

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP *Streptococcus pyogenes* SECARA IN VITRO

Yoo Soo Ji, Nova Dian Lestari dan Tristia Rinanda

Abstrak. Penyakit infeksi merupakan penyebab utama kematian di dunia terutama di daerah tropis, seperti Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri *Streptococcus pyogenes*. Pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri menggunakan antibiotik banyak menimbulkan resistensi dan efek samping, sehingga saat ini dikembangkan fitofarmaka yang memiliki potensi tinggi sebagai antibiotik. Salah satu tanaman yang secara empiris banyak digunakan untuk pengobatan adalah Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol kelopak bunga Rosella terhadap *Streptococcus pyogenes*. Kelopak bunga Rosella diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 6 kelompok perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 20%, 30%, kontrol positif (Ampisilin 10 µg) dan kontrol negatif (akuades steril), dengan 4 kali pengulangan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga Rosella memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 30% terhadap *Streptococcus pyogenes* dengan diameter zona hambat rata-rata berturut-turut 7,13 mm, 8,4 mm, 10,2 mm, 13,3 mm. Hasil analisis data dengan menggunakan Analysis Of Variance (ANOVA) dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur/BNJ ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kelopak bunga Rosella memiliki aktivitas antibakteri yang nyata terhadap *Streptococcus pyogenes* dan semakin tinggi konsentrasi, semakin luas zona hambat yang terbentuk. (JKS 2012; 1: 31 - 36)

Kata kunci: *Hibiscus sabdariffa* L., aktivitas antibakteri, *Streptococcus pyogenes*

Abstract. Infectious diseases are the main cause of death in the world, especially in the tropics, such as Indonesia. One cause of disease is a bacterial infection by *Streptococcus pyogenes*. Treatment of diseases caused by bacterial infection using antibiotics cause a lot of resistance and side effects, so this requires a new product that has great potential as antibiotics. One of the many plants that are empirically used for treatment is Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). The aim of this study is to determine the antibacterial activity of Roselle calyx extract against *Streptococcus pyogenes*. Roselle calyx was extracted by ethanol 96% with maceration method. This study conducted by Completely Randomized Design consists of 6 treatment groups consists of extract with concentration 5%, 10%, 20%, 30%, positive control (Ampicillin 10 µg) and negative control (sterile aquades) with 4 times repetitions. Antibacterial test performed by Kirby-Bauer disk diffusion method. The ethanol extract of Roselle calyx with concentration of 5%, 10%, 20% and 30% showed antibacterial activity. The average inhibition zone respectively were 7,125 mm, 8,4 mm, 10,2 mm, 13,3 mm against *Streptococcus pyogenes*. The result of this study were analyzed by Analysis Of Variance (ANOVA) and followed by Honestly Significant Difference (HSD) Test ($p < 0,05$). The test showed that ethanol extract of Roselle calyx have a significant antibacterial activity against *Streptococcus pyogenes* and the higher concentration, the more extensive inhibition zone formed. (JKS 2012; 1: 31 - 36)

Keyword: *Hibiscus sabdariffa* L., antibacterial activity, *Streptococcus pyogenes*.

Yoo Soo Ji adalah Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala Banda Aceh, Nova Dian Lestari adalah Dosen Bagian Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala/RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh, Tristia Rinanda adalah Dosen Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala Banda Aceh

Pendahuluan

Infeksi adalah salah satu masalah kesehatan yang tidak pernah dapat diatasi secara tuntas.¹ Manusia termasuk salah satu makhluk yang paling rentan terhadap infeksi bakteri, salah satunya bakteri *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*). Bakteri ini merupakan mikroorganisme patogen yang memiliki kemampuan untuk menyebabkan berbagai penyakit seperti faringitis, impetigo, endokarditis, erisipelas, pioderma, demam purpura, *necrotizing fasciitis* dan *toxic shock syndrome*.² Berbagai infeksi ini dapat berlanjut pada penyakit seperti demamrematik dan glomerulonefritis akut.¹

Sekitar 9000-11500 kasus *S. pyogenes* yang invasif muncul setiap tahunnya dan mengakibatkan 1000-1800 kematian dari seluruh kasus yang muncul di Amerika Serikat.³ Di negara-negara berkembang termasuk Indonesia kasus infeksi oleh *S. pyogenes* masih menjadi masalah kesehatan penting.¹ Pengobatan terhadap infeksi *S. pyogenes* yang dilakukan selama ini adalah menggunakan antibiotik *ampicillin*, akan tetapi penggunaan antibiotik menghadapi permasalahan baru dengan ditemukannya galur bakteri yang resisten terhadap antibiotik.⁴ Selain itu efek samping yang ditimbulkan oleh antibiotik juga menjadi pertimbangan penting dalam penggunaannya. Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dibandingkan antibiotik. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada antibiotik.⁵

Obat tradisional dipakai secara luas di hampir seluruh negara di dunia. Negara-negara di Asia dan Amerika Latin menggunakan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer yang mereka terima. Bahkan di Afrika, sebanyak 80% dari populasi menggunakan obat tradisional untuk pengobatan primer.⁶ Indonesia mempunyai keragaman hayati yang sangat tinggi dan berada pada urutan terkaya kedua setelah Brazilia dan

memiliki kekayaan pengetahuan tradisional tentang pemanfaatan tumbuhan untuk pemeliharaan kesehatan dan pengobatan berbagai penyakit.⁷ Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.).

Rosella adalah sejenis perdu yang mudah ditanam. Tanaman ini merupakan anggota dari famili *Malvaceae*. Rosella dapat hidup dengan kondisi lahan, cuaca, serta suhu apapun, akan tetapi di setiap daerah yang berbeda akan menghasilkan warna yang berbeda pula.⁸ Setiap bagian tanaman rosella mempunyai kandungan senyawa kimia yang bermanfaat untuk pengobatan maupun sebagai bahan makanan.

Limyati dan Soegianto (2008) telah meneliti aktivitas metanol-air ekstrak bunga Rosella yang tumbuh di dataran Jawa Timur terhadap *S. pyogenes* dengan konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 10%, 20% dan 30% terhadap *S. pyogenes*. Dari penelitian tersebut diperoleh zona hambat dengan diameter 8,35 mm, 16,28 mm dan 19,3 mm.⁹

Etanol memiliki sifat yang tidak beracun selain itu etanol sulit ditumbuhi kapang¹⁰. Etanol merupakan semipolar yang sangat baik untuk menarik senyawa atau zat aktif.¹¹ Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) dengan menggunakan kelopak bunga Rosella yang tumbuh di Desa Tanoh Manyang, Kecamatan Teunom, Kabupaten Aceh Jaya dengan pelarut etanol 96% terhadap *S. pyogenes* secara *in vitro*.

Metodologi

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini terbagi atas 5 kelompok yaitu ekstrak etanol kelopak bunga Rosella dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, 30%, dan akuades sebagai kontrol negatif.

Bakteri *S. pyogenes* diambil dari isolat *S. pyogenes American Type Culture*

Collection (ATCC) 19615 di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin (RSUDZA).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kelopak bunga Rosella dilakukan dengan metode difusi agar *Kirby-Bauer*. Menurut EUCAST (2009), uji ini dilakukan menggunakan media MHA yang ditambah 5% darah manusia. Ekstrak etanol kelopak bunga Rosella dibuat dengan metode maserasi.

Pengujian ekstrak etanol kelopak bunga Rosella dilakukan dengan menggunakan cakram kosong (oxoid) berdiameter 5 mm. larutan yang telah diencerkan dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 30% masing-masing diteteskan pada permukaan cakram sebanyak 20 µl dan ditunggu beberapa saat hingga larutan berdifusi ke dalam cakram. Cakram diletakkan pada cawan petri yang telah diinokulasi dengan menggunakan pinset steril, kemudian cawan petri diinkubasikan pada suhu 35-37°C selama 16-20 jam.

Suspensi bakteri yang akan digunakan pada uji aktivitas antibakteri disiapkan dan

diukur kerapatan bakterinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm dan absorbansi 0,08-0,13 untuk mendapatkan standar kerapatan bakteri pada $1-2 \times 10^8$ CFU/ml.¹² Bakteri diinokulasikan ke media MHA yang sudah ditambah 5% darah manusia, dengan cara mencelupkan kapas lidi steril ke dalam inokulum. Kapas lidi lalu dilewatkan ke sekeliling pinggiran permukaan agar. Inokulum dibiarkan mengering selama beberapa menit pada suhu ruang. Zona bening yang terbentuk disekitar cakram diamati dan diukur dengan menggunakan jangka sorong. Setelah diukur, diklarifikasikan berdasarkan klarifikasi respon hambat menurut Greenwood. Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kelopak bunga Rosella terhadap *S. pyogenes* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Zona Hambat Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella terhadap Pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan

Perlakuan	X ± SD
Kontrol negatif	0,00 ^a ± 0,00
Ekstrak konsentrasi 5%	7,1 ^b ± 0,15
Ekstrak konsentrasi 10%	8,4 ^c ± 0,14
Ekstrak konsentrasi 20%	10,2 ^d ± 0,16
Ekstrak konsentrasi 30%	13,3 ^e ± 0,14

Berdasarkan hambatan pertumbuhan bakteri menurut Greenwood (1995), maka ekstrak etanol kelopak bunga Rosella dengan konsentrasi 30% dan 20% memiliki respon hambat pertumbuhan lemah, ekstrak etanol kelopak bunga Rosella dengan konsentrasi 10% dan 5% tidak memiliki respon hambat pada pertumbuhan bakteri *S. Pyogenes*.¹³ Meskipun demikian ekstrak etanol kelopak bunga Rosella dengan konsentrasi 20% dan 30% tetap dapat digunakan sebagai bahan antibakteri terhadap *S. pyogenes*.

Hal ini didasarkan pada standar umum yang dikeluarkan oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards/ NCCLS* (2002) yang disitasi dari Tambekar dan Dahikar (2010), yaitu bakteri dinyatakan peka terhadap antibakteri yang berasal dari tanaman apabila memiliki ukuran diameter daya hambat lebih dari 12 mm.¹⁴

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etanol kelopak bunga Rosella memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. pyogenes* Aktivitas

antibakteri tersebut diduga akibat adanya senyawa aktif pada kelopak bunga Rosella yang berfungsi sebagai antibakteri. Rosella mengandung beberapa senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri, diantaranya adalah alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin.¹⁵

Setyaningrum (2003) menyatakan bahwa alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.¹⁶ Tanin juga menyerang polipeptida dinding sel sehingga menyebabkan kerusakan. Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan hancurnya bakteri.¹⁷

Flavonoid telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Flavonoid memiliki banyak struktur, dan diantara struktur-struktur tersebut, yang memiliki aktivitas antibakteri adalah *apigenin*, *galangin*, *pinocembrin*, *ponciretin*, *genkwanin*, *sophoraflavanon G* dan turunannya, *naringin* dan *naringenin*, *epigallocatechin gallate* dan turunannya, *luteolin* dan *luteolin 7-glucoside*, *quercetin*, *3-O-methylquercetin* dan beragam *glycoside quercetin*, *kaempferol* dan turunannya dan *flavones* lainnya seperti *flavone glycosides*, *isoflavones*, *flavonols*, *flavonol glyosides* dan *chalcones*. Flavonoid dengan struktur antibakterinya diketahui memiliki target sel yang multipel dan bukan hanya memiliki satu aksi target yang spesifik.¹⁸

Bentuk umum dari ciri struktural ini dibutuhkan agar flavonoid dapat dengan mudah mendekat dan masuk ke dalam sel bakteri.¹⁹ Penelitian yang dilakukan oleh Osawa *et al.*, (1992) menunjukkan bahwa *5-hydroxyflavanones* dan *5-hydroxyisoflavanones* dengan tambahan satu, dua atau tiga gugus hidroksil pada posisi 7, 2 dan 4 menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus*.²⁰ Cushnie dan

Lamb (2005) menyimpulkan dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan oleh Kono *et al.*, (1995), Kushnie, Hamilton dan Lamb (2003), Stapleton *et al.*, (2004) bahwa flavonoid bersifat bakterisidal karena flavonoid tidak membunuh sel bakteri tetapi menghambat agregasi bakteri dan mengurangi angka *Colony Forming Units* (CFU). Flavonoid memiliki efek antibakteri karena dapat menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sitoplasma dan metabolisme energi bakteri.¹⁹ Pada penelitian yang dilakukan oleh Mori *et al.* menunjukkan bahwa flavonoid menghambat sintesis DNA dan RNA pada Gram positif.²¹

Kelopak bunga Rosella mengandung *quercetin* dan catechin.²² Quercetin adalah salah satu turunan dari struktur flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu *flavonols*. Quercetin dapat mengganggu aktivitas DNA *gyrase* bakteri dengan cara berikatan dengan GyrB dari DNA *gyrase* bakteri dan menghambat aktivitas enzim ATPase.²³ Catechin adalah grup flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat terhadap bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif. Catechin dapat mengganggu lapisan lemak yang secara langsung menembus dan mengganggu fungsi lapisan sawar membran. Catechin juga dapat menyebabkan fusi membran, sebuah proses yang dapat mengakibatkan kebocoran material intramembran dan agregasi.²⁴

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga Rosella memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 30% terhadap *Streptococcus pyogenes* dengan diameter zona hambat rata-rata berturut-turut 7,13 mm, 8,4 mm, 10,2 mm, 13,3 mm. Dari hasil juga diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella, maka semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan.

Daftar Pustaka

1. Muhaimin, M; Liang, O.B; Ratnaningsih, E; Purwantini, E and Retnoningrum, D.S. 2003. Optimasi Proses Overproduksi, Pemurnian dan Karakterisasi Protein Mga Sebagai Molekul Target Untuk Pencegahan Infeksi Oleh *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Matematika dan Sains*. 8 (3): 117-123.
2. Todar, K . 2011. *Streptococcus pyogenes*. Todar's Online Textbook of Bacteriology. <http://textbookofbacteriology.net/streptococcus.html> [diakses pada tanggal 10 November 2011].
3. Centers for Disease Control and Prevention, 2008. Group A Streptococcal (GAS) Disease. http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/groupastreptococcal_g.htm#What_is_group_A_strep [diakses pada tanggal 20 Oktober 2011].
4. Ergin, C; Ulker; Ahmet; Erdal, D.A; Ince., 2003. Antibiotic Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* Strains Isolated from throat cultures of children with Tonsillopharyngitis. *Journal of Ankara Medical School*. 25 (1): 15-20.
5. Lusia, R. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3 (1): 2.
6. World Health Organization. 2011. Traditional Medicine. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/> [diakses pada tanggal 11 Oktober 2011].
7. Depkes RI. 2007. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI p. 6, 9.
8. Wahida. 2011. Cara Hidup Tanaman Rosella. <http://www.Rosella-online.net> [diakses pada tanggal 20 oktober 2011].
9. Limyati, D.A dan Soegianto L. 2008. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Obat Bahan Alam*. 7 (1): 47-53.
10. Ramadhan, A.E, dan Phaza, H.A. 2010. Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu, dan Jumlah Stage pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Secara Batch. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
11. Virganita, J. 2009. Uji Antibakteri Komponen Bioaktif Daun Lobak (*Raphanus sativus* L.) terhadap *Escherichia coli* dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.
12. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST Disk Diffusion Method. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Disk_method_description_v1.0.pdf [diakses pada tanggal 25 September 2011].
13. Greenwood, D. 1995. *Antibiotics, Susceptibility (Sensitivity) Test Antimicrobial and Chemoterapy*. USA: Mc. Graw Hill Company. p. 47.
14. Tambekar, D.H dan Dahikar, S.B. 2010. Exploring antibacterial potential of some ayurvedic preparations to control. *Journal of Chemical Pharmaceutical Research*. 2 (5): 494-501.
15. Okasha, M.A.M; Abubakar, M.S and Bako, I.G. 2008. Study of the Effect of Aqueous *Hibiscus Sabdariffa* Linn Seed Extract on Serum Prolactin Level of Lactating Female Albino Rats. *European Journal of Scientific Research*. 4: 575-583.
16. Setyaningrum, G. 2005. Aktivitas Antidiabetes Eskrak Air dan Etanol Daun Kaca Piring (*Gardenia jasminoides ellis*) . *Tesis*: Institut Teknologi Bandung.
17. Soetan, K.O; Oyekunle, M.A; Aiyelaagbe, O.O dan Fafunso, M.A.

2006. Evaluation of antimicrobial activity of saponins extract *Sorghum Bicolor* L. Moench. *African journal of Biotechnology*. 5 (23): 2405-2407.
18. Cushnie, TPT; Hamilton, VES and Lamb, AJ. 2003. Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol Res*. 158: 281–289.
19. Cushnie, T.P.T and Lamb, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. 2005. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 26: 343–356.
20. Osawa, K; Yasuda, H; Maruyama, T; Morita, H; Takeya, K and Itokawa, H. 1992. Isoflavanones from the heartwood of *Swartzia polyphylla* and their antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Chem Pharm*. 40: 2970–2974.
21. Mori, A; Nishino, C; Enoki, N and Tawata, S. 1987. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 26: 2231–2234.
22. Desmiaty, Y dan Alatas, F. 2008. Determination of quercetin in *Hibiscus Sabdariffa* L. calyx by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Proceeding of The International Seminar on Chemistry*. Jatinagor. p. 385-388.
23. Ohemeng, KA; Schwender, CF; Fu, KP and Barrett, JF. 1993. DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones (1). *Bioorg Med Chem Lett*. 3: 225–230.
24. Ikigai, H; Nakae, T; Hara, Y and Shimamura, T. 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim Biophys Acta*. 1147: 132–136.