

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSAN KELOPAK  
ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* Linn) TERHADAP  
*Propionibacterium acne* SENSITIF, *Escherichia coli*, DAN  
*Staphylococcus aureus* MULTIRESISTEN**

**MAKALAH**



Oleh:

**MUHAMMAD ALI FATURROHMAN  
K 100 060 112**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2012**

## **PENGESAHAN MAKALAH**

### **AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSAN KELOPAK ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* Linn) TERHADAP *Propionibacterium acne* SENSITIF, *Escherichia coli*, DAN *Staphylococcus aureus* MULTIRESISTEN**

Oleh :

**MUHAMMAD ALI FATURROHMAN  
K 100 060 112**



Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari :  
Tanggal :

Pembimbing Utama

(Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt.)

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSAN KELOPAK ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* Linn) TERHADAP *Propionibacterium acne* SENSITIF, *Escherichia coli*, DAN *Staphylococcus aureus* MULTIRESISTEN**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY ASSAY OF N-HEKSAN EXTRACT OF ROSELLA CALYX (*Hibiscus sabdariffa* Linn) AGAINST *Propionibacterium acne* SENSITIVE, *Staphylococcus aureus*, AND *Escherichia coli* MULTIRESISTEN**

**Muhammad Ali Faturrohman dan Peni Indrayudha**  
*Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta*

**ABSTRAK**

Kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Ekstrak etanol, etil asetat, dan air kelopak rosella terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap *Propionibacterium acne* sensitif, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* multiresisten serta dilakukan uji kualitatif mengetahui golongan senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri.

Ekstrak n-heksan kelopak rosella diperoleh dengan metode maserasi bertingkat. Ekstrak tersebut diuji aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acne* sensitif antibiotik, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik dengan metode dilusi padat. Konsentrasi ekstrak yang diuji adalah 8% b/v, 4% b/v, 2% b/v, 1% b/v, 0,5% b/v, dan 0,25% b/v. Kandungan kimia dianalisis secara kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) sampai konsentrasi 8% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acne*, *S. aureus*, dan *E. coli*. Identifikasi senyawa menggunakan Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kelopak rosella tidak mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid.

**Kata kunci :** *Hibiscus sabdariffa* Linn, *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibakteri.

**ABSTRACT**

*Calyx roselle (Hibiscus sabdariffa Linn) is a plant that can be used as an antibacterial. Ethano, ethyl acetate, and water from extract rosella calyx shown an antibacterial activity. This study aims to test the antibacterial activity of n-hexane extracts of calyx roselle (Hibiscus sabdariffa Linn) against sensitive Propionibacterium acne, Staphylococcus aureus, and Escherichia coli multiresisten and performed a qualitative test to know which classes of active compounds have antibacterial activity.*

*N-hexane extract of roselle calyx obtained by the method of multilevel maceration. The extract was tested antibacterial activity against Propionibacterium acne antibiotic sensitive, Staphylococcus aureus, and Escherichia coli antibiotics multiresisten with solid dilution method. Extract concentrations tested were 8% w / v, 4% w / v, 2% w / v, 1% w / v, 0.5% w / v, and 0.25% w / v. Chemical constituents were analyzed qualitatively using thin layer chromatography method.*

*The results showed that n-hexane extracts of roselle calyx (Hibiscus sabdariffa Linn) to the concentration of 8% did not have antibacterial activity against bacteria P. acne, S. aureus, and E. coli. Identification of compounds using Thin Layer Chromatography showed that n-hexane extract of roselle calyx does not contain flavonoids, saponins, and alkaloids.*

**Key words:** *Hibiscus sabdariffa* Linn, *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Antibacterial*.

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur merupakan masalah yang masih sulit diatasi, karena bakteri dan jamur lebih dapat bertahan hidup dalam lingkungan yang kurang menguntungkan dibanding jasad renik lainnya. Perkembangan infeksi bakteri dan jamur di negara tropis seperti Indonesia yang memiliki suhu dan kelembaban yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri merupakan masalah yang masih sulit diatasi (Mulyani, 1989).

Bakteri yang sering menimbulkan infeksi pada manusia antara lain adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Propionibacterium acne*. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menghancurkan darah dan plasma, pembentukan abses, infeksi piogenik, sampai sepsis yang fatal. Bakteri ini cepat menjadi resisten terhadap banyak zat antijasad renik dan menyebabkan masalah pengobatan yang sulit (Jawetz, et al., 1991).

*Escherichia coli* adalah bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan. *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi pada traktus urinarius, juga dapat menyebabkan meningitis pada bayi prematur dan neonatal. Strain entero patogenik *Escherichia coli* sering menyebabkan diare akut pada anak-anak di bawah umur 2 tahun (Salle, 1961).

*Propionibacterium acne* merupakan bakteri penyebab jerawat. Jerawat merupakan penyakit kulit yang menyerang pilosebacea yaitu bagian kelenjar sebacea dan folikel rambut. Pembentukan jerawat terjadi karena penyumbatan folikel oleh sel-sel kulit mati, sebum, dan peradangan yang disebabkan oleh *Propionibacterium acne* pada folikel sebacea (West, et al., 2005).

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang memiliki keanekaragaman flora. Indonesia memiliki ribuan jenis tumbuhan yang harus dilestarikan dan dimanfaatkan dengan baik. Sebagian besar tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tanaman obat adalah tanaman yang berupa daun, batang, buah, bunga dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat tradisional (Amzu dan Haryanto, 1990). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tanaman rosela (Herti dan Lusi, 2008).

Berdasarkan penelitian terbukti bahwa kelopak bunga rosela mempunyai efek antihipertensi, mengobati kram otot, dan

antiinfeksi bakteri. Dalam eksperimen ditemukan juga bahwa ekstrak kelopak bunga Rosela mengurangi efek alkohol pada tubuh, mencegah pembentukan batu ginjal, dan memperlambat pertumbuhan jamur/bakteri/parasit penyebab demam tinggi. Daun atau kelopak bunga rosela berkhasiat sebagai peluruh kencing dan merangsang keluarnya empedu dari hati, menurunkan tekanan darah, mengurangi kekentalan darah, meningkatkan peristaltik usus, anti kejang, mengobati cacingan, dan sebagai antibakteri (Herti dan Lusi, 2008).

Ekstrak metanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan metode *disc-diffusion* dan terbukti mempunyai aktivitas antibakteri dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) sebesar  $0,30 \pm 0,2 - 1,30 \pm 0,2$  mg/ml yaitu pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Olaleye, 2007). Borisutpeth et al., (2005) juga menjelaskan bahwa dengan metode *colorimetric micro-dilution* ekstrak air dan alkohol rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) juga mempunyai aktivitas antibakteri, dengan metode ini didapatkan potensi dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) sebesar 4,7 mg/ml dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) sebesar 4,7 mg/ml terhadap *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae*.

Ekstrak etanol bunga *Hibiscus sabdariffa* terbukti memiliki kandungan kimia alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Rostinawati, 2009), sedangkan ekstrak etanol kelopak bunga rosella mengandung senyawa alkaloid, polifenolat, tanin, flavonoid, steroid dan kuinon (Rostinawati 2008).

Beberapa uraian tersebut menyatakan bahwa kelopak rosela mempunyai khasiat sebagai antibakteri, maka dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap *Propionibacterium acne* sensitif, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* multiresisten dan mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak n-heksan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

## METODE PENELITIAN

**Bahan:** Serbuk kelopak kering tanaman rosella, *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, media Mueller Hinton (MH) media *Brain Heart Infusion* (BHI), media BHI *double strength*, akuades steril, n-heksan, fase

gerak, silika gel GF 254 nm, standar Mc.Farland, etanol 70%.

**Alat:** alat gelas (Pyrex), propipet hijau dan merah (Glasfrin BOECO), alat timbang (PrecisaXT-1204), panci *stainless steel* untuk maserasi, oven (Memmert), penangas air, lemari asam (CV. Srikandi Laboratory), blender, ayakan, corong *Buchner*, *laminar air flow* LAF (CV. Srikandi Laboratory), batang pengaduk, *rotary evaporator* (Laborota 4000 efficient HB digital), cawan petri, lampu spiritus, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung, ose steril, mikropipet (Socorex), autoklaf (My life MA-676), incubator (Memmert: silver dan Binder: merah, pipet ukur (Pyrex), pipet volume (Pyrex), pipet tetes, *yellow tips*, *blue tips*, lampu UV (PD-UV Lamp), pipa kapiler, bejana pengembang, alat penyemprot atau pendeteksi.

### **Cara Penelitian**

#### **Determinasi Tanaman**

Determinasi terhadap tanaman rosella dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Karanganyar.

#### **Pengumpulan dan Penyiapan bahan**

Kelopak bunga yang masih segar dipanen saat biji sudah masak. Kelopak rosella dikumpulkan pada waktu dimana bagian tanaman yang digunakan mempunyai kandungan zat aktif yang paling tinggi, yaitu dipilih yang sudah masak. Kelopak rosella yang sudah dikumpulkan dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisianya, misalnya tanah, bahan lain dari tanaman dan bahan-bahan yang rusak, kemudian diangin-anginkan dan dikeringkan. Wadah yang digunakan kontainer harus bersih untuk mengurangi kontaminasi. Kelopak rosella yang telah dikeringkan, diserbuk dengan blender kemudian diayak.

#### **Penyarian Serbuk**

Ekstraksi dilakukan dengan maserasi bertingkat. Dimulai non polar hingga ke polar antara lain n-heksan, kloroform, etil asetat dan air. Perlakuan sama pada masing-masing pelarut. Pada n-heksan dan serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah bejana, ditutup rapat, kemudian didiamkan selama 3 hari dan dilakukan pengadukan beberapa kali sehari. Setelah 3 hari, dilakukan penyaringan, hasil maserasi ditampung pada botol gelas, kemudian ampasnya direndam lagi dengan n-heksan untuk diremaserasi,

remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Maserat dievaporasi dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental n-heksan kelopak rosella.

### **Uji Mikrobiologi**

Sterilisasi alat dan bahan. Alat-alat yang dipergunakan dalam uji aktivitas antibakteri seperti erlenmeyer, tabung reaksi, pipet ukur dan batang pengaduk, gelasbeker, piring petri, ose, dicuci bersih kemudian disterilisasi pada oven pada suhu 171°C selama  $\pm 2$  jam, alat-alat tersebut harus dalam keadaan kering dan tidak terdapat titik air agar tidak timbul noda yang sulit hilang setelah disterilkan. Bahan-bahan seperti media, akuades, *blue tip*, *yellow tip* disterilkan dengan autoklaf (pemanasan basah) pada suhu 121°C selama  $\pm 15$  menit. Sterilisasi alat dan bahan perlu dilakukan agar tidak terjadi kontaminasi yang dapat merusak hasil uji. Alat yang telah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan untuk digunakan lain waktu tetapi harus dalam keadaan tertutup rapat.

Pembuatan media. Sejumlah media dilarutkan dalam akuades sesuai dengan instruksi yang terdapat pada masing-masing kemasan. Untuk tiap liter media MH yang ditimbang adalah 34 gram, media BHI adalah 37 gram, dan BHI *double strenght* adalah 74 gram.

Identifikasi bakteri. Preparat bakteri di cat dilakukan menggunakan cara Gram A, Gram B, Gram C, dan Gram D. Preparat diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

Identifikasi sifat bakteri. Satu koloni bakteri diinokulasi menggunakan media MSA, KIA, LIA, dan MIO di dalam tabung dengan cara menusukkan ke bawah sepanjang tabung dan digoreskan pada agar.

Pembuatan stok bakteri. Bakteri diambil dari biakan murni kemudian digoreskan pada media MH. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah bakteri tumbuh disimpan pada suhu 4°C sebagai stok bakteri.

Pembuatan suspensi bakteri. Bakteri dari stok bakteri diambil sebanyak satu ose, kemudian ditanam pada 2 ml media BHI *single strenght* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah waktu inkubasi tersebut, suspensi bakteri diambil sebanyak 200  $\mu$ l dan ditambahkan 2 ml media BHI *single strenght* baru, dan diinkubasi lagi selama 3-5 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri yang telah diinkubasi ini kemudian diambil 400  $\mu$ l dan diencerkan dengan akuades steril b/v sehingga mempunyai kekeruhan yang sama dengan standar Mc. Farland ( $10^8$  CFU/ml). Kemudian suspensi bakteri diambil 100  $\mu$ L dan

dimasukkan ke dalam 10 ml media BHI *double strength*, sehingga didapat konsentrasi akhir sebesar  $10^6$  CFU/ml.

Pembuatan seri konsentrasi ekstrak. Ekstrak dibuat seri konsentrasi sebesar 8% b/v, 4% b/v, 2% b/v, 1% b/v, 0,5% b/v, dan 0,25% b/v. Pembuatan kontrol uji aktivitas antibakteri  
Kontrol media (K1) : media MH  
Kontrol pertumbuhan (K2) : media MH + 50  $\mu$ l suspensi bakteri

Kontrol Pelarut Ekstrak (K3) : media MH + CMC Na 0,5% + 50  $\mu$ l suspensi bakteri

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Setiap konsentrasi ekstrak ditambah media MH dalam tabung reaksi hingga 5 ml, kemudian dihomogenkan dan dipadatkan dengan posisi miring. Kemudian ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 50  $\mu$ l dan diratakan dengan ose steril dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (18-24 jam) lalu diamati pertumbuhan bakterinya.

### Kromatografi lapis tipis

Penyiapan elusi. Cuplikan ditotolkan dengan menggunakan mikropipet 1 $\mu$ l sebanyak 2 kali pada fase diam silika gel GF<sub>254</sub> yang berukuran 1 x 8 cm dan telah diaktifkan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama lebih kurang 15 menit. Kemudian plat silika gel GF<sub>254</sub> yang telah ditotoli cuplikan dielusi dalam bejana berisi fase gerak yang sesuai dan telah dijenuhkan. Jarak pengembangan yang digunakan kromatografi lapis tipis ini adalah 6 cm.

Deteksi senyawa. Pendeteksian senyawa saponin menggunakan pereaksi Lieberman buchard, flavonoid dengan uap amonia dan pereaksi sitroborat sedangkan alkaloid menggunakan pereaksi semprot dragendrof.

### Metode Analisis

#### Uji antibakteri

Analisis hasil dilakukan secara visual dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada media MH. Kadar terkecil yang dapat membunuh bakteri ditetapkan sebagai KBM.

### Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi senyawa kimia yang ada di ekstrak etil asetat kelopak rosella dilakukan dengan pengamatan secara visual dan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm serta pereaksi semprot.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman *Hibiscus sabdariffa* Linn adalah sebagai berikut :

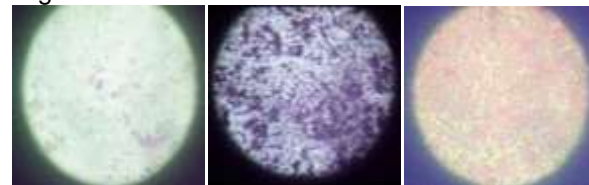
1b\_2b\_3b\_4b\_12b\_13b\_14b\_17b\_18b\_19b\_20b\_21b\_22b\_23b\_24b\_25b\_26b\_27a\_28b\_29b\_30b\_31a\_32a\_33b\_35a\_36d\_37b\_38b\_39b\_41b\_42b\_44b\_45b\_46e\_50b\_51b\_53b\_54b\_56b\_57b\_58b\_59d\_72b\_73b\_74a\_75b\_76a\_77a\_78b\_103c\_104b\_106b\_107b\_186b\_287b\_288b\_289b\_298b\_302b\_308b\_309b\_310a\_96.Malvaceae  
1b\_3b\_5b\_13b\_14b\_15a\_\_\_\_13. Hibiscus  
1a\_2b\_4b\_5a\_6b\_9a\_10b\_11a\_12b\_13a\_\_\_\_  
*Hibiscus sabdariffa* Linn.

Berdasarkan hasil determinasi di atas tanaman yang digunakan berasal dari famili Malvaceae, genus Hibiscus, spesies *Hibiscus sabdariffa*.

### Identifikasi Bakteri

Identifikasi terhadap bakteri dilakukan bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan di dalam penelitian ini adalah *P. acne*, *S. aureus* (Gram positif) dan *E. coli* (Gram negatif).

Berdasarkan hasil pengecatan Gram setelah diamati di bawah mikroskop bakteri *P. acne* dan *S. aureus* berbentuk bulat (*coccus*), menggerombol seperti buah anggur dan berwarna ungu. *P.acne* dan *S. aureus* berwarna ungu karena merupakan bakteri Gram-positif yang pada pengecatan Gram tahan terhadap alkohol, sehingga tetap mengikat cat pertama dan tidak mengikat cat kontras. Bakteri Gram-positif mengalami denaturasi protein pada dinding selnya saat pencucian dengan alkohol yang mengakibatkan protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil dan kompleks ungu kristal yodium dipertahankan dan bakteri tetap berwarna ungu.



*P. acne*

*S. aureus*

*E. coli*

Gambar 1-Hasil Uji Pengecatan Gram Terhadap Bakteri *P. acne*, *S. aureus* dan *E. coli*.

Sedangkan bakteri *E. coli* berbentuk batang, menyebar dan berwarna merah. *E. coli* berwarna merah karena merupakan bakteri

Gram-negatif yang mempunyai kadar lipid yang tinggi pada dinding selnya sehingga selama pencucian dengan menggunakan alkohol, lipid tersebut akan larut dan pori-pori pada dinding sel bakteri akan membesar sehingga zat warna yang telah diserap mudah dilepaskan kembali dan bakteri menjadi tidak berwarna yang kemudian bakteri akan mengikat warna kontras (Gambar 1).

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kloroform kelopak rosella terhadap *P. acne*, *S. aureus* dan *E. coli*. Uji terhadap kontrol menunjukkan hasil bahwa kontrol media tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri kontaminan. Hal ini menunjukkan bahwa media yang digunakan benar-benar steril. Kontrol pertumbuhan dan pelarut ekstrak menunjukkan hasil bahwa bakteri *P. acne*, *S. aureus* dan *E. coli* dapat tumbuh dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa media MH merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan bakteri uji dan CMC Na dengan konsentrasi 0,5% tidak menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kelopak rosella tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acne*, *S. aureus*, dan *E. coli* baik pada konsentrasi 8%, 4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25% (Tabel 1).

**Tabel 1-** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-heksan Kelopak Rosella terhadap *P. acne*, *S. aureus*, dan *E. coli* tidak didapatkan kadar bunuh minimal (KBM)

Konsentrasi ekstrak % (b/v)	Hasil Pertumbuhan Bakteri		
	<i>P. acne</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
0,25	+	+	+
0,5	+	+	+
1	+	+	+
2	+	+	+
4	+	+	+
8	+	+	+
K1	-	-	-
K2	+	+	+
K3	+	+	+

#### Keterangan :

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

K1 : Kontrol media (5 mL media MH)

K2 : Kontrol pertumbuhan (5 mL media MH + 50µl suspensi bakteri)

K3 : Kontrol pelarut ekstrak (4 mL media MH + 1 mL CMC Na + 50µl suspensi bakteri)

Hasil KBM diperoleh dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada masing-masing tabung. Nilai KBM adalah konsentrasi minimum ekstrak yang masih mampu membunuh bakteri setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan aktivitas antibakteri dengan memperkirakan kemampuan daya antibakteri ekstrak n-heksan kelopak rosella terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. acne*. Konsentrasi ekstrak n-heksan kelopak rosella yang diujikan pada masing-masing bakteri adalah 0,25%, 0,5%, 1% dan 2%. Hasil uji aktivitas bakteri menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kelopak rosella pada konsentrasi ekstrak 0,25%, 0,5%, 1% dan 2% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. acne*.

Uji aktivitas antibakteri dengan peningkatan konsentrasi ekstrak n-heksan terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. acne* dengan masing-masing konsentrasi sebesar 4% dan 8%. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi ekstrak tersebut adalah masih terlihat adanya pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. acne* pada tiap tabung.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dengan ekstraksi bertingkat antara ekstrak n-heksan, ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat dan ekstrak air masing-masing menunjukkan KBM yang berbeda. Aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan kelopak rosella terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. acne* tidak dapat menunjukkan KBM pada konsentrasi ekstrak 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 4%, dan 8%. Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak kloroform kelopak rosella pada *S. aureus* yaitu 1%, *E. coli* dan *P. acne* yaitu 0,5% (Putra, 2010). Pada ekstrak etil asetat kelopak rosella terhadap bakteri *P. acne*, *S. aureus*, dan *E. coli* diperoleh nilai KBM berturut-turut sebesar 0,25%, 0,5% dan 0,25% (Tirta, 2010). Ekstrak air kelopak rosella (*Hisbiscus sabdariffa* Linn) memiliki aktivitas terhadap *P. acne*, *E. coli* dan *S. aureus* dengan nilai KBM 0,25% b/v terhadap *E. coli*, sedangkan KBM 0,5% b/v terhadap *P. acne* dan *S. aureus* (Prasetyantoko, 2010).

Nilai KBM dari ekstrak etil asetat kelopak rosella memberikan hasil yang paling baik jika dibandingkan dengan nilai KBM dari ekstrak n-heksan, ekstrak kloroform, dan ekstrak air. Hal ini kemungkinan disebabkan karena senyawa-senyawa aktif yang tersari dalam masing-masing ekstrak mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda serta senyawa aktif yang berpotensi

sebagai antibakteri tidak bisa tersari dalam pelarut non polar seperti n-heksan.

Senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman rosella antara lain saponin, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan tanin (Rostinawati, 2009). Senyawa-senyawa tersebut yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Pada prinsipnya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar akan melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar. Senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri tersebut yaitu senyawa-senyawa yang bersifat polar dan semi polar, jadi kemungkinan senyawa tersebut tidak dapat tersari dalam pelarut n-heksan.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pada ekstraksi bertingkat n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% daun rosella terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi dan dilusi memiliki KBM pada konsentrasi 25 % (b/v); 50 % (b/v); 100 % (b/v) untuk ekstrak etil asetat. Ekstrak etanol 70% memiliki KBM pada konsentrasi 50% (b/v); 100% (b/v), sedangkan ekstrak n-heksan tidak memberikan KBM. Hasil penelitian metode difusi memberikan luas daerah hambatan rata-rata pada ekstrak etil asetat 7,67 mm (25 %); 11,33 mm (50 %); 20,33 mm (75 %); 26,67 mm (100 %), ekstrak etanol 70 % memberikan luas daerah hambatan 8,33 mm (50 %); 11 mm (75 %); 16 mm (100 %). Sedangkan ekstrak n-heksan tidak memberikan daerah hambatan (Samsumaharto dan Yustina, 2009).

### Kromatografi Lapis Tipis

Deteksi flavonoid dilakukan dengan pereaksi uap ammonia dilanjutkan dengan sitroborat. Flavonoid pada sinar UV 254 nm menyebabkan pepadaman bercak, pada sinar UV 366 nm flavonoid memberikan bercak kuning (agak orange), biru atau hijau (Andersen and Markham, 2005). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kelopak rosella pada sinar tampak tidak terlihat bercak kuning maupun coklat setelah diuapi ammonia. Deteksi di bawah UV 254 nm dan UV 366 nm tidak terdapat bercak setelah disemprot dengan pereaksi sitroborat. Hal ini menunjukkan bahwa identifikasi flavonoid dengan menggunakan fase gerak metanol-kloroform (9:1 v/v) dan deteksi dengan menggunakan uap ammonia tidak menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak n-heksan kelopak rosella.

Senyawa lain yang diduga terdapat dalam ekstrak n-heksan kelopak rosella adalah saponin. Menurut Farnsworth (1996) senyawa saponin dapat diketahui dengan adanya bercak berwarna biru atau hijau menunjukkan saponin tipe steroid, sedangkan merah atau merah muda dan ungu menunjukkan saponin tipe triterpenoid dengan pereaksi semprot Liebermann Burchard. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kelopak rosella tidak mengandung senyawa saponin.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot Dragendorff. Senyawa alkaloid tanpa perlakuan kimia, dibawah sinar UV<sub>254 nm</sub> terjadi pepadaman, sedangkan di bawah sinar UV<sub>366 nm</sub> memberikan bercak berfluoresensi biru, biru kehijauan, violet, atau kuning. Alkaloid bila disemprot dengan pereaksi Dragendorff akan memberikan warna coklat tua atau orange coklat. Warna alkaloid dapat distabilkan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> etanolik 10% (Wagner dan Bladt, 1996). Hasil menunjukkan tidak terdapat senyawa alkaloid pada ekstrak n-heksan kelopak rosella

### KESIMPULAN

1. Hasil penelitian uji aktivitas ekstrak n-heksan kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli* dan *P. acne* pada konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 4%, dan 8% tidak memiliki aktivitas antibakteri.
2. Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) tidak mengandung golongan senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri.

### SARAN

1. Perlu dilakukan pengujian senyawa ekstrak n-heksan lebih lanjut dengan menggunakan perbandingan fase gerak yang lebih tepat.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan senyawa non polar yang lain atau dengan memilih bagian tanaman yang lain dari tanaman rosella.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima terima kasih kepada Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt. selaku dosen pembimbing skripsi penulis yang telah memberikan banyak bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.



## DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, O and Markham, K.R., 2005, *Flavonoid Chemistry, Biochemistry and Applications*, Taylor and Francis Group, Boca Raton, London, New York.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelburg, E. A., 1991, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)*, Edisi 16, 239-244, EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Mulyani, S., 1989, Analisis GC-MS dan Daya Antimikroba Minyak Atsiri Temu Giring (*Curcuma heyneana* Val. & v. Zijp), Thesis, PS., Ilmu Farmasi Jurusan IPA Fakultas Pasca Sarjana UGM, Yogyakarta.
- Olaleye, M. T., 2007, Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*, *Journal of Medicinal Plants Research* 1(1): 009-013 (online), (<http://www.academicjournals.org/>, diakses tanggal 5 September 2009)
- Prasetyantoko, D., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* serta Uji Bioautografi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Putra, A.B.W., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* serta Uji Bioautografi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Rostinawati, T., 2008, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Labkes-026 (*Multi Drug Resisten*) dan *Mycobacterium tuberculosis* Galur H39Rv secara In Vitro, *Penelitian Mandiri*, Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor, 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, *Penelitian Mandiri*, Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Bandung.
- Salle, A. J., 1961, *Fundamental Principle of Bacteriology*, 5th Edition, 719, 738, Mc Graw Hill Company Inc, New York.
- Samsumaharto, R.A., dan Yustina, E.N.I.S., 2009, Uji aktivitas antibakteri Ekstrak n-Heksan , Etil asetat, dan Etanol 70% Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Jurnal Penelitian*, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Tirta, A.S.M., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* serta Uji Bioautografi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Wagner, H., dan Blatt, S., 1996, *Plant Drug Analysis- A Thin Layer Chromatography Atlas*, 6, 151-152, 196-197, 306, Springer, Germany.
- West, D. P., West, L. E., Musumeci, M. L., Micali, G., 2005, *Acne Vulgaris, in Pharmacotherapy : a Pathophysiologic Approach*, DiPiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Well, B. G., Posey, L. M., (Editor), 1756, McGraw-Hill, New York.