
AKTIVITAS ANTIBAKTERI FORMULA OPTIMUM KRIM ANTIACNE FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L)

Naniek Widyaningrum^{1,2)}, Achmad Fudholi¹⁾, Sudarsono¹⁾ dan Erna P. Setyowati¹⁾

¹⁾Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

²⁾Program Studi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung

e-mail: naniek.widyaningrum@gmail.com

ABSTRACT

Green tea (*Camellia sinensis* L) contains EGCG, which has antibacterial activity. Stability, optimal concentration and formulation development has been observed before. This study aimed to determine the antibacterial effect stability of the ethyl acetate fractions of green tea leaves extract cream optimum formula and ethyl acetate fraction of green tea leaves extract (EAFGTLE 6%) against acne-causing bacteria, *S. epidermidis*. Anti-bacterial activity performed with diffusion assay method on *S. epidermidis* ATCC 35984 growths. The stability of anti-bacterial activity obtains during three months. The result analyzed using paired sample t-test (p: 0.95). The result showed there was no significant difference between EAFGTLE 6% inhibition ability (p=0.081) or even cream dosage optimum formula (p=0.079) during three months. It can be concluded that EAFGTLE 6% and optimum formula cream could inhibit its effectiveness during three months.

Key words: Antibacterial activity, cream, ethyl acetate fraction, green tea leaves extract

PENDAHULUAN

EGCG merupakan zat yang paling bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Dalam aktivitas antibakterinya, EGCG dapat mengubah polaritas permukaan protein dan secara reversibel menghambat β -ketoasil-(asil protein pembawa) reduktase dari bakteri, memodifikasi enzim protein diikuti oleh agregasi sehingga menyebabkan kematian bakteri (Bing-Hui Li dkk., 2006). EGCG juga memiliki aktivitas depigmentasi sehingga EGCG dapat memulihkan kondisi kulit yang menghitam akibat jerawat (Akhtar dkk., 2011; Mahmood dkk., 2010). EGCG dalam teh hijau dapat mengurangi sebum dan mengurangi inflamasi pada penderita acne selama delapan minggu (Yoon dkk., 2013). EGCG pada daun teh hijau merupakan agen bakterisida yang efektif terhadap strain *Acinetobacter baumannii* yang resisten terhadap antibiotik (Osterburg dkk., 2009). Hal ini menunjukkan bahwa daun teh hijau dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan jerawat. Dalam pengembangan formulasinya sebagai antijerawat, telah dilakukan optimasi dasar dan emulgator dengan zat aktif EGCG yang menghasilkan formula optimum sediaan krim dengan stabilitas fisik dan kimia yang baik (Widyaningrum dkk., 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri formula optimum sediaan krim yang telah diteliti sebelumnya dan FEAEDTH konsentrasi 6% terhadap bakteri penyebab jerawat *S.epidermidis*.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan-bahan untuk pembuatan fraksi yaitu simplisia daun teh hijau yang berasal dari PT.Sari kemuning di Karanganyar - Jawa tengah, aquadest, es batu, asam fosfat 85% (Merck), larutan dasar pH 4 (asam sitrat, HCl, *sodium hydroxide*) (Merck), etil asetat (Teknis). Bahan-bahan untuk uji mikrobiologi yaitu bakteri *S.epidermidis* ATCC 35984, media agar darah, media Mueller-Hinton, larutan NaCl 0,9% steril. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan krim adalah asam sitrat (Sigma-aldrich), triethanolamin (Sigma-aldrich), asam askorbat (Sigma-aldrich), asam stearate (Sigma-aldrich), tween 80 (Sigma-aldrich), span 80 (Sigma-aldrich), sorbitol (Sigma-aldrich), propilen glikol (Sigma-aldrich), VCO (Sigma-aldrich: 46949), metil paraben (Sigma-aldrich), propil paraben (Sigma-aldrich), dan aquadest.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah panci *stainlesteel*, *thermometer*, pH meter merk Hanna HI 98121, rotari evaporator (Heildolph Jerman), *Thermostat water bath* HH-6, *Moisture balance* merk Shimadzu EP-90 model Moc63u, mortir dan stamper, penangas air, timbangan elektrik, alat-alat gelas (pyrex), aluminium foil, pot krim, mikropipet, sengkeli ose, piring petri, *hand scoon*, masker.

Pembuatan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Teh Hijau

Epigallocatechin gallate (EGCG) dalam simplisia daun teh hijau diekstraksi dengan mengacu pada hasil metode penelitian Widyaningrum, dkk. (2015^a). Sebanyak 12 g simplisia the hijau diinfundasi dengan suhu 90°C selama 30 menit dengan 1200 mL air suling. Infusa kemudian disaring dan segera diletakkan di atas es dengan suhu 0°C selama 30 menit hingga ekstrak bersuhu 5°C (ekstrim dingin), kemudian diberi buffer solution hingga diperoleh pH 4. Filtrat tersebut difraksinasi dengan 1200 mL etil asetat. Fraksi etil asetat kemudian dikentalkan dengan rotari evaporator suhu 40°C. Setelah kental kemudian diuapkan diatas penangas air suhu 70°C dan diaduk secara *continue* sampai etil asetatnya habis sehingga diperoleh serbuk kering fraksi etil asetat ekstrak teh hijau.

Pembuatan Sediaan Krim

Formula optimum sediaan krim (Widyaningrum dkk., 2015^b)

R/Fraksi etil asetat ekstrak daun teh hijau	6
Propilen glikol	2,1
Span 80	2,2
Tween 80	5,7
Sorbitol	20
Asam stearat	5
VCO	20
Asam Sitrat	0,7
Asam askorbat	0,06
Triethanolamin	2,45
Metil paraben	0,25
Propyl paraben	0,15
Water	ad 100

Fase air yaitu propilen glikol, tween 80, sorbitol, asam sitrat, triethanolamin, asam askorbat, metil paraben, propyl paraben dan sisa aquadest atau *water* di panaskan dalam cawan porselin pada penangas *air/water bath* suhu 70°C selama dua menit atau hingga tercampur merata kemudian ditambahkan fraksi etil asetat ekstrak daun teh hijau selama 1-2 menit. Fase lemak yaitu Asam stearat, VCO dan span 80 di panaskan pada suhu 70°C selama lima menit atau hingga tercampur merata. Kedua fase tersebut dicampur dalam mortir sedikit demi sedikit dengan pengadukan yang *continue* hingga homogen.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada fraksi etil asetat ekstrak daun teh hijau dan formula optimum sediaan krim menggunakan metode yang dilakukan pada penelitian Niyomkam dkk., 2010). Bakteri *S .epidermidis* diinkubasi dalam media agar darah selama 24 jam dalam kondisi aerob, kemudian dibuat suspensi bakteri menggunakan NaCl 0,9 % steril. Kekeruhan sel disetarakan dengan standar Mc.Farland 0,5 atau 0,05 mL BaCl₂ 1% dicampur dengan 9,95 mL H₂SO₄ 1%. Kapas lidi steril dimasukkan ke dalam tabung yang berisi bakteri, kemudian ditekan-tekan di dinding tabung agar tidak terlalu basah. Kapas tersebut diusapkan pada media Mueller Hinton yang sebelumnya telah diinkubasi selama kurang lebih dua jam sampai rata dan setipis mungkin, kemudian dibuat sumuran pada media Mueller Hinton dengan menggunakan besi steril pada media tersebut. Pelat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan kondisi aerob (Niyomkam dkk., 2010).

Pembuatan standard 0,5 Mc Farland yaitu larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% sebanyak 0,05 mL dicampur dengan larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL. Larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% dipipet

sebanyak 0,05 mL dimasukkan dalam labu takar 10 mL, ditambah dengan larutan H₂SO₄ 1% sampai 10 mL, dihomogenkan. Suspensi satu ose bakteri yang dilarutkan dalam larutan NaCl 0,9% memiliki kekeruhan yang sama dengan standard 0,5 Mc Farland sehingga diperkirakan suspensi tersebut memiliki kerapatan antara 10⁷-10⁸ CFU/mL.

Analisa Data

Data dianalisa menggunakan Uji T berpasangan dengan taraf kepercayaan 95%. Parameter adanya perbedaan yang bermakna ditunjukkan dengan nilai signifikansi kurang dari 0,05

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

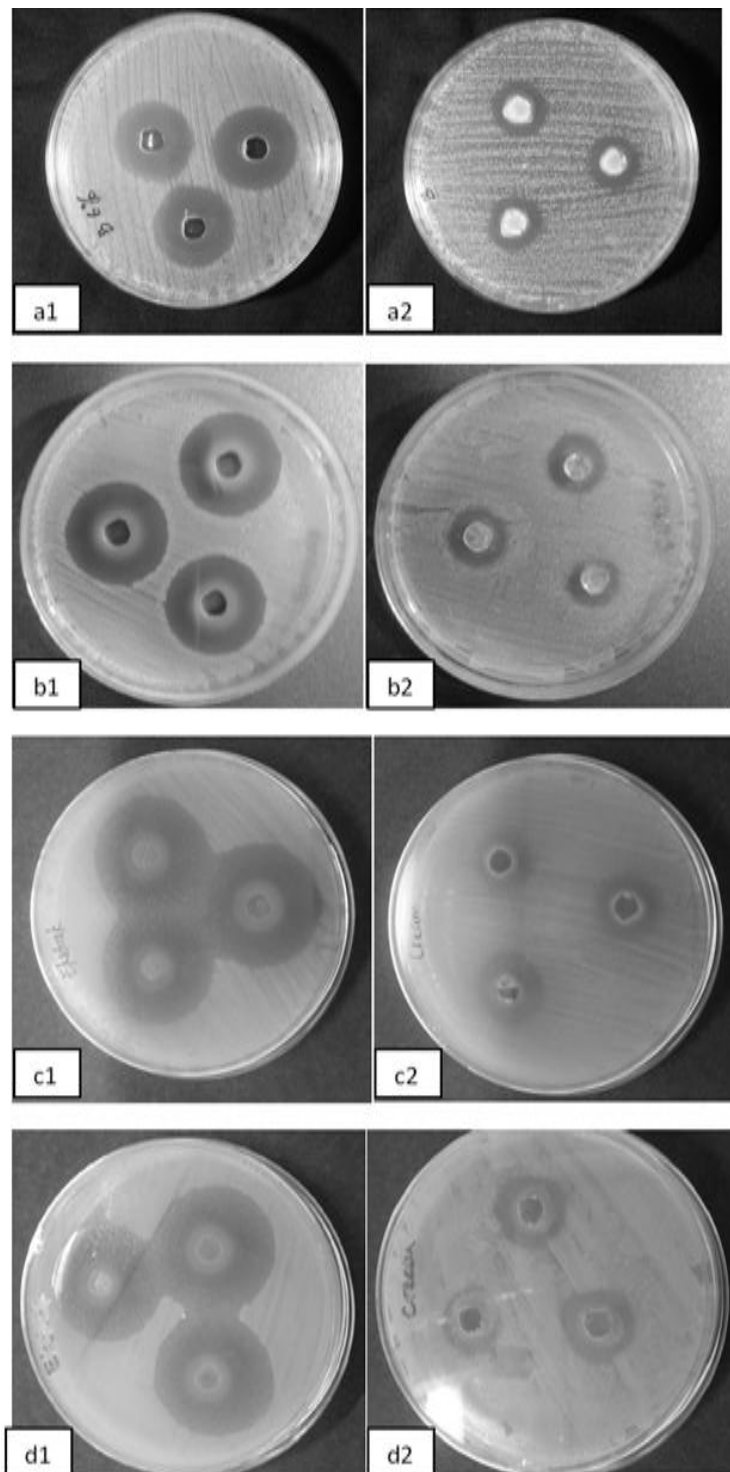
Formula optimum sediaan krim dan FEAEDTH 6% diujikan pada bakteri *S.epidermidis* dari bulan ke-0 hingga bulan ke-3. Hal ini ditujukan untuk mengetahui stabilitas dan efektivitas sediaan krim dan FEAEDTH 6%. Hasil aktivitas antibakteri formula optimum sediaan krim dan FEAEDTH 6% disajikan pada tabel I dan gambar 1.

Tabel I. Aktivitas Antibakteri Formula Optimum Sediaan Krim dan FEAEDTH 6%

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)								
	Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Teh Hijau 6%				Formula Optimum Sediaan Krim				Basis
	Bulan ke-0	Bulan ke-1	Bulan ke-2	Bulan ke-3	Bulan ke-0	Bulan ke-1	Bulan ke-2	Bulan ke-3	Bulan ke-0-3
Rep 1	25	28	33	33	24	25	25	24	0
Rep 2	26	28	34	33	24	25	26	24	0
Rep 3	26	28	34	33	24	26	26	24	0
Rata-rata	25.67	28	33.67	33	24	25.3	25.67	24	0
SD	0.57	0	0.57	0	0	0.57	0.57	0	0
Sig. (p)	0,081				0,079				

Berdasarkan tabel I dan gambar 1, terlihat adanya peningkatan daya hambat FEAEDTH 6% maupun formula optimum sediaan krim terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidemidis* dari bulan ke 0 hingga bulan ke 3. Hasil statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada daya hambat aktivitas antibakteri FEAEDTH 6% bulan ke-1, 2 dan 3 terhadap bulan ke-0 (p=0,081). Sebaliknya, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada daya hambat aktivitas antibakteri krim optimum yang mengandung fraksi etil asetat ekstrak daun teh hijau konsentrasi 6% (p=0,079). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat stabilitas efektivitas pada FEAEDTH 6% setelah penyimpanan selama tiga bulan (stabilitas efektivitas pada luas zona hambat sediaan krim). Dengan kata lain, formula optimum sediaan krim dan FEAEDTH 6% yang disimpan dalam waktu 3 bulan dapat mempertahankan efektivitasnya.

Hasil penelitian telah menunjukkan bahwa FEAEDTH 6% dapat mempertahankan aktivitasnya selama tiga bulan. Hal ini disebabkan metode pembuatan dan penyimpanan FEAEDTH 6% sesuai dengan penelitian sebelumnya (Widyaningrum, dkk., 2015) yaitu pada proses penyariannya dilakukan ekstrim dingin dan penurunan pH sampai dengan 4 menggunakan buffer solution pH 4 yang menghasilkan kadar EGCG paling tinggi dan paling stabil dibanding dengan larutan dapar lain. Hal ini juga linier dengan penelitian Hirun dan Roach (2011) yang menyatakan kadar EGCG pada perlakuan ekstrim dingin dan penambahan asam fosfat lebih tinggi 16% dibanding pelarut metanol. Penyimpanan EGCG juga sangat mempengaruhi stabilitas. Pada penelitian ini, FEAEDTH 6% disimpan pada suhu 2°C. Hal ini sesuai penelitian Widyaningrum dkk., (2015) yang meneliti stabilitas EGCG yaitu EGCG stabil pada suhu 2°C dan penelitian Fanguerio dkk., (2014) yang menyatakan EGCG stabil pada suhu 2°C-20°C.



Gambar 1. Aktivitas antibakteri FEAEDTH 6% bulan ke 0 (a1) formula optimum sediaan krim bulan ke 0 (a2), FEAEDTH 6% bulan ke 1 (b1) formula optimum sediaan krim bulan ke 1 (b2), FEAEDTH 6% bulan ke 2 (c1) formula optimum sediaan krim bulan ke 2 (c2), FEAEDTH 6% bulan ke 3 (d1) formula optimum sediaan krim bulan ke 3 (d2)

Formula optimum sediaan krim juga dapat mempertahankan aktivitasnya selama tiga bulan. Hal ini disebabkan terdapatnya komposisi optimum asam askorbat yang dapat melindungi EGCG dari degradasi saat di formulasikan dalam sediaan krim (Widyaningrum, dkk., 2015). Hal ini juga

linier dengan penelitian Sheraz dkk., (2014) yang menyatakan asam askorbat dapat melindungi EGCG dengan cara mereduksi bentuk radikal bebas katekin menjadi bentuk reduksinya dan asam askorbat mampu melindungi EGCG dan asam sitrat dari degradasi akibat oksigen. Selain asam askorbat, dalam formulasi juga terdapat komposisi optimum emulgator tween 80, span 80 dan propilen glikol yang telah diteliti sebelumnya yang menghasilkan stabilitas EGCG pada uji HPLC (Widyaningrum, dkk., 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Formula optimum sediaan krim dan FEAEDTH 6% mampu mempertahankan efektivitasnya dalam waktu tiga bulan.

Saran

Perlu dilakukan uji stabilitas kimia selama tiga bulan untuk memastikan stabilitas EGCG dalam formula yang menghasilkan stabilitas efektivitas antibakteri yang baik pada penelitian ini.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada Dirjen Pendidikan Tinggi (DIKTI) yang telah memberikan beasiswa pendidikan Doktor, Prodi Farmasi Unissula yang telah memberikan dukungan dana publikasi serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM yang telah memberikan fasilitas penelitian.

Daftar Pustaka

- Akhtar N., Mahmood T., Khan B.A., Khan H.M.S. and Saeed T., 2011, Depigmenting and Anti Erythematic Effects of 3% Green Tea Emulsion, *HealthMed*, **5**(5), 1165–1169
- Bing-Hui Li, Zhang R., Ya-Tao Du, Ying-Hui Sun, and Wei-Xi Tian, 2006, Inactivation Mechanism of the β -ketoacyl-[Acyl Carrier Protein] Reductase of Bacterial Type-II Fatty Acid Synthase by Epigallocatechin Gallate, *Biochem. Cell Biol*, **84**(5), 755–762
- Fangueiro J.F., Parra A., Silva A.M., Egea M.A., Souto, E.B., Garcia M.L. and Calpena A.C., 2014, Validation of a High Performance Liquid Chromatography Method for the Stabilization of Epigallocatechin Gallate, *Int. J. Pharm*, 475(2)
- Hirun S. and Roach P.D., 2011, An Improved Solvent Extraction Method for the Analysis of Catechins and Caffeine in Green Tea, *J. Food Nutr. Res.*, **50**(3), 160–166
- Mahmood T., Akhtar N., Khan B.A., Khan H.M.S. dan Saeed T., 2010, Outcomes of 3% Green Tea Emulsion on Skin Sebum Production in Male Volunteers, *Bosn. J. Basic Med. Sci. Udruženje Basičnih Med. Znan. Assoc. Basic Med. Sci*, **10**(3), 260–264
- Niyomkam P., Kaewbumrung S., Kaewnpparat S., and Panichayupakaranant P., 2010, Antibacterial Activity of Thai Herbal Extracts on Acne Involved Microorganism. *Pharm. Biol*, **48**(4), 375–380
- Osterburg A., Gardner J., Hyon S.H., Neely A. dan Babcock G., 2009, Highly Antibiotic-Resistant *Acinetobacter Baumannii* Clinical Isolates Are Killed by the Green Tea Polyphenol (–)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG). *Clin. Microbiol. Infect*, **15**(4), 341–346
- Sheraz M.A., Khan M.F., Ahmed S., Kazi S.H., Khattak S.R. dan Ahmad, I., 2014. Factors Affecting Formulation Characteristics and Stability of Ascorbic Acid in Water-in-Oil Creams. *International Journal of Cosmetic Science*, **36**, 494–504
-

- Widyaningrum N., Fuholi A., Sudarsono, Setyowati E.P., 2015^a, The Stability of *Epigallocatechin Gallate* (EGCG) from Green Tea (*Camellia sinensis*) and its Antibacterial Activity against *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 and *Propionibacterium acnes* ATCC 6919, *Asian. J. of Biol. Sci*, **8**(2), 93-101
- Widyaningrum N., Fuholi A., Sudarsono, Setyowati E.P, 2015^b, Buffer And Emulsifier Optimization In Cream With its Antibacterial Activity And Sensitivity, *Int. J. of Pharm. Sci and Research*, **6**(12), 1000-1006
- Widyaningrum N., Fuholi A., Sudarsono, Setyowati E.P, 2015^c, The Effect of Altitude Against Total Phenolic and *Epigallocatechin Gallate* (EGCG) Content in Green Tea Leaves, *International Convergence on Science and Science Education*, August 1st 2015
- Yoon J.Y., Kwon H.H, Min S.U., Thiboutot D.M., and Suh D.H., 2013, Epigallocatechin-3-Gallate Improves Acne in Humans by Modulating Intracellular Molecular Targets and Inhibiting *P. acnes*, *J. Invest. Dermatol*, **133**(2), 429–440