

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 30% dan 96%
KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*L) TERHADAP BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

Prasetyorini, Mira Miranti, Chrys Suwary
Program Studi Farmasi FMIPA-UNPAK

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Perlakuan yang digunakan adalah konsentrasi ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella dengan konsentrasi masing-masing yaitu 20%, 40%, 60% dan 80%, sebagai pembanding digunakan antibiotik amoksisilin 10 ppm. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram serta uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode dilusi padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella berbeda dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella lebih aktif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* karena pada konsentrasi 60% dengan rata-rata lebar daerah hambat sebesar 4,5 mm, sedangkan ekstrak etanol 30% kelopak bunga rosella paling aktif pada konsentrasi 80% dengan rata-rata lebar daerah hambat sebesar 4,5 mm. Hasil lebar daerah hambat untuk konsentrasi 60% pada ekstrak etanol 96% dan konsentrasi 80% pada ekstrak etanol 30% memiliki pengaruh yang sama secara statistik terhadap kontrol positif amoksisilin dengan rata-rata lebar daerah hambat sebesar 4,6 mm. Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) yang efektif adalah pada konsentrasi 2,5% untuk ekstrak etanol 30% dan konsentrasi 1% untuk ekstrak etanol 96%. Berdasarkan hasil pengujian fitokimia diketahui bahwa ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella mengandung saponin, tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri.

Kata kunci : Antibakteri, Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*), *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat yang saat ini sangat populer dan banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit salah satunya adalah bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*), hal ini disebabkan hampir seluruh bagian tanaman ini dapat digunakan untuk kebutuhan pengobatan, terutama untuk pengobatan alternatif (Mardiah, dkk. 2009). Khasiat bunga Rosella (*Hibiscus*

sabdariffa L) dari segi kesehatan mempunyai manfaat sebagai pencegahan penyakit yaitu mengendalikan tekanan darah, melancarkan buang air besar dan bisa juga digunakan untuk merawat luka, penyakit kulit dan sebagai antibakteri (Devi, 2009).

Menurut Wijayakusuma, 1994 agar peranan tumbuhan, khususnya tumbuhan yang berkhasiat obat dapat terus

ditingkatkan dan dipertanggungjawabkan secara medis, maka perlu digali lebih mendalam melalui penelitian dan pengujian terhadap mikroorganisme penyebab penyakit, salah satunya hasil penelitian oleh Rostinawati (2010) menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol 95% bunga rosella terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%, pada konsentrasi 20% dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 12,1 mm. Konsentrasi yang memberikan zona hambat paling luas yaitu pada konsentrasi 100 % dengan zona bening sebesar 27,8 mm. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama bagi manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *Staphylococcus aureus* sepanjang hidupnya, bervariasi dalam beratnya mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan sampai infeksi berat yang mengancam jiwa. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, yang terdapat pada kulit, hidung, mulut, selaput lendir, bisul dan luka (Jawetz *et al*, 1996).

Beragam fakta inilah yang memberi alasan bagi penulis untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L), walaupun telah banyak dilakukan penelitian namun untuk mengetahui khasiat kelopak bunga rosella sebagai obat untuk infeksi pada rongga mulut, maka peneliti menggunakan dua jenis pelarut yaitu pelarut etanol 30% dan pelarut etanol 96%, karena menurut penelitian oleh Mardiah (2010) telah mengekstrak kelopak bunga dan batang rosella, didapatkan kadar antosianin tertinggi menggunakan pelarut campuran aquadest dan etanol 95%.

Antosianin adalah pigmen golongan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan, Pigmen antosianin ini yang membentuk warna ungu kemerahan menarik dikelopak bunga rosella. Antosianin berfungsi sebagai antioksidan yang diyakini dapat menyembuhkan penyakit degeneratif (Mardiah, dkk. 2009). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti mencoba menggunakan konsentrasi pelarut yang berbeda untuk mengetahui aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* untuk mendapatkan data yang relevan sehingga pada akhirnya dapat membuktikan kebenaran dari pernyataan-pernyataan literatur tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan selama tiga bulan dari bulan Februari 2012 sampai bulan April 2012 di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor, Industri Rumah Tangga (IRT) “Pelestarian Tanaman Obat Dan Pengembang Kesehatan Alami Taman Sringanis Bogor” dan Laboratorium Biologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian iniantara lain kelopak bunga rosella kering (*Hibiscus sabdariffa* L), bakteri uji *Staphylococcus aureus* koleksi dari bagian Laboratorium Biologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, etanol 96%, etanol 30%, antibiotik pembanding Amoksisilin 10 µg/mL, media uji *Tryptone Soya Agar (TSA)*, *Tryptone Soya Broth (TSB)*, asam klorida pekat, amil alkohol, gelatin 1%, kloroform, asam sulfat, aquadest, neraca analitik, oven,

vacum evaporator, moisture balance, eksikator, tanur, autoklaf, inkubator, cawan petri, jarum ose, kertas cakram (paper disc), alat-alat gelas, pipet ukur, penggaris, thermometer, penangas air, pengayak mesh 30, grinder, botol kaca warna coklat, krus tutup, lampu spiritus, rak tabung, tabung reaksi, kain batis, batang pengaduk, dan aluminium foil.

Pembuatan Ekstrak Etanol

Ekstraksi serbuk simplisia dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 30% dan 96%. Sebanyak 600 g serbuk kelopak bunga rosella direndam dalam 75 bagian etanol (4500 mL) selama 3 hari terlindung dari cahaya. Setelah 3 hari, serbuk diserkai, ampas diperas dengan kain batis. Ampas ditambah 25 bagian etanol (1500 mL) direndam selama 2 hari, kemudian diaduk dan diserkai sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Pengadukan dilakukan selama 1 jam dan didiamkan 1 jam sebanyak 3x selama 6 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah tertutup, ditempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 24 jam (dienaptungkan), filtrat kemudian disaring, hasil seluruh filtrat dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *vacum evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental.

Karakterisasi Ekstrak Etanol Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

Kadar Air: Dengan metode gravimetri. Sebanyak ± 2 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus tertutup yang sebelumnya dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara, pemanasan dilakukan pada suhu 105°C sampai bobot tetap, yaitu sampai perbedaan

penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

Kadar Abu : Ditimbang sebanyak 2 g, dimasukkan kedalam krus platina/krus silikat yang telah dikeringkan pada suhu 105°C selama 15 menit dan ditara, lalu dipijarkan perlahan-lahan pada suhu 600°C dalam tanur hingga arang habis dan sampai bobot tetap, yaitu perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 1995).

Penetapan Kadar Abu Yang Tidak Larut Dalam Asam : Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer P selama 5 menit, dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, disaring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan hingga bobot tetap, ditimbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 2000).

Penetapan Kadar Abu Yang Larut Dalam Air : Abu yang telah diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 mL air selama 5 menit. Dikumpulkan bagian yang tidak larut, disaring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas dan dipijarkan selama 15 menit pada suhu tidak lebih dari 450°C , hingga bobot tetap. Ditimbang perbedaan bobot sesuai dengan jumlah abu yang larut dalam air. Kadar abu yang larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan.

Penetapan Kadar Senyawa Yang Larut Dalam Air : Maserasi sejumlah 5 g ekstrak selama 24 jam dengan 100 mL air kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring, diuapkan dengan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan

dangkal berdasar rata yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. (Depkes RI, 2000).

Penetapan Kadar Senyawa Yang Larut Dalam Etanol : Maserasi sejumlah 5 g ekstrak selama 24 jam dengan 100 mL etanol (95%). Menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring cepat dengan menghindari penguapan etanol, kemudian diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dipanaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol 95% (Depkes RI, 2000).

Uji Fitokimia

Saponin : Sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam gelas piala kemudian ditambahkan 100 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Sebanyak 10 mL filtrat di masukkan kedalam tabung reaksi dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Adanya saponin ditandai dengan terbentuk busa yang stabil dalam tabung reaksi yang menunjukkan adanya senyawa saponin. Bila ditambahkan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (DepKes, 1989).

Tanin : Sebanyak 100 mg ekstrak diencerkan dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambahkan larutan FeCl₃ 10%. Terbentuknya warna hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (DepKes, 1989). Penentuan golongan tanin juga dapat dilakukan dengan menambahkan larutan gelatin 1% (1:1) kedalam ekstrak, hasil positifnya yaitu terbentuknya endapan putih (Harborne, 1987).

Flavonoid : Diambil sebanyak 0,5 g ekstrak ditambah 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, lalu disaring. Kedalam 5 mL filtrat ditambah serbuk Magnesium, 1 mL HCl pekat dan 1 mL amil alkohol, lalu dikocok kuat-kuat dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan amil alkohol (DepKes RI, 1995).

UJI BAKTERI

Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah media padat *Tryptone Soya Agar* (TSA) dan media cair *Tryptone Soya Broth* (TSB). Media TSA dibuat dengan melarutkan 40 gram serbuk dalam 1 L *aquadest*, lalu diaduk-aduk hingga larut dan homogen. Sedangkan media cair TSB dibuat dengan melarutkan 30 gram serbuk dalam 1 L *aquadest*, lalu diaduk-aduk hingga larut dan homogen. Sebelum digunakan, kedua media ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

Pembuatan Kertas Cakram

Pembuatan kertas cakram dilakukan dengan menyiapkan potongan kertas dibuat kertas cakram berdiameter 6 mm dibuat dari kertas saring Whatman, diletakkan dalam cawan petri kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, kemudian kertas cakram yang telah disterilkan tersebut ditetesi larutan uji masing-masing ekstrak dengan berbagai konsentrasi dan kontrol positif serta kontrol negatif masing-masing sebanyak 15 µL.

Perhitungan Koloni Bakteri

Perhitungan jumlah koloni isolat bakteri dilakukan dengan metode pengenceran. Disiapkan 6 tabung reaksi yang masing-masing berisi 9 mL larutan

NaCl fisiologis. Ambil 1 mL isolat bakteri, lalu dilarutkan dalam tabung reaksi pertama, faktor pengenceran dalam tabung reaksi pertama diambil 10^{-1} , kemudian dari tabung reaksi pertama diambil 1 mL lalu dilarutkan dalam tabung reaksi kedua. Pengenceran ini dilakukan berturut-turut sampai tabung reaksi ke 6. Setiap pengenceran dari masing-masing tabung diambil 1 mL larutan. Kemudian dituang dalam media *Tryptone Soya Agar* dalam keadaan cair dan digoyang perlahan-lahan searah jarum jam. Pertumbuhan koloni dari tiap-tiap cawan dihitung setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C . Kemudian pilih cawan petri yang pertumbuhan koloninya berkisar antara 25-250 koloni per cawan petri, untuk digunakan untuk penelitian.

Penentuan Lebar Daerah Hambat

Metode pengujian ini dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram, yaitu dengan menggunakan pinset steril, kertas cakram diletakkan di atas lempeng media *Tryptone Soya Agaryang* telah dicampur dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 10^{-6} , kemudian masing-masing ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella dengan konsentrasi 20% (0,2 g/1 mL), 40% (0,4 g/1 mL), 60% (0,6 g/1 mL) dan 80 % (0,8g/1 mL), ditetesi sebanyak 15 μL kedalam kertas cakram, dengan perlakuan yang sama, begitu juga dengan aquadest sebagai kontrol negatif dan amoksisilin 10 ppm (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) sebagai kontrol positif. Cawan petri kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah diinkubasi diamati dan diukur lebar daerah hambat dari zona yang terbentuk menggunakan penggaris, sehingga diketahui lebar daerah hambat dari ekstrak kelopak bunga rosella.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Pengukuran KHM dilakukan untuk mengetahui konsentrasi mana yang terkecil dan dapat menghambat bakteri. KHM ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri. Konsentrasi ekstrak etanol 30% dan 96% yang digunakan adalah 1%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5% dan 20 %. Untuk pengujian pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat sebanyak 50ml larutan uji dimasukkan kedalam 3 cawan petri (2 untuk pengujian dan 1 untuk kontrol).

Analisis Data

Data analisis digunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan SPSS 17 dengan 8 perlakuan (6 perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosella, 2 perlakuan dengan aquadest sebagai kontrol negatif dan amoksisilin sebagai kontrol positif), masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Analisis dilanjutkan dengan uji Duncan untuk membandingkan daya antibakteri diantara masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian terhadap uji fitokimia ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella dapat dilihat pada uraian Tabel 1 dibawah ini.

Golongan senyawa	Ekstrak etanol 30%	Ekstrak etanol 96%
Saponin	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+

Hasil uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan hasil penelitian oleh Rostinawati, 2009, bahwa fitokimia ekstrak etanol kelopak bunga rosella

mengandung senyawa tanin, saponin dan flavonoid.

Hasil pemeriksaan karakterisasi serbuk dan ekstrak etanol kelopak bunga rosella dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Pemeriksaan	Serbuk rosella	Ekstrak Etanol 30%	Ekstrak Etanol 96%
Kadar air	6,9%	24,4%	14,4%
Kadar abu	7,5%	8,8%	2,5%
Kadar abu yang tidak larut asam		12,5%	5,4%
Kadar abu yang larut air		42,7%	30,0%
Kadar senyawa yang larut dalam air		75,4%	80,2%
Kadar senyawa yang larut dalam etanol		62,9%	81,6%

Uji Aktitivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya aktivitas penghentian pertumbuhan, hal ini dapat dilihat dari hasil pengukuran Lebar Daerah Hambat (LDH) yang terbentuk yaitu berupa wilayah jernih disekeliling kertas cakram yang mengandung ekstrak etanol kelopak bunga rosella yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil rata-rata pengukuran Lebar Daerah Hambat (LDH) ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Konsentrasi Ekstrak (%)	Lebar Daerah Hambat (LDH) (mm)	
	Etanol 30%	Etanol 96%
20 %	2,5	2,5
40 %	2,8	3,1
60 %	3,1	4,5
80 %	4,5	5

Dapat dilihat pada Tabel 3, perbandingan Lebar Daerah Hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella berbanding lurus dengan penambahan konsentrasi dan menghasilkan Lebar Daerah Hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol 30%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella lebih aktif membunuh koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan konsentrasi ekstrak etanol 30%.

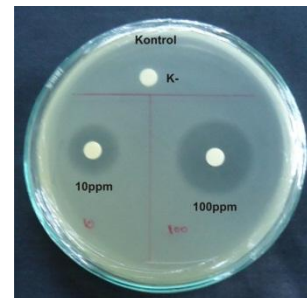
Adanya perbedaan daya bunuh ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella

kemungkinan disebabkan karena perbedaan komponen zat aktif yang terserap pada proses ekstraksi, karena menurut penelitian oleh Mardiah (2010) yang telah mengekstrak kelopak bunga dan batang rosella, didapatkan kadar antosianin tertinggi menggunakan pelarut campuran aquadest dan etanol 95%, ini terbukti bahwa ekstrak etanol kelopak bunga rosella 96% lebih aktif menyerap komponen-komponen metabolit dari kelopak bunga rosella.

Ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga Rosella memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri dikarenakan keberadaan senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak etanol kelopak bunga Rosella seperti senyawa antosianin yang merupakan senyawa flavonoid (Mardiah, dkk. 2009), flavonoid yang merupakan senyawa fenol (Harborne, 1987). Senyawa fenol dapat bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti, karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri (Trease dan Evans, 1978). Senyawa lain yang berkhasiat sebagai antibakteri yang terdapat dalam ekstrak etanol kelopak bunga rosella adalah tanin. Senyawa tanin merupakan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan yang bersifat sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan yang stabil dengan protein sehingga terjadi koagulasi protoplasma bakteri, tanin juga memiliki kemampuan menyamak kulit dan juga dikenal sebagai astringensia (Robinson, 1995). Dari sifat antibakteri senyawa tanin, maka tanin dapat digunakan sebagai obat antiradang,

antidiare, pengobatan infeksi pada kulit dan mulut, dan pengobatan luka bakar. Oleh karena itu, tanin sebagai antibakteri dapat digunakan dalam bidang pengobatan (Hariana, 2007). Senyawa yang juga bertanggung jawab sebagai antibakteri yang terdapat pada ekstrak etanol kelopak bunga rosella adalah saponin. Senyawa saponin mempunyai sifat seperti sabun yang merupakan senyawa “*surfactant agent*” yang kuat, sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel (Robinson, 1995). Diabsorbsinya saponin pada permukaan sel akan mengakibatkan kerusakan dengan naiknya permeabilitas atau kebocoran membran sel, sehingga bahan-bahan esensial yang dibutuhkan oleh bakteri untuk kehidupannya hilang dan dapat menyebabkan kematian sel bakteri.

Antibiotik adalah semua substansi yang diketahui memiliki kemampuan untuk menghalangi pertumbuhan organisme lain khususnya mikroorganisme (Pratiwi, 2008).



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibiotik amoksisilin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Dapat dilihat Lebar Daerah Hambat (LDH) yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* bila dibandingkan dengan Lebar Daerah Hambat yang dihasilkan oleh antibiotik amoksisilin (Gambar 2) menunjukkan aktivitas yang tidak jauh berbeda. Ekstrak

etanol 30% kelopak bunga rosella dengan konsentrasi 80% sebesar 4,5 mm menunjukkan aktivitas yang hampir mendekati Lebar Daerah Hambat dari antibiotik amoksisilin pada konsentrasi 10 ppm yaitu 4,6 mm, sedangkan untuk ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella pada konsentrasi 80% sebesar 5 mm sudah melebihi Lebar Daerah Hambat dari antibiotik amoksisilin pada konsentrasi 10 ppm.

Hal ini menurut Lay, 1994 menyatakan bahwa beberapa senyawa antibakteri tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antibakteri bersifat menghambat bila digunakan dalam konsentrasi kecil namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat membunuh mikroorganisme, kemungkinan amoksisilin yang digunakan konsentrasinya terlalu kecil untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi bila konsentrasinya ditingkatkan menjadi 100 ppm (pada Gambar 2), Lebar Daerah Hambat dari antibiotik amoksisilin semakin tinggi, yaitu sebesar 9,5 mm.

Hasil analisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial

pola 2x4x3 untuk mengetahui pengaruh kualitas dari ekstrak etanol 30% dan ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella. Data analisis dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak etanol 30% dan ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella mempunyai aktivitas yang berbeda nyata $P < 0,05$ dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan konsentrasi pada ekstrak etanol 30% dan ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella mempunyai pengaruh yang sangat berbeda nyata $P < 0,01$ dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga dilakukan uji lanjut Duncan pada Tabel 4 dan perhitungan. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa dari masing-masing konsentrasi memiliki pengaruh yang berbeda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4. Rata-rata Lebar Daerah Hambat (LDH) ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella

Perlakuan	Konsentrasi Ekstrak				Total perlakuan	Rata-rata perlakuan
	20 %	40 %	60 %	80 %		
Ekstrak etanol 30 %	2,5	2,8	3,1	4,5	12,9	3,225 a
Ekstrak etanol 96 %	2,5	3,1	4,5	5	15,1	3,775 b
Rata-rata konsentrasi	2,5 a	2,95 b	3,8 c	4,75 d	-	-

Keterangan : Angka yang diikuti superkrip yang tidak sama pada lajur yang sama menunjukkan pengaruh yang sangat berbeda nyata

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella

Pada Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) metode yang digunakan adalah metode dilusi. Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008). Deret konsentrasi ekstrak etanol 30% dan 96% yang digunakan untuk uji KHM yaitu 1%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5% dan 20%. Hasil ini diamati dengan melihat kekeruhan yang terjadi dari masing-masing konsentrasi ekstrak jika dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan hasil uji KHM dapat disimpulkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) untuk ekstrak etanol 30% yang efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 2,5%, sedangkan untuk ekstrak etanol 96% konsentrasi hambat minimum yang efektif adalah 1%.

KESIMPULAN

Konsentrasi tertinggi pada ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak etanol 30% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata lebar daerah hambat sebesar 5 mm. Hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada ekstrak etanol 30% kelopak bunga rosella yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 2,5%, sedangkan untuk etanol 96% pada konsentrasi 1%.

DAFTAR PUSTAKA

- DepKes RI. 1989. *Materia Medika Jilid V*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- . 1995. *Materia Medika Jilid VI*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- . 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Devi, M. 2009. *Dahsyatnya Khasiat Rosella*. Cemerlang Publishing. Yogyakarta.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Padmawinata, K. Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hariana, A. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiat Jilid 2*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Jawetz E, Melnick JL dan Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. (Nugroho E., Maulana R F., Penerjemah) Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Lay, W. B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium Edisi I*. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Mardiah, Sawarni, W Ashadi, dan A Rahayu. 2009. *Budidaya dan pengolahan rosella simerah segudang manfaat*. Agromedia Pustaka, Jakarta.

- Mardiah.2010. *Ekstraksi Kelopak Bunga Dan Batang Rosella (Hibiscus sabdariffa L) Sebagai Pewarna Merah Alami*.Universitas Djuanda Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Bogor. (diakses tanggal 18 Januari 2012).
<http://www.scribd.com/doc/51272340/776531A1d01>.
- Pratiwi T, S. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan: Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung.
- Rostinawati, T. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L) terhadap Escherichia coli, Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus dengan metode difusi agar*. Skripsi. Universitas Padjadjaran, Jatinangor.
- Trease, G. E and Evans. 1978. W. C. *Pharmacognocy*. Bailler Tindal. London. 402-404.
- Wijayakusuma, H. 1994. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Penebar Swadaya, Jakarta.