

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR DAN FRAKSI EKSRTRAK ETANOL *Hibiscus sabdariffa L.* TERHADAP *Escherechia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Ossy Saskia Pratama, Fitria Nugraha Aini, Rio Risandiansyah\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** *Hibiscus sabdariffa L.* mempunyai kandungan komponen aktif agen antibakteri. Namun, belum ada yang menguji dengan metode fraksinasi berdasarkan pelarut dengan polaritas berbeda serta dibandingkan dengan ekstrak kasarnya. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk membandingkan efektivitas ekstrak kasar dengan fraksi N-heksana, fraksi Etil-Asetat serta fraksi air *Hibiscus sabdariffa L* pada *Escherechia coli* serta *Staphylococcus aureus*.

**Metode:** Percobaan ini dikerjakan secara *in vitro*. Simplisia diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96% dan dilakukan fraksinasi cair-cair dengan pelarut N-heksana, Etil-Asetat serta air dengan rasio (1:1). Selanjutnya dilakukan uji zona hambat menggunakan metode *Kirby-Bauer* pada bakteri *E. coli* serta *S. aureus* pada dosis 100.000 ppm. Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif terhadap ekstrak kasar (EK), fraksi N-heksana (FH), fraksi Etil-Asetat (FE) serta fraksi air (FA).

**Hasil:** EK mempunyai kandungan metabolit sekunder dari golongan flavonoid, triterpenoid dan saponin, FH dan FE hanya ditemukan dari golongan triterpenoid sedangkan pada FA ditemukan dari golongan flavonoid dan triterpenoid. Berdasarkan hasil uji ZOI dimana memiliki perbedaan yang signifikan. Efektivitas antibakteri terkuat hingga tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* berturut-turut adalah FA ( $9,67 \pm 0,95$ mm), EK ( $9,61 \pm 1,43$ mm), FE ( $8,44 \pm 0,41$ mm) dan FH (tidak mempunyai aktivitas antibakteri) sedangkan terhadap *S. aureus* berturut-turut adalah FA ( $9,51 \pm 0,82$ mm), FE ( $8,51 \pm 0,84$ mm), FH dan EK (tidak mempunyai aktivitas antibakteri).

**Kesimpulan:** EK, FH, FE kelopak bunga Rosella pada dosis 100.000 ppm mempunyai daya hambat lebih rendah dibandingkan dengan FA pada *E. coli* dan *S. aureus*.

**Kata Kunci:** Antimikroba; *Hibiscus sabdariffa L.*; Fraksinasi.

\*Penulis Korespondensi:

Rio Risandiansyah, S.Ked., M.P., Ph.D

Jl. M., Haryono 193 Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT AND FRACTION ETHANOL EXTRACT OF *Hibiscus sabdariffa L.* AGAINST *Escherechia coli* AND *Staphylococcus aureus*

Ossy Saskia Pratama, Fitria Nugraha Aini, Rio Risandiansyah\*  
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

### ABSTRAK

**Background:** *Hibiscus sabdariffa L.* contain compound that have antibacterial activity. However, no one has tested with the fractionation method based on solvents with different polarities and compared with the crude extract. The aim of research is compare effectiveness crude extract with N-hexane fraction, Ethyl-Acetate fraction and water fraction of *Hibiscus sabdariffa L.* against *Escherechia coli* and *Staphylococcus aureus*.

**Method:** This research was conducted *in vitro*. Flower petals of Roselle extracted by maceration method using ethanol 96% and liquid-liquid fractination was carried out using N-hexane solvents, Ethyl-Acetate and water with ratio (1:1). Furthermore, the inhibition zone test using the *Kirby-Bauer* method against *E. coli* and *S. aureus* at a dose of 100.000 ppm. Phytochemical tests were carried out qualitatively on crude extract (EK), N-hexane fraction (FH), Ethyl-Acetate fraction (FE) and water fraction (FA) of Rosella petals.

**Result:** EK contains active compounds from the flavonoid, triterpenoid and saponin, FH or FE only found from the triterpenoid group while in the FA found from the flavonoid and triterpenoid groups. Based on the results of ZOI test there is a significant difference. The strongest antibacterial effectiveness to no antibacterial activity against *E. coli* respectively the FA ( $9,67 \pm 0,95$ mm), EK ( $9,61 \pm 1,43$ mm), FE ( $8,44 \pm 0,41$ mm) and FH (no antibacterial activity) while against *S. aureus* respectively the FA ( $9,51 \pm 0,82$ mm), FE ( $8,51 \pm 0,84$ mm), FH and EK (no antibacterial activity).

**Conclusion:** EK, FH and FE of Roselle petals at a dose of 100.000 ppm had lower inhibition compared to the FA in inhibiting *E. coli* and *S. aureus*.

**Keyword:** Antimicroba; *Hibiscus sabdariffa L.*; Fractination.

\*Corresponding author:

Rio Risandiansyah, S.Ked., M.P., Ph.D

Jl. MT. Haryono 193 Malang City, East Java. Indonesia, 65145

email: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

## PENDAHULUAN

Infeksi masih menjadi kasus yang perlu diwaspadai di negara maju maupun negara berkembang. Infeksi dapat dikarenakan bakteri yang mempengaruhi berbagai sistem organ.<sup>11</sup> Bakteri yang sering menginfeksi dan termasuk penyebab penyakit menular tersering yakni diare yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.<sup>3</sup> Kejadian diare tahun 2015 sampai dengan 2019 termasuk dalam 10 besar penyakit pada semua umur. Secara nasional, pada tahun 2018 kasus diare pada balita adalah 75,88% dengan frekuensi tertinggi di Nusa Tenggara Barat, diikuti oleh DKI Jakarta dengan 68,54% dan Jawa Barat dengan angka 46,35%, peringkat kesembilan.<sup>14</sup>

Bakteri *E. coli* dapat hidup di saluran intestinal manusia. Sering ditemukan kasus diare yang dikarenakan oleh *E. coli*. *Staphylococcus aureus* juga termasuk flora normal yang biasa ditemukan di daerah hidung dan kulit. Beberapa penyakit karena *S. aureus* selain diare adalah impetigo, mastitis, meningitis dan pneumonia.<sup>18</sup>

Antibiotik merupakan obat penting dalam menyembuhkan infeksi. Namun, pemakaian yang ilegal dalam jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap suatu antibiotik. Dimana saat resistensi ini pemberian antibiotik dalam dosis normal tidak dapat mencegah pertumbuhan bakteri.<sup>15</sup> Terjadinya peningkatan resistensi bakteri dapat dibuktikan dengan munculnya *Extended Spectrum B-lactamase* (ESBL) yang dihasilkan oleh *E. coli* yang dapat mengakibatkan resistensi berbagai jenis antibiotik golongan penisilin, sefalosporin dan aztreonam. Ditemukan juga *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Salah satu solusi permasalahan resistensi adalah dengan menemukan obat alternatif yang mempunyai senyawa aktif sebagai antibakteri atau yang dapat dikombinasikan dengan antibiotik untuk memaksimalkan fungsinya sebagai antibakteri.<sup>1</sup>

Penelitian terbaru menyatakan beberapa tanaman herbal mempunyai senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri, salah satu diantaranya ialah *Hibiscus sabdariffa L.* (Rosella). Banyak penelitian yang membuktikan adanya aktivitas antibakteri pada kelopak bunga Rosella. Namun, belum ada yang menguji dengan metode fraksinasi berdasarkan tiga pelarut dengan polaritas yang berbeda serta dibandingkan dengan ekstrak kasarnya.

Menurut penjelasan tersebut, percobaan ini akan melakukan isolasi parsial kandungan aktif ekstrak etanolik kelopak bunga Rosella menggunakan cara fraksinasi dengan tiga pelarut yang memiliki kepolaran. Daya hambat diuji dengan metode *Kirby Bauer*.

## METODE

### Jenis Penelitian

Percobaan ini dikerjakan secara *in vitro* untuk melihat daya hambat fraksi ekstrak etanolik kelopak bunga Rosella terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengambilan ekstrak dengan maserasi kinetik dengan etanol lalu dilanjutkan fraksinasi cair-cair memakai pelarut n-heksana, etil asetat dan air. Pada penelitian ini juga dilakukan uji ZOI menggunakan metode difusi cakram.

## BAHAN DAN ALAT PENELITIAN

### Bahan Penelitian

Simplisia diperoleh dari Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. *Escherichia coli* serta *Staphylococcus aureus* diperoleh di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Keperluan lain; etanol 96%, N-heksana, etil-asetat, aquades, kertas saring, kertas aluminium, cmc 0,1 %, agar powder, *Mueller Hinton Broth* (MHB), *normal saline* 0,9%, *blank disk*.

### Alat Penelitian

Neraca digital, pipet, gelas ukur, *beaker glass*, corong buchner, spatula, *shaker*, *vacuum rotary evaporator*, oven, corong pisah, *famehood*, *autoclave*, botol schoot, sendok stainless, ose, bunsen, *vortex mixer*, tabung reaksi, *cuvette*, inkubator, jangka sorong.

## TAHAPAN PENELITIAN

### Determinasi

Tanaman Rosella yang diteliti perlu dilakukan identifikasi guna mendapat kebenaran identitas tanaman dan menghindarkan tanaman tercampur dengan tanaman lain. Identifikasi tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dilakukan di Laboratorium Herbal Materia Medica Batu.

### Ekstraksi Kelopak Bunga Rosella Menggunakan Maserasi Kinetik.

Ekstraksi menggunakan maserasi kinetik yang dilakukan dengan beberapa alat yaitu neraca digital, *shaker*, spatula, corong buchner dan tabung erlenmeyer, *vacuum rotary evaporator* dan oven.

Simplisia Rosella diambil 100 gram dan ditempatkan pada tabung Erlenmeyer, lalu diberi pelarut etanol 96% menggunakan perbandingan 1:5 (w/v). Selanjutnya diaduk menggunakan spatula lalu dimasukkan ke dalam shaker. Maserasi dikerjakan sebanyak dua kali menggunakan perbandingan yang sama. Hasil ekstraksi dikumpulkan lalu dipekatkan menggunakan *vacuum evaporator* dengan suhu 60°C memakai kecepatan 50 rpm selama 5 jam sampai

mengental. Selanjutnya diletakkan pada oven menggunakan suhu 50 °C selama 3-4 hari sampai didapatkan hasil kering kemudian ditimbang.

### Pembuatan Fraksi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella.

Fraksinasi cair-cair yang dikerjakan dengan corong pisah, labu erlenmeyer, gelas ukur, dan *beaker glass*.

Ekstrak etanol kering dilarutkan dengan air hangat sampai mencapai 200.000 ppm. Ekstrak etanol dimasukkan lalu dipartisi menggunakan pelarut n-heksana kemudian dikocok dan dibiarkan menjadi 2 layer. Layer atas merupakan n-heksana serta layer bawah adalah air. Bagian n-heksana disisihkan menggunakan pipet, selanjutnya ditempatkan pada *beaker glass*. Bagian air di dalam corong pisah dipartisi lagi menggunakan pelarut etil-asetat. Dikocok lalu didiamkan sehingga membentuk 2 layer. Layer atas merupakan etil asetat dan layer bawah adalah air. Bagian etil asetat ke dalam *beaker glass*, sedangkan air ditempatkan ke dalam *beaker glass* yang berbeda. Masing masing fraksi diletakkan di oven menggunakan suhu 50 °C sampai 2-3 hari hingga diperoleh fraksi yang kering.

### Fitokimia

Bahan aktif dalam ekstrak kasar serta fraksi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella diidentifikasi dengan menggunakan uji fitokimia. Hasil dinyatakan terdeteksi (+) jika terdapat busa yang permanen atau terjadi perubahan warna setelah ditambahkan suatu reagen pada sampel uji. Sedangkan dinyatakan tidak terdeteksi (-) apabila tidak terbentuk busa permanen dan tidak terjadi perubahan warnasampel uji.

### Flavonoid

Sampel Ekstrak kasar dan fraksi 4 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan amoniak encer lalu diaduk agar tecampur. Adanya uji flavonoid yang positif dibuktikan pada berubahnya warna sampel menjadi kuning.<sup>8</sup>

### Saponin

Sebanyak 3 ml sampel ekstrak kasar dan fraksi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella, kemudian dicampurkan 5 ml air dan dilakukan pemanasan. Hasil saponin dikatakan positif apabila terbentuk busa yang permanen.<sup>20</sup>

### Triterpenoid / Steroid

Ekstrak kasar dan fraksinya diencerkan menggunakan masing-masing pelarut lalu ditambahkan 3 tetes reagen *Liebermann-Buchard* (asam asetat glasial dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(P)). Uji triterpenoid positif menunjukkan perubahan menjadi ungu sampai merah sedangkan steroid

positif menunjukkan adanya perubahan biru hingga hijau.<sup>7</sup>

### Uji Daya Hambat Dengan Difusi Cakram Kirby-Bauer.

Dikerjakan menggunakan cara difusi cakram. Dimana larutan bakteri disamakan menggunakan standart *McFarland* (1,5x10<sup>8</sup>CFU/mL) lalu dioleskan pada media agar siap pakai. *Blank disk* yang sudah ditetesi masing-masing sample yaitu ekstrak kasar, fraksi N-heksana, fraksi etil-asetat serta fraksi air pada dosis 100.000 ppm ditempatkan diatas media padat lalu didiamkan sehari semalam dengan suhu 37°C, Selanjutnya diamati dan diukur zona bening yang ada disekeliling cakram.

## HASIL PENELITIAN

### Uji Fitokimia

Didapatkan hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar kelopak bunga Rosella (Tabel 1) menunjukkan adanya senyawa flavonoid, triterpenoid serta saponin. Fraksi n-heksana serta fraksi etil-asetat mengandung senyawa triterpenoid, sedangkan senyawa flavonoid dan saponin tidak terdeteksi. Pada fraksi air kelopak bunga Rosella didapatkan adanya senyawa flavonoid serta triterpenoid.

**Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia**

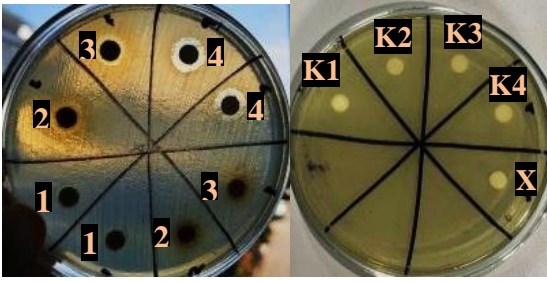
Uji Fitokimia	Flav	Trit	Sap
<b>Ekstrak Kasar</b>	+	+	+
<b>Fraksi N-Heksana</b>	-	+	-
<b>Fraksi Etil Asetat</b>	-	+	-
<b>Fraksi Air</b>	+	+	-

**Keterangan: Tabel 1.** +: Terdapat senyawa tersebut, -: Tidak terdapat senyawa tersebut, Flav: Flavonoid, Trit: Triterpenoid, Sap: Saponin.

Hasil Uji Fitokimia pada **Tabel 1.** menyatakan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella mempunyai komponen aktif dari flavonoid, triterpenoid serta saponin. Fraksi N-heksana serta etil-asetat hanya mengandung triterpenoid. Fraksi air kelopak bunga Rosella mengandung senyawa aktif dari golongan flavonoid serta triterpenoid.

### Hasil Uji Zone of Inhibition (ZOI) Fraksi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella terhadap *Escherechia coli*

Zona hambat pada *Escherechia coli* diukur dari diameter zona bening di sekitar cakram. Hasil pengukuran ditunjukkan pada **Gambar 1.** serta **Tabel 2.**



**Gambar 1. Hasil ZOI Fraksi Ekstrak Etanolik Kelopak Bunga Rosella Terhadap *Escherecia coli***

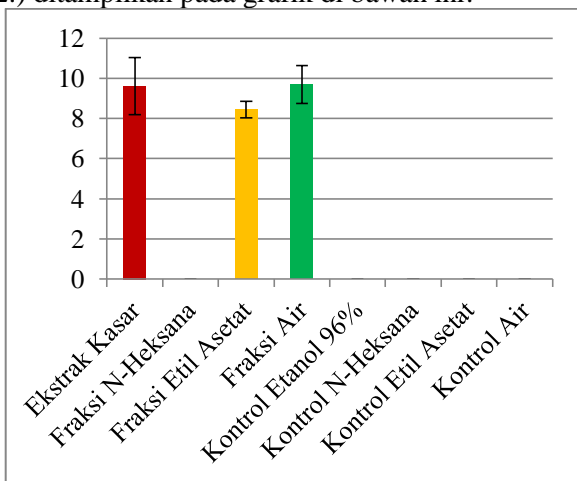
**Keterangan:** 1. Fraksi N-ekana; 2. Fraksi Etil-Asetat; 3. Fraksi Air; 4. Ekstrak Kasar; K1. Kontrol N-Heksana; K2. Kontrol Etil Asetat; K3. Kontrol Air; K4. Kontrol Etanol; X. Tidak dipakai.

**Tabel 2. Hasil ukur *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella terhadap *Escherechia coli***

Sampel	Rata-rata (mm) ± Standar Deviasi
Ekstrak Kasar	9,61 ± 1,43 <sup>b</sup>
Fraksi N-Heksana	0,00 ± 0,00 <sup>a,c,d</sup>
Fraksi Etil Asetat	8,44 ± 0,41 <sup>b,d</sup>
Fraksi Air	9,67 ± 0,95 <sup>b,c</sup>
Kontrol Etanol 96%	0,00 ± 0,00
Kontrol N-heksana	0,00 ± 0,00
Kontrol Etil-Asetat	0,00 ± 0,00
Kontrol Air	0,00 ± 0,00

**Keterangan:** Tabel 2. Hasil ukur *Zone of inhibition* terhadap *E. coli*

Hasil ukur rata-rata diameter *Zone of inhibition* ekstrak kasar, fraksi N-heksana, fraksi Etil-Asetat dan fraksi pada *Escherechia coli* (Tabel 2.) ditampilkan pada grafik di bawah ini:

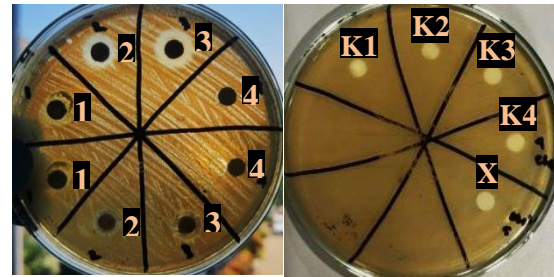


**Gambar 2. Grafik Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Kasar, Fraksi N-heksana, Fraksi Etil-Asetat dan Fraksi Air pada *Escherechia coli*.**

Berdasarkan hasil analisis ANOVA menampilkan angka signifikansi ( $p < 0,05$ ) yakni menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan, atas hal tersebut diteruskan uji *Post Hoc* guna menentukan ketidaksamaan yang signifikan beberapa bahan uji yaitu ekstrak kasar, fraksi N-heksana, fraksi Etil-Asetat dan fraksi air.

### Hasil Uji *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella pada *Staphylococcus aureus*.

Zona bening pada *Staphylococcus aureus* dihitung dari diameter zona hambat di sekitar cakram. Hasil pengukuran ditampilkan pada Gambar 3. serta Tabel 3.



**Gambar 3. Hasil ZOI Fraksi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella Terhadap *Staphylococcus aureus***

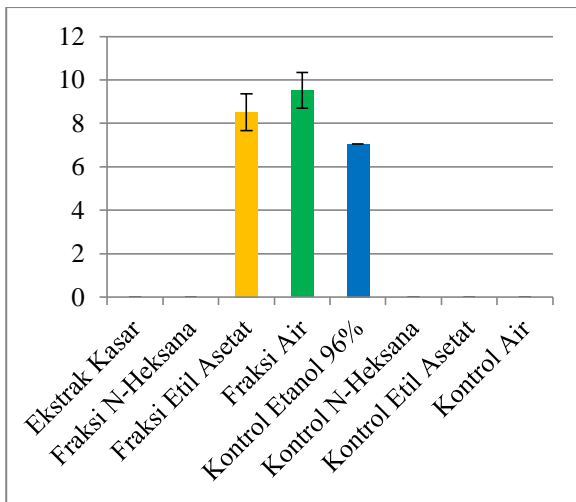
**Keterangan:** 1. Fraksi N-heksana; 2. Fraksi Etil-Asetat; 3. Fraksi Air; 4. Ekstrak Kasar; K1. Kontrol N-Heksana; K2. Kontrol Etil Asetat; K3. Kontrol Air; K4. Kontrol Etanol; X. Tidak dipakai.

**Tabel 3. Hasil ukur *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella pada *Staphylococcus aureus***

Sampel	Rata-rata (mm) ± Standar Deviasi
Ekstrak Kasar	0,00 ± 0,00 <sup>c,d</sup>
Fraksi N-Heksana	0,00 ± 0,00 <sup>c,d</sup>
Fraksi Etil Asetat	8,51 ± 0,84 <sup>a,b</sup>
Fraksi Air	9,51 ± 0,82 <sup>a,b</sup>
Kontrol Etanol 96%	7,05 ± 0,00
Kontrol N-heksana	0,00 ± 0,00
Kontrol EtilAsetat	0,00 ± 0,00
Kontrol Air	0,00 ± 0,00

**Keterangan:** Tabel 3. Hasil ukur *Zone of inhibition* terhadap *S. aureus*

Hasil ukur rata-rata diameter *Zone of inhibition* ekstrak kasar, fraksi N-heksana, fraksi Etil-Asetat dan fraksi pada *Staphylococcus aureus* (Tabel 3.) ditampilkan pada grafik di bawah ini:



**Gambar 4. Grafik Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Kasar, Fraksi N-heksana, Fraksi Etil-Asetat serta Fraksi Air pada *Staphylococcus aureus*.**

Berdasarkan hasil analisis ANOVA menampilkan angka signifikansi ( $p < 0,05$ ) yakni menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan, atas hal tersebut diteruskan uji *Post Hoc* guna menentukan ketidaksamaan yang signifikan beberapa bahan uji yaitu ekstrak kasar, fraksi N-heksana, fraksi Etil-Asetat dan fraksi air.

## PEMBAHASAN

### Kandungan Metabolit Sekunder Uji Fitokimia Ekstrak Kasar, Fraksi N-heksana, Fraksi Etil-Asetat serta Fraksi Air *Hibiscus sabdariffa L.*

Dilakukannya uji guna mendeteksi bahan aktif yang terdapat pada ekstrak kasar, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat serta fraksi air dimana menggunakan yang berbeda kepolarannya guna mengetahui senyawa mana saja yang dapat ditarik berdasarkan tingkat kepolaran pelarut. Kelarutan suatu komponen terlarut pada pelarut berdasarkan jenis kepolaran pelarut tersebut. Komponen tidak polar tertarik kepada pelarut tidak polar serta komponen polar juga tertarik kepada pelarut polar. Hastuti (2018) menyatakan bahwa makin polar pelarut semakin banyak komponen yang ditarik [1]. Pernyataan tersebut sejalan seperti hasil fitokimia pada percobaan ini, yakni bahan aktif yang didapatkan dari ekstrak kasar dan fraksi air berjumlah melebihi fraksi N-heksana dan fraksi Etil-Asetat.

Hasil uji fitokimia kelopak bunga Rosella menunjukkan terdapat senyawa dari golongan flavonoid, triterpenoid serta saponin. Beberapa penelitian sebelumnya juga membuktikan demikian, salah satunya yaitu yang dilakukan Hafiz dkk. (2020) menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia *Hibiscus sabdariffa L.* mempunyai bahan aktif dari golongan flavonoid, triterpenoid serta saponin [2].

Pada ekstrak kasar, hasil uji flavonoid dinyatakan positif. Ekstrak kasar kelopak bunga Rosella menggunakan pelarut etanol 96% dimana sifatnya yang universal sehingga mampu menyaring senyawa non polar, semi polar serta polar, tidak toksik dan mempunyai kemampuan absorpsi yang bagus [3]. Penelitian sebelumnya menyatakan hasil ekstrak etanol kelopak bunga Rosella memiliki beberapa senyawa aktif salah satunya yaitu flavonoid [2]. Flavonoid positif juga ditemukan pada hasil uji fitokimia fraksi air. Demikian dapat terjadi karena sifat flavonoid polar dan hanya dapat ditarik oleh pelarut dengan polaritas yang sama [4]. Etanol ditambahkan air menghasilkan polaritas yang semakin besar dan sesuai untuk menarik senyawa polar seperti flavonoid [5]. Teori tersebut sejalan dengan percobaan terdahulu yang menyebutkan fraksi air kelopak bunga Rosella mengandung senyawa flavonoid [6].

Hasil tes triterpenoid semua sampel yaitu ekstrak kasar, fraksi N-heksana, fraksi Etil-Asetat serta fraksi air menunjukkan hasil positif. Triterpenoid terdiri atas untai panjang hidrocarbon C30 sehingga bersifat tidak polar dan mengandung komponen hidroksi yang mempunyai sifat polar sehingga terdeteksi pada uji fitokimia fraksi polar, semi polar dan tidak polar [7].

Uji saponin positif hanya didapatkan pada ekstrak kasar. Pada ekstrak kasar etanol digunakan sebagai pelarut dimana sifatnya yang universal sehingga dapat menarik beberapa senyawa aktif salah satunya yaitu saponin. Hasil dari percobaan ini sesuai dengan percobaan Komala (2013) menyatakan yakni ekstrak etanolik *Hibiscus sabdariffa L.* mempunyai senyawa aktif golongan saponin [8].

Penelitian sebelumnya menemukan senyawa aktif kelopak bunga Rosella diantaranya adalah senyawa flavonoid yaitu Delphinidin-3-glucosyl-xyloside (hibiscin), Delphinidin-3-glukosida-xyloside, Cyanidin-3-glucoside, Gallic acid, Chlorogenic acid, 5-Hydroxymethylfurfural, Protocatechuic acid glucoside, Quercetin-3-sambioside, Kampferol-3-O-rutinoside, Galloyl ester, Kampferol-3-glucoside, 4-Caffeoylquinic acid, N-Feruloyltyramide, Tiliroside [9]. Senyawa saponin yaitu  $\alpha$ -Amyrin. Senyawa triterpenoid yaitu  $\alpha$ -bulnesene,  $\gamma$ -Elemene, Caryophyllene,  $\alpha$ -ylangene, tetracyclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]trideca N-9-ol, 4,4-dimethyl- sesquiterpene, 4,5-di-epi-aristolochene, Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,5,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylphenyl)- dan  $\beta$ -copaene [6].

**Kemampuan Hambat Ekstrak Kasar, Fraksi N-heksana, Fraksi Etil-Asetat dan Fraksi Air *Hibiscus sabdariffa* L. Pada *Escherechia coli* dan *Staphylococcus aureus***

Zona bening akibat mekanisme antibakteri dibagi dikelompokkan menjadi 4 macam yakni tidak mempunyai aktivitas antibakteri (diameter 0-5mm), rendah (diameter 6-10mm), sedang (diameter 11-19mm), tinggi (diameter  $\geq 20$ mm) [10]. Pada penelitian ini tidak digunakan antibiotik sebagai pembanding sampel uji, hal tersebut dikarenakan mekanisme dan target organ senyawa aktif kelopak bunga Rosella yang paling berpotensi mempunyai agen antibakteri belum diketahui secara pasti. Kontrol negatif yang digunakan dalam percobaan ini yaitu masing-masing pelarut yakni etanol, N-heksana, Etil-Asetat serta air. Hasil pengukuran zona bening yang menunjukkan mekanisme antibakteri pada ekstrak kasar serta antar fraksi diolah menggunakan *One-Way ANOVA* dengan signifikansi  $< 0,05$  atau didapatkan perbedaan secara nyata.

Berdasarkan hasil uji ZOI ekstrak kasar, fraksi N-heksana, fraksi Etil-Asetat serta fraksi air pada *Escherechia coli* dan *Staphylococcus aureus* diketahui bahwa diameter zona bening terbesar terdapat pada cakram fraksi air. Pada *E. coli* diameter yang terbentuk yaitu sebesar  $9,67 \pm 0,95$ mm (lemah) sedangkan pada *S. aureus* diameter yang terbentuk sebesar  $9,51 \pm 0,82$ mm (lemah). Saponin bekerja pada dinding sel bakteri dengan mengurangi tegangan permukaan dan mengganggu permeabilitas membran. Saponin kemudian berdifusi melintasi membran sitoplasma, mengganggu stabilitas membran, mengakibatkan sitoplasma bocor dan keluar sel sehingga dapat menyebabkan sel mati [11]. Triterpenoid adalah agen antibakteri akan berinteraksi pada porin di membran luar bakteri selanjutnya menghasilkan ikatan polimer yang kokoh dan dapat merusak porin [12]. Belum ada penelitian terdahulu yang menilai perbandingan efektivitas fraksi kelopak bunga Rosella pada *E. coli* serta *S. aureus* berdasarkan tingkat kepolaran pelarutnya.

Pada ekstrak kasar kelopak bunga Rosella lebih aktif pada *Escherechia coli* dibandingkan dengan *S. aureus*. Terbukti dengan terdapatnya zona bening disekitar cakram ekstrak kasar kelopak bunga Rosella terhadap *E. coli* dimana diameternya yaitu  $9,61 \pm 1,43$ mm (lemah) sedangkan terhadap *S. aureus* sebesar  $0,00 \pm 0,00$ mm (tidak terdapat mekanisme antibakteri). Senyawa flavonoid dapat menyebabkan rusaknya

membran sitoplasma serta kerusakan sekunder dengan terjadinya penurunan kekuatan dinding sel yang menyebabkan terjadi lisis [13]. Senyawa saponin berperan dalam rusaknya permeabilitas, yang dapat menyebabkan sel mati [14]. Triterpenoid berinteraksi pada porin yang ada di membran luar bakteri lalu menyebabkan eratnya ikatan polimer serta menyebabkan kerusakan pada porin dan menurunkan permeabilitas bakteri yang akan menyebabkan nutrisi berkurang dan memperlambat tumbuhnya bakteri maupun bahkan menyebabkan kematian [15]. Dapat disimpulkan bahwa senyawa antibakteri pada ekstrak kasar berspektrum sempit karena hanya dapat mencegah bakteri *E. coli* tumbuh. Hasil percobaan ini tidak sama dengan penelitian sebelumnya yaitu yang dikerjakan Rostinawati (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanolik kelopak bunga Rosella mempunyai agen antibakteri pada *E. coli*, *S. aureus* serta *S. typhi* [16].

Hasil uji ZOI fraksi air dan ekstrak kasar tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan karena mempunyai kesamaan yaitu didapatkan hasil uji flavonoid yang positif. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa pada kelopak bunga Rosella paling banyak ditemukan bahan aktif dari golongan flavonoid [17]. Flavonoid memiliki tiga proses kerja agen antimikroba yakni mengganggu kerja membran sel, penghambatan dalam sintesis asam nukleat dan metabolisme energi. Flavonoid mengganggu kerja membran sel melalui cara memproduksi bahan kompleks protein ekstraseluler serta mampu menyebabkan rusaknya membran sel sehingga bahan intraseluler dapat menuju keluar sel. *Chain A* serta *B* flavonoid berfungsi pada mekanisme interkalasi melalui cara menindihkan basa asam nukleat hingga mencegah terbentuknya DNA serta RNA. Dalam mencegah metabolisme energy, flavonoid mencegah bakteri menggunakan oksigen pada mekanisme penghambatan pada penyusunan energi dan mencegah pergerakan bakteri terkait perannya sebagai agen antimikroba [18]. Flavonoid digolongkan berupa beberapa jenis menurut pengganti karbon dari komponen aromatik sentral (C) yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanol atau katekin, antosinin serta kalkan [16].

Fraksi Etil asetat kelopak bunga Rosella memiliki potensi agen antimikroba terhadap *E. coli* serta *S. aureus* disebabkan oleh kandungan senyawa yang dapat ditarik oleh semi-polar berupa komponen polar hingga tidak polar, dimana pada rosella bahan yang bekerja sebagai antibakteri adalah senyawa yang bersifat polar. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa mekanisme etil-asetat pada *E. coli* dan *S. aureus* yaitu bakterisid [17]. Triterpenoid berinteraksi pada porin di

membran luar bakteri, menimbulkan eratnya ikatan polimer yang dapat menimbulkan porin rusak [15].

Pada fraksi non polar yaitu menggunakan pelarut n-heksana pada bunga Rosella tidak menunjukkan adanya mekanisme antimikroba pada *E. coli* maupun *S. aureus* dibuktikan pada hasil pengukuran zona bening disekitar cakram yaitu  $0,00 \pm 0,00$ mm. komponen pada fraksi N-heksana berdasarkan uji fitokimia kelopak bunga rosella adalah dari golongan triterpenoid. Triterpenoid sebagai antibakteri akan berinteraksi pada porin di membran luar bakteri, menimbulkan eratnya ikatan polimer yang dapat menimbulkan porin rusak dan menurunkan permeabilitas sehingga nutrisi bakteri menurun serta melambatnya pertumbuhan hingga sel mati [15]. Namun hasil uji ZOI fraksi N-heksana tidak menampilkan adanya mekanisme antimikroba pada *E. coli* serta *S. aureus*. Hasil tersebut dapat terjadi oleh komponen aktif kelopak bunga Rosella sebagai agen antimikroba terhadap *Escherechia coli* dan *Staphylococcus aureus* cenderung mempunyai sifat yang polar. Lingga (2016) menyatakan bahwa suatu komponen yang mempunyai tingkat polaritas yang tinggi akan mempunyai aktivitas antibakteri maksimum [18]. Sehingga tidak ditemukan zona bening pada sekitar cakram fraksi n-heksana (non polar) pada *E. coli* serta *S. aureus*. Belum ada percobaan sebelumnya yang menguji mekanisme antimikroba fraksi N-heksana pada *E. coli* serta *S. aureus*.

### Kesimpulan

1. Ekstrak kasar *Hibiscus sabdariffa L.* memiliki komponen aktif dari flavonoid, triterpenoid serta saponin, fraksi N-heksana serta fraksi Etil-Asetat hanya ditemukan triterpenoid selain itu pada fraksi air ditemukan dari golongan flavonoid dan triterpenoid.
2. Efektivitas antibakteri terkuat hingga tidak mempunyai agen antibakteri terhadap *Escherechia coli* berurutan yakni fraksi air, ekstrak kasar, fraksi Etil-Asetat serta fraksi N-heksana.
3. Efektivitas antibakteri terkuat hingga tidak memiliki agen antimikroba pada *S. aureus* berurutan yaitu faksi air, fraksi Etil-Asetat, fraksi N-heksana serta ekstrak kasar.
4. Fraksi air ekstrak kelopak bunga Rosella memiliki diameter *Zone of inhibition* terbesar daripada ekstrak kasar, fraksi N-heksana serta fraksi Etil-Asetat terhadap *Escherechia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
5. Senyawa yang bekerja ialah komponen aktif dimana mempunyai sifat polar yaitu flavonoid.
6. Komponen aktif yang terkandung dalam kelopak bunga Rosella lebih sensitif terhadap

*Escherechia coli* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus*.

### Saran

1. Perlu meningkatkan dosis ekstrak kasar dan fraksi kelopak bunga Rosella.
2. Perlu dilakukan uji fitokimia kuantitatif senyawa yang terkandung pada kelopak bunga Rosella.
3. Perlu dilakukan sub-fraksinasi golongan flavonoid.
4. Perlu menggunakan antibiotik pembanding yang memiliki mekanisme kerja yang sesuai untuk melihat efektivitas senyawa antibakteri yang terkandung pada herbal.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih pada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA atas bantuan finansial untuk penelitian ini yang diberikan kepada Laboratorium Pusat Riset, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Terima kasih pada Rio Risandiansyah, S.Ked., M.P., Ph.D atas masukan serta saran hingga percobaan ini dituntaskan dengan baik.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. Hastuti, R. Rohadi, and A. S. Putri, "Rasio N-Heksana-Etanol Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Oleoresin Ampas Jahe (*Zingiber majus Rumph*) Varietas Emprit," *J. Teknol. Pangan dan Has. Pertan.*, vol. 13, no. 1, p. 41, 2018, doi: 10.26623/jtphp.v13i1.2374.
- [2] M. Hafiz, R. Yulianti, and N. Hardini, "Efektivitas Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Ginjal Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Etanol," *Semin. Nasiona Ris. Kedokt.*, pp. 280–286, 2020.
- [3] N. V. Wendersteyt, D. S. Wewengkang, and S. S. Abdullah, "Uji Aktivitas Aantimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*," *Pharmacon*, vol. 10, no. 1, p. 706, 2021, doi: 10.35799/pha.10.2021.32758.
- [4] D. M. Putri and S. S. Lubis, "Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum)," *Amina*, vol. 2, no. 3, pp. 120–125, 2020.
- [5] P. N. Khalisha, I. Widyaningrum, S. Purwanti, P. N. Khalisha, I. Widyaningrum, and S. Purwanti, "Uji Aktivitas Antibakteri

- Eksrak Etanol dan Fraksi Polar Daun Kumis Kucing ( *Orthosiphon stamineus* ) TERHADAP *Propionibacterium acnes*,” pp. 1–9, 2022.
- [6] M. Ulfah, Nirmalasari, and E. Sasmito, “Uji Aktivitas Imunostimulator Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Swiss Secara In Vitro Beserta Identifikasi Kandungan Senyawa Kimianya,” *Publikasi Ilm. Unhawas*, pp. 23–30, 2013.
- [7] N. Jannah, C. Saleh, and D. R. Pratiwi, “Skiring Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Alamanda (*Allamanda Catharica* L.),” *Pros. Semin. Nas. Kim. Berwawasan Lingkungan. 2020*, pp. 81–85, 2020.
- [8] O. Komala, R. Rosyanti, and M. Muztabadihardja, “Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Airkelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*,” *FITOFARMAKA J. Ilm. Farm.*, vol. 3, no. 1, pp. 177–183, 2013, doi: 10.33751/jf.v3i1.173.
- [9] I. Da-Costa-Rocha, B. Bonnlaender, H. Sievers, I. Pischel, and M. Heinrich, “*Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review,” *Food Chem.*, vol. 165, pp. 424–443, 2014, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002.
- [10] Y. Rahmadeni, F. A. Febria, and A. Bakhtiar, “Potensi Pakih Sipasan (*Blechnum orientale*) sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*,” *Metamorf. J. Biol. Sci.*, vol. 6, no. 2, p. 224, 2019, doi: 10.24843/metamorfosa.2019.v06.i02.p12.
- [11] K. Sudarmi, I. B. G. Darmayasa, and I. K. Muksin, “Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* ATCC,” *SIMBIOSIS J. Biol. Sci.*, vol. 5, no. 2, p. 47, 2017, doi: 10.24843/jsimbiosis.2017.v05.i02.p03.
- [12] A. A. Rini, Supriatno, and H. Rahmatan, “Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol BUAH KAWISTA (*Limonia Acidissima* L.) dari Daerah Kabupaten Aceh Besar terhadap Bakteri *Escherichia Coli*,” *J. Ilm. Mhs. Kegur. dan Ilmu Pendidik. Unsyiah*, vol. 2, no. 1, pp. 1–12, 2017.
- [13] Tika Siti Fatimah and Lanny Mulqie, “Studi Literatur Aktivitas Antibakteri dari Tanaman Famili *Malvaceae*,” *J. Ris. Farm.*, vol. 1, no. 2, pp. 106–113, 2021, doi: 10.29313/jrf.v1i2.454.
- [14] W. Anggraini, S. C. Nisa, R. R. Da, and B. Ma, “Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96 % buah blewah ( *cucumis melo* l . Var . *Antibacterial activity of 96 % ethanol extract cantaloupe fruit ( cucumis melo* l . Var . *Cantalupensis* ) against *escherichia coli* bacteria.” *Pharm. J. Indones.*, vol. 5, no. 1, pp. 61–66, 2019.
- [15] A. Amalia, I. Sari, and R. Nursanty, “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA),” *J. UIN Ar-Raniry*, vol. 5, no. 1, pp. 387–391, 2017.
- [16] T. Rostinawati, “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* Dan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Agar,” *Penelit. mandiri*, pp. 1–39, 2009.
- [17] R. Choerina, S. Suwendar, L. Mulqie, and D. Mardiyani, “Potensi Aktivitas Antibakteri Dari Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Air [*Eugenia aqueum* (Burn F.) Alston] Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*,” *J. Ilm. Farm. Farmasyifa*, vol. 2, no. 1, pp. 33–39, 2019, doi: 10.29313/jiff.v2i1.4230.
- [18] A. R. Lingga, U. Pato, and E. Rossi, “Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*,” *Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (Nicolaia speciosa Horan) Terhadap Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli.*, vol. 18, no. 2, pp. 33–37, 2016, [Online]. Available: <http://www.tjyybjb.ac.cn/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=9987>