

**UJI POTENSI EKSTRAK ETANOL KELOPAK
BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) SEBAGAI
PENGHAMBAT PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI
Burkholderia pseudomallei SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh:
Divvy Kinanti Maharani
NIM 145070101111038**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan	ii
Lembar Pengesahan	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak	viii
Abstract	ix
Daftar Isi	x
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Gambar	xv
Daftar Lampiran.....	xvii
Daftar Singkatan.....	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Burkholderia pseudomallei</i>	6

2.1.1 Taksonomi <i>Burkholderia pseudomallei</i>	6
2.1.2 Karakteristik Bakteri	6
2.1.3 Gambaran Klinis Melioidosis	9
2.1.4 Patogenesis dan Faktor Virulensi.....	9
2.1.5 Biofilm	10
2.1.6 Biofilm <i>Burkholderia pseudomallei</i>	12
2.1.7 Quorum Sensing <i>Burkholderia pseudomallei</i>	12
2.2 Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	14
2.2.1 Morfologi Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	14
2.2.2 Taksonomi Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	15
2.2.3 Khasiat Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	16
2.2.4 Rosela sebagai Antibakteri.....	16
2.2.4.1 Quersetin	16
2.2.4.2 Tanin	17
2.2.5 Rosela sebagai Antibiofilm	20
2.2.5.1 Quersetin	20
2.2.5.2 Tanin.....	20
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	22
3.1 Kerangka Konsep	22
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	23
3.3 Hipotesis Penelitian	24
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	25
4.1 Rancangan Penelitian.....	25
4.2 Sampel Penelitian.....	25
4.3 Jumlah Sampel.....	25

4.4 Variabel Penelitian.....	26
4.4.1 Variabel Bebas.....	26
4.4.2 Variabel Tergantung.....	26
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	26
4.6 Bahan dan Alat Penelitian.....	26
4.6.1 Bahan Penelitian.....	26
4.6.2 Alat Penelitian.....	27
4.7 Definisi Operasional.....	28
4.8 Prosedur Penelitian.....	29
4.8.1 Identifikasi Bakteri.....	29
4.8.2 Pembuatan Ekstrak.....	33
4.8.3 Uji Deteksi Pembentukan Biofilm.....	33
4.8.4 Alur Kerja Penelitian.....	37
4.9 Analisis Data.....	39
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	41
5.1 Hasil Penelitian.....	41
5.1.1 Hasil Ekstraksi Kelopak Bunga Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	41
5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri.....	41
5.1.3 Hasil Uji Hambat Pembentukan Biofilm.....	44
5.2 Analisis Data.....	50
5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas.....	50
5.2.2 Uji One Way ANOVA.....	50
5.2.3 Uji Post Hoc.....	50
5.2.4 Uji Korelasi Pearson.....	52
5.2.5 Uji Regresi.....	53

BAB 6. PEMBAHASAN	55
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	60
7.1 Kesimpulan.....	60
7.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	62

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Perlakuan Pemberian Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela Uji Pendahuluan	34
Tabel 4.2 Perlakuan Pemberian Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela Penelitian Inti.....	35
Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Visual Uji Hambat Pembentukan Biofilm Penelitian Inti	48
Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Intensitas Warna Biofilm (<i>Mean Gray Value</i>) Penelitian Pendahuluan.....	49
Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Intensitas Warna Biofilm (<i>Mean Gray Value</i>) Penelitian Inti.....	49
Tabel 5.4 Hasil <i>Post Hoc Multiple Comparison Test</i>	52
Tabel 5.5 Koefisien Korelasi.....	52
Tabel 5.6 Hasil Uji Regresi	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pewarnaan Gram <i>Burkholderia pseudomallei</i> menunjukkan gambaran bipolar/ "safety pin" appearance.....	8
Gambar 2.2 Fase-fase pembentukan biofilm	10
Gambar 2.3 Sistem <i>quorum sensing</i>	13
Gambar 2.4 Morfologi bunga rosela.....	15
Gambar 2.5 Struktur molekuler quersetin	16
Gambar 2.6 Struktur inti tanin.....	18
Gambar 2.7 Struktur molekuler tanin terhidrolisis: ellagitanin dan asam galat .	19
Gambar 2.8 Struktur molekuler tanin terkondensasi: katekin dan proantosianidin.....	19
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep	22
Gambar 5.1 Pewarnaan Gram bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	42
Gambar 5.2 Koloni <i>Burkholderia pseudomallei</i> pada agar MacConkey.....	43
Gambar 5.3 Koloni <i>Burkholderia pseudomallei</i> pada medium Ashdown dengan <i>cornflower head appearance</i>	43
Gambar 5.4 Hasil tes oksidase <i>Burkholderia pseudomallei</i>	43
Gambar 5.5 Identifikasi <i>Burkholderia pseudomallei</i> dibandingkan dengan bakteri <i>Escherichia coli</i> dan kontrol negatif	44
Gambar 5.6 Hasil penelitian pendahuluan uji hambat pembentukan biofilm ekstrak kelopak bunga rosela terhadap pembentukan biofilm oleh <i>Burkholderia pseudomallei</i>	45
Gambar 5.7 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 0%	45
Gambar 5.8 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 10%	46
Gambar 5.9 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 20%	46

Gambar 5.10 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 30%	46
Gambar 5.11 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 40%	47
Gambar 5.12 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 50%	47
Gambar 5.13 Grafik hasil pengukuran <i>Mean Gray Value</i> penelitian inti	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Prosedur <i>Latex Agglutination Test</i> untuk <i>B. pseudomallei</i>	70
Lampiran 2 Hasil Uji Statistik Nilai <i>Mean Gray Value</i>	71
Lampiran 3 Surat Keterangan Determinasi Tanaman	75

DAFTAR SINGKATAN

AHL	: <i>N-acyl homoserine lactone</i>
ATP	: <i>Adenosine triphosphate</i>
BHIB	: <i>Brain Heart Infusion Broth</i>
BpsI	: AHL-sintase <i>B. pseudomallei</i>
BpsR	: reseptor AHL <i>B. pseudomallei</i>
C8HL	: <i>N-octanoylhomoserine lactone</i>
CFU	: Colony Forming Unit
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DSLR	: <i>Digital Single-Lens Reflex</i>
EPS	: <i>Extracellular Polymeric Substances</i>
HIV-1	: <i>Human Immunodeficiency Virus-1</i>
HSV	: <i>Herpes Simplex Virus</i>
KHBM	: Kadar Hambat Biofilm Minimal
LAT	: <i>Latex Agglutination Test</i>
MGV	: <i>Mean Gray Value</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
QS	: <i>Quorum Sensing</i>
RSV	: <i>Respiratory Syncytial Virus</i>
SPSS	: <i>Statistical Product and Service Solution</i>
T3SS	: <i>Type 3 secretion</i>
TBSglu	: <i>Trypticase soy broth (TSB) dengan 1% glukosa</i>

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

**UJI POTENSI EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus
sabdariffa* L.) SEBAGAI PENGHAMBAT PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI
Burkholderia pseudomallei SECARA IN VITRO**

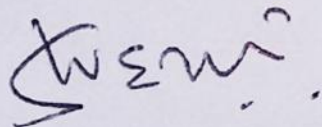
**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**

Oleh :

Divvy Kinanti Maharani

145070101111038

Pembimbing I,



dr. Siwipeni Irmawanti R., M.Biomed

NIP. 198805052012122001

Pembimbing II,



dr. Anggun Putri Yuniaswan, Sp.KK

NIP. 2016098306072001

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI POTENSI EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus
sabdariffa* L.) SEBAGAI PENGHAMBAT PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI
Burkholderia pseudomallei SECARA *IN VITRO***

Oleh:

Divvy Kinanti Maharani

NIM 145070101111038

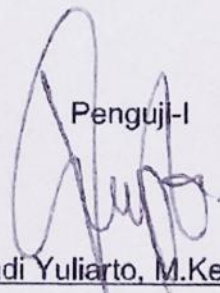
Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 22 Desember 2017

dan dinyatakan lulus oleh:

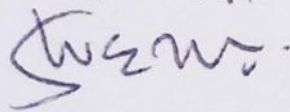
Penguji-I



dr. Saptadi Yulianto, M.Kes., Sp.A (K)

NIP. 198009202012121003

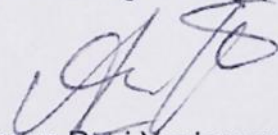
Pembimbing-I/Penguji II,



dr. Siwipeni Irmawanti R., M.Biomed.

NIP. 198805052012122001

Pembimbing-II/Penguji-III,

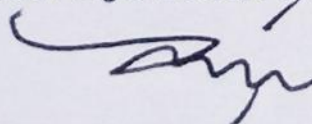


dr. Anggun Putri Yuniaswan, Sp.KK

NIP. 2016098306072001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,



dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Maharani, Divvy Kinanti. 2017. ***Uji Potensi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus Sabdariffa L.) sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm Bakteri Burkholderia pseudomallei secara In Vitro.*** Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Siwipeni Irmawanti Rahayu, M.Biomed, (2) dr. Anggun Putri Yuniaswan, Sp.KK.

Melioidosis merupakan penyakit infeksi oleh bakteri Gram negatif *Burkholderia pseudomallei* yang memiliki tingkat mortalitas dan resistensi antibiotik cukup tinggi. *Burkholderia pseudomallei* dapat membentuk biofilm yang mampu melindungi bakteri dari respon imun pejamu dan meningkatkan episode relaps. Salah satu cara untuk mencegah pembentukan biofilm bakteri yaitu dengan penggunaan bahan aktif quersetin dan tanin yang terkandung dalam kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya potensi ekstrak etanol kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm bakteri *B. pseudomallei* dengan menggunakan desain eksperimental laboratoris *in vitro* dengan metode uji dilusi tabung. Simplisia kelopak bunga rosela dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela yang digunakan adalah 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% dengan empat kali pengulangan. Kepekatan warna cincin biofilm yang terbentuk lalu dinilai secara kualitatif dengan pengamatan visual serta secara kuantitatif dengan menggunakan *Mean Gray Value* (MGV) memakai program *Adobe Photoshop CS6*. Hasil pengamatan secara visual menunjukkan bahwa cincin biofilm sudah tidak terbentuk pada konsentrasi 40%. Hasil analisis MGV menunjukkan bahwa Kadar Hambat Minimal Biofilm (KHBM) terdapat pada konsentrasi 40%. Hasil rata-rata MGV pada konsentrasi 10% hingga 40% menunjukkan peningkatan yang berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela ($p < 0,05; r = 0,885$). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kelopak bunga rosella dapat menghambat pembentukan biofilm bakteri *B. pseudomallei* secara *in vitro*.

Kata Kunci : *Burkholderia pseudomallei*, biofilm, kelopak bunga rosela

ABSTRACT

Maharani, Divvy Kinanti. 2017. ***Antibiofilm Potential of Ethanolic Extract from Roselle Calyx Extracts (Hibiscus sabdariffa L.) againsts Burkholderia pseudomallei Bacteria In Vitro.*** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Siwipeni Irmawanti Rahayu, M.Biomed, (2) dr. Anggun Putri Yuniaswan, Sp.KK.

Melioidosis is an infectious disease by Gram-negative bacteria *Burkholderia pseudomallei* which has high level of mortality and antibiotic resistance. *Burkholderia pseudomallei* may form biofilms that can protect bacteria from host immune responses and enhance relapse episodes. One way to prevent bacterial biofilm formation is through the utilization of roselle calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.) containing quercetin and tannin as the active substances. The aim of this research is to know the potency of ethanolic extract of roselle calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.) in inhibiting biofilm formation of *B. pseudomallei* bacteria by using experimental laboratory design in vitro and test tube dilution method. Roselle calyx powder was macerated with 96% ethanol solvent. The ethanolic extract concentration of roselle calyx was 10%, 20%, 30%, 40%, and 50% with four times repetitions. The color intensity of the formed biofilm rings was then assessed qualitatively by visual observations and quantitatively using Mean Gray Value (MGV) using Adobe Photoshop CS6 program. From the results obtained visually, the biofilm ring was already not formed at concentration of 40%. MGV analysis showed the Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) was at concentration of 40%. The average yield of MGV at concentrations of 10% to 40% showed an increase that was directly proportional to the increase in the concentration of roselle calyx extract ($p < 0.05; r = 0.885$). The conclusion of this study is the roselle calyx extract can inhibit the formation of biofilm of *B. pseudomallei* in vitro.

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*, biofilm, roselle calyx