

The Effect of Vitamin C Addition on the Antibacterial Activity of *Pseudomonas aeruginosa* in the Ethyl Acetate Fraction of Green Tea Leaves

Norina Shaumy Putri Rayes¹, Lina Permatasari^{1*}, Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlshah¹, Metta Octora², Ida Ayu Arnawati², Fathul Jannah²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

²Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : July 14th, 2025

Revised : July 23th, 2025

Accepted : September 25th, 2025

*Corresponding Author: **Lina Permatasari**, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;
Email;
Lina.permatasari@unram.ac.id

Abstract: *Pseudomonas aeruginosa* is a major antibiotic-resistant pathogen frequently associated with hospital-acquired infections posing significant treatment challenges. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of the ethyl acetate fraction of green tea (*Camellia sinensis* L.) enriched with vitamin C against *Pseudomonas aeruginosa*. The ethyl acetate fraction obtained from 96% ethanol maceration was tested at concentrations of 12,5-200 mg/mL both with and without vitamin C using the disk diffusion method and compared to aztreonam as a positive control. Results showed that vitamin C enrichment increased the inhibition zone from 12,5 mm to 13,8 mm at 200 mg/mL, while aztreonam produced the largest inhibition zone at 20,17 mm. The vitamin C-enriched formulation also maintained antibacterial activity more effectively over a 5-15 day storage period. Vitamin C is believed to stabilize the primary antimicrobial compound *epigallocatechin gallate* (EGCG) by preventing its oxidation. These findings support the potential of vitamin C-enriched green tea extract as an adjunctive therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections. Further development of topical or systemic formulations is recommended for managing resistant bacterial infections.

Keywords: Antibacterial, *Camellia sinensis* L., EGCG, *Pseudomonas aeruginosa*, Vitamin C.

Pendahuluan

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen penyebab infeksi yang diperoleh di rumah sakit yang berperan sekitar 10-15% secara global (Antarini *et al.*, 2021). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini dikenal sebagai infeksi nosokomial atau infeksi yang diperoleh di rumah sakit (HAIs). Infeksi yang diperoleh dari rumah sakit (HAIs) adalah infeksi yang timbul akibat penggunaan peralatan medis selama proses perawatan atau tindakan medis yang dilakukan pada pasien. Data hasil penelitian menunjukkan Indonesia memiliki prevalensi infeksi nosokomial dengan kasus tertinggi mencapai 30,4% (Goh *et al.*, 2022). Pengobatan terhadap infeksi bakteri ini semakin sulit akibat

adanya resistensi antibiotik (Syawalludin, 2020). Infeksi HAIs yang disebabkan bakteri *P. aeruginosa* memiliki angka resistensi tertinggi di Asia Tenggara yakni, sulfamethoxazole-trimethoprim 95%, linezolid 73,7%, ticarcillin-clavulanat 67,8%, amoksisilin-klavulanat 66,7%, dan seftriakson 52,9% (Suarisavitra, 2022).

Tanaman obat yang memiliki potensi sebagai agen terapeutik antimikroba yakni teh hijau (*Camellia sinensis* L.). Teh hijau memiliki beragam kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid, saponin, steroid, dan triterpenoid yang berkontribusi sebagai aktivitas antibakteri (Antarini *et al.*, 2021). Menurut Fauziah *et al.* (2022), polifenol adalah komponen utama dalam teh yang memiliki presentase mencapai 30-35%. Senyawa

polifenol yang melimpah dalam tanaman teh termasuk dalam kelompok flavonoid. Senyawa ini mempunyai beberapa subkelas, yakni flavonol, flavon, flavanon, isoflavon, antosianidin, dan katekin. Katekin adalah senyawa yang berperan sebagai antibiotik melalui mekanisme kerja seperti melemahkan membran sel bakteri, menghambat sintesis asam lemak, dan menurunkan aktivitas enzim pada bakteri. Senyawa katekin yang terkandung meliputi *epicatechin* (EC), *epigallocatechin* (EGC), *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) dan *epicatechin-3-gallate* (ECG) (Zeniusa & Ramadhian, 2017). EGCG menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan mekanisme merusak membran sel bakteri (Fadila, 2022).

Metabolit EGCG mudah teroksidasi sehingga kurang stabil selama penyimpanan. Proses oksidasi ini terjadi akibat polimerisasi senyawa fenolik dan adanya tekanan oksidatif (Tan *et al.*, 2018). Senyawa antioksidan dapat digunakan untuk menanganin tekanan oksidatif. Vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang dilaporkan dapat menghambat rekasi radikal bebas. Kemampuan vitamin C dalam melindungi EGCG dari kerusakan karena keduanya berada dalam fase air yang sama sehingga vitamin C mampu meningkatkan stabilitas EGCG dan mencegah kerusakan akibat oksidasi (Sugihartini *et al.*, 2016). Stabilitas EGCG terjaga pada suhu 2°C atau dalam larutan buffer pH 4 (Widyaningrum *et al.*, 2015). Selain itu, EGCG juga tetap stabil dalam kondisi lingkungan yang bersifat asam (Widyaningrum *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Widyaningrum *et al.* (2015) fraksi etil asetat daun teh hijau dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* selama periode penyimpanan tiga bulan. Hal ini disebabkan oleh proses penyimpanan pada suhu dingin ekstrem dan penurunan pH hingga mencapai 4 dilakukan dengan larutan buffer pH 4 yang berfungsi untuk mempertahankan kestabilan EGCG. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi efek penambahan vitamin C pada fraksi etil asetat daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan harapan dapat meningkatkan stabilitas EGCG. Oleh karena itu,

pengembangan agen antimikroba alternatif dari bahan alam diperlukan untuk mengatasi bakteri yang telah resisten terhadap berbagai antibiotik.

Bahan dan Metode

Alat dan bahan

Daun teh hijau diperoleh dari Pangalengan, Jawa Barat yang diambil pada Mei 2024. Pelarut etanol 96%, aquades, etil asetat dengan grade teknis. Vitamin C dari sigma Aldrich. Aztreonam digunakan sebagai kontrol positif sedangkan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa*, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Mac Conckey Agar* (MCA), kertas cakram (*paper disk*), NaCl, dan *McFarrland* 0,5. *Rotary evaporator*, corong pisah statif, toples kaca, kertas saring *Whatmann*, tabung erlenmeyer, *Waterbath*, penggaris, *autoclaf*, jarum ose, cawan petri, rak tabung reaksi, lampu spiritus, mikropipet, dan inkubator.

Prosedur penelitian

Ekstraksi dan Fraksinasi

Simplisia kering daun teh hijau dihaluskan dengan blender, lalu ukuran partikel simplisia diseragamkan dengan ayakan mesh nomor 50. Serbuk simplisia (400 gram) dimaserasi dengan 4000 ml etanol 96% (1:10) selama 3x24 jam dan dilakukan pengadukan kemudian wadah disimpan pada suhu kamar di tempat tidak terkena matahari secara langsung. Proses remaserasi dilakukan sebanyak 1x. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga menghasilkan ekstrak pekat.

Fraksinasi Etil Asetat Penambahan Vitamin C

Ekstrak daun teh hijau 10 gram ditambahkan 100 ml aquadest hangat, kemudian ditambahkan vitamin C hingga mencapai pH 4. Larutan tersebut difraksinasi menggunakan 300 ml pelarut etil asetat. Filtrat fraksinasi kemudian dipekatkan menggunakan *waterbath* suhu 40°C kemudian hasil fraksinasi disimpan pada suhu 2°C dan dilakukan uji antibakteri pada hari ke-5 dan hari ke-15 (Widyaningrum *et al.*, 2015).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. dilakukan dengan

mengukur zona hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode difusi cakram. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dibuat dengan larutan NaCl steril kemudian dibandingkan dengan larutan standar *McFarland* 0,5 ml. Suspensi diambil menggunakan ose steril dan dilakukan perataan pada media MHA. Selama menunggu hasil *swab blank disk* direndam dalam wadah yang berisikan fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. dengan penambahan vitamin C dan tanpa penambahan vitamin C dengan berbagai konsentrasi yakni 12,5; 50; 100; dan 200 mg/ml. Kontrol positif dan negatif yang digunakan secara berurutan yaitu Aztreonam dan DMSO 10%. Setelah direndam, disk diposisikan di atas cawan petri berisi suspensi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur dengan penggaris dan dibandingkan dengan zona hambat pada kontrol (Fadila, 2022).

Analisis penelitian

Nilai diameter zona hambat yang diperoleh dihitung untuk menentukan rentang penurunan inhibisi pada hari ke-0 dan hari ke-15 terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak daun teh hijau yang telah diperoleh melalui metode maserasi menghasilkan persentase rendemen sebesar 16,55%. Adapun persentase rendemen fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. dengan penambahan vitamin C diperoleh sebesar 7,48% dan tanpa penambahan vitamin C sebesar 7,26%. Pengayakan dimplisia bertujuan agar ukuran partikel simplisia yang diperoleh seragam serta meningkatkan luas permukaan partikel sehingga dapat terjadi interaksi yang maksimal antara zat terlarut dan sampel (Nur *et al.*, 2023). Ukuran partikel yang memiliki permukaan luas menyebabkan pelarut lebih mudah menembus dinding sel untuk menarik atau mengikat senyawa (Utami *et al.*, 2023).

Penelitian ini menggunakan metode maserasi untuk proses ekstraksi dikarenakan senyawa EGCG memiliki kestabilan pada suhu yang rendah dan dapat terdegradasi pada suhu

tinggi (Sugihartini *et al.*, 2016). Penggunaan pelarut etanol 96% bertujuan untuk menarik senyawa yang terkandung pada daun teh hijau baik yang bersifat polar maupun non polar (Chamidah *et al.*, 2024).

Fraksinasi dilakukan pada penelitian ini bertujuan memisahkan komponen senyawa yang terdapat di dalam ekstrak berdasarkan peloran setiap senyawa tersebut. Fraksinasi cair-cair tersebut menggunakan pelarut organik dan air yang memiliki sifat kepolaran berbeda. Ekstraksi cair-cair digunakan sebagai metode fraksinasi karena peralatan yang digunakan sederhana serta mudah dalam pengoperasiannya (Nazilinly *et al.*, 2024).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri, Aztreonam sebagai kontrol positif memiliki daya inhibisi tertinggi pada konsentrasi 100 mg/ml dengan diameter zona hambat sebesar 20,17 mm **Tabel 1**. Sementara itu, DMSO 10% tidak memiliki zona hambat, maka dapat disimpulkan bahwa pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri pada sampel. Fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. dengan penambahan vitamin C dan tanpa penambahan vitamin C menunjukkan daya inhibisi yang tinggi pada konsentrasi 200 mg/ml, nilai diameter zona inhibisi masing-masing yakni 13.8 mm dan 12.5 mm dengan nilai standar deviasi (SD) 2,2 dan 1,9. Zona inhibisi fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. yang ditambahkan vitamin C memiliki rentang penurunan inhibisi yang lebih rendah dibandingkan dengan fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. tanpa penambahan vitamin C.

Metode difusi digunakan untuk uji aktivitas antibakteri karena selain prosedurnya sederhana, juga memungkinkan pengujian terhadap banyak mikroorganisme dan agen antibakteri sekaligus, serta mempermudah proses interpretasi hasil (Nazilinly *et al.*, 2024) Penghambatan pertumbuhan *P. aeruginosa* ditunjukkan oleh fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. pada semua tingkat konsentrasi, di mana konsentrasi 200 mg/mL memberikan zona hambat paling luas yang terlihat di sekitar cakram (Nazilinly *et al.*, 2024).

Tabel 1. Hasil Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat *Camellia sinensis* L.

Sampel	Hari	Diameter zona inhibisi (mm)				Rentang penurunan inhibisi			
		Konsentrasi (mg/mL)				Konsentrasi (mg/mL)			
		12,5	50	100	200	12,5	50	100	200
Kontrol	Ke-5	17.2	17.3	18.47	16.2	-0.2	-0.77	1.7	0.6
(+)	Ke-15	17	16.53	20.17	16.8				
Kontrol	Ke-5	0	0	0	0	0	0	0	0
(-)	Ke-15	0	0	0	0				
F(-) Vit.	Ke-5	3.30	8.2	10.4	12.5	-1.30	-3	-6.2	-8.97
C	Ke-15	2	5.2	4.2	3.53				
F(+) Vit.	Ke-5	4.3	8.4	11.1	13.8	3.30	-3	-7.23	-7.73
C	Ke-15	7.33	5.4	3.87	6.07				

Kemampuan fraksi dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* terbukti dipengaruhi oleh konsentrasinya (Sandy *et al.*, 2021). Fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. pada konsentrasi 200 mg/ml pada hari ke-5 baik pada penambahan vitamin C maupun tanpa penambahan vitamin C terjadi peningkatan aktivitas antibakteri. Penambahan vitamin C yang menyebabkan adanya kenaikan aktivitas antibakteri pada sampel. Hal ini dilihat dari hasil rentang penurunan inhibisi yang diamati pada hari ke-5 hingga hari ke-15 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. pada penambahan vitamin C memiliki rentang penurunan inhibisi yang lebih rendah dibandingkan tanpa penambahan vitamin C.

Aktivitas antibakteri berdasarkan nilai diameter zona hambat menunjukkan potensi antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* tergolong kuat dengan zona hambat antara 11 sampai 20 mm (Fadila, 2022). Adanya senyawa flavonoid berupa EGCG (*Epigallocatechin gallate*) diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri melalui berbagai mekanisme biologis. Gugus hidroksil yang terdapat dalam senyawa flavonoid berperan dalam modifikasi komponen organik dan transportasi nutrisi yang menghasilkan efek toksik pada bakteri serta mempengaruhi transduksi energi sehingga mengganggu struktur sitoplasma dan secara bertahap menghambat motilitas bakteri (Mahdi *et al.*, 2024).

Penambahan vitamin C sebagai antioksidan berpotensi melindungi EGCG dari degradasi akibat radikal bebas (Widyaningrum *et al.*, 2015). Vitamin C melindungi EGCG dengan mengubah radikal bebas katekin menjadi bentuk yang lebih stabil serta mencegah degradasi

EGCG akibat oksigen (Widyaningrum *et al.*, 2019). Kondisi EGCG yang lebih stabil berdasarkan penyimpanan serta kondisi asam dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri (Widyaningrum *et al.*, 2015). Kondisi ekstrem saat penyimpanan dan lingkungan asam dapat meningkatkan kestabilan EGCG, sehingga berpotensi memperkuat aktivitas antibakterinya dalam fraksi etil asetat daun teh hijau. (Widyaningrum *et al.*, 2019).

Kesimpulan

Pengaruh penambahan vitamin C terhadap aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat meningkatkan aktivitas antibakteri pada hari ke-5 hingga hari ke-15. Hasil ini diperoleh berdasarkan diameter zona hambat fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. pada penambahan vitamin C yang menunjukkan nilai rentang inhibisi yang lebih rendah. Rentang inhibisi yang lebih rendah menunjukkan adanya potensi antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat *Camellia sinensis* L. tanpa penambahan vitamin C.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih saya ucapkan Kepada Universitas Mataram yang sudah membiayai pelaksanaan penelitian ini.

Referensi

Antarini, I., Puspawati, N., Nugroho, R. B., & Studi, P. D. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). *Jurnal Labora Medika*, 5(1), 48-56.

- Chamidah, A., Afrilia, H., Ahmad, M., & Arisandi, D. (2024). Isolasi klorofil a dan analisis aktivitas antioksidan dari mikroalga *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(11), 1006-1020.
- Fadila, N. Z. (2022). Khasiat ekstrak etanol teh hijau terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Panthera: Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains dan Terapan*, 2(4), 236-242. <https://doi.org/10.36312/pjipst.v2i4.125>
- Fauziah, R., Djie, N., & Subehan. (2022). Karakterisasi senyawa dan uji aktivitas antibakteri dari isolate Actinomycetes rizosfer tanaman teh (*Camellia sinensis* L.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 26(2), 74-78.
- Goh, W., Marbawi, H., Goh, S. M., & Azlan, J. (2022). The prevalence of hospital-acquired infections in Southeast Asia (1990-2022). *Journal of Infection in Developing Countries*. <https://doi.org/10.3855/jidc.17135>
- Mahdi, N., Sudanti, S., Agustina, A., & Muhklis, A. Z. R. (2024). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bintaro (*Cerbera odollam*) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. *Sinteza*, 4(1), 33-40.
- Naziliny, F., Permatasari, L., & Hasbi, N. (2024). Antibacterial activity of ethyl fraction of *Centella asiatica* against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(3), 680-691.
- Nur, R. P., Saptawati, T., & Rachma, F. A. (2023). Perbandingan efektivitas ekstrak cair dengan ekstrak etanol kental daun selada hijau keriting (*Lactuca sativa* L.) sebagai hipnotika pada mencit (*Mus musculus*). *Prosiding Seminar Nasional STIKES Tologorejo Semarang*, 2, 71-79.
- Sandy, M., Wardani, T., & Septiarini, A. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pegagan (*centella asiatica* (L.) Urb) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. *Media Farmasi Indonesia*, 16(2), 1683-1692.
- Suarisavitra, I. A. A. D. (2022). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* pada Intensive Care Unit di Asia Tenggara: A systematic review. *E-Jurnal Medika Udayana*, 11(3), 78.
- Sugihartini, N., Susanti, H., Hanifah, H., & Marlina, S. A. (2016). Stabilitas epigallocatekin galat dalam krim ekstrak teh hijau. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 13(2), 52-56.
- Syawalludin, R. (2020). Kemampuan madu hitam dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 6, 274-282.
- Tan, B., Norhaizan, M. E., Liew, W. P. P., & Rahman, H. S. (2018). Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9, Article 1162. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162>
- Utami, N., Angelia, P. T., & Paramesti, N. A. (2023). Aktivitas antibakteri formula optimum krim antiacne fraksi etil asetat ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.). *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal sebagai Alternatif Medicine*.
- Widyaningrum, N., Sumarwati, T., & Sukryana, W. S. (2019). Effects of vitamin C and E on stability of epigallocatechin gallate (EGCG) in the ethyl acetate fraction of green tea (*Camellia sinensis* L.) leaf. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 80-85. <https://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
- Zeniusa, P., & Ramadhian, M. R. (2017). Efektivitas ekstrak etanol daun teh hijau dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. *Jurnal Majority*, 7(1), 26-30.