

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kelopak Bunga Rosela terhadap Bakteri *Multidrug Resistant Acinetobacter baumannii* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Elisha Minarto¹, Irene², Lucky Hartati Moehario³

¹Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

²Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,

Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

³Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,

Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

Alamat Korespondensi: lucky.moehario@atmajaya.ac.id

Abstrak

Penggunaan berbagai macam antibiotik menyebabkan kejadian resistensi antibiotik cepat berkembang. *Acinetobacter baumannii* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri *multidrug* resisten yang sering dikaitkan dengan terjadinya kegagalan terapi. Berbagai negara menggunakan herbal sebagai pengobatan alternatif penyakit infeksi. Studi sebelumnya menunjukkan aktivitas antibakteri yang dimiliki *Hibiscus sabdariffa* (rosela). Penelitian ini bertujuan untuk meneliti aktivitas antibakteri ekstrak kelopak bunga rosela pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Multidrug Resistant* (MDR) *A. baumannii* dan *P. aeruginosa*. Kelopak bunga rosela dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Aktivitas antibakteri diuji dengan metode cakram difusi pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan diameter zona inhibisi ekstrak kelopak bunga rosela pada konsentrasi tersebut terhadap bakteri MDR *A. baumannii* adalah 10,8, 15, 16,8, 17, dan 21,2 mm, dan terhadap bakteri MDR *P. aeruginosa* adalah 10,6, 12,2, 16,8, 18, dan 23 mm. Uji statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis didapatkan nilai $P = 0,000$ ($P < 0,05$) yang menunjukkan perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan antar kelompok konsentrasi ekstrak terhadap bakteri MDR *A. baumannii* maupun *P. aeruginosa*. Kesimpulan yang didapat adalah aktivitas antibakteri ekstrak kelopak bunga rosela terhadap bakteri MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa* meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi.

Kata Kunci: *Acinetobacter baumannii*, cakram difusi, ekstrak rosela, *Hibiscus sabdariffa*, *Pseudomonas aeruginosa*

Antibacterial Activity of Rosella Calyx Extract against Multidrug Resistant Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa

Abstract

Imprudent antibiotic usage increases the incidence of antibiotic resistance rapidly. Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa are multidrug-resistant bacteria that are often related to therapy failure. Many countries use herbal as alternative treatments for infectious diseases. The previous report showed the antibacterial activity of Hibiscus sabdariffa (rosella). This study aimed to investigate the antibacterial activity of rosella calyx extract at various concentrations against Multidrug-Resistant (MDR) A. baumannii and P. aeruginosa. Rosella calyx was macerated using 96% ethanol. Antibacterial activity was tested by the disc diffusion method at concentrations of 20, 40, 60, 80, and 100%. The results showed that inhibition zones of rosella calyx extract at these concentrations against MDR A. baumannii were 10,8, 15, 16,8, 17, and 21,2 mm, respectively, and against P. aeruginosa, were 10,6, 12,2, 16,8, 18, and 23 mm, respectively. Statistical analysis using Kruskal-Wallis test showed P value = 0,000 (P < 0,05), indicating significant antibacterial activity differences between the group concentrations and inhibition zones produced by each bacterium. The increase of rosella calyx extract concentration resulted in the increase of antibacterial activity against each MDR A. baumannii and P. aeruginosa.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, disk diffusion, *Hibiscus sabdariffa*, *Pseudomonas aeruginosa*, rosella extract

How to Cite :

Minarto E., Irene, Moehario, L. H. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kelopak Bunga Rosela terhadap Bakteri Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* dan *Pseudomonas aeruginosa*. J Kdkt Meditek, 2022; 28(3), 253–263. Available from: <http://ejournal.ukrida.ac.id/ojs/index.php/Meditek/article/view/2366/version/2357> DOI: <https://doi.org/10.36452/jkdokmeditek.v28i3.2366>

Pendahuluan

Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2014, tingginya tingkat resistensi antibiotik menjadi ancaman serius bagi kesehatan masyarakat secara global.¹ Penggunaan berbagai macam jenis antibiotik setiap tahunnya menyebabkan kejadian resistensi antibiotik cepat berkembang. WHO mengeluarkan daftar bakteri resisten terhadap antibiotik yang sangat perlu menjadi perhatian yaitu *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan bakteri golongan *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, dan *Morganella spp.*)² Resistensi antibiotik merupakan keadaan dimana bakteri tidak dapat dibunuh oleh antibiotik.³ Jika bakteri resisten terhadap setidaknya satu jenis antimikroba dalam tiga atau lebih golongan antimikroba, maka bakteri tersebut disebut dengan bakteri *Multidrug Resistant* (MDR).⁴ Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik termasuk sulit untuk diobati.³

Pengembangan obat antibiotik yang baru kurang cepat berkembang⁵ dan tidak bisa mengimbangi kejadian resistensi antibiotik yang meningkat setiap tahunnya. Oleh karena itu, berbagai studi berkembang mempelajari penggunaan ekstrak tanaman sebagai antibakteri yang bertujuan untuk menurunkan kemungkinan resistensi antibiotik. Penggunaan obat herbal sudah dikenal luas dan banyak dilakukan oleh masyarakat di seluruh dunia, khususnya negara berkembang, sebagai pelengkap dari pengobatan primer yang mereka terima dan juga sebagai upaya untuk menyembuhkan diri sendiri (*self medication*).⁶ Di Indonesia sendiri sudah banyak obat herbal tradisional yang beredar di pasaran. Salah satu obatnya yang sudah disetujui oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan sudah beredar di masyarakat antara lain laserin yang memiliki kandungan utama berupa jahe merah, cengkeh, daun sirih, dan kayu manis yang berguna untuk meredakan batuk, masuk angin, muntah, sakit perut, dan melegakan tenggorokan.⁷

Hibiscus sabdariffa atau rosela merupakan tanaman dari famili *Malvaceae* yang banyak ditanam di negara berkembang dan dikenal mempunyai berbagai macam manfaat terutama di bidang pengobatan.^{8,9} Rosela mengandung berbagai macam komponen aktif di dalamnya seperti polisakarida, asam organik (termasuk asam lemak), flavonoid, dan antosianin^{8,10} yang dapat

berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungal, antibakteri, dan lainnya.⁹

Sampai saat ini belum ada yang menguji ekstrak etanol kelopak bunga rosela terhadap bakteri MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa*, karena itu penelitian ini bertujuan untuk meneliti aktivitas antibakteri ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa*.

Metodologi

Tanaman *H. sabdariffa* didapat dari daerah pertanian di Bogor yang telah diidentifikasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) di Kebun Raya Bogor. Pembuatan ekstrak kelopak bunga rosela dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 300 g bubuk kering kelopak bunga rosela direndam selama 3 hari ke dalam 1500 mL etanol 96% sambil beberapa kali diaduk, kemudian dievaporasi pada suhu 50°C sampai menyisakan ekstrak yang kental. Pembuatan ekstrak dilakukan sebanyak 3 kali dan dianalisa dengan metode *gas chromatography-mass (GC-MS) spectrometry* di laboratorium kesehatan daerah (Labkesda) DKI Jakarta. Dari ketiga ekstrak tersebut, akan dipilih satu ekstrak dengan hasil kandungan aktif terbanyak. Setelah itu, konsentrasi ekstrak diencerkan menjadi 20, 40, 60, 80, dan 100%.

Bakteri *A. baumannii* wildstrain berasal dari spesimen klinis yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Atma Jaya dan bakteri *P. aeruginosa* wildstrain diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Kedua bakteri ini akan ditumbuhkan pada media *Blood Agar* lalu diidentifikasi dengan: 1) perwarnaan Gram, 2) uji oksidase, dan 3) pemeriksaan *Microbact* 12A dan 12B untuk memastikan jenis bakteri serta diuji resistensi bakteri (menggunakan cakram antibiotik *amikacin*, *aztreonam*, *ceftazidime*, *ciprofloxacin*, *colistin*, dan *meropenem*) untuk memastikan bahwa bakteri tersebut MDR.

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode cakram difusi pada media agar *Mueller-Hinton* untuk mengetahui diameter zona inhibisi. Cakram *colistin* 10 µg digunakan sebagai variabel kontrol positif dan akuades digunakan sebagai variabel kontrol negatif. Cawan petri diinkubasi pada suhu 35 ± 2°C selama 20-24 jam (untuk *A. baumannii*) dan 16-18 jam (untuk *P. aeruginosa*). Perlakuan uji metode cakram difusi dilakukan sebanyak 5 kali untuk masing-masing bakteri MDR yang diujikan.

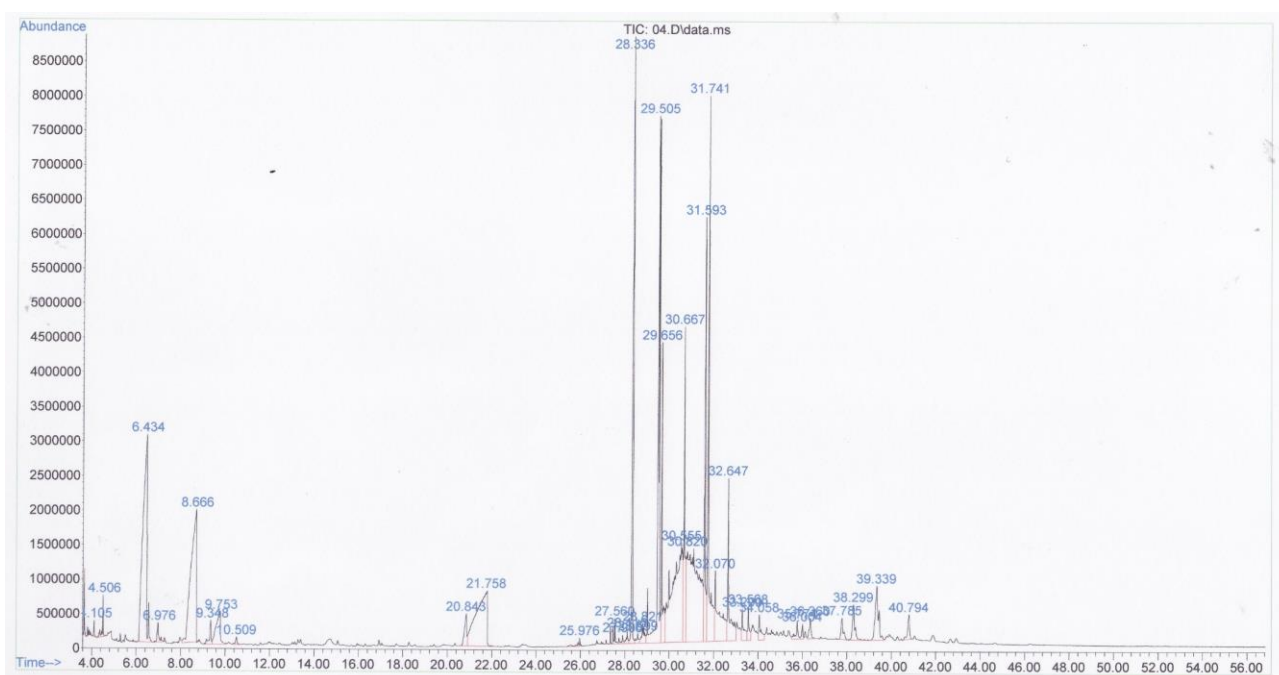
Pengukuran diameter zona inhibisi dilakukan dengan penggaris.

Hasil penelitian yang diperoleh adalah diameter zona hambat yang terbentuk. Data tersebut diolah menggunakan software pengolah data SPSS dengan melakukan uji normalitas Saphiro-Wilk terlebih dahulu untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak. Jika distribusi data normal maka akan dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA, jika distribusi data tidak normal maka akan dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis. Kedua uji ini dilakukan untuk melihat adakah perbedaan yang signifikan antara berbagai konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela

pada bakteri yang diuji. Nilai $P < 0,05$ menyatakan hasil yang bermakna, dan nilai $P > 0,05$ menyatakan hasil yang tidak bermakna.

Hasil

Analisa uji GC-MS dilakukan pada ekstrak kelopak bunga rosela untuk mengetahui kandungan aktif yang terdapat dalam ekstrak tanaman. Gambar 1 menunjukkan grafik GC-MS dari ekstrak. Tabel 1 menunjukkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak menurut hasil uji GC-MS.



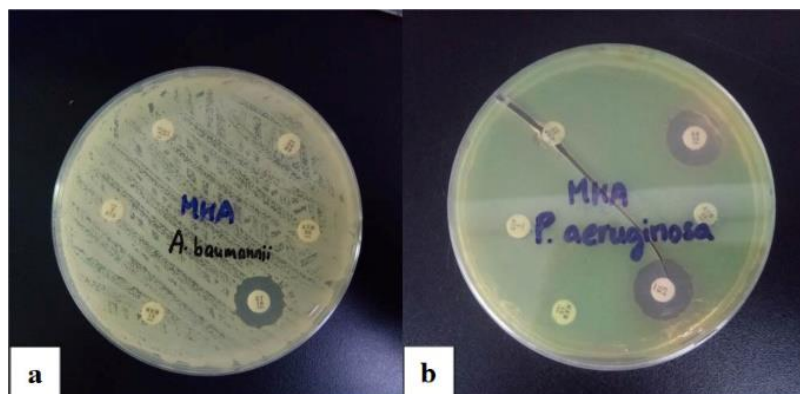
Gambar 1. Kromatogram GC-MS ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosela

Tabel 1. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak rosela menggunakan uji GC-MS

Jenis/Kode Sampel	RT	Quality	Senyawa	Kandungan (%)
Ekstrak etanol 96% Rosela	6.435	38	3-PENTENOIC ACID, 3,4-DIMETHYL-, METHYL ESTER	9,77
	8.669	45	Cyclopropanecarboxylic acid, 2-bromo-2-methyl-, methyl ester	8,34
	9.751	91	2-FURANCARBOXALDEHYDE, 5-(HYDROXYMETHYL)-	1,65
	21.756	78	4-TERT-BUTYL-1,3-OXAZOLIDINE-2-THIONE	6,97
	28.334	99	Hexadecanoic acid, methyl ester	6,18
	29.506	99	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	9,72
	29.658	99	Octadecanoic acid, methyl ester	2,56
	30.554	93	(9E)-9-OCTADECENOIC ACID	10,67
	30.665	99	Methyl 18-methylnonadecanoate	3,62
	30.823	97	OCTADEC-9-ENOIC ACID	12,75
	31.596	99	Docosanoic acid, methyl ester	4,41
	31.740	91	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester	6,62
	32.071	99	TRICOSANOIC ACID, METHYL ESTER	3,37
	32.644	99	Tricosanoic acid, methyl ester	2,57
	39.339	99	gamma.-Sitosterol	1,98

Pada pemeriksaan uji resistensi, bakteri *A. baumannii* dan *P. aeruginosa* diuji dengan cakram antibiotik *amikacin*, *aztreonam*, *ceftazidime*, *ciprofloxacin*, *colistin*, dan *meropenem*, yang dapat

dilihat pada gambar 2. Hasil diameter zona inhibisi bakteri *A. baumannii* dan *P. aeruginosa* yang terbentuk dapat dilihat pada tabel 2.



Gambar 2. Uji resistensi bakteri (a) *A. baumannii* dan (b) *P. aeruginosa*

Tabel 2. Diameter zona inhibisi bakteri *A. baumannii*

Cakram Antibiotik	Diameter Zona Inhibisi	
	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Amikacin</i> (30 µg)	0 mm	15 mm
<i>Aztreonam</i> (30 µg)	0 mm	0 mm
<i>Ceftazidime</i> (30 µg)	0 mm	0 mm
<i>Ciprofloxacin</i> (5 µg)	0 mm	0 mm
<i>Colistin</i> (10 µg)	14 mm	15 mm
<i>Meropenem</i> (10 µg)	0 mm	0 mm

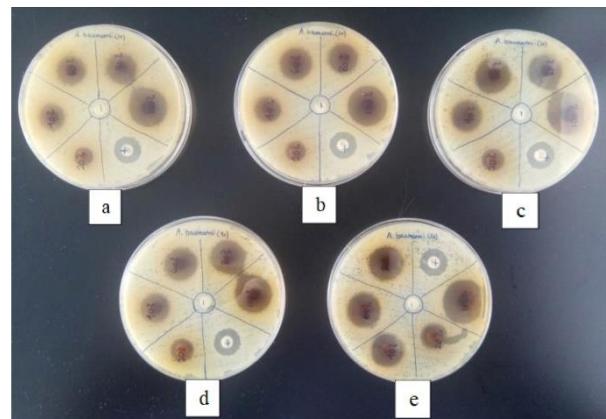
Hasil dari uji resistensi bakteri menunjukkan bahwa tidak terbentuk zona inhibisi pada cakram antibiotik *amikacin*, *aztreonam*, *ceftazidime*, *ciprofloxacin*, dan *meropenem* yang diuji terhadap bakteri *A. baumannii* sehingga menurut standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) 2017, disimpulkan bahwa bakteri *A. baumannii* resisten terhadap kelima antibiotik tersebut (lebih dari tiga golongan antibiotik) dan dapat dikatakan sebagai bakteri MDR. Pada cakram antibiotik *colistin* yang diuji terhadap bakteri *A. baumannii*, terbentuk zona inhibisi

sebesar 14 mm sehingga antibiotik *colistin* akan dijadikan sebagai variabel kontrol positif.

Zona inhibisi tidak terbentuk pada cakram antibiotik *aztreonam*, *ceftazidime*, *ciprofloxacin*, dan *meropenem* yang diuji terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan terbentuk diameter zona inhibisi sebesar 15 mm pada cakram antibiotik *amikacin* yang diuji terhadap bakteri *P. aeruginosa* (dikategorikan resisten menurut standar CLSI 2017). Sehingga, dapat disimpulkan bahwa bakteri *P. aeruginosa* juga resisten terhadap kelima antibiotik tersebut (lebih dari tiga golongan antibiotik) dan dapat dikatakan sebagai bakteri MDR. Pada cakram antibiotik *colistin* yang diuji

terhadap bakteri *P. aeruginosa*, terbentuk juga zona inhibisi sebesar 15 mm sehingga antibiotik *colistin* akan dijadikan sebagai variabel kontrol positif.

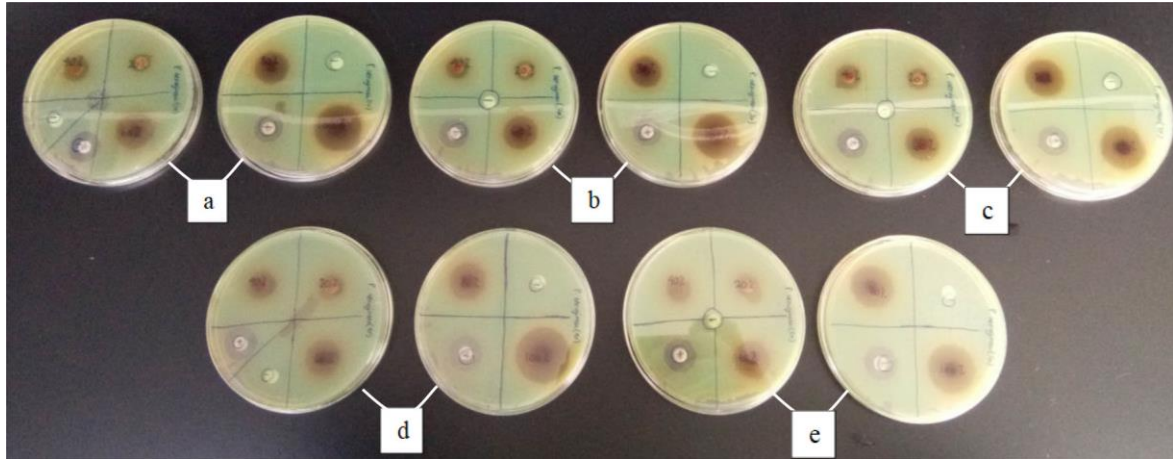
Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap Bakteri MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa wildstrain* dilakukan dengan metode cakram difusi. Efek aktivitas antibakteri tiap konsentrasi ekstrak akan digolongkan berdasarkan kriteria Greenwood. Berdasarkan kriteria Greenwood¹¹, zona inhibisi yang kurang dari 10 mm dikategorikan sebagai tidak ada aktivitas, zona inhibisi antara 10-15 mm dikategorikan lemah, zona inhibisi antara 16-20 mm dikategorikan sedang, dan zona inhibisi yang lebih besar dari 20 mm dikategorikan kuat. Zona inhibisi ekstrak etanol kelopak bunga *H. sabdariffa* terhadap MDR *A. baumannii* dapat dilihat pada gambar 3 dan besar diameter zona inhibisinya dapat dilihat pada tabel 3. Zona inhibisi ekstrak etanol kelopak bunga *H. sabdariffa* terhadap MDR *P. aeruginosa* dapat dilihat pada gambar 4 dan besar diameter zona inhibisinya dapat dilihat pada tabel 4.



Gambar 3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap bakteri MDR *A. baumannii wildstrain* pada (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2, (c) pengulangan 3, (d) pengulangan 4, dan (e) pengulangan 5

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap bakteri MDR *A. baumannii wildstrain*

Konsentrasi Ekstrak	<i>A. baumannii wildstrain</i>			Kategori Greenwood
	Pengulangan	Zona Inhibisi (mm)	Rata-rata zona inhibisi (mm)	
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 20%	1	9	10,8	Lemah
	2	11		
	3	11		
	4	11		
	5	12		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 40%	1	15	15	Lemah
	2	13		
	3	15		
	4	15		
	5	17		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 60%	1	15	16,8	Sedang
	2	16		
	3	18		
	4	17		
	5	18		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 80%	1	16	17	Sedang
	2	15		
	3	18		
	4	18		
	5	18		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 100%	1	20	21,2	Kuat
	2	21		
	3	22		
	4	20		
	5	23		
Kontrol (+) <i>Colistin</i> (10 µg)	1	14	14	Ada efek antibakteri
	2	14		
	3	14		
	4	14		
	5	14		
Kontrol (-) Akuades	1	0	0	Tidak ada efek antibakteri
	2	0		
	3	0		
	4	0		
	5	0		



Gambar 4. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap bakteri MDR *P. aeruginosa wildstrain* pada (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2, (c) pengulangan 3, (d) pengulangan 4, dan (e) pengulangan 5

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap bakteri MDR *P. aeruginosa wildstrain*

Konsentrasi Ekstrak	<i>P. aeruginosa wildstrain</i>			Kategori Greenwood
	Pengulangan	Zona Inhibisi (mm)	Rata-rata zona inhibisi (mm)	
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 20%	1	10	10,6	Lemah
	2	10		
	3	11		
	4	12		
	5	10		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 40%	1	13	12,2	Lemah
	2	11		
	3	12		
	4	13		
	5	12		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 60%	1	18	16,8	Sedang
	2	17		
	3	16		
	4	16		
	5	17		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 80%	1	17	18	Sedang
	2	16		
	3	20		
	4	17		
	5	20		
Ekstrak <i>H. sabdariffa</i> 100%	1	24	23	Kuat
	2	22		
	3	22		
	4	25		
	5	22		
Kontrol (+) Colistin (10 µg)	1	15	15	Ada efek antibakteri
	2	15		
	3	15		
	4	15		
	5	15		
Kontrol (-) Akuades	1	0	0	Tidak ada efek antibakteri
	2	0		
	3	0		
	4	0		
	5	0		

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap bakteri MDR *A. baumannii wildstrain* menunjukkan bahwa terbentuk zona inhibisi pada setiap konsentrasi yang diujikan. Kontrol positif *colistin* 10 µg juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri MDR *A. baumannii wildstrain* karena terbentuk zona inhibisi sebesar 14 mm, sedangkan kontrol negatif akuades tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri MDR *A. baumannii wildstrain* karena tidak terbentuk zona inhibisi.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap bakteri MDR *P. aeruginosa wildstrain* menunjukkan bahwa terbentuk zona inhibisi pada setiap konsentrasi yang diujikan. Kontrol positif *colistin* 10 µg juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri MDR *P. aeruginosa wildstrain* karena terbentuk zona inhibisi sebesar 15 mm, sedangkan kontrol negatif akuades tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri MDR *P. aeruginosa wildstrain* karena tidak terbentuk zona inhibisi.

Berdasarkan kategori Greenwood¹¹, maka ekstrak *H. sabdariffa* terhadap MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa* dengan konsentrasi 20 dan 40% dikategorikan ke dalam aktivitas antibakteri lemah, konsentrasi 60 dan 80% dikategorikan ke dalam aktivitas antibakteri sedang, dan konsentrasi 100% dikategorikan ke dalam aktivitas antibakteri kuat.

Pada pengolahan dan analisa data, uji normalitas data penelitian *A. baumannii* dan *P. aeruginosa* mempunyai distribusi data tidak normal sehingga dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis. Pada uji Kruskal Wallis data penelitian *A. baumannii* dan *P. aeruginosa*, didapatkan nilai yang sama yaitu $P = 0,000$ ($P < 0,05$) yang menunjukkan ada perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan antar kelompok konsentrasi ekstrak yang diuji pada bakteri *A. baumannii* maupun *P. aeruginosa*.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% kelopak bunga *H. sabdariffa* terhadap bakteri MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa*, ditemukan bahwa semua konsentrasi ekstrak yang diuji (20, 40, 60, 80, dan 100) membentuk zona inhibisi terhadap kedua bakteri tersebut. Hasil yang didapat pada penelitian ini serupa dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Abdallah (2016)¹² dimana penelitian tersebut menggunakan pelarut metanol 80% persen dan konsentrasi 500 mg/mL (setara dengan konsentrasi 50%) untuk ekstrak kelopak

bunga *H. sabdariffa*. Hasil dari penelitian tersebut juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri MDR *A. baumannii* dengan zona inhibisi yang berkisar dari $11,6 \pm 0,3$ mm sampai $13,6 \pm 0,3$ mm. Hasil pada penelitian ini juga serupa dengan penelitian sebelumnya yang lain yang dilakukan oleh Liana (2012)¹³, dimana penelitian tersebut meneliti aktivitas antibakteri ekstrak etanol *H. sabdariffa* terhadap bakteri *P. aeruginosa* klinis pada konsentrasi 12,5, 25, 50, dan 75%. Hasil dari penelitian tersebut juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada masing-masing konsentrasi tersebut dengan diameter rata-rata zona inhibisi sebesar 16,6, 20, 22,8, dan 27 mm. Diameter zona inhibisi pada penelitian tersebut lebih besar dibandingkan zona inhibisi yang didapat pada penelitian ini dikarenakan pada penelitian ini, bakteri yang dipakai adalah bakteri MDR *P. aeruginosa* yang mempunyai sifat resistensi lebih dibandingkan dengan bakteri *P. aeruginosa* biasa.

Kandungan aktif tentunya mempunyai peranan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil dari uji GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak *H. sabdariffa* yang dipakai pada penelitian ini mengandung beberapa senyawa. Senyawa pertama dan kedua yang kemungkinan berperan dalam penelitian ini adalah *octadec-9-enoic acid* dan *(9E)-9-octadecenoic acid*. Senyawa *octadec-9-enoic acid* dan *(9E)-9-octadecenoic acid* memiliki kandungan terbanyak sebesar 12,75% dan 10,67%. *Octadec-9-enoic acid* dan *(9E)-9-octadecenoic acid* merupakan asam lemak yang berkaitan dengan asam oleat.¹⁴ Selain itu, ada senyawa *9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester* yang memiliki kandungan sebesar 9,72%. Senyawa ini merupakan turunan dari asam linoleat.¹⁵ Hasil penelitian Skalicka-Woźniak (2010)¹⁶ dan Dilika (2000)¹⁷, didapatkan bahwa asam oleat dan asam linoleat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif yang diuji. Kemudian, ada pula senyawa *hexadecanoic acid, methyl ester* yang memiliki kandungan sebesar 6,18%. *Hexadecanoic acid, methyl ester* atau metil palmitat ini merupakan asam lemak metil ester dan mempunyai aktivitas antibakteri.^{18,19} Menurut penelitian Lalthanpuii dkk (2019)²⁰, *hexadecanoic acid, methyl ester* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri baik bakteri Gram negatif (*P. aeruginosa* dan *K. pneumonia*) maupun bakteri Gram positif (*B. subtilis*) yang diuji. Selain itu, penelitian lain yang dilakukan oleh Davoodbasha dkk (2018)²¹ juga mendukung pernyataan

sebelumnya bahwa senyawa *hexadecanoic acid, methyl ester* menunjukkan efek inhibisi bakteri terhadap bakteri Gram positif maupun negatif.

Hasil analisa GC-MS pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil analisa GC-MS pada penelitian terdahulu. Pada penelitian Çömlükcioğlu dkk (2020)²² yang menguji ekstrak kelopak bunga *H. sabdariffa* dengan metode ekstraksi *soxhlet* dan *ultrasonic bath* dan pelarut etanol, ditemukan ada 14 macam asam lemak dimana 3 komponen asam lemak terbanyak adalah asam oleat, asam linoleat, dan asam palmitat. Selain itu, pada penelitian Rassem (2017)²³ yang menguji ekstrak bunga *H. sabdariffa* dengan metode ekstraksi *Microwave-assisted Hydrodistillation* (MADH) dan pelarut metanol, salah satu senyawa yang ditemukan dalam ekstrak adalah *hexadecanoic acid, methyl ester* (metil palmitat).

Selain dari uji GC-MS, keberadaan kandungan aktif lain seperti senyawa metabolit sekunder (alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, kuinon, steroid, triterpenoid, saponin, dan lain-lain) dapat diketahui dari skrining atau penapisan uji fitokimia baik kuantitatif atau kualitatif. Hasil skrining fitokimia bisa berbeda-beda karena dipengaruhi juga oleh pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan. Pada penelitian Hayati dkk (2012)¹¹, hasil skrining fitokimia dari ekstrak etanol 96% kelopak bunga rosela dengan metode maserasi juga menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid.

Alkaloid dipercaya sebagai metabolit sekunder yang mempunyai sifat antibakteri yang kuat dan bekerja dengan cara mempengaruhi pembelahan sel, menghambat enzim dan respirasi, mengganggu membran sel, dan mempengaruhi gen virulensi yang ada pada bakteri. Hal ini sudah banyak dibuktikan dengan banyaknya ekstrak tanaman yang mengandung alkaloid yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri.²⁴ Flavonoid yang termasuk dalam kelompok fenolik juga dikenal mempunyai sifat antimikroba dan diperkirakan bekerja dengan membuat kompleks protein ekstraseluler dan protein yang terlarut dengan dinding sel bakteri sehingga bisa mengganggu membran sel bakteri.²⁴ Tanin juga termasuk dalam kelompok fenolik. Ekstrak tanaman yang kaya akan tanin menunjukkan sifat antimikroba yang tinggi dan mereka bekerja dengan cara mengikat protein melalui interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen sehingga bisa menghambat metabolisme bakteri dan menghambat bakteri tersebut.²⁵ Saponin dan triterpenoid juga menunjukkan sifat antibakteri dengan cara merusak struktur dinding sel dan

mengubah permeabilitas dari sitoplasma membran sel.^{26,27}

Beberapa faktor lain yang turut mempengaruhi hasil aktivitas antibakteri ekstrak *H. sabdariffa* pada penelitian ini adalah suhu saat proses pembuatan ekstrak dan konsentrasi ekstrak. Suhu yang digunakan saat pembuatan ekstrak sangat penting untuk diperhatikan karena bisa mempengaruhi komponen kandungan aktif yang terdapat dalam suatu ekstrak. Semakin tinggi suhu yang digunakan, kandungan aktif seperti flavonoid dan polifenol dapat terekstraksi lebih banyak oleh pelarut karena meningkatnya efisiensi dari proses difusi yang terjadi, tetapi suhu yang terlalu tinggi juga menyebabkan degradasi sehingga kandungan aktif yang terekstraksi rusak.^{28,29} Menurut penelitian yang dilakukan oleh Aryati dkk (2020)³⁰, ekstrak *H. sabdariffa* yang dipanaskan pada suhu di atas 60°C dapat menurunkan kadar flavonoid, fenolik, dan antosianin yang terkandung di dalamnya.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan juga mempengaruhi hasil penelitian. Pada hasil penelitian ini, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar. Hal ini disebabkan karena kandungan aktif yang terkandung di dalam lebih banyak jika konsentrasi ekstrak yang digunakan lebih tinggi sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang terjadi.

Simpulan

Aktivitas antibakteri ekstrak kelopak bunga rosela terhadap bakteri MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa* meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Konsentrasi terendah dari ekstrak etanol kelopak bunga rosela yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MDR *Acinetobacter baumannii* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah konsentrasi 20%.

Pada penelitian lebih lanjut, disarankan untuk menggunakan isolat lebih dari 1 *strain* bakteri MDR *A. baumannii* dan MDR *P. aeruginosa* supaya sampel yang diuji lebih banyak dan beragam dan menguji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode mikrodilusi supaya didapatkan nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC), serta menguji konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga *H. sabdariffa* di bawah konsentrasi 20% untuk mencari konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat bakteri MDR *A. baumannii* dan *P. aeruginosa*.

Daftar Pustaka

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: World Health Organization; 2014.
2. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet D *et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 2018;18(3):318-27.
3. Centers for Disease Control and Prevention. About antibiotic resistance [Internet]. [cited 2 August 2020]. Available from: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>
4. Magiorakos A, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-81.
5. Silver L. Challenges of antibacterial discovery. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(1):71-109.
6. Sari L. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *PSR (Pharmaceutical Sciences and Research)*. 2006;3(1):1-7.
7. PT. Mecosin Indonesia. Laserin dewasa [Internet]. [cited 2 August 2020]. Available from: <https://mecosinindonesia.com/id/produk/laserin-dewasa>
8. Riaz G, Chopra R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomed Pharmacother.* 2018;102:575-86.
9. Nurnasari E, Khuluq A. Potensi diversifikasi rosela herbal (*Hibiscus sabdariffa* L.) untuk pangan dan kesehatan. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri.* 2017;9(2):82.
10. Da-Costa-Rocha I, Bonlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chem.* 2014;165:424-43.
11. Hayati Z, Yulia W, Karmil T, Azmy A. Antibacterial activity of rosella flowers extract (*Hibiscus sabdariffa* linn) in inhibiting bacterial growth methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Poster session presented at: Proceedings of The 2nd Annual International Conference Syiah Kuala University; 2012 Nov 22-24; Banda Aceh, Indonesia.
12. Abdallah E. Antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces against hospital isolates of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Acute Dis.* 2016;5(6):512-6.
13. Liana MR. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dari isolat klinis [skripsi]. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala. 2012.
14. PubChem Compound Summary for CID 965, 9-Octadecenoic acid [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information. 2004- [cited 2 September 2021]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9-Octadecenoic-acid>
15. PubChem Compound Summary for CID 5284421, Methyl linoleate [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information. 2004- [cited 2 September 2021]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methyl-linoleate>
16. Skalicka-Woźniak K, Los R, Głowniak K, Malm A. Antimicrobial activity of fatty acids from fruits of *Peucedanum cervaria* and *P. alsaticum*. *Chem Biodivers.* 2010;7(11):2748-54.
17. Dilika F, Bremner P, Meyer J. Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from *Helichrysum pedunculatum*: a plant used during circumcision rites. *Fitoterapia.* 2000;71(4):450-2.
18. PubChem Compound Summary for CID 8181, Methyl palmitate [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information. 2004- [cited 15 September 2021]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methyl-palmitate>
19. Abubakar M, Majinda R. GC-MS Analysis and preliminary antimicrobial activity of *Albizia adianthifolia* (Schumach) and *Pterocarpus angolensis* (DC). *Medicines.* 2016;3(1):3.
20. Lalthanpuii PB, Lalchandama K. Chemical profiling, antibacterial and antiparasitic studies of *Imperata cylindrica*. *J Appl Pharm Sci.* 2019;9:117–21.
21. Davoodbasha M, Edachery B, Nooruddin T, Lee S, Kim J. An evidence of C16 fatty acid methyl esters extracted from microalga for effective antimicrobial and antioxidant property. *Microb Pathog.* 2018;115:233–8.

22. Çömlekcioğlu N, Aygan A. Fatty acids, bioactive content and antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* L. Extract obtained by different techniques. Turk J Food Agric Sci. 2020;8(12):2723-8.
23. Rassem H, Nour A, Yunus R, GC-MS analysis of bioactive constituents of Hibiscus flower. Aust. J. Basic & Appl. Sci. 2017;11(3):91-7.
24. Othman L, Sleiman A, Abdel-Massih R. Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. Front Microbiol. 2019;10.
25. Kaczmarek B. Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials—A minireview. Materials. 2020;13(14):3224.
26. Khan M, Ahhmed A, Shin J, Baek J, Kim M, Kim J. Green tea seed isolated saponins exerts antibacterial effects against various strains of gram positive and gram negative bacteria, a comprehensive study in vitro and in vivo. Evid Based Complement Altern Med. 2018;1-12.
27. Bariyyah S, Prajitno A, Yuniarti A. Phytochemical screening and antimicrobial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) flower extract against *Aeromonas hydrophila*. J Exp Life Sci. 2019;9(2):65-9.
28. Yuliantari, Ni WA, IWR. Widarta, and IDGM. Permana. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan daun sirsak (*Annona muricata* L.) menggunakan ultrasonik. Media Ilm Teknol Pangan. 2017;4(1):35-42.
29. Duy N, Binh M, Thuan M, Van N, Lam T, Tran T et al. Effects of extraction conditions on total phenolic content and total flavonoid content of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts. Key Eng Mater. 2019;814:469-74.
30. Aryati D, Rohadi, Pratiwi E. Aktivitas antioksidan ekstrak kelopak bunga rosela (*H. sabdariffa* L.) merah pada berbagai suhu pemanasan. Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian. 2020.