

**Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
[The Effectiveness Test of Antibacterium of Rosella sheath (*Hibiscus sabdariffa* L) Ethanol Extract and Water Extract Against *Streptococcus pneumoniae*]**

Oom Komala^{1□}, Reni Rosyanti², Muhtabadihardja³

¹Program Studi Biologi, ^{2&3}Program Studi Farmasi

FMIPA Universitas Pakuan

Jln. Pakuan PO BOX 452, Telp./Fax. (0251)8375547 Bogor

e-mail: komaloom20@yahoo.co.id, Hp. 081311405900

ABSTRAK

Penelitian efektivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosella terhadap *Streptococcus pneumoniae* telah dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan dilusi secara invitro. Larutan induk ekstrak etanol dan ekstrak air rosella 70g/100 ml diencerkan dengan konsentrasi 10%, 30%, 50% dan 70% untuk metode difusi cakram dengan kontrol positif ampisilin 10 IU, dan ekstrak etanol diencerkan dengan konsentrasi 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, dan 2% untuk metode dilusi terhadap *S.pneumoniae*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak air rosella membentuk diameter hambat paling luas pada konsentrasi 70% dengan rata-rata 25,6 mm untuk ekstrak etanol dan 24,3 mm untuk ekstrak air rosella. Hasil konsentrasi hambat minimum dari ekstrak etanol rosella yang paling efektif adalah konsentrasi 1%. Hasil pengujian fitokimia diketahui bahwa ekstrak etanol dan ekstrak air rosella mengandung saponin, tanin, dan flavonoid.

Kata kunci : Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L), *S.pneumoniae*, antibakteri, ekstrak etanol, ekstrak air

ABSTRACT

The in vitro study of antibacterial effectiveness of Rosella sheath (*Hibiscus sabdariffa* L) ethanol extract and water extract on *Streptococcus pneumoniae* was conducted by diffusion and dilution method. Basic solution amounting to 70g/100 ml of the extract was diluted into 10%, 30%, 50% and 70% for diffusion test with positive control ampicillin 10 IU, and 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, and 2% ethanol extract for dilution test on *S. pneumoniae*. The results showed that the ethanol extract and water extract could inhibit of bacterial growth. Agar diffusion test (disk diffusion) was observed by diameter of bar region around the disk. Extract ethanol and water extract made bar zone wide the best at concentration 70 %, the diameter mean was estimated 25.6 mm for ethanol extract, and 24.3 mm for water extract on *S. pneumoniae*. In dilution test, the result showed Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the extract was 1% on *S. pneumoniae*. The result of phytochemicals test is known that ethanol extract and water extract of rosella contains of saponin, tanin, and flavonoid.

Key Words : Rosella sheath (*Hibiscus sabdariffa* L), *S. pneumoniae*, Antibacterium, ethanol extract, water extract

PENDAHULUAN

Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Tanaman rosella adalah sejenis perdu yang mudah ditanam. Rosella memiliki khasiat sebagai digestif (melancarkan pencernaan), antikanker, antihipertensi, antidiabetes, antiplasmodik (antikejang), antibakterial, anthelmintik (anticacing), memperlambat pertumbuhan jamur atau parasit penyebab demam tinggi. Rosella berhasiat sebagai antioksidan karena tanaman ini mengandung senyawa flavonoid khususnya jenis antosianin serta betakaroten, mematikan *Mycobacterium tuberculosis* penyebab penyakit TBC (Mardiah dkk, 2009). Tetapi khasiat untuk mengatasi saluran pernafasan bagian atas belum banyak.

Saluran pernafasan atas adalah gerbang utama, tempat bakteri memasuki tubuh. Penyakit yang muncul melalui pernafasan umumnya adalah influenza, pneumonia, tuberkulosis dan cacar air (Alcamo, 1991). Obat-obat antibakteri sintetik secara komersil telah dikenal dan diandalkan dalam menanggulangi penyakit, misalnya antibiotik sintetik. Tetapi antibiotik sintetik ini menimbulkan efek samping yang serius dan perlu pengawasan dokter. Untuk mengetahui khasiat rosella sebagai obat untuk saluran pernafasan, maka dilakukan penelitian mengenai kemampuan ekstrak etanol dan ekstrak air rosella sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. pneumoniae* salah satu bakteri penyebab penyakit pada saluran pernafasan. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosella dalam menghambat bakteri *S. pneumoniae*. Untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosella terhadap *S. pneumoniae*, serta untuk mengetahui kandungan fitokimia saponin, tanin, dan flavonoid secara kualitatif kelopak bunga rosella.

BAHAN

Bahan yang digunakan meliputi kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) (Gambar 1), bakteri uji *Streptococcus pneumoniae*, aquadest, etanol 70%, ampisilin (antibiotik pembanding), H₂SO₄, etanol 95%, kloroform, NaCl fisiologis, serbuk magnesium, HCl pekat, amil alkohol, HCl 37%, FeCl₃ 1%, media agar darah dan kertas cakram berdiameter 6 mm.

METODE

Penetapan Kadar Air , Kadar Abu Dan Kadar Senyawa

Kelopak bunga rosella (Gambar 1) yang digunakan dipanen dari tanaman berumur 4-5 bulan, atau sekitar 15-20 hari setelah bunga mekar. Bunga rosella yang siap panen ditandai dengan kulit pembungkus biji majemuk yang berwarna hijau. Kelopak bunga rosella yang telah kering dihaluskan dengan cara digrinder sampai menjadi simplisia serbuk dan diayak dengan mesh 30. Karakterisasi serbuk rosella dilakukan terhadap kadar air melalui metode gravimetri sampai bobot tetap (Depkes RI, 1997), dan kadar abu, melalui pemijaran sampai bobot tetap (Depkes RI, 1997). Kadar abu yang tidak larut dalam asam diketahui melalui pendidihan kadar abu yang sudah diketahui dengan 25 ml asam sulfat encer 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 (Depkes RI, 1997). Kadar abu yang larut dalam air ditentukan melalui pendidihan kadar abu yang sudah diketahui 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 450°C, hingga bobot tetap. Kadar senyawa yang larut dalam air ditentukan melalui maserasi 5 g ekstrak dengan 100 ml air kloroform selama 24 jam menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Hasil

maserasi disaring, diuapkan dengan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Senyawa yang larut dalam asam diketahui melalui maserasi 5 g ekstrak dengan 100 ml etanol (95%) selama 24 jam, menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Dilakukan penyaringan dengan cepat untuk menghindarkan penguapan etanol, kemudian uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap (Depkes RI, 1997).

Pembuatan Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air

Ekstrak rosella dilakukan dengan metode maserasi dan infus (Depkes RI, 1997). Metode maserasi yaitu dengan cara merendam 600 g serbuk dalam 4500 ml etanol 70% selama 3 hari. Cairan jernih disaring, ampasnya ditambah lagi 1500 ml etanol 70% direndam selama 2 hari. Cairan jernih diperlakukan sama seperti pertama, lalu keduanya disatukan. Cairan tersebut dikeringkan dengan *vaccum rotavapor* pada suhu 50°C. Sedangkan pembuatan infus dilakukan dengan melarutkan 200 g serbuk kelopak bunga rosella dengan 1800 ml *aquabidest*. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit sambil diaduk. Setelah dingin cairan disaring dan dikentalkan dengan *vaccum rotavapor*. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji secara kualitatif kandungan senyawa flavonoid (Markham, 1998), tanin (dengan pereaksi FeCl₃), dan saponin (Rajendra, *et.al.* 2011).

Pengujian Efektivitas Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air

Bakteri yang sudah diencerkan dengan konsentrasi 10⁶/ml. dituangkan sebanyak 0,2 ml kedalam 15 ml media agar-agar darah hangat suhu 45°C secara aseptis. Setelah larutan homogen kemudian kertas cakram yang mengandung ekstrak etanol dan ekstrak air rosella dari larutan induk 70g/100 ml dan telah diencerkan dengan konsentrasi 10%, 30%, 50% dan 70% , di tempelkan di permukaan

media agar dalam cawan petri (Sunatmo, 2007). Kontrol positif ampisilin 10 IU, dan kontrol negatif aquabidest. Cawan petri tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C. Daerah bening di sekitar kertas cakram ekstrak rosella dan ampisilin diukur. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan menggunakan metode dilusi cair. Larutan uji dibuat dengan mengencerkan larutan induk 70g/100 ml secara serial dengan konsentrasi 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2%. Setiap konsentrasi ekstrak sebanyak 1 ml masing-masing dituangkan ke dalam tabung reaksi steril bersamaan dengan 1 ml larutan suspensi bakteri yang diencerkan hingga sejuta kali kemudian ditambahkan media cair BHI (Brain Heart Infusion) broth sebanyak 5 ml. Media BHI tersebut diinkubasi pada suhu 37⁰C. KHM ditentukan pada tabung reaksi konsentrasi ekstrak terendah yang tidak ditumbuhi bakteri (Prescott *et al*, 1993). Pengujian dilakukan dengan 3 kali ulangan. Untuk membandingkan pengaruh ekstrak kelopak bunga rosella dengan kontrol positif ampisilin 10 IU terhadap *S. pneumoniae*, data diameter daerah hambat dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana, apabila terdapat perbedaan diuji lanjut menggunakan Uji Duncan, serta Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial pola 2x4x3 untuk membandingkan kualitas ekstrak etanol dan ekstrak air rosella. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS 17.



Gambar 1. Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

HASIL

Hasil Uji Farmakognosi Kelopak Bunga Rosella

Penetapan kadar air simplisia bertujuan untuk memberi batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam suatu bahan (DepKes RI, 2000). Karena air yang tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat menjadi pertumbuhan kapang dan jasad renik. Kadar air dan kadar abu terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Farmakognosi Serbuk dan Ekstrak Rosella

Pemeriksaan	Ekstrak Etanol Rosella (%)	Ekstrak Air Rosella (%)	Serbuk Rosella (%)
kadar air	7,80	2,15	13,02
kadar abu	5,11	7,19	5,92
kadar abu yang tidak larut asam	2,79	5,2	-
kadar abu yang larut air	24,5	49,9	-
kadar senyawa yang larut air	72,10	64,05	-
kadar senyawa yang larut asam	74,22	37,72	-

Hasil Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji organoleptik diketahui bahwa serbuk rosella berwarna merah muda, rasanya asam dan berbau aromatis. Ekstrak etanol rosella berwarna hitam, berasa asam dan berbau aromatis. Ekstrak air rosella berwarna hitam kemerahan, berasa asam dan berbau aromatis. Berdasarkan hasil pemeriksaan fitokimia pada ekstrak etanol dan ekstrak air rosella menunjukkan hasil yang sama, yaitu positif mengandung senyawa saponin, flavonoid dan tanin (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Rosella

Golongan senyawa	Hasil analisis	a)	b)
Saponin	Busa stabil	+	+
Flavonoid	Merah Jingga	+	+
Tanin	+ FeCl ₃ = hijau kehitaman	+	+
	+ gelatin = endapan putih	+	+

Keterangan : + = positif, a) Ekstrak etanol, b) Ekstrak air

Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Rosella Terhadap *Streptococcus pneumoniae*.

Bakteri *S. pneumoniae* yang ditumbuhkan pada media agar darah dan di uji terhadap ekstrak etanol kelopak bunga rosella, ampisilin dan aquadest, membentuk zona hambat (Gambar 2) setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter daerah hambat ekstrak etanol rosella konsentrasi 30%,50% dan 70% lebih besar dari ampisilin 10 IU tercantum dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Difusi Ekstrak Etanol Rosella

Ulangan	Diameter Daerah Hambat (mm)					
	10%	30%	50%	70%	K (-)	K (+)
1	14	19	24	27	0	18
2	12	19	20	22	0	18
3	16	22	24	28	0	20
Total	42	60	68	77	0	56
Rata-rata	14 a	20 ab	22,6 ac	25,6 ac	0	18,7 a

Keterangan :

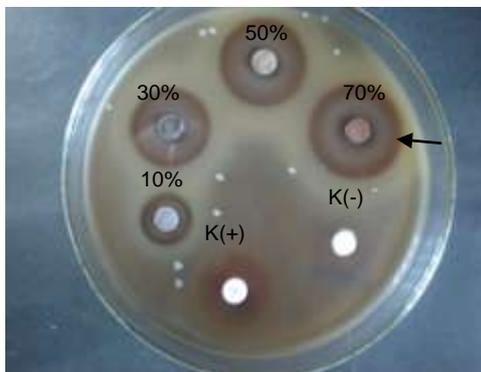
a= tidak berbeda nyata

K (-) : aquadest

b= berbeda nyata

K (+) : ampisilin 10 IU

c= sangat berbeda nyata



**Gambar 2. Diameter Daerah Hambat Ekstrak Etanol Rosella.
K+ : ampisilin 10 IU, K- : aquabidest**

Zona hambat ekstrak air rosella pada konsentrasi 70% (Gambar 3) paling luas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae* (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Uji Difusi Ekstrak Air Rosella

Ulangan	Diameter Daerah Hambat (mm)					
	10%	30%	50%	70%	K (-)	K(+)
1	17	22	23	25	0	18
2	18	21	22	23	0	18
3	16	20	21	25	0	20
Total	51	63	66	73	0	56
Rata-rata	17 a	21 ab	22 ac	24,3 ac	0	18,7 a

Keterangan :

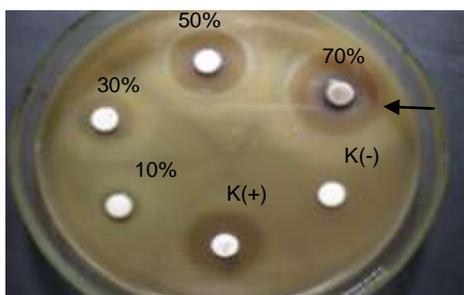
a= tidak berbeda nyata

K(-) : aquadest

b= berbeda nyata

K(+): ampisilin 10 IU

c= sangat berbeda nyata



Gambar 3. Diameter Daerah Hambat Ekstrak Air Rosella.

K+ : ampisilin 10 IU, K- : aquabidest

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

Berdasarkan hasil pengamatan ekstrak etanol dan air rosella pada difusi agar menunjukkan kualitas yang sama secara statistik, maka penentuan konsentrasi hambat minimum hanya dilakukan pada ekstrak etanol saja. Dari penelitian terhadap konsentrasi 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, dan 2% ekstrak etanol, pada konsentrasi 1% menunjukkan konsentrasi hambat minimum dalam menghambat bakteri *S. pneumonia*, yang ditandai dengan tidak kerunya media karena bakteri tidak tumbuh.

PEMBAHASAN

Penetapan kadar air simplisia rosella perlu dilakukan sebelum melakukan ekstraksi dengan tujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam suatu bahan. Karena air yang tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik (Depkes RI, 1997).

Hasil penetapan kadar air serbuk rosella diperoleh sebesar 13,02%. Kadar air ekstrak etanol sebesar 7,8% dan kadar air ekstrak air 22,75%. Hasil penetapan kadar abu serbuk rosella berdasarkan gravimetri diperoleh sebesar 5,92 %. Kadar abu ekstrak etanol rosella rata-rata sebesar 5,11% dan kadar abu ekstrak air rosella rata-rata sebesar 7,19%. Nilai kadar abu simplisia memberikan gambaran kandungan senyawa anorganik (mineral internal dan eksternal) yang terkandung dalam simplisia, baik yang berasal dari tanaman secara alami maupun kontaminan selama proses pembuatan simplisia.

Penetapan kadar abu yang tidak larut asam tujuannya adalah untuk mengetahui kandungan silika, batu, debu, gumpalan tanah yang berada dalam sampel yang harus dibuang. Penetapan kadar abu yang larut air dilakukan untuk mengetahui kandungan oksida-oksida yang larut dalam air. Hasil penelitian menunjukkan kandungan oksida yang larut dalam air, ekstrak etanol lebih besar dari ekstrak air rosella. Hasil penelitian juga menunjukkan kandungan oksida yang larut dalam asam, ekstrak etanol lebih besar dari ekstrak air rosella. Dengan demikian ekstrak etanol lebih baik dalam menarik oksida baik dalam pelarut air maupun dalam pelarut asam (Himawan, *dkk.* 2012).

Penetapan kadar senyawa yang larut dalam air dan kadar senyawa yang larut dalam etanol bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa yang dapat larut dalam air dan etanol (Depkes, RI 1997). Hasil yang diperoleh kandungan senyawa yang larut dalam air, ekstrak etanol lebih besar dari ekstrak air rosella. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol lebih baik dalam menarik senyawa yang terdapat pada rosella.

Berdasarkan hasil penelitian bunga rosella mengandung senyawa tanin, saponin dan flavonoid. Namun demikian ketiga senyawa tersebut perlu dilakukan

pemurnian senyawa (isolasi) lanjutan untuk diuji aktivitas antibakterinya terhadap *S. pneumonia*. Tanin terdapat dalam tumbuhan dapat bersifat sebagai antibakteri. Saponin juga dapat bersifat sebagai antibakteri. Mekanisme saponin merusak sel darah melalui interaksi antara bagian aktif dari senyawa saponin yaitu aglikon hidrofobik dengan lapisan lipid sehingga molekul saponin dapat memasuki membran. Peristiwa ini menyebabkan kebocoran pada dinding sel sehingga sel mengalami ketidakseimbangan ion dan mengalami lisis. Saponin diabsorpsi pada permukaan sel akan mengakibatkan terjadinya kerusakan dengan naiknya permeabilitas membran sel bakteri, sehingga bahan esensial yang dibutuhkan oleh bakteri untuk kelangsungan hidupnya akan hilang dalam hal ini akan menyebabkan kematian. Flavonoid secara sistemik bertindak sebagai imunostimulator yang dapat meningkatkan respon tubuh hospes terhadap parasit. Flavonoid yang bersifat lipofilik mungkin juga merusak membran mukosa, fenol sangat mudah diserap melalui jaringan. Secara sistemik, fenol merangsang susunan syaraf pusat dan menyebabkan kelumpuhan karena kejang otot. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang bersifat polar. Senyawa ini dapat bekerja sebagai antibakteri karena dapat mendenaturasi dan mengkoagulasi protein sel bakteri sehingga sel bakteri mati (Amininsih, dkk. 2012).

Sifat ekstrak bunga rosella yang dapat menimbulkan efek daya hambat terhadap pertumbuhan mikroorganisme, karena senyawa komponen aktif yang terkandung di dalamnya. Berdasarkan analisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), kemudian dianalisis lanjut menggunakan Uji Duncan dan LSR, menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol rosella maka efektivitas antibakterinya pun semakin kuat (Tabel 3). Data Tabel 3 dan Tabel 4 di analisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial pola 2x4x3 untuk mengetahui pengaruh kualitas dari ekstrak etanol dan ekstrak air rosella. Hasil analisis menunjukkan bahwa

ekstrak etanol dan ekstrak air rosella mempunyai efektifitas yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* ($P < 0,05$).

Penelitian berkelanjutan perlu dikembangkan seperti menguji senyawa tanin, saponin dan flavonoid ekstrak etanol dan ekstrak air bunga rosella langsung terhadap bakteri *Streptococcus pneumonia* menggunakan kromatografi, menguji aktifitasnya terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, menguji senyawa aktif lain seperti alkaloid dan steroid/terpenoid, sifat-sifat kimianya, sampai suatu produk herbal untuk mengobati saluran pernapasan.

KESIMPULAN

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosella mengandung senyawa tanin, saponin dan flavonoid. Efektivitas kedua ekstrak sama baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumonia*, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar efektifitasnya. KHM dicapai pada konsentrasi 1% (dari larutan induk 70g/100 ml).

DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo IE. 1991. *Fundamental of Microbiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Canada. 222.
- Aminingsih, T., Husain N., A.S. Rohman. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Heksana Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Dan Identifikasi Senyawa Organik Dengan Metode Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GC-MS). *Fitofarmaka*. 2 (1) :84-85.
- DepKes RI. 1997. *Kodeks Kosmetika Indonesia*. Direktorat Jendral Pengawas Obat Dan makanan. Jakarta. XLII-XLIX.
- Himawan, HC., Vinsensius S., Laura P. 2012. Karakterisasi Dan Identifikasi Komponen Kimia Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Sebagai Inhibitor Bakteri Patogen. *Fitofarmaka*. 2 (2) : 116-125.
- Mardiah, Sawarni, W Ashadi, dan A Rahayu. 2009. *Budidaya dan pengolahan rosella simerah segudang manfaat*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 23.
- Markham KR. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan Padmawinata, ITB. Bandung. 8-14.
- Prescott LM, JP Harley and DA.Klein. 1993. *Microbiology*. Wm.C. Brown Publishers, United State of America. 328.

- Rajendra CE., Gopal S. M., Maaboob A.N., YasodaS.V., Manjula M. 2011. Pytochemical Screening Of Te Rizome Of Kaempferia galanga. *International Journal of Parmacognosy and Pytochemical Research*, 3 (3) :61-63.
- Sunatmo TI. 2007. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Penerbit Ardy Agency, Jakarta. 144.