 mg/kgBB tikus.

II.3.6 Uji *ex vivo*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara *ex vivo* menggunakan plasma darah tikus pasca pemberian perlakuan. Plasma darah tersebut kemudian diujikan terhadap biakan *S. aureus* menggunakan metode difusi cakram. Sampel darah diambil dengan interval waktu 1,5 jam setelah perlakuan. Sampel darah setiap hewan uji diambil sebanyak 3-5 mL melalui vena orbitalis/marginalis menggunakan pipa kapiler dengan bantuan larutan eter. Sampel darah ditampung di tabung Vacutainer® yang mengandung EDTA. Plasma darah dipisahkan dari komponen darah lainnya dengan bantuan *centrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit kemudian supernatan disaring menggunakan *syringe filter* 0,45 μ m dan dimasukkan ke dalam *microtube* steril (Sartini *et al.*, 2020).

Pengujian aktivitas antibakteri dari sampel plasma darah tikus pasca pemberian dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Sebanyak 15 mL media MHA dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah itu, 100 μ L suspensi biakan *S. aureus* (densitas biakan 10^8 CFU/mL) disebar di atas media menggunakan *spreader* steril. Pada setiap cawan petri, akan diletakkan 4 buah cakram kertas steril dengan jarak teratur yang mengandung 20 μ L plasma dari masing-masing kelompok yakni: amoksisilin tunggal (AM), kombinasi amoksisilin dan mikrokapsul ekstrak teh hijau (AM-MTH), kombinasi amoksisilin dan mikrokapsul ekstrak teh hijau dengan vitamin C (AM-MTHVC). Kertas cakram amoksisilin baku (AMB) 25 μ g/disc (Oxoid®) digunakan sebagai kontrol positif untuk mengamati sifat resistensi dari biakan. Cawan petri kemudian dimasukkan ke dalam kulkas dan didiamkan selama 10 menit

(pra-inkubasi) dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong digital lalu diameter zona hambat masing-masing sampel dibandingkan (Sartini *et al.*, 2020; Nurhayati *et al.*, 2020). Aktivitas modulasi dilihat dari penurunan maupun peningkatan zona hambat amoksisilin yang dikombinasikan dengan mikrokapsul ekstrak teh hijau maupun vitamin C dibandingkan zona hambat amoksisilin tunggal.

II.3.7 Analisis data

Uji aktivitas antibakteri secara *ex vivo* ditabulasi dan dianalisis menggunakan perangkat lunak *GraphPad Prism*® 9 menggunakan pendekatan *one-way ANOVA* dan dilanjutkan pengujian *Tukey's multiple comparisons test*. Data tersebut kemudian digunakan untuk membahas dan menyimpulkan efek modulasi dari kombinasi mikrokapsul ekstrak teh hijau dan vitamin C terhadap amoksisilin. Hasil disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ SD, dengan nilai $p < 0,05$ dianggap memiliki perbedaan signifikan secara statistik.