

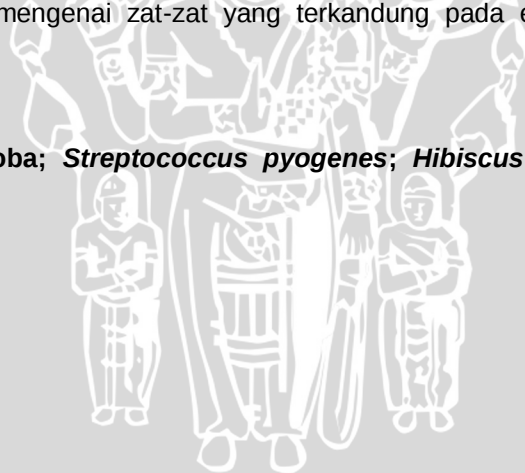
AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL KELOPAK ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP *Streptococcus pyogenes* SECARA *IN VITRO* DENGAN METODE DIFUSI SUMURAN

Primayuni Dhia Hasanah, Ovi Sofia, Siwipeni Irmawanti Rahayu

ABSTRAK

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri yang berperan penting sebagai patogen pada tubuh manusia. Resistensi *Streptococcus pyogenes* terhadap regimen pengobatan yang telah ada memacu peneliti untuk mencari alternatif pengobatan, salah satunya adalah pengobatan herbal. Kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) diketahui mengandung flavonoid, tanin, dan saponin. Rosella juga mudah tumbuh pada iklim tropis seperti di Indonesia sehingga mudah dalam mengelola dan memelihara tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella terhadap *Streptococcus pyogenes* dengan metode difusi sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kelopak rosella menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* secara signifikan (uji *Kruskal-Wallis*, $p < 0,05$). Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol rosella juga seiring dengan peningkatan zona inhibisi yang terbentuk (uji korelasi *Spearman*, $p < 0,05$). Konsentrasi ekstrak etanol rosella dan rata-rata diameter zona inhibisi yang terbentuk adalah sebagai berikut 20% (24,994 mm), 40% (28,906 mm), 60% (30,413 mm), 80% (31,544 mm), dan 100% (33,031 mm). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki efek antimikroba terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Penelitian ini dapat dijadikan dasar dalam pengembangan antimikroba berbasis herbal maupun eksplorasi lebih lanjut mengenai zat-zat yang terkandung pada ekstrak etanol kelopak rosella.

Kata kunci: aktivitas antimikroba; *Streptococcus pyogenes*; *Hibiscus sabdariffa* L.; difusi sumuran; zona inhibisi



ABSTRACT

Hasanah, Primayuni Dhia. 2016. **Antimicrobial Activity of Ethanolic Extract of The Calyx of Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) toward *Streptococcus pyogenes* by In Vitro Research with Well Diffusion Method.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Siwipeni Irmawanti Rahayu, M. Biomed (2) dr. Ovi Sofia, Sp.M

Streptococcus pyogenes is an important bacteria that act as pathogen in human body. Its resistance to some medical treatment regiments inspires many researcher to find alternative medication, including potency of herbal medicine. The calyx of rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) is known to contain flavonoid, tannin, and saponin. Rosella easily grows in tropical climate, such as in Indonesia, also easily planted and disseminated. This research aimed to study the antimicrobial activities of ethanolic extract of the calyx of rosella toward *Streptococcus pyogenes* by in vitro research with well diffusion method. This research showed that ethanolic extract of calyx of rosella inhibited the growth of *Streptococcus pyogenes* by in vitro research with well-diffusion method. *Streptococcus pyogenes* was significantly (Kruskal-Wallis test, $p < 0,05$) inhibited by the extract. The enhancement of extract's concentration was in line with the enlargement of inhibition zone (Spearman correlation test, $p < 0,05$). The concentration of extract and mean of inhibition zones' diameter are 20% (24,994 mm), 40% (28,906 mm), 60% (30,413 mm), 80% (31,544 mm), and 100% (33,031 mm). Conclusion of this research is ethanolic extract of calyx of rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) has antimicrobial effects towards *Streptococcus pyogenes* by in vitro research with well diffusion method. This research can be the basis of further development in herbal medicine or continous exploration of the substances that contained in the extract, especially as antimicrobial agent.

Keywords: antimicrobial activity, *Streptococcus pyogenes*, *Hibiscus sabdariffa* L., well diffusion method, inhibition zone

PENDAHULUAN

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri *Streptococcus* Grup A yang berperan penting sebagai patogen pada manusia (Cunningham, 2000). Manifestasi tersering dari *S. pyogenes* umumnya merupakan infeksi superfisial dan invasif lokal, seperti halnya faringitis bakterial dan impetigo. Meskipun demikian, infeksi *S. pyogenes* memiliki angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi di dunia karena kemampuan bakteri tersebut untuk memicu reaksi imunitas antara antigen dan antibodi hospes. Reaksi tersebut muncul sebagai glomerulonefritis akut paska infeksi atau penyakit jantung reumatik. Selain itu, manifestasi infeksi *S. pyogenes* juga dapat diakibatkan oleh toksin (*Streptococcal toxic shock syndrome/STSS*) atau infeksi sistemik berupa bakteremia (Sanyahumbi *et al.*, 2016).

Salah satu tatalaksana infeksi *S. pyogenes* adalah dengan pemberian antimikroba beta-laktam. Prosedur terapi ini dilaporkan mulai banyak mengalami kegagalan baik dari segi pasien (kurangnya kepatuhan pada pengobatan, adanya karier atau paparan berulang) maupun perubahan sifat dari bakteri *S. pyogenes*. Salah satu perubahan sifat ini berupa naiknya angka resistensi bakteri terhadap antibiotik beta-laktam, termasuk penisilin (Pichichero dan Casey, 2007). Selain betalaktam, *S. pyogenes* juga dilaporkan mulai resisten terhadap makrolid dan florokuinolon (Cattoir, 2016). Oleh karena itu, perlu dikembangkan alternatif terapi untuk infeksi *S. pyogenes* sebagai salah satu upaya untuk mengatasi resistensi. Salah satu alternatif yang tengah berkembang di masyarakat adalah pengobatan alternatif berbasis herbal.

Hibiscus sabdariffa L. atau lebih dikenal masyarakat dengan nama rosella, saat ini sudah mulai populer digunakan di

bidang kesehatan (Suarti *et al.*, 2011). Walaupun berasal dari Nigeria, tanaman rosella dapat tumbuh subur di negara tropis, termasuk Indonesia (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010).

Beberapa zat yang didapatkan pada bagian kelopak rosella adalah flavonoid, tanin, dan saponin (Rahaman dan Pal, 2015). Ketiga jenis bahan aktif tersebut telah diketahui berpotensi aktif sebagai antimikroba (Cowan, 1999). Flavonoid sebagai antimikroba bekerja dengan beberapa mekanisme aksi, antara lain menginaktivasi protein adhesin dan enzim, serta mengganggu *cell envelope transport protein* dari mikroba (Kumar dan Pandey, 2013). Tanin dapat menginaktivasi molekul adhesin dan enzim, serta mengganggu proses transpor protein mikroba (Cowan, 1999). Aktivitas antimikroba dari saponin adalah gangguan fungsi dan integritas dari membran sel bakteri. Saponin secara spesifik berinteraksi dengan kolesterol pada membran sel dan menyingkirkannya (Jamur dan Oliver, 2010). Pada penelitian yang dilakukan oleh Soetan *et al.* (2006) diketahui bahwa *crude* saponin dari ekstrak *Sorghum bicolor* L. Moench mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Pada kelopak rosella ditemukan bahwa tanin memiliki kandungan tertinggi jika dibandingkan dengan flavonoid dan saponin (Rahaman dan Pal, 2015).

Untuk mengeksplorasi aktivitas antimikroba dari ekstrak kelopak rosella atau tumbuhan lain, dapat digunakan uji antimikroba dengan metode difusi sumuran. Metode ini telah secara luas digunakan dalam pengujian ekstrak yang berasal dari tumbuhan serta merupakan uji antimikroba yang sederhana, murah, dan mudah dalam interpretasi hasil (Balouiri *et al.*, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

terhadap bakteri Gram positif, terutama terhadap *S. pyogenes*. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi yang dimiliki oleh kelopak *Hibiscus sabdariffa* L. sebagai terapi alternatif untuk infeksi *S. pyogenes*. Diharapkan bahwa hasil penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan terapi alternatif untuk menurunkan infeksi *S. pyogenes*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post test only control group*. Uji aktivitas antimikroba ini diharapkan dapat memperlihatkan konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *S. pyogenes* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Sampel yang digunakan merupakan spesimen bakteri *Streptococcus pyogenes* yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Penelitian ini menggunakan 5 (lima) macam konsentrasi yang berbeda dari ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan konsentrasi 0% sebagai kontrol positif. Untuk penelitian pendahuluan digunakan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Untuk penelitian definitif digunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Dengan demikian, diperlukan paling sedikit empat pengulangan untuk satu jenis perlakuan konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, tanggal 1-30 November 2016.

PROSEDUR PENELITIAN

Kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) diolah menjadi ekstrak etanol melalui

beberapa proses. Setelah menjadi ekstrak etanol kelopak rosella, dilakukan uji kontaminasi untuk menyingkirkan kemungkinan bahwa ekstrak tidak steril. Selain itu, dilakukan identifikasi spesimen bakteri.

Setelah dinyatakan steril dan telah dilakukan identifikasi, dilakukan penelitian pendahuluan dengan tujuan melakukan konfirmasi konsentrasi menggunakan konsentrasi : 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Dari penelitian pendahuluan didapatkan bahwa terdapat aktivitas antimikroba dari konsentrasi yang paling kecil hingga paling besar.

Untuk penelitian definitif ditetapkan 5 (lima) konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella, yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Ditetapkan konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella 0% atau aquades sebagai kontrol positif.

Dari setiap perlakuan dilakukan pengukuran zona inhibisi menggunakan jangka sorong dengan satuan pengukuran yang digunakan adalah milimeter (mm). Zona inhibisi diukur pada 4 (empat) diameter yang berbeda kemudian dihitung rata-ratanya.

Data yang di dapatkan di analisis dengan menggunakan IBM SPSS Statistics 22.

HASIL PENELITIAN

Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro* dengan difusi sumuran dimulai dengan melakukan uji kontaminasi ekstrak etanol kelopak rosella. Uji kontaminasi dilakukan dengan menggoreskan ekstrak etanol kelopak rosella pada MHA menggunakan ose yang telah dipanaskan. *Plate* tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pada uji kontaminasi ekstrak etanol kelopak rosella tidak ditemukan pertumbuhan mikroba setelah inkubasi 24

jam sehingga dinyatakan bahwa ekstrak steril dan bisa digunakan untuk uji antimikroba.

Sebelum memulai penelitian pendahuluan dan definitif, dilakukan identifikasi spesimen bakteri yang akan digunakan. Identifikasi *Streptococcus pyogenes* dilakukan dengan pewarnaan Gram, tes katalase, tes hemolisa, dan uji kepekaan terhadap *bacitracin*. Spesimen bakteri didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan diidentifikasi di tempat yang sama.



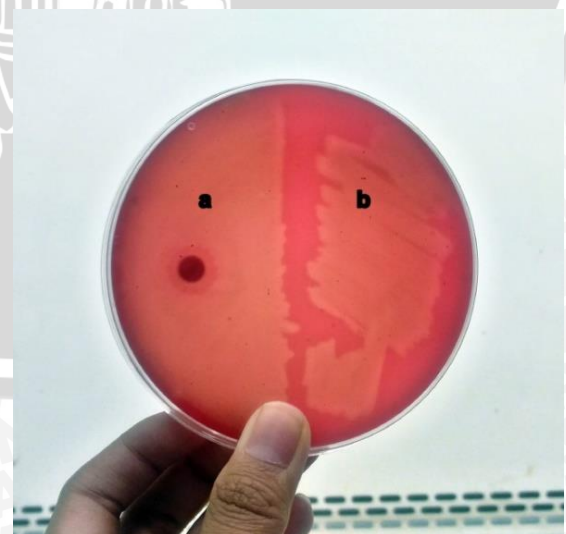
Gambar 5.2 Hasil Pewarnaan Gram untuk Identifikasi Bakteri. Didapatkan bakteri berbentuk kokus (sferis, oval), tercat ungu, dan membentuk rantai.

Hasil pewarnaan Gram (Gambar 5.2), didapatkan bakteri berbentuk sferis atau ovoid, tercat ungu, dan membentuk rantai. Maka dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri kokus (-coccus) Gram positif, dan membentuk rantai (strepto-). Ciri-ciri tersebut sesuai dengan karakteristik *Streptococcus*. Selanjutnya dilaksanakan uji katalase. Uji katalase adalah uji yang membedakan *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Uji katalase akan menghasilkan buih (positif) pada *Staphylococcus*, sedangkan uji katalase tidak akan menghasilkan buih (negatif) pada *Streptococcus*. Pada hasil uji katalase, tidak didapatkan buih seperti yang tampak pada Gambar 5.3. Maka dapat dikatakan bahwa hasil tes katalase

adalah negatif. Setelah dipastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus*, maka dilakukan uji hemolisa dan uji kepekaan terhadap *bacitracin* untuk membedakan *Streptococcus pyogenes* dengan *Streptococcus* spesies lain. Hasil uji hemolisa dan uji kepekaan terhadap *bacitracin* dapat diamati pada Gambar 5.4. Gambar tersebut menunjukkan bahwa pada area pertumbuhan bakteri terbentuk hemolisis yang transparan. Hal tersebut sesuai dengan karakteristik *Streptococcus pyogenes* yang dapat menghasilkan hemolisis berupa area transparan (beta-hemolysis). Untuk uji kepekaan terhadap *bacitracin*, terbentuk zona inhibisi di sekitar *bacitracin* disc. Maka uji kepekaan terhadap *bacitracin* positif.



Gambar 5.3 Hasil Uji Katalase. Tidak didapatkan buih, maka dapat dikatakan hasil uji katalase negatif.



Gambar 5.4 Hasil Uji Kepekaan terhadap *Bacitracin* dan Uji Hemolisa. (a) terdapat zona inhibisi pertumbuhan bakteri di

sekitar *bacitracin disc*, **(b)** terbentuk hemolisis yang transparan.

Setelah dinyatakan ekstrak steril dan telah dilakukan identifikasi terhadap spesimen yang akan digunakan, maka dilanjutkan dengan penelitian pendahuluan dengan mengamati diameter zona inhibisi pada konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella 0%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Diameter zona inhibisi pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 5.1

Tabel 5.1 Diameter Zona Inhibisi pada Penelitian Pendahuluan

Konsentrasi	Diameter Zona Inhibisi (mm)				Rata-rata
	Horizontal	Vertikal	Diagonal 1	Diagonal 2	
0%	6	6	6	6	6
3,125%	14,4	14,5	14,4	13,9	14,300
6,25%	19,0	18,3	19,1	18,9	18,800
12,5%	20,6	20,0	20,2	19,4	20,050
25%	26,7	26,6	24,2	23,2	25,175
50%	26,2	27,5	25,9	26,6	26,550
100%	26,5	28,5	26,8	29,0	27,700

Penelitian mengenai uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro* dengan difusi sumuran dilanjutkan dengan menggunakan 6 (enam) konsentrasi ekstrak yang berbeda, yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Kontrol positif pada penelitian ini adalah konsentrasi 0%. Hasil penelitian tertera pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Zona Inhibisi pada Penelitian Definitif

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Inhibisi (mm)				Rata-rata
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4	
	1	2	3	4	

0%	6	6	6	6	6
20%	24,725	24,625	27,100	23,525	24,994
40%	28,075	28,050	29,750	27,950	28,906
60%	29,625	30,600	31,050	30,375	30,413
80%	30,375	31,700	32,450	31,650	31,544
100%	32,375	33,050	33,300	33,400	33,031

Hasil penelitian kemudian dianalisa menggunakan bantuan *IBM Statistics SPSS 22*.

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas

Zona Inhibisi	Kolmogorov-Smirnov		
	Statistic	Df	Sig.
	,266	24	,000

Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,196	5	18	,100

Berdasarkan Tabel 5.3, *p-value* pada uji *Kolmogorov-Smirnov* adalah 0,000. Maka dapat disimpulkan bahwa data tidak terdistribusi normal. Untuk uji homogenitas, Tabel 5.4 menunjukkan bahwa *p-value* dari uji *Levene* adalah 0,100 yang berarti data penelitian homogen. Karena satu dari dua syarat dilakukan uji parametrik tidak terpenuhi, maka uji parametrik tidak dapat dilakukan. Analisa data harus dilakukan dengan uji non-parametrik, yaitu menggunakan uji *Kruskal-Wallis*.

Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan untuk mengetahui adakah perbedaan yang signifikan antara konsentrasi-konsentrasi ekstrak etanol rosella yang digunakan terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Hipotesis awal (H_0) yang digunakan dalam penelitian ini adalah tidak terdapat aktivitas antimikroba ekstrak etanol rosella terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Hipotesis alternatif (H_1) adalah terdapat aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella

terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*.

Dasar pengambilan keputusan dari hipotesis yang diajukan adalah dengan menggunakan nilai signifikansi (*p-value*). Jika *p-value* yang lebih kecil dari *alpha* (0,05) menunjukkan bahwa hipotesis H1 diterima dan hipotesis H0 ditolak.

Tabel 5.5 Hasil Kruskal Wallis

	Zona Inhibisi
Chi-Square	21,896
Df	5
Asymp. Sig.	,001

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* tersebut, diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) dari konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* sebesar 0,001. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi dari aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* lebih kecil dari *alpha* (0,05) maka H0 ditolak dan H1 dapat diterima sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*.

Dengan adanya pengaruh signifikan aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*, maka dilakukan uji *Post Hoc Mann Whitney* untuk melihat secara spesifik perbedaan antara aktivitas antimikroba pada konsentrasi-konsentrasi ekstrak yang digunakan terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*.

Hasil uji *Post Hoc* pada Tabel 5.6, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi-konsentrasi ekstrak yang digunakan terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*, kecuali antara konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella 60% dan 80%.

Tabel 5.6 Tabel Hasil Uji Post Hoc Mann-Whitney

Konsentrasi Ekstrak	0%	20%	40%	60%	80%	100%
0%		0,014	0,014	0,014	0,011	0,019
20%	0,014		0,021	0,021	0,014	0,034
40%	0,014	0,021		0,043	0,014	0,034
60%	0,014	0,021	0,043		0,065*	0,034
80%	0,011	0,014	0,014	0,065*		0,025
100%	0,014	0,034	0,034	0,034	0,025	

Keterangan: *tidak berbeda signifikan

Analisis data untuk mengetahui hubungan aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* adalah uji korelasi *Spearman*. Pengambilan keputusan dalam pengujian korelasi *Spearman* adalah dengan menggunakan nilai signifikansi (*p-value*). Nilai signifikansi yang lebih kecil dari *alpha* (0,05) menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan.

Tabel 5.7 Hasil Uji Korelasi Spearman

	KON SEN TRA SI	ZON A INHI BISI
Konsentrasi	Correlation Coefficient	1,000
	Sig.(2-tailed)	,975**
	N	24
Zona Inhibisi	Correlation Coefficient	,975**
	Sig.(2-tailed)	1,000
	N	24

Tabel 5.8 Tingkat Hubungan dalam Interval Koefisien

Signifikansi	Keterangan
0	Tidak ada korelasi antara dua variabel
$>0 - 0,25$	Korelasi sangat lemah
$>0,25 - 0,5$	Korelasi cukup
$>0,5 - 0,75$	Korelasi kuat
$>0,75 - 0,99$	Korelasi sangat kuat
1	Korelasi sempurna

Berdasarkan hasil uji korelasi *Spearman* pada Tabel 5.7, didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,975 dan nilai signifikansi (*p-value*) lebih kecil dari *alpha* (0,05) yaitu sebesar 0,000. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Tidak terdapat tanda negatif (-) pada koefisien korelasi menunjukkan bahwa hubungan antar dua variabel berbanding lurus. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella maka semakin besar zona inhibisi yang terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi dari ekstrak. Kekuatan korelasi sebesar 0,975 menunjukkan bahwa tingkat hubungan antar dua variabel sangat kuat seperti yang tertera pada Tabel 5.8.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro*. Untuk mencapai tujuan tersebut, maka dipilih metode difusi sumuran yang telah secara luas digunakan dalam pengujian ekstrak yang berasal dari tumbuhan. Metode ini juga memiliki beberapa keuntungan karena

merupakan uji antimikroba yang sederhana, murah, dapat digunakan pada berbagai mikroorganisme dan ekstrak, serta kemudahan dalam interpretasi hasil (Balouiri *et al.*, 2015). Selain itu, ekstrak etanol kelopak rosella berwarna merah kehitaman dan kental, sehingga akan lebih sulit menginterpretasi hasil penelitian dalam melihat aktivitas antimikroba dengan metode lain yaitu dilusi (Gaur *et al.*, 2016). Data hasil penelitian dengan metode difusi sumuran juga diketahui memiliki korelasi yang baik dengan uji mikrodilusi NCCLS atau yang sekarang dikenal dengan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (Magaldi *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil analisis data, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Selain itu, terdapat hubungan yang signifikan dan sangat kuat antara besar konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella dengan zona inhibisi yang terbentuk. Analisis data juga menunjukkan perbedaan zona inhibisi yang signifikan antar konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella. Perbedaan yang tidak signifikan pada ekstrak etanol kelopak rosella dengan konsentrasi 60% dan 80% dapat diakibatkan oleh kelarutan yang menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi sehingga tidak dapat berdifusi secara maksimal dan menghasilkan zona inhibisi yang tidak jauh berbeda dengan konsentrasi dibawahnya.

Aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella yang ditemukan pada penelitian ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Alshami dan Alharbi (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol kelopak rosella memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Eschericia coli* yang diisolasi dari pasien dengan infeksi saluran kemih rekuren di Rumah Sakit

Ohad, Arab Saudi. Penelitian tersebut juga menggunakan metode difusi sumuran. Pada penelitian lain dinyatakan bahwa ekstrak etanol kelopak rosella menimbulkan hambatan yang signifikan terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% dengan metode difusi agar Kirby-Bauer (So et al., 2012).

Aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella dapat diamati baik pada bakteri *Gram* positif dan negatif. Hal tersebut disebabkan oleh aktivitas flavonoid, tanin, dan saponin yang terkandung di dalamnya. Zat-zat tersebut berinteraksi dengan komponen-komponen dari dinding sel dan membran sel. Interaksi yang terjadi kemudian mengganggu integritas dari dinding dan membran sel sehingga memicu lisis dari bakteri. Aktivitas antimikroba tersebut memperlihatkan potensi ekstrak etanol kelopak rosella sebagai calon antimikroba *broad-spectrum*.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dapat menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) ataupun Kadar Bunuh Minimum (KBM) karena ekstrak etanol kelopak rosella tidak dapat dieksplorasi dengan metode dilusi. Hal tersebut dikarenakan ekstrak tersebut keruh, sehingga pada penelitian selanjutnya dapat dicari metode ekstraksi maupun uji antimikroba lain untuk menemukan KHM dan KBM dari ekstrak. Penelitian ini juga tidak dapat memberikan pengetahuan mengenai pengaruh lama penyimpanan ekstrak etanol kelopak rosella terhadap aktivitas antimikroba ekstrak tersebut sehingga diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan pengamatan aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol kelopak rosella berdasarkan waktu penyimpanannya. Keterbatasan lain dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan eksplorasi potensi antimikroba dan besarnya kandungan dari masing-masing

zat yang terkandung dalam ekstrak etanol kelopak rosella sehingga diharapkan penelitian ini bisa dijadikan dasar untuk penelitian aktivitas antimikroba dari masing-masing zat yang terkandung dalam ekstrak yaitu flavonoid, tanin, dan saponin. Selain itu, perlu dilakukan uji toksisitas dan uji perbandingan ekstrak etanol kelopak rosella dengan antibiotik yang telah digunakan secara klinis.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal tersebut dilihat dari peningkatan diameter zona inhibisi *Streptococcus pyogenes* yang berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kelopak rosella.

SARAN

Perlu dilakukan eksplorasi mengenai metode yang dapat menemukan KHM dan KBM dari ekstrak, eksplorasi mengenai pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antimikroba ekstrak etanol kelopak rosella, eksplorasi mengenai potensi aktivitas antimikroba dan besarnya kandungan dari masing-masing zat yang terkandung dalam ekstrak etanol kelopak rosella yaitu flavonoid, tanin, dan saponin. Selain itu diperlukan uji toksisitas ekstrak etanol kelopak rosella secara *in vivo* dan uji perbandingan antara ekstrak etanol kelopak rosella dengan antibiotik yang telah digunakan secara klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alshami I., Alharbi A.E. 2014. Antimicrobial activity of Hibiscus sabdariffa extract against uropathogenic strains isolated from recurrent urinary tract infections. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*; 4(4): 317-322.
2. Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S.K. 2015. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*.
3. Brooks G.F., Carroll K.C., Butel J.S., Morse S.A. 2007. The Streptococci. *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology, 24th ed*: 233-246.
4. Carrillo-Marquez M.A. 2016. Bacterial Pharyngitis. Diperbaharui tanggal 17 Maret 2016. (emedicine.medscape.com/article/225243-overview#a5)
5. Cattoir V. 2016. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Streptococcus pyogenes; Basic Biology to Clinical Manifestations*. Oklahoma: The University of Oklahoma Health Sciences Center.
6. Çolak S.M., Yapici B.M., Yapici A.N. 2010. Determination of antimicrobial activity of tannic acid in pickling process. *Romanian Biotechnological Letters Vol.15*(3); 5325-5330.
7. Cowan M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 12(4), 564-582.
8. Cunningham M.W. 2000. Pathogenesis of Group A Streptococcal Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(3), 470–511.
9. Cushnie T.P.T., Lamb A.J. 2005. Review: Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
10. Direktorat Obat Asli Indonesia. 2010. *Booklet-Rosella*. Jakarta: Direktorat OAI, Deputi II, BPOM.
11. Gaur A., Ganeshan M., Shah R., Bholay A.D. 2016. Determination of Minimum Inhibitory Concentration of organic extract of *Catharanthus roseus* by a novel modified well diffusion technique. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*; 4 (2): 177-182.
12. Gothandam K.M., Aishwarya R., Karthikeyan S. 2010. Preliminary Screening of Antimicrobial Properties of Few Medicinal Plants. *Journal of Phytology*, Vol 2(4): 1-6.
13. Jamur M.C., Oliver C, Permeabilization of Cell Membranes. *Immunocytochemical Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, Vol. 588; 63-66.
14. Kaminogawa S., Ametani A., Hachimura S. (Eds.). 2012. *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects: Proceedings of the Fifth International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology*, Omiya, Japan (Vol. 5).
15. Kumar S., Pandey A.K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, Vol.2013.
16. Lalitha M.K., 2004. Manual on antimicrobial susceptibility testing. *Performance standards for antimicrobial testing: Twelfth Informational Supplement*, 56238, pp.454-456.
17. Larsen R. *Streptococcus pyogenes*. (https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Streptococcus_pyogenes#Classification), diakses 12 September 2016
18. Magaldi S., Mata-Essayag S, Hartung de Capriles C, Perez C, Colella MT, Olaizola C, et al. 2004. Well Diffusion for Antifungal Susceptibility Testing. *International Journal of Infectious Diseases*; Vol.8, 39-45.
19. Minocha S., Kumari S. 2015. An Overview on Tannins. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Science Archive* Vol.3(1); 1-3.
20. Patterson M.J. 1996. *Streptococcus. Medical Microbiology 4th Edition*: Chapter 13.
21. Pereira A.V., Santana G.M., Góis M.B., Sant'Ana D.G. 2015. Tannins obtained from medicinal plants extracts against pathogens: antimicrobial potential. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and*

- Educational Programs (A. Mendez-Vilas, Ed.): 228-235.
22. Pichichero M.E., Casey J.R. 2007. Systematic review of factors contributing to penicillin treatment failure in *Streptococcus pyogenes* pharyngitis. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 137(6), 851-857.
 23. Qudsi D.C.M., Sudjari, Rahayu S.I. 2016. Perbandingan Efektivitas Kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucopyranose) dan Nano Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* secara *In Vitro*. *Majalah Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya* Vol.3(1).
 24. Rahaman C.H., Pal K. 2015. Phytochemical and Antioxidant Studies of *Hibiscus sabdariffa* L. – An Ethnomedicinal Plant. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 5(4), 1454-1462.
 25. Reiner K. 2010. Catalase Test Protocol. *ASM Conference for Undergraduate Educators 2010*.
 26. Ribeiro B.D., Alviano D.S., Barreto D.W., Coelho M.A.Z. 2013. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*): Critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol.436: 73-743.
 27. Sanyahumbi A.S., Colquhoun S., Wyber S., Carapetis J.R. 2016. Global Disease Burden of Group A *Streptococcus*. *Streptococcus pyogenes; Basic Biology to Clinical Manifestations*.
 28. Small, Ernest. 2006. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L). *Culinary Herbs 2nd Edition* : 389-391.
 29. So Y.J., Lestari N.D., Rinanda T. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*; Vol 12(1).
 30. Soetan K.O., Oyekunle M.A., Aiyelaagbe O.O., Fafunso M.A. 2006. Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum bicolor* L. Moench. *African Journal of Biotechnology*, 5(23): 2405-2407.
 31. Spellberg B., Brandt C. 2016. Laboratory Diagnosis of *Streptococcus pyogenes* (group A *Streptococci*). *Streptococcus pyogenes; Basic Biology to Clinical Manifestations*: 643-645.
 32. Suarti B., Ardilla D., Jubeir A. 2011. STUDI PEMBUATAN SELAI BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Agrium*, 17(1).
 33. Wessels M.R. 2016. Pharyngitis and Scarlet Fever. *Streptococcus pyogenes; Basic Biology to Clinical Manifestations*: 511-524.

Menyetujui,
Pembimbing I

dr. Siwipeni Irmawanti Rahayu, M.Biomed

NIP. 198805052012122001