Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.8 No.1 Juni 2021 Hal 7 - 13
P-ISSN: 2302-8270
E-ISSN: 2808-1048
DOI: http://dx.doi.org/10.20473/bikfar.v8i1.31204

Research Article

Aktivitas anti bakteri Ekstrak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Extended-Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) *Eschericia coli*

Anti-bacterial activity of Rosela Flower Extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) against Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Eschericia coli

Muhammad Mu'amar Fathoni[1], Isnaeni*, Asri Darmawati[1]

[1] Departemen Ilmu Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Jl. Dr. Ir. H. Soekarno

*Corresponding author E-mail: isnaeni@ff.unair.ac.id

Article History
Received: 6 January 2021; Received in Revision: 30 January 2021; Accepted: 16 February 2021

ABSTRACT

Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) contains cyanidin-3-rutinoside, delphinidin, delphinidin-3-monoglucoside, cyanidin-3-monoglucoside, cyanidin-3-sambubioside, cyanidin-3,5-diglucoside may inhibit the growth of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase (ESBL) Escherichia coli, but there is no research reported the determination of MIC of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) extract powder against ESBL E.coli ATCC 6110 and ATCC 5949 and their potency ratio compared to meropenem. This study aimed to determine the MIC of Roselle flower extract powder on the growth of ESBL E. coli ATCC 6110 and ATCC 5949 and determine the potency ratio compared to meropenem. This study used two methods in determining MIC, namely the agar diffusion method and the dilution method with Nutrient Agar media which was incubated at 37 ±1°C for 24 hours, while the determination of the potency ratio was carried out by diffusion method with the same media which was incubated at 37 ±1°C for 24 hours. The results obtained were diameter of inhibition zone (mm) which were then observed and analyzed to calculate the potency ratio. The results showed that the MIC of Roselle flower extract powder was obtained at a concentration of 12,500 ppm by diffusion method and at a concentration of 3,125 ppm by dilution method with 24 hours incubation at 37 ± 1º C and the potency ratio of Roselle flower extract powder compared to meropenem was 89.7% and 97.97% against ESBL E.coli ATCC 6110 and ESBL E.coli ATCC 5949 respectively.

Keywords: Roselle, Hibiscus sabdariffa L., ESBL E.coli, MIC, Ratio Potency

ABSTRAK

Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) mengandung sianidin-3-rutinosida, delphinidin, delphinidin-3-monoglukosida, sianidin-3-monoglukosida, sianidin-3-sambubiosida, sianidin-3,5-diglucosida dapat menghambat pertumbuhan Extended-Spectrum-Beta-Lactamase (ESBL) Escherichia coli, namun belum ada penelitian tentang penentuan KHM serbuk ekstrak Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) terhadap ESBL E.coli ATCC 6110 dan ATCC 5949 serta rasio potensinya dibandingkan meropenem. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan KHM serbuk ekstrak bunga Rosela terhadap pertumbuhan ESBL E.coli ATCC 6110 dan ATCC 5949 serta menetapkan rasio potensinya dibandingkan meropenem. Penelitian ini menggunakan dua metode dalam penetapan KHM yakni metode difusi agar dan metode dilusi dengan media Nutrient Agar yang diinkubasi pada suhu 37 ±1°C selama 24 jam, sedangkan penetapan rasio potensi dilakukan dengan metode difusi menggunakan media yang sama, diinkubasi pada suhu 37 ±1°C selama 24 jam. Hasil yang didapat berupa zona hambat (mm) yang kemudian diamati dan dianalisis untuk menghitung rasio potensi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM serbuk ekstrak Bunga Rosela diperoleh pada konsentrasi 12.500 ppm dan 3,125 ppm masing-masing dengan metode difusi dilusi setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37 ± 1 ºC. Rasio potensi serbuk ekstrak bunga Rosela dibandingkan meropenem sebesar 89,7% dan 97,97% masing-masing terhadap ESBL E.coli ATCC 6110 dan ESBL E.coli ATCC 5949.

Kata kunci: Rosela, Hibiscus sabdariffa L., ESBL E.coli, KHM, Rasio potensi

Cite this as: Muhammad Mu'amar Fathoni, Isnaeni*, Asri Darmawati (2021), Aktivitas anti bakteri Ekstrak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) terhadap Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Eschericia coli, 8 (1), 7- 13

Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.8 No.1 Juni 2021 Hal 7 - 13
P-ISSN: 2302-8270
E-ISSN: 2808-1048

Pendahuluan

Kejadian resistensi E. coli terhadap antibiotik sefalosporin generasi ke-3 di Eropa pada tahun 2012-2016 meningkat dari 6,9% menjadi 10,5% (Struyf and Mertens, 2017). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Refdanita (2004) menunjukkan bahwa E. coli sudah 86,4% mengalami resistensi terhadap antibiotik amoksisilin, sehingga amoksisilin tidak lagi menjadi antibiotik lini pertama (first line) yang diberikan untuk mengatasi infeksi E.coli. Sementara itu, Juliette et al., (2005) melaporkan bahwa E.coli resisten terhadap gentamisin 74,0%, amikasin 12,3%, ciprofloxacin 76,7%, trimetrophim/ sulfametoksazol 61,6%, dan tetrasiklin 84,9%.

Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) adalah enzim yang mempunyai kemampuan menghidrolisis antibiotika golongan penisillin, sefalosporin generasi satu, dua, dan tiga serta golongan monobaktam. Extended Spectrum Beta-Lactamase tidak menghidrolisis cephamycin, yang mempunyai kekerabatan dekat dengan sefalosporin serta menyebabkan resistensi terhadap antibiotik golongan penisilin, sefalosporin, aztreonam, aminoglikosida, trimetoprim-sulfametoksazol, dan kuinolon (Paterson, 2000). Extended Spectrum Beta-Lactamase diinhibisi oleh beta-lactamase inhibitor seperti klavulanat, sulbaktam dan tazobactam. Pada umumnya ESBL dapat dihambat pertumbuhannya oleh golongan karbapenem (imipenem, meropenem, erta penem) (Lalitha, 2017).

Rosela (Hibiscus sabdariffa L) merupakan tumbuhan keluarga Malvaceae yang relatif mudah tumbuh dan banyak digunakan sebagai bahan makanan dan juga pengobatan alternatif (Da-Costa-Rocha et al., 2014). Kelopak bunga rosela mengandung sianidin-3-rutinosida, delphinidin, delphinidin-3-monoglukosida, siani din-3-monoglukosida, sianidin-3-sambubiosida, dan sianidin-3,5-diglucosida. Senyawa flavonol seperti glikosida hibiscetin-3-monoglucosida, gossypetin-3-glucosida, gossypetin-7-glucosida, gossypetin-8-glucosida dan sabdaritrin. Senyawa-senyawa tersebut dapat melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Sasmita et al., 2007).

Isnaeni et al. (2020) telah melaporkan bahwa gel ekstrak Rosela dengan basis HPMC 6000 memiliki Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap S. aureus ATCC 25923 sebesar 3%. Ekstrak etanol H. sabdariffa memiliki kemampuan hambatan terhadap E.coli (Al-Hasyimi, 2012). Jung et al. (2013) melaporkan bahwa E. coli ATCC 8739 dapat dihambat oleh ekstrak air Rosela pada konsentrasi 25 mg/mL. Priscilla (2014) juga melaporkan bahwa ekstrak air H. sabdariffa memilik daya hambat terhadap ESBL E.coli C13EU dan CI6E5 dengan KHM masing-masing sebesar 50 mg/ml. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas hambatan serbuk ekstrak bunga Rosela terhadap pertumbuhan ESBL E. coli dengan menetapkan KHM serta rasio potensi ekstrak dibandingkan meropenem.

Bahan dan Cara Kerja

Serbuk ekstrak bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) diperoleh dari PT. Konimex, biakan ESBL E. coli ATCC 6110 dan ATCC 2959 diperoleh dari Institute Tropical Diseases, Universitas Airlangga Surabaya, Meropenem (sediaan injeksi, PT. Meprofarm), serbuk NaCl (Merck), Nutrient Agar (NA, Oxoid), Nutrient Broth (NB, Oxoid), dan air suling.

Sterilisasi

Cawan petri, tabung reaksi, mikropipet (eppendorf), larutan NaCl 0,9%, air suling, media NA dan NB disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kawat Öse, pinset, pencetak agar digunakan secara aseptis

Peremajaan Bakteri

Pembuatan kultur bakteri dilakukan dengan cara 1 Öse biakan ESBL E.coli dari stock culture digesekkan pada agar miring NA steril. Biakan disimpan dalam inkubator suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan Media Agar

Serbuk padat NA sebanyak 28 gram, dilarutkan dalam 1 L air suling mendidih dan diaduk hingga homogen. Media yang masih cair tersebut segera diambil dengan spuit dan dimasukan ke dalam tabung reaksi, masing masing sebanyak 12,5 mL dan 8 mL. Tabung ditutup dengan kapas, kemudian disterilkan 121°C selama 15 menit (Mitayani, DA., 2018)

Pembuatan Media Agar Cair

Serbuk padat Nutrient Broth ditimbang sebanyak 0.4 gram pada timbangan analitik, kemudian dilarutkan dalam 50 mL air suling dan diaduk hingga homogen. Larutan dituang ke dalam beberapa tabung reaksi masing-masing 5 ml. Masing-masing tabung reaksi ditutup dengan kapas dan disterilkan 121°C selama 15 menit (Mitayani, DA., 2018).

Penyiapan Larutan Uji Ekstrak Rosela

Sebanyak 5 g serbuk ekstrak bunga Rosela dilarutkan ditambah NaCl 0,9% sampai 50 mL, kemudian dibuat 3 seri enceran sehingga diperoleh konsentrasi 12.500 ppm, 25.000 ppm, 50.000 ppm. Setiap seri konsentrasi dibuat dalam tabung eppendorf dengan menambahkan NaCl 0.9% sampai volume 1 mL.

Penyiapan Larutan Meropenem

Meropenem 1 g dilarutkan dalam air suling sampai 10 mL kemudian diencerkan hingga diperoleh tiga seri

Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.8 No.1 Juni 2021 Hal 7 - 13
P-ISSN: 2302-8270
E-ISSN: 2808-1048

konsentrasi yakni 4 ppm (M1), 2 ppm (M2), 1 ppm (M1).

Persiapan Inokulum ESBL E.coli

Biakan ESBL E.coli ATCC 6110 dan ATCC 5949 pada agar miring yang telah diremajakan ditambah 10 mL larutan NaCl 0,9%, dikocok hingga seluruh koloni di permukaan lepas dan tersuspensi dalam larutan NaCl 0,9%. Suspensi bakteri tersebut diukur dengan spektrofotometer pada λ 580 nm dan diatur sampai diperoleh transmitan 25%.

Uji Antibakteri Metode Difusi

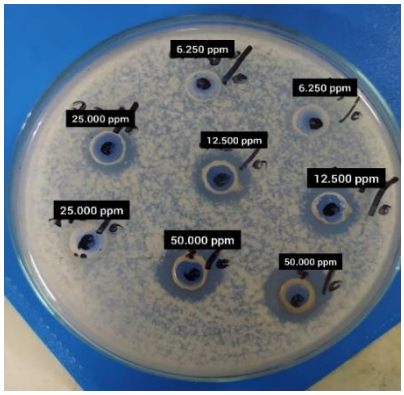
Media NA cair didinginkan sampai 45-50oC, tabung yang berisi media NA sebanyak 12,5 mL dimasukkan ke dalam cawan petri steril, diratakan dan ditunggu hingga memadat sebagai base layer. Inokulum ESBL E.coli transmitan 25% diambil sebanyak 5µL dan dimasukkan ke dalam 8 mL media NA, kemudian dikocok dengan vortex hingga homogen. Media yang telah mengandung ESBL E.coli tersebut kemudian dituang di atas permukaan base layer. Setelah agar memadat, dibuat sumuran dengan cara melubangi media dengan ring dan pencongkel. Desain yang digunakan adalah 3x3 yang berarti terdapat masing-masing 3 tingkat konsentrasi larutan sampel uji dan standar, sehingga dalam satu cawan petri terdapat 6 lubang. Ekstrak bunga Rosela pada berbagai konsentrasi dimasukkan sebanyak 50 µL pada sumuran yang telah dibuat. Media yang sudah berisi larutan uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran dan dianalisis untuk penentuan KHM dan rasio potensi ekstrak Rosela ditentukan terhadap larutan standar.

Uji Antibakteri Metode Dilusi

Sebanyak 6 tabung reaksi diberi label I, II, III, IV, V, VI. Masing-masing tabung diisi dengan media NB sebanyak 1 ml. Dari ekstrak Rosela 50.000 ppm, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung No.1 yang sudah diisi Media NB, kemudian divortex hingga homogen (didapatkan konsentrasi 25.000 ppm). Dari tabung No. I, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung No.2 (didapatkan konsentrasi 12.500 ppm). Dari tabung No. II, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung No.III (didapatkan konsentrasi 6.250 ppm). Dari tabung No. III, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung No.IV (didapatkan konsentrasi 3.125 ppm). Dari tabung No. IV, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung No.V (didapatkan konsentrasi 1.563 ppm). Dari tabung No. V diambil 1 ml kemudian dibuang sehingga didapatkan masing-masing tabung volume sama 1 ml. Kemudian dari tabung No. I-V ditambahkan inokulum bakteri sebanyak 50 µL. Adapun tabung No. VI merupakan kontrol positif yang berisi 1 ml media NB dan inokulum bakteri sebanyak 50 µL. Tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari metode dilusi, KHM dapat diamati secara visual dengan melihat pada tabung yang jernih tepat sebelum keruh. Apabila tidak dapat diamati secara visual, dapat dilakukan pengukuran OD (Optical density) dengan spektrofotometer.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Penelitian

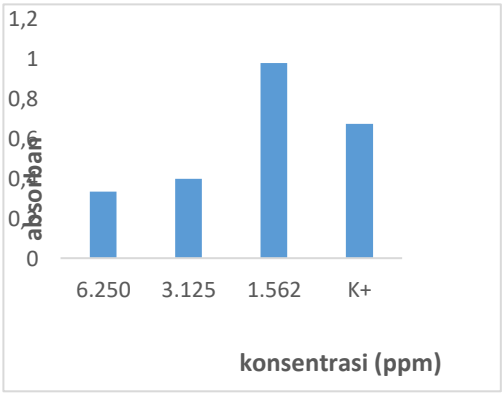


Gambar 1. Hasil pengamatan KHM metode difusi

Penentuan KHM Metode Difusi

Serbuk ekstrak Rosela menunjukkan hambatan pertumbuhan ESBL *E. coli* ATCC 6110 dan ATCC 5949 pada konsentrasi 50.000 ppm, 25.000 ppm, 12.500 ppm, dan tidak terdapat hambatan pertumbuhan pada konsentrasi 6.250 ppm, sehingga didapatkan KHM serbuk ekstrak bunga Rosela terhadap ESBL *E.coli* ATCC 6110 dan 5949 adalah 12.500 ppm (Gambar 1).

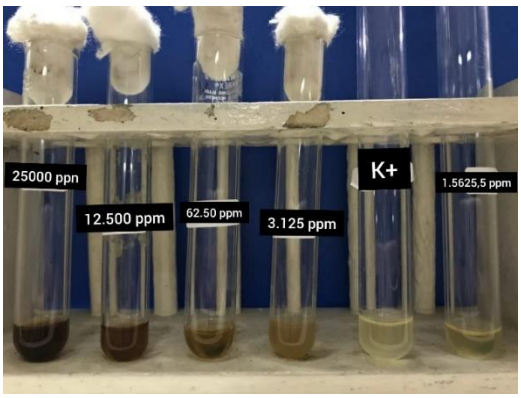
Penentuan KHM Metode Dilusi



Gambar 2. Hasil pengukuran absorbansi enceran inokulum pada 580 nm

Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.8 No.1 Juni 2021 Hal 7 - 13
P-ISSN: 2302-8270
E-ISSN: 2808-1048

Pada penentuan KHM dengana metode dilusi secara visual, tidak dapat diamati dengan jelas KHM, yang ditandai dengan kejernihan sebelum terjadi kekekeruhan (Gambar 2). Pengamatan OD (optical density) menggunakan spektrofotometer UV/Vis menunjukkan bahwa terjadi hambatan pertumbuhan ESBL E.coli ATCC 6110 dan ATCC 5949 pada konsentrasi pada konsentrasi 6.250 ppm, 3.125 ppm sedangkan pada konsentrasi 1.562 ppm tidak terdapat hambatan pertumbuhan. Hal ini disebabkan karena nilai absorban pada konsentrasi 1.562 ppm (A= 0.979) berada di atas nilai absorban kontrol positif (A= 0.673), sehingga diperoleh KHM ekstrak Rosela 3.125 ppm (Gambar 3).

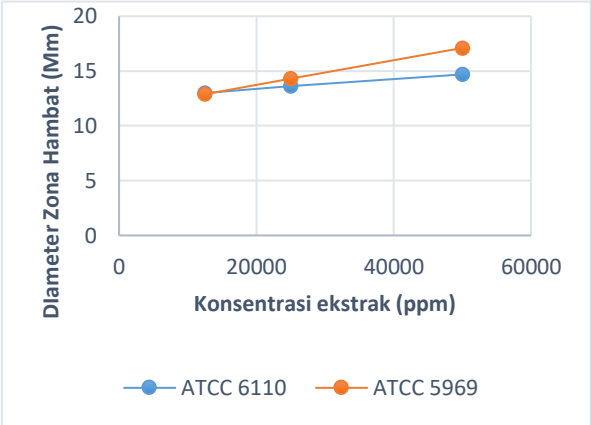


Gambar 3. Hasil pengamatan KHM metode dilusi secara visual

Peningkatan konsentrasi serbuk ekstrak Rosela linier dengan zona hambatan pertumbuhan ESBL E.coli. Semakin besar konsentrasi serbuk ekstrak bunga Rosela, maka semakin besar aktivitas hambatan pertumbuhan terhadap ESBL E.coli ATCC 6110 dan ATCC 5949 (Tabel I, Gambar 4).

Tabel I. Data hasil pengamatan zona hambat

Petri	Zona Hambat ATCC 6110 (mm)			Zona Hambat ATCC 5949 (mm)		
	U3	U2	U1	U3	U2	U1
1	14,38	13,88	12,92	17,83	14,50	13,36
2	14,36	13,52	12,70	16,96	14,43	12,76
3	15,33	13,45	13,36	16,51	14,03	12,53
Σ	44,07	40,85	38,98	51,30	42,96	38,65
$\bar{X}$	14,69± 0,5543	13,62 ±0,2 307	12,99 ±0,3 360	17,10 ±0,6 710	14,32 ±0,2 535	12,88 ±0,4 285

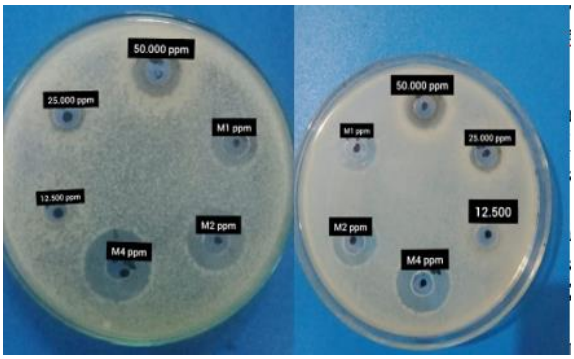


Gambar 4. Grafik potensi hambatan serbuk ekstrak Rosela terhadap pertumbuhan ESBL E.coli ATCC 6110 dan ESBL E.coli ATCC 5969

Tabel II. Data uji rasio potensi terhadap ESBL E.coli

	Petri	Sampel Uji (mm)				Meropenem (mm)		Rasio potensi
		U3	U2	U1	S3	S2	S1	
ESBL ATCC 5949	1	14,38	13,88	12,92	17,13	15,83	12,30	
	2	14,36	13,52	12,70	17,70	14,63	11,36	**89,37%**
	3	15,33	13,45	13,36	18,16	14,43	13,16	
	S	44,07	40,85	38,98	52,99	44,89	36,82	
	$\bar{x}$	14.69 ±0,5543	13.62± 0,2307	12.99± 0,33606	17.66± 0.5159	14.96± 0,7571	12,27± 0,9003	
ESBL ATCC6110	1	17,83	14,50	13,36	16,42	15,41	14,90	
	2	16,96	14,43	12,76	17,10	16,76	14,96	**97,97%**
	3	16,51	14,03	12,53	16,70	15,63	11,77	
	S	51,30	42,96	38,65	50,22	47,80	41,57	
	$\bar{x}$	17.1± 0.671	14.32± 0,2535	12.88 ±0.4285	16.74 ±0.3417	15.93 ±0.7243	13.86± 1.8246	

Dari Tabel II menunjukkan bahwa serbuk ekstrak Rosela memiliki rasio potensi antibakteri terhadap ESBL E.coli ATCC 5949 lebih besar dibandingkan ESBL E.coli ATCC 6110, masing-masing dibandingkan larutan standar meropenem.



Gambar 5. Hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan ESBL E.coli ATCC 6110 dan ESBL E.coli ATCC 5949 dari ekstrak serbuk bunga Rosela

Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.8 No.1 Juni 2021 Hal 7 - 13
P-ISSN: 2302-8270
E-ISSN: 2808-1048

(50.000 ppm, 25.000 ppm, 12,500 ppm) dibandingkan meropenem (M1, M2, M4)

Pembahasan

Uji aktivitas antibakteri memiliki tujuan mengukur aktivitas daya antibakteri dari suatu senyawa kimia yang diduga memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dan mengukur kepekaan suatu antibiotik atau senyawa dari ekstrak terhadap beberapa konsentrasi (Jawetz et al., 2005). Berdasarkan prinsipnya, uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode difusi dan metode dilusi. Pada metode difusi agar, pertumbuhan organisme uji dapat dihambat penyebarannya sepanjang difusi antibakteri (terbentuk zona jernih di sekitar pencadang) sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitif terhadap senyawa antibakteri. Zona hambat tersebuttermasuk salah satu parameter untuk menentukan KHM, seprti yang telah dilaporkan dalam penelitian ini. Pada metode dilusi, KHM dapat dilihat baik secara visual atau alat semiotomatis dan otomatis (Koneman, 2006). Metode dilusi dapat diaplikasikan pada penentuan kualitatif dan kuantitatif secara bersama-sama (Soleha, 2015).

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah ESBL E.coli ATCC 6110 dan ATCC 5949. Kedua bakteri uji yang digunakan harus memenuhi syarat sensitifitas, sehingga respon yang dihasilkan dapat diukur. Potensi aktivitas hambatan ekstrak Rosela terhadap bakteri uji dapat dibandingkan dengan standar, dalam penelitian ini digunakan meropenem. Bakteri uji yang dipilih merupakan bakteri yang sering menyebabkan infeksi pada manusia serta memiliki sifat resisten terhadap beberapa antibiotik, terutama golongan penisilin.

Media NA dipilih sebagai media pertumbuhan, karena media ini merupakan media umum untuk pertumbuhan sebagian besar bakteri. Media umum (tidak selektif) biasanya mudah ditumbuhi kontaminan, sehingga selama pengerjaan persyaratan aseptis harus diperhatikan. Nilai pH media diatur sekitar 7,4 ± 0,2, karena pada pH ini E.coli pada umumnya tumbuh optimal. Demikian pula Suhu inkubasi juga diatur 37ºC karena pada suhu ini E.coli tumbuh optimal.

Sebelum dilakukan uji, bakteri perlu diremajakan terlebih dahulu dari stock culture. Bakteri yang sudah diremajakan dipanen pada fase pertumbuhan, karena yang diamati adalah hambatan pertumbuhannya. Selanjutnya dibuat suspensi bakteri dengan cara media agar miring diberi beberapa ml larutan NaCl 0,9% dan dilakukan pengukuran transmitan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 580 nm sampai diperoleh transmitan 25%. Bila transmitansnya kurang dari 25% maka suspensi bakteri diencerkan sedangkan bila transmitans lebih dari 25% suspensi bakteri ditambahkan dengan inokulum bakteri. Transmitan 25 % menghasilkan biomasa sel yang optimum (109) yang berarti jumlah biomasa sel yang hidup lebih banyak dari pada jumlah sel yang mati (Isnaeni, 2020).

Untuk mengetahui konsentrasi hambat minimal serbuk ekstrak Rosela terhadap ESBL E.coli, maka dilakukan pengamatan zona hambat dengan seri pengenceran dibuat 1:2 pada konsentrasi 50.000 ppm, 25.000 ppm, 12.500 ppm, 6.250 ppm dengan metode difusi dan konsentrasi 25.000 ppm, 12.500 ppm, 6,250 ppm, 3.125 ppm, 1.562 ppm pada metode difusi. Penentuan dengan beberapa seri konsentrasi ini mengacu kepada penelitian terdahulu yang menunjukkan ekstrak air H. sabdariffa memiliki daya hambat terhadap isolat ESBL E.coli galur C13EU dan CI6E5 dengan KHM masing-masing sebesar 50 mg/ml (50.000 ppm), sehingga dibuat beberapa konsentrasi di bawah 50.000 ppm untuk mengevaluasi terbentuknya zona hambat.

Pelarut serbuk ekstrak digunakan NaCl, karena NaCl dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menyerap air yang menyebabkan sel-sel bakteri mati karena dehidrasi, selain itu penggunaan pelarut NaCl juga bermanfaat untuk penyimpanan yang lama (Nakayama, et al.2012)

Pada penentuan KHM dengan metode difusi dan dilusi terjadi perbedaan KHM (KHM difusi 12.500 ppm dan KHM dilusi 3.125 ppm). Adanya perbedaan hasil yang besar pada penentuan KHM metode difusi dan dilusi dapat disebabkan perbedaan konsentrasi awal karena adanya pengaruh warna ekstrak, sehingga kedua metode perlu divalidasi, dibandingkan dengan metode standar. Pada metode dilusi dengan konsentrasi serbuk ekstrak bunga Rosela di atas 6.250 ppm, kepekatan konsentrasi serbuk ekstrak bunga Rosela dapat memengaruhi penyerapan cahaya oleh sel-sel-bakteri yang mati di dalam larutan (Watson, 2005). Salah satu kekurangan metode dilusi dengan pengukuran OD (optical density) menggunakan spektrofotometer yaitu cahaya yang diserap tidak dapat membedakan antara sel-sel bakteri mati dan hidup.

Setelah diketahui KHM serbuk ekstrak Rosela secara difusi, maka dilakukan uji potensi dan dihitung rasio potensinya terhadap antibakteri meropenem. Meropenem yang sudah diketahui efek antibakteri digunakan sebagai kontrol positif untuk mengetahui apakah serbuk ekstrak bunga Rosela mampu menghambat bakteri uji. Meropenem digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki sentitifitas yang tinggi terhadap ESBL E.coli (95%.). Hal ini dikarenakana Meropenem terdapat substituent pyrrolidinyl yang berguna untuk meningkatkan aktivitas terhadap Gram negatif, sehingga terjadi gangguan dalam sintesis dinding sel bakteri, (Zhanel et al., 2007).

Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.8 No.1 Juni 2021 Hal 7 - 13
P-ISSN: 2302-8270
E-ISSN: 2808-1048

Dari penentuan potensi serbuk ekstrak Rosela secara difusi diketahui bahwa peningkatan logaritmik konsentrasi serbuk ekstrak Rosela linier dengan zona hambatan pertumbuhan ESBL E.coli. Semakin besar konsentrasi serbuk ekstrak bunga Rosela maka semakin besar aktivitas hambatan pertumbuhan terhadap ESBL E.coli ATCC 6110 dan ATCC 5949. Pada penentuan rasio potensi antibakteri diketahui bahwa serbuk ekstrak Rosela memiliki rasio potensi antibakteri lebih besar pada bakteri uji ESBL E.coli ATCC 5949 (97,97%) daripada rasio potensi ekstrak Rosela terhadap bakteri uji ESBL E.coli ATCC 6110 (89,37%) yang masing-masing dibandingkan dengan meropenem. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh penyimpanan yang terlalu lama pada meropenem, inokulum, dan larutan uji sehingga dapat menyebabkan zona hambatan yang terbentuk kecil. Selain itu terdapat masalah teknis seperti media terlalu tebal, dan inokulum tidak homogen.

Adanya efek antibakteri dari serbuk ekstrak Rosela dalam penghambatan pertumbuhan beberapa bakteri ini telah dikemukakan oleh beberapa peneliti terdahulu. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ekstrak bunga Rosela memiliki aktivitas antibakteri terhadap hambatan pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, atau disebut broad spectrum. Ekstrak etanol dan air dari daun dan kelopak bunga Rosela memiliki aktivitas antibakteri dan efektif terhadap beberapa isolat bakteri (Priscilla, 2014). Frimpong (2008) juga mengungkapkan bahwa ekstrak tanaman Rosela efektif terhadap S. aureus, E. coli dan Pseudomonas aeruginosa. Khalaphallah and Wagdi (2014) menjunjukkan ekstrak tanaman Rosela memiliki aktivitas terhadap Pseudomonas aeruginosa, E. coli dan Bacillus subtilis. Priscilla (2014) melaporkan bahwa ekstrak Rosela memiliki aktivitas antibakteri terhadap Escherichia coli, Salmonella typhi, Klebsiella sp., Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus dan dua galur resisten ESBL dan MRSA.

Adanya aktivitas antibakteri pada Rosela dikarenakan terdapat metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, dan biterpen dalam ekstrak (Olaleye, 2007). Gugus hidroksil diduga berkaitan dengan aktivitas toksisitasnya terhadap mikroorganisme, yang mana peningkatkan hidroksilasi mengakibatkan peningkatakan toksisitas. Mekanisme ekstrak dalam hambatan ESBL E.coli mungkin berkaitan dengan hambatan pada transpor elektron, translokasi protein, fosforilasi dan reaksi lain yang melibatkan enzim, yang menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas membran plasma dan akhirnya terjadi ketidakseimbangan ion pada dinding sel. Selain itu, mekanismenya mungkin juga berkaitan dengan permeabilitas permukaan dinding sel bakteri dengan ekstrak (Walsh et al., 2003). Kandungan lain dari ekstrak Rosela yakni Proantosianidin. Proantosianidin menyebabkan perubahan struktur P-fimbriae dan hambatan adesi P-fimbriae E.coli ke uroepitelium, juga hambatan pada pembentukan biofilm secara in vitro (Gupta et al., 2012). Alshami and Alharbi (2014) menungkapkan bahwa ekstrak kelopak bunga Rosela diduga menghambat kapasitas pembentukan biofilm pada isolat uropatogenik. Bakteri pembentuk biofilm diketahui berkaitan dengan resisten dan persisten jangka panjang pada antibiotik. Efektifitas ekstrak Rosela terhadap beberapa bakteri tersebut memberikan gambaran tentang potensinya melawan bakteri yang resisten seperti ESBL.

Aktivitas hambatan disebabkan adanya multiple compund dalam serbuk ekstrak Rosela yang berkontribusi terhadap efek antibakteri dan tidak terhadap ESBL E.coli, sehingga diperlukan konsentrasi yang cukup besar. Adapun meropenem digunakan dalam konsentrasi yang sangat kecil (KHM 0,03 ppm), dikarenakan meropenem merupakan senyawa tunggal yang aktif terhadap ESBL E.coli.

Kesimpulan

1.Serbuk ekstrak bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) mampu menghambat pertumbuhan ESBL Escherichia coli ATCC 6110 dan ATCC 5949 dengan KHM 12.500 ppm dan 3.125 ppm masing-masing menggunakan metode difusi dan dilusi.

2. Rasio potensi serbuk ekstrak bunga Rosela dan meropenem terhadap ESBL ATCC 6110 dan ESBL E.coli ATCC 5949 masing-masing sebesar 89,7% dan 97,97%.

Daftar Pustaka

Al-Hashimi, A.G., 2012. Antioxidant and antibacterial activities of Hibiscus sabdariffa L. extracts. African Journal of Food Science, 6(21), pp.506-511.

Da-Costa-Rocha, I., B. Bonnlaender, H. Sievers, I. Pischel and M. Heinrich. 2014. Hibiscus sabdariffa L. –A phytochemical and pharmacological review. Food Chemistry. 165. 424–443

Frimpong, G. 2008. Investigating the Suitability of Hibiscus sabdariffa Calyx Extract
as Colouring Agent for Paediatric Syrups. Pp 107.

Gupta, A., Dwivedi, M., Mahdi, A.A., Nagana Gowda, G.A., Khetrapal, C.L.,& Bhandari, M.2012. Inhibition of adherence of multi-drug resistant E. coli by
proanthocyanidin. Urol Res; 40(2): 143-150

Isnaeni, Hendradi, Esti,. Zara, Natalia., 2020. Inhibitory Effect of Roselle Aqueous Extract-HPMC 6000 Gel on the Growth of Staphylococcus aureus ATCC 25923. Turkish

Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, Vol.8 No.1 Juni 2021 Hal 7 - 13
P-ISSN: 2302-8270
E-ISSN: 2808-1048

journal oh pharmaceutical sciences Volume 17 No.2 p.190-195

Isnaeni et al., 2020. Validated TLC-Contact Bioautography Method for Identification of Kanamycin Sulfate in Injection Preparation. Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia. Vol. 7No.1 p. 35-41

Juliëtte A. Severin, et al. 2010. on behalf of the study group 'Antimicrobial Resistance in Indonesia: Prevalence and Prevention' (AMRIN), Molecular characterization of extended-spectrum β-lactamases in clinical Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Surabaya, Indonesia, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 65, Issue 3, Pages 465–469. Surabaya: indonesia https://doi.org/10.1093/jac/dkp471

Jung, E., Kim, Y. and Joo, N., 2013. Physico chemical properties and antimicrobial activity of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.). Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(15), pp.3769-3776

Khalaphallah, R., & Wagdi S.S. 2014. Effect of henna and roselle extracts on pathogenic bacteria. Asian Pac J Trop Dis; 4(4): 292-296

Koneman EW. 2006. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Edisi ke-6. Philadephia: Lippincott Williams & Wilkins.

Lalitha, M., 2017. Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing. www.ijmm.org/ document/antimicrobial.com, Accessed 31 Desember 2020.

Mitayani, Dyah Ayu. 2018, Perbandingan Metode Difusi Agar dan Mikrodilusi untuk Uji Daya Hambat Rebusan Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Kering Terhadap Pertumbihna Eschericia coli ATCC 8729. Skripsi. Universitas Airlangga

Nakayama, M., Shigemune, N., Tsugukuni, T., Jun, H.,Matsushita,T.,Mekada, Y., Kurahachi, M. and Miyamoto, T., 2012. Mechanism of the combined anti-bacterial effect of green tea extract and NaCl against Staphylococcus aureus and Escherichia coli O157: H7. Foodcontrol, 25(1), pp.225-232

Olaleye, M.T. 2007. Cytotoxicity and antibacterial activity of Methanolic extract of Hibiscus sabdariffa. Journal of Medicinal Plants Research:1(1): 009- 013.

Paterson, DL. 2000. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobac-teriaceae producing Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBLs). Clinical Microbiology and Infection Journal6:460–463

Priscilla Adelaide Naa Agowa Lovell-Antiaye. 2015. Antimicrobial Activity Of Hibiscus Sabdariffa Against Clinical Isolates Of

Refdanita, Maksum R, Nurgani A, Endang P.Pola kepekaan kuman terhadap antibiotikdi ruang rawat intensifRS Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. Makara Kesehatan. 2004;8(2):41−8.

Sasmita IS, Pertiwi ASP, Halim M. 2007. Gambaran Efek Pasta Gigi yang Mengandung Herbal Terhadap Penurunan Indeks Plak. J PDGI. Hal.37

Soleha, TU. 2015. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. Juke Unila, Vol. 5 No. 9, p. 120-122

Walsh, S.E., Maillard, J.Y., Russel, A.D., Catrenich, C.E., Charbonneau, A.L.,& Bartolo, R.G. 2003. Activity and mechanism of action of selected biocidalagents on Gram -positive and -negative bacteria. J Appl Microbiol 94: 240–247.

Watson DG. 2005. Pharmaceutical Analysis. 2nd edition. London: Elsevier. p88

Wibowo, M.H. 2008. Mengungkap patogenisitas Eschericia coli. Poultry indonesia. Vol. VII.:68-69

Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, Noreddin AM, Karlowsky JA. 2007. Comparative review of carbapenem. Drugs. 67(7):10271052.