


**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA INFUSUM BUNGA ROSELLA
(*Hibiscus sabdariffa*. L) DENGAN METODE DIFUSI AGAR**

Anna Yuliana,
Prodi Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

ABSTRAK

Uji aktivitas antimikroba infusum bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) terhadap *Staphylococcus aureus* ATTC 29231 dan *Candida albicans* ATTC 10231 telah dilaksanakan dengan metode difusi agar teknik perforasi. Infusum bunga Rosella dibuat dengan cara mencampurkan bunga rosella kering dengan aquadest dengan perbandingan (1:1) dan dipanaskan sampai suhu 90⁰ C selama 30 menit. Infusum dibuat beberapa konsentrasi yaitu 100% b/v lalu diencerkan menjadi 25, 20, 15, 10 dan 5% v/v. Hasil penapisan fitokimia infusum bunga rosella menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Pada konsentrasi infusum Rosella yang digunakan, aktivitas antimikroba ditunjukkan terhadap *Staphylococcus aureus*, namun  tidak terhadap *Candida albicans*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sediaan infusum bunga rosella terhadap *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan jumlah bakteri 1,4 x 10⁶ CFU/ml, adalah 2% v/v. Pada uji kesetaraan, konsentrasi 25% v/v infusum bunga rosella mempunyai aktivitas antimikroba yang setara dengan konsentrasi baku Tetrasiklin HCl 18,62 µg/ml.

Kata kunci : Antimikroba, Infusum bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Candida albicans* ATTC 10231, Metode difusi agar, Tetrasiklin HCl

ABSTRACT

Antimicrobial activity of the infusum of Rosella flower (*Hibiscus sabdariffa L*) against *Staphylococcus aureus* ATTC 2923 and *Candida albicans* ATTC 10231 using agar diffusion perforation methode has been done. Infusum of Rosella flower made by mixing dry Rosella flower by aquadest with the comparison (1:1)b/v and heated until temperature 90⁰C during 30 minute. Infusum was prepared in several concentration that ware 100% b/v and then diluted to 25, 20, 15, 10 and 5% v/ v. The result of phytochemical screening to Rosella flower infusum was found some compounds alkaloids, saponin, flavonoid, polifenol, monoterpenoid & Sesquiterpenoid. Used the concentration Rosella flower infusum the antimicrobial activity was positif to *Staphylococcus aureus*, but not to *Candida albicans*.The Minimun Inhibitori Concentration (MIC) of flowerRosella infusum *Staphylococcus aureus* with the density of 1,4 x 10⁶ CFU/mL, was 2% v/v. Equivalence test for use concentration 25% v/v Rosella flower infusum was equivalent concentration of Tetracyclin HCl 18,62 μ g / mL.

Key word : Antimicrobial, infusum of Rosella flower (*Hibiscus sabdariffa L*), *Staphylococcus aureus* ATTC 2923, *Candida albicans* ATTC 10231, agar diffusion perforation methode, Tetracyclin HCl

PENDAHULUAN

Sudah sejak lama obat tradisional dikenal diseluruh dunia dan termasuk di Indonesia. Masyarakat Indonesia telah lama menggunakan obat tradisional berupa tanaman atau bahan alam. Obat tradisional banyak diminati masyarakat untuk menjaga kesehatan atau mencegah penyakit karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan obat sintetik. Khusus di Indonesia karena alamnya memiliki tumbuhan yang beraneka ragam, maka obat tradisional banyak menggunakan bahan dari tumbuhan yang kemudian diramu secara tradisional dan penggunaan serta pemanfaatannya diperoleh berdasarkan pengalaman. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang semakin pesat dan canggih ternyata tidak mampu menggeser peran obat tradisional. Selama ini tidak kita sadari bahwa beberapa bahan dapur untuk memasak dan tanaman hias halaman rumah ternyata dapat dipergunakan dan berkhasiat mengobati penyakit (Badan POM, 2004).

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang umum menyerang masyarakat di negara berkembang termasuk Indonesia. Sistem sanitasi yang kurang baik merupakan salah satu penyebab terjangkitnya penyakit infeksi. Berbagai obat anti-infeksi seperti antibiotika merupakan salah satu kelompok anti-infeksi yang banyak dipilih. Timbulnya

resistensi telah menyebabkan salah satu kelompok anitibiotik tertentu tidak lagi digunakan dalam terapi, disisi lain harga antibiotik yang mahal menyebabkan masyarakat kalangan ekonomi lemah tidak mampu membelinya, sehingga penggunaan berbagai tumbuhan dalam pengobatan penyakit infeksi dapat menjadi pilihan bagi masyarakat Indonesia. Tumbuhan suku Malvaceae, diantaranya seperti *Hisbiscus sabdariffa* L, *Hibiscus acetocella* dan *Hibiscus surattensis* bisa digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit infeksi seperti bisul, jerawat, kurap, panu, keputihan, kencing nanah, mencret, disentri dan sebagainya (Suganda, 2005).

Rosella (*Hisbiscus sabdariffa* L.) termasuk salah satu anggota famili Malvaceae yang memiliki bunga berwarna merah tua atau gelap, dengan kelopak bunga yang lebih tebal dibandingkan kembang sepatu. Batang rosella dikenal sebagai bahan dasar pembuatan karung goni, kini rosella "naik derajat". Seluruh bagian tanamannya bisa dimanfaatkan, bahkan bunganya berkhasiat (www.tabloidnova.com, 2007).¹

Di masyarakat pemanfaatan bunga rosella sebagai air seduhan mempunyai khasiat bagi kesehatan disebabkan berbagai komponen

¹ www.tabloidnova.com, 2007, *Rosella Si Serba Guna* [Diakses tanggal 23 November 2007]

yang terkandung di dalamnya dan sebagai ciri khas rosella yaitu kaya akan vitamin C dan antioksidan. Serta beberapa komponen rosella lainnya yang mempunyai khasiat sebagai antibiotik pembunuh kuman-kuman penyebab penyakit serta penyaring racun dalam tubuh. Rosella juga mempunyai efek anti infeksi bakteri dan membantu proses pencernaan. Mencegah peradangan pada saluran kencing dan menghambat pertumbuhan jamur atau bakteri yang menyebabkan panas tinggi (arez.kusuma@gmail.com, 2007)².

Sesuai kebiasaan masyarakat yang menggunakan rosella sebagai air seduhan yang dipercaya untuk pengobatan berdasarkan pengalaman, yang salah satunya mempunyai khasiat sebagai antibiotik pembunuh kuman-kuman penyebab penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur. Maka dalam kesempatan ini penelitian dilakukan untuk mengetahui daya hambat antimikroba bunga rosella terhadap mikroba *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Simplisia : Sampel berupa simplisia bunga rosella yang digunakan berasal dari perkebunan PT. Tani Putu Bogal, Jawa Timur. **Mikroba uji** : Mikroba uji yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dan *Candida albicans* ATCC 10231 yang diperoleh dari Balai Pengembangan Laboratorium Kesehatan (BPLK) Bandung. **Media perbenihan** : Media perbenihan bakteri yang digunakan adalah Mueller-Hinton (Oxoid) seri CM0337. Media perbenihan jamur adalah Saboroud Dextrose Agar (Oxoid) seri CM0041. **Bahan pembanding** : pembanding aktivitas antimikroba digunakan bahan baku Tetrasiklin HCl (produksi Kimia Farma). **Bahan kimia** : NaCl fisiologis, BaCl dan H₂SO₄.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : timbangan analitik (Mettler toledo), panci (bima), tabung reaksi (Pyrex), cawan petri (Pyrex), beaker glass (Pyrex), perforator, batang pengaduk, autoklaf (Hirayama), mikropipet, tip, inkubator (Sakura), oven (Sakura), pisau, erlenmeyer (Pyrex), kawat ose bulat, pipet volum (Pyrex), pipet tetes, rak tabung, gelas ukur (Pyrex), penangas air, api spirtus, lemari es, jangka sorong.

² <http://en.wikipedia.org/>, arez.kusuma@gmail.com.
Sisi Lain Kehidupan [Diakses tanggal 23 November 2007]

Uji Aktivitas Antimikroba Sediaan Infusum Bunga rosella

Penyiapan Alat dan Bahan : Alat-alat dan bahan untuk pengujian aktivitas antimikroba seperti cawan petri, tabung reaksi, pipet volum, beaker glass, disterilkan dalam oven dengan suhu 160-170⁰C selama 2-3 jam, sedangkan untuk tip, media agar cair dan sediaan infusum disterilkan dalam utoklaf dengan suhu 121⁰C selama 15 menit.

Pembuatan Media Perbenihan : Cara pembuatan media Mueller-Hinton (Oxoid) seri CM0337 yaitu Mueller-Hinton sebanyak 38 gram ditimbang masukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 1 liter aquadest, kemudian dipanaskan sampai larut sambil di aduk (larutan jernih). Tutup mulut Erlenmeyer dengan kapas berlemak kemudian disterilkan.

Cara pembuatan media Saboroud Dextrose Agar (Oxoid) CM0041 sebanyak 65 gram ditimbang masukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 1 liter aquadest, kemudian dipanaskan sampai larut sambil di aduk (larutan jernih). Tutup mulut Erlenmeyer dengan kapas berlemak

Penyediaan Suspensi mikroba uji : Sebelum pembuatan suspensi mikroba uji terlebih dahulu perlu dibuat standar kekeruhan bakteri yang setara dengan Mc Farland 1 yaitu dengan cara mencampur 9,9

ml H₂SO₄ 1% v/v dan 0,1 ml BaCl₂ 1% b/v. Disediakan 1 tabung reaksi yang bersih dan steril untuk diisi dengan 10 ml NaCl 0,85% steril. Suspensi dibuat dari koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*, masing-masing mikroba uji diambil beberapa koloni menggunakan ose bulat, yang kemudian dicampurkan sampai kekeruhannya sama dengan Mc Farland 1 yang diukur secara visual. Kemudian diambil 5 ml NaCl 0,85% yang di tambah koloni untuk dimasukkan kedalam tabung yang lain yang sudah dimasukkan 5 ml NaCl 0,85% , sehingga didapat Mc Farland 0,5 dengan kepadatan 0,5 x 10⁸ (Koneman, E. W., 1979; Bonang G & Enggar S. K., 1982; Mahon C.R., and George M, 1995).

Pengujian Aktivitas Antimikroba : Aktivitas antimikroba infusum bunga rosella dengan menggunakan metode difusi agar dengan teknik perforasi. Sebanyak 0,2 ml suspensi mikroba uji *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* masing-masing dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian ditambahkan 15 ml Mueller-Hinton yang masih cair dengan suhu 45-50⁰C untuk *Staphylococcus aureus* dan 15 ml Saboroud Dextrose Agar yang masih cair dengan suhu 45-50⁰C untuk *Candida albicans*, dihomogenkan sampai memadat. Setelah memadat dibuat lubang-lubang dengan alat perforator. Kedalam lubang-lubang tersebut

dimasukkan 50 µl infusum bunga rosella dengan variasi konsentrasi 100% b/v, 25% v/v, 20% v/v, 15% v/v, 10% v/v dan 5% v/v, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antimikroba di tunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling lubang.

Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum dan Kesetaraan Dengan Baku

Pembaning : Penetapan konsentrasi hambat minimum (KHM) bertujuan untuk mengetahui kadar minimum suatu sediaan yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Metode yang digunakan adalah metode difusi agar dengan tehnik perforasi dengan menggunakan berbagai tingkat konsentrasi infusum. Selain menetapkan konsentrasi hambat minimum, juga dilakukan penentuan kesetaraan sediaan untuk aktivitas antimikrobanya dengan suatu baku pembanding (Tetrasiklin HCl) diperoleh dengan membandingkan respon berupa hambatan pertumbuhan bakteri dari sediaan terhadap respon dari baku pembanding (Tetrasiklin HCl) pada kondisi yang sama.

Hasil dari pengamatan dibuat kurva baku dengan data logaritma konsentrasi pada sumbu x dan diameter hambat (mm) pada sumbu y. Kurva digunakan untuk menghitung konsentrasi sediaan yang memiliki aktivitas antimikroba dengan cara

menarik garis lurus yang memotong kurva baku dari diameter hasil pengamatan sehingga diperoleh harga logaritma konsentrasi dan selanjutnya dapat dihitung konsentrasi sebenarnya dari infusum bunga rosella.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Infusum : Simplisia dibuat sediaan infusum yang cara pengerjaannya dilakukan berdasarkan Farmakope Indonesia Jilid IV. Sebanyak 500 g simplisia bunga rosella dibuat sediaan infusum dengan menggunakan pelarut air steril sebanyak 500 ml dan didapat hasilnya sebanyak 50 ml infusum sebagai larutan stok. Konsentrasi dari 50 ml larutan stok tersebut adalah 100 %.

Uji Aktivitas Antimikroba Infusum Bunga Rosella

Hasil uji aktivitas antimikroba sediaan infusum bunga rosella dengan konsentrasi 5% v/v, 10% v/v, 15% v/v, 20% v/v, 25% v/v dan 100% b/v terhadap baktei uji *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dan *Candida albicans* ATTC 10231 dengan metode difusi agar tehnik perforasi dapat dilihat pada table 1.

Table 1 Hasil uji aktivitas antimikroba infusum bunga rosella dan Tetrasiklin HCl dengan metode difusi agar terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dengan kepadatan jumlah bakteri $0,5 \times 10^8$.

Konsentrasi	Diameter hambat (mm)	
	SA	CA
100% b/v	24,09	-
25% v/v	15,02	-
20% v/v	13,03	-
15% v/v	12,02	-
10% v/v	8,44	-
5% v/v	6,19	-
Aquadest (-)	-	
Tetrasiklin HCl 30 µg/ml (+)	18,18	

Keterangan :

- SA = *Staphylococcus aureus*
- CA = *Candida albicans*
- Diameter zona hambat sudah dikurangi diameter lubang 8 mm.

Dari data tabel 1 hasil penetapan diameter hambat sediaan infusum bunga rosella dapat diketahui bahwa sediaan infusum bunga rosella dengan konsentrasi 25%, 20%, 15%, 10% dan 5% memberikan diameter hambat. Dari hasil tersebut juga dapat diketahui bahwa diantara kedua mikroba uji yang digunakan, ternyata *Staphylococcus aureus* peka terhadap sediaan infusum bunga rosella hal ini dapat dilihat dari diameter hambatnya.

Apabila melihat data hasil yang diperoleh, semakin besar konsentrasi infusum bunga rosella maka semakin besar pula diameter hambat yang terbentuk. Hal tersebut menunjukkan semakin tinggi konsentrasi infusum bunga rosella, maka semakin kuat penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan dalam simlisia bunga rosella mengandung zat aktif diantaranya flavonoid, alkaloid dan saponin. Senyawa flavonoid salah satu zat aktif bunga rosella yang diduga mempunyai aktivitas antimikroba, yaitu berkhasiat sebagai antibiotik pembunuh kuman-kuman penyebab penyakit serta penyaring racun dalam tubuh terutama infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut sudah dapat dibuktikan pada hasil penelitian dengan terbentuknya zona diameter hambat.

Tetapi untuk jamur *Candida albicans* sediaan infusum bunga rosella tidak memberikan diameter hambat ini terjadi karena infusum bunga rosella kurang bereksistensi terhadap *Candida albicans*, hal ini dapat dilihat dari diameter hambat yang didapat tidak memberikan hasil yang maksimal. Dengan tidak bermaksud menyalahkan atas kebiasaan masyarakat bahwa dalam pengobatan tradisional, bunga rosella dipergunakan sebagai pengobatan antijamur. Maka dalam penelitian ini

diperkirakan tidak diperolehnya zona diameter hambat karena kurangnya konsentrasi dari infusum bunga rosella yang dibuat sehingga perlu ditingkatkan konsentrasinya atau perlu diberikan dalam bentuk sediaan lain dengan menggunakan pelarut lain yang lebih dapat menarik senyawa-senyawa berkhasiat sebagai antimikroba dari bunga rosella hingga diperoleh zona diameter hambat terhadap *Candida albicans*. Untuk itu perlu dilakukannya uji lanjutan terhadap jamur *Candida albicans*.

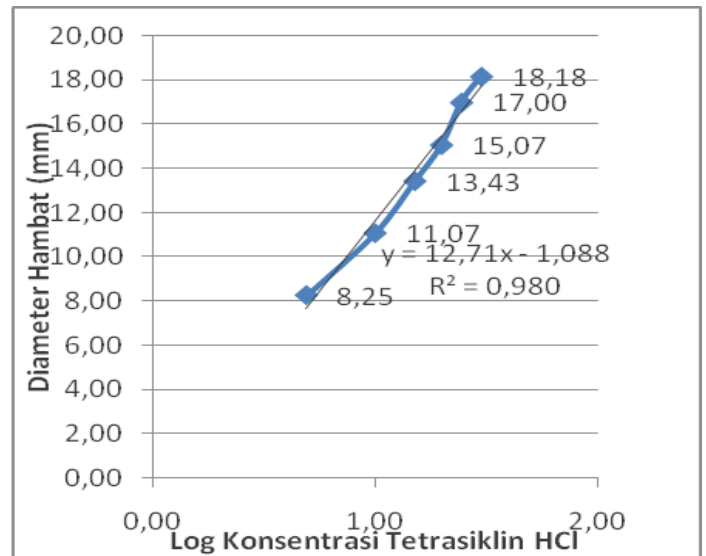
Penetapan Kesetaraan Baku Pemanding

Tabel 2 Hasil penetapan kesetaraan diameter hambat Tetrasiklin HCl dengan metode difusi agar terhadap *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan jumlah bakteri $0,5 \times 10^8$.

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Log konsentrasi	Diameter hambat (mm)
30	1,48	18,18
25	1,39	17,00
20	1,30	15,07
15	1,18	13,43
10	1	11,07
5	0,69	8,25

Keterangan : diameter zona hambat sudah dikurangi diameter lubang 8 mm.

Grafik 1 Grafik log konsentrasi Tetrasiklin HCl terhadap diameter hambat *Staphylococcus aureus*.



Nilai banding sediaan infusum bunga rosella terhadap baku pemanding Tetrasiklin HCl dihitung menggunakan persamaan pada kurva baku Tetrasiklin HCl. Dari data pada tabel 2 pada konsentrasi 25% v/v, diameter hambat larutan yang mengandung sediaan infusum bunga rosella terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dapat dihitung nilai $x = 1,27$ dan antilog $x = 18,62$. Jadi dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 25% larutan sabun yang mengandung sediaan infusum bunga rosella mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* yang setara dengan konsentrasi baku Tetrasiklin HCl = 18,62 $\mu\text{g/ml}$.

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, folipenol, flavonoid Monoterpenoid & Seskuiterpenoid.

Infusum bunga Rosella mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATTC 29231 dengan kepadatan jumlah bakteri $1,4 \times 10^6$ CFU/mL. Dengan Konsentrasi Hambat Minimum infusum bunga Rosella terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 2%. Kesetaraan nilai banding pada konsentrasi 25% infusum bunga Rosella mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* yang setara dengan konsentrasi baku Tetrasiklin HCl = 18,62 µg/mL.

Untuk diameter hambat terhadap *Candida albicans* ATTC 10231 pada rentang konsentrasi yang dibuat tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikroba, ini disebabkan karena kurangnya konsentrasi dari infusum bunga Rosella terhadap *Candida albicans* sehingga belum adanya hasil aktivitas antimikroba yang maksimal

Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut, antara lain : Uji aktivitas antimikroba bunga Rosella dengan metode pembuatan sediaan uji yang lain

dengan konsentrasi tinggi, dan terhadap mikroba lainya. Penentuan daya hambat untuk menentukan konsentrasi pemakaian. Isolasi senyawa dari bunga Rosella yang mempunyai aktivitas antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan POM. 2004. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Bandung: Balai Besar Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Bibiana W. Lay. 1994. Analisis Mikroba Di Laboratorium. PT Raja Jakarta
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia* (MMI). jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Inonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2006. *Daftar Komoditi Binaan Direktorat Jendral Perkebunan Berdasarkan Keputusan Menti No. 511/KPTS/PD.310/9/2006*. <http://en.wikipedia.org/> . [Diakses tanggal 23 November 2007].
- Ernest Jawet, J. L. Melnick dan Edward A Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Buku 1. Jakarta
- Ernest Jawet, J. L. Melnick dan Edward A Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Buku 2. Jakarta
- Ganiswara Sulistia. G. 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia
- Gerard Bonang dan Endang Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta

- Harbon, J. B. 1996. *Metode Fitokimia*. Terbitan kedua. ITB: Bandung
- Heyne. K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Badan Litbang Kehutanan: Jakarta
- Loebis A.Th. 1970. *Pengantar Bercocok Tanam Rosella* : Jakarta
- Morton J, 1987, *Fruits of warm climates.*, Miami, FL. Halaman: 281–286. <http://en.wikipedia.org/html.roselle> . [Diakses tanggal 23 November 2007].
- Soemarno, 1987. *Penuntun Praktikum Bacteriologi* :Yogyakarta.
- Suganda, A. G, Sukandar, E. Y, Catarina, E. 2005. *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Beberapa Tumbuhan Suku Malvaceae*. Acta Pharm. Indon. Vol XXX. Bandung: Departemen Farmasi FMIPA ITB
- Suprihatin, S.D. 1983. *Candida Sebagai Penyebab Keputihan*. Bagian Parasitologi. FKUI. Salemba 6 : Jakarta
- Syukur C. 2005. *Pembibitan Tanaman Obat* : Jakarta
- Wattimena Joke, R. 1999. *Farmakodinami Dan Terapi Antibiotik*. Yogyakarta: Gadjah Mada Univesity Press
- Winarti S. 2006. Tekno Pangan “*Minuman Kesehatan*”: Jakarta
- W. Hariyono dan W. Noroyono. *Peran Imunitas Selular Lokal Pada Kandikonsentrasi Vulvovagina Rekurens (Review Article)*. <http://www.sinarharapan.co.id>. Bagian Obstetri dan Ginekologi FKUI: Jakarta [Diakses tanggal 24 Februari 2008]

