

UJI IN VITRO DAN IN VIVO EKSTRAK *HIBUSCUS SABDARIFFA* SEBAGAI ANTIBAKTERI *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

Iwan Doddy Dharmawibawa

Program Studi Pendidikan Biologi FPMIPA IKIP Mataram Indonesia

E-mail: iwandoddydharmawibawa@ikipmataram.ac.id

Abstrak: Bunga *H. sabdariffa* berkhasiat sebagai antiseptik, *demulcent* (menetralkan asam lambung), *digestif* (melancarkan pencernaan diuretik, *onthemintic* (anti cacing), *refrigerant* (efek pendinginan), serta mengobati kanker, batuk, sakit maag, kembung perut, dan mencegah penyakit hati. Namun, uji klinis yang memanfaatkan *H. sabdariffa* untuk mencegah dan mengobati penyakit-penyakit infeksi *S. typhimurium* belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh *H. sabdariffa* menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi *S. typhimurium* pada mencit. Ekstraksi *H. sabdariffa* dilakukan dengan metode infusa menggunakan pelarut aquades. Dilakukan uji *in vitro* dengan menggunakan metode sumuran dengan cara mengukur besarnya diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumur. Setelah itu dilanjutkan uji *in vivo* dengan memberikan secara oral ekstrak *H. sabdariffa* ke mencit yang telah diinfeksi *S. typhimurium*. Dari penelitian ini diperoleh bahwa ekstrak *H. sabdariffa* memiliki efek sebagai antibakteri dengan diperoleh zona hambat.

Kata Kunci : Uji In Vitro, In Vivo, Ekstrak *H. sabdariffa*, Antibakteri, *S. Typhimurium*.

Abstract: Flower *H. sabdariffa* is efficacious as an antiseptic, demulcent (neutralizes stomach acid), digestif (diuretic digestion, onthemintic (anti-worms), refrigerant (cooling effect), and treat cancer, cough, stomach ulcers, bloating abdomen, and prevent liver disease. However, clinical trials utilizing *H. sabdariffa* to prevent and treat *S. typhimurium* infection infections have not been done. Therefore, this study was conducted to determine the effect of *H. sabdariffa* inhibit the growth and kill the bacteria causing *S. typhimurium* infection disease on The extraction of *H. sabdariffa* was performed by infusa method using aquadest solvent in vitro test by using the well method by measuring the diameter of clear zone formed around the well. After that, it was continued by in vivo test by giving oral extract of *H. sabdariffa* to the mice which has been infected *S. typhimurium*. From this study dipe it is found that the extract of *H. sabdariffa* has an antibacterial effect with the inhibitory zone obtained.

Keywords: In Vitro Test, In Vivo, *H. sabdariffa* Extract, Antibacterial, *S. Typhimurium*.

PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik ganda dan pemanasan global merupakan penyebab penyakit infeksi akibat mikroba semakin berkembang. Pada dasarnya, antimikroba adalah solusi atas permasalahan penyakit infeksi ini. Namun mikroba tetap menjadi penyebab kematian kedua diseluruh dunia, terutama negara berkembang. Indonesia termasuk salah satu negara yang kini tengah menghadapi hal tersebut di masa depan dalam bidang kesehatan (penyakit infeksi), pertanian dan peternakan. Seperti kasus keracunan makanan yang disebabkan

oleh telur ayam yang terinfeksi *Salmonella*.

Kasus infeksi oleh *Salmonella* dianggap sebagai penyakit endemik dengan gejala yang bervariasi. Di Indonesia penyakit demam tifoid atau yang lebih dikenal dengan tifus merupakan penyakit patogen. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia, lebih dari 22 juta orang per tahun di seluruh dunia terinfeksi dengan demam tifoid setiap tahunnya, dengan angka kematian mencapai 200.000 jiwa per tahun (Anonim, 2005). Untuk di Indonesia sendiri pada tahun 2003 terdapat sekitar 900.000 kasus demam



tifoid, di mana sekitar 20.000 penderitanya meninggal dunia (Anonim, 2003).

Pada dasarnya, antimikroba adalah solusi atas permasalahan penyakit infeksi untuk menghambat pertumbuhan sampai membunuh bakteri patogen. Walaupun telah banyak antimikroba ditemukan, kenyataan menunjukkan bahwa masalah penyakit terus berkelanjutan. Hal tersebut terjadi akibat pergeseran pada bakteri penyebab penyakit dan perkembangan resistensi bakteri terhadap antimikroba. Oleh sebab itu antimikroba yang pernah efektif untuk mengobati penyakit-penyakit tertentu kehilangan nilai kemoterapeutiknya (Pelczar dan Chan dalam Tirta, 2010).

Hibiscus sabdariffa merupakan salah satu tanaman herbal yang digunakan sebagai antibakteri (Rostinawati, 2009; Yani, 2010; Tirta, 2010). Telah dilakukan penelitian sebelumnya uji sitotoksik dan aktivitas antibakteri ekstrak metanol terhadap kelopak rosella. Pada uji aktivitas antibakteri kandungan yang berkhasiat sebagai antibakteri pada tanaman ini antara lain glikosida jantung, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Kelopak rosella memperlihatkan aktivitas antibakteri dengan *minimum inhibitory concentration* (MIC) $0,30 \pm 0,2$ – $1,30 \pm 0,2$ mg/ml terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Micrococcus luteus*, *Serratia masecences*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescense* dengan metode *disc-diffusion* (Olaleye dalam Tirta, 2010).

Namun penelitian yang mengamati pengaruh ekstrak *Hibiscus sabdariffa* terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhimurium* belum

pernah dilakukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Melihat berbagai kelebihan dari tanaman *Hibiscus sabdariffa*, sangat penting dilakukan penelitian ini untuk melihat daya antibakteri ekstrak *Hibiscus sabdariffa* menggunakan metode *disc-diffusion* (*in vitro*) maupun pada Mencit Balb/C (*Mus Musculus*) yang di Infeksi *Salmonella Typhimurium* (*in vivo*).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bunga Rosella kering (*Hibiscus sabdariffa* L.), yang diperoleh melalui tahap sortasi basah dan sortasi kering. Hewan uji mencit diperoleh dari Laboratorium Imunologi Universitas Mataram. Media tumbuh selektif SSA diperoleh dari Unit Riset Biomedik.

Alat

Timbangan tikus (OHAUS), timbangan analitik (Sartorius), sentrifuge (Beckman), tabung Ependorf, kandang metabolisme dan spuit.

Jalannya Penelitian

Pembuatan infusa

Bunga rosella kering dihaluskan sampai menjadi serbuk kemudian diekstrak dengan pelarut aquades menggunakan metode infusa selama 15 menit pada suhu 100°C sampai diperoleh ekstrak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Pembuatan Media Agar

Sebanyak 23 gram serbuk *Salmonella-Sigella* Agar (SSA) dilarutkan dalam air suling steril sebanyak 1000 ml. Kemudian dipanaskan hingga larut dalam labu Erlenmeyer, disumbat dengan kapas berlemak dan ditutup dengan aluminium foil lalu disterilkan dengan



autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri ditanam pada media *Salmonella-Sigella Agar* (SSA) dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian bakteri yang akan diuji disuspensikan dengan cara menumbuhkan bakteri dalam media cair yaitu NaCl fisiologis, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada penelitian ini menggunakan suspensi 0,5 Macfarland.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode difusi agar dengan sumuran. Sebanyak 200 μ L masing-masing suspensi bakteri ditambahkan ke dalam 20 mL media *Salmonella-Sigella Agar* (SSA) untuk bakteri. Campuran diputar sampai homogen, didinginkan dan menjadi padat dalam cawan petri steril. Setelah itu dibuat sumur yang berdiameter $\pm$ 6 mm dengan menggunakan prevorator. Selanjutnya dimasukkan 50 μ L masing-masing ekstrak uji kedalam sumur. Sebelumnya dilakukan pra inkubasi selama 1 hari pada suhu kamar. Pengujian aktivitas daya hambat bunga Rosella dilakukan pada konsentrasi 1 g/ml (Rostinawati, 2009). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam untuk bakteri. Diameter hambat diamati setelah periode inkubasi.

Penetapan Dosis

Dosis yang diberikan yaitu dosis lazim 3 kali pemberian /hari pada manusia kemudian dikonversi dari manusia ke mencit. Maka dosis yang

diberikan adalah 40 mg/1 kg berat badan (BB) mencit dalam PBS III).

Pengamatan Koloni Bakteri

Adapun langkah-langkah yang harus diperhatikan dalam pengamatan koloni bakteri dengan mengambil kotoran mencit. Kotoran yang diambil dilarutkan dengan saline steril sebanyak 100 cc. Dilakukan homogenisasi dengan menggunakan vortex Sampel dari tabung diinokulasi pada *Salmonella-Sigella Agar* (SSA), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati keberadaan koloni bakteri dalam media SSA. Untuk mengamati lebih jelasnya dilakukan pengecekan gram pada koloni bakteri yang ditemukan di media SSA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Uji *In Vitro*

Hasil uji *in vitro* menunjukkan terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri yang diamati selama penelitian dapat dilihat dalam tabel 4.1. Ekstrak bunga rosella berpotensi kuat sebagai antibakteri. Ini dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk dengan diameter terluas 25 mm sedangkan yang terkecil 11 mm. Diameter zona bening 25 mm termasuk dalam respon hambatan pertumbuhan yang kuat, sedangkan diameter zona hambat 11 mm termasuk dalam respon hambatan pertumbuhan yang lemah. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Rostinawati (2009), Tirta (2010) dan Yani (2010), menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella memiliki aktivitas antibakteri pada berbagai bakteri patogen.



Tabel 1. Diameter Zona (mm) Hambat *S. thypimurium* pada Media SSA.

Pemberian Perlakuan Ulangan	Kontrol (Cipro, 50 µl)	Ekstrak Bunga Rosella (75 µl)	Ekstrak Bunga Rosella (50 µl)	Ekstrak Bunga Rosella (25 µl)
1	30	15	13	11
2	50	25	15	13

Kemampuan antibakteri dari ekstrak bunga rosella diduga karena terdapat senyawa flavonoid, saponin, polisakarida, asam organik dan alkaloid. Senyawa tersebut merupakan antibakteri aman dan berguna untuk menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen (Tirta, 2010; Anonim, 2010). Kelopak bunga Rosella (*H. sabdariffa* L) mengandung beberapa senyawa flavonoid yakni anthocyanin, gossypeptin (hexahydroxyflavone) 3-

glucoside, flavonol glucoside hibiscritin, flavonoid gossypeptin, delphinidine 3- monoglucoside, cyanidin 3-monoglucoside. Senyawa flavonoida adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Ross, 2003; Lenny, 2006).

Tabel 2. Hasil Kultur *S. thypimurium* dari Feses Mencit.

Pemberian Perlakuan Ulangan	Cipro + Infeksi <i>S. thypimurium</i>	Ekstrak Bunga Rosella + Infeksi <i>S. thypimurium</i>	Aquades + Infeksi <i>S. thypimurium</i>
1	-	+	+
2	-	+	+
3	-	+	+

Keterangan : - : Tidak Ada Koloni Bakteri *S. thypimurium*.

+ : Terdapat Koloni Bakteri *S. thypimurium*.



Setelah itu dilanjutkan uji *in vivo* dengan menginfeksi mencit menggunakan bakteri *S. thypimurium* dibagian ip, dan diberikan ekstrak bunga rosella. Setelah hari ke 7 feses mencit di ambil dan diencerkan menggunakan saline untuk segera di kultur pada media SSA. Hasil kultur menunjukkan terdapat koloni bakteri *S. thypimurium* pada feses mencit yang diberikan ekstrak bunga rosella dan mencit yang hanya di berikan aquades steril. Ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut tidak dapat membunuh *S. thypimurium*, sehingga dapat ditemukan dalam feses mencit.

Ekstrak bunga rosella diberikan secara oral, akan beredar keseluruh pembuluh darah melalui penyerapan di usus. Telah diketahui di usus sendiri terdapat berbagai senyawa kimia yang di duga dapat melisiskan senyawa-senyawa kimia dari ekstrak tersebut yang berguna sebagai antibakteri. Sebagian besar senyawa tersebut akan terbawa sebagai zat sisa metabolit, sedangkan yang beredar hanya sedikit saja. Selain itu ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini merupakan ekstrak kasar yang berupa kumpulan dari berbagai senyawa yang belum terpisahkan sehingga memberikan efek yang tidak terlalu signifikan.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut Uji *in vitro* menunjukkan adanya zona bening yang berarti ekstrak bunga rosella memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambatan yang kuat (diameter zona bening 25 mm). Uji *in vivo* menunjukkan terdapatnya koloni bakteri *S. typhimurium* pada mencit yang di berikan ekstrak bunga rosella dan aquadest, yang berarti ekstrak

bunga rosella tidak memiliki aktivitas antibakteri pada uji *in vivo*.

DAFTAR RUJUKAN

- Anonim. 2003. *Background document: The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever*. WHO Publication, Switzerland.
- Anonim. 2005. *Drug resistant salmonella*. (Online), didownload pada tanggal 20_Sepetember 2010. Pada web <http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs139/en/print.html>.
- _____. 2010. *Roselle nganjuk*. [Internet]. Available from : URL: <http://rosellanganjuk.wordpress.com/2010.01/24>. Accesed Mei 10, 2012.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida*. [Karya Ilmiah]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Ross, I., A. 2003. *Medical plants og the world*. 2 ed. New Jersey: Humana Press Inc;.p.267-269.
- Rostinawati, T. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (Hibiscus Sabdariffa L.) Terhadap Escherichia Coli, Salmonella Typhi Dan Staphylococcus Aureus Dengan Metode Difusi Agar*. Fakultas Farmasi. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- 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. Fakultas Farmasi,
Surakarta: Universitas
Muhammadiyah Surakarta.

Yani, R., F. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L) terhadap Bakteri Escherichia coli dan Stapylococcus aureus*. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Medan: Universitas Sumatera Utara.

