

Uji Anti *Mycobacterium* Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) sebagai Tumbuhan Obat Anti Tuberkulosis

Eirene F. Rendeng,¹ Billy J. Kepel,² Aaltje E. Manampiring²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi

²Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

Email: eirenerendeng@gmail.com

Abstract: Besides as decorative flower and its benefit in hair growing, hibiscus flower (*Hibiscus rosa sinensis* L.) is also known for its antibacterial role. This study was aimed to obtain the inhibitory and killing potencies of hibiscus flower extract against *Mycobacterium tuberculosis* bacteria. This was a laboratory experimental study. Extract of hibiscus flower was obtained by using maceration technique with ethanol and then was prepared in several concentrations, as follows: 12.5%, 25%, 50%, 75%, and 100%. The extract was tested against *M. tuberculosis* by using spectrophotometer to obtain its maximum inhibitory and killing potencies. The results showed that concentrations of 50%, 75%, 100% of the hibiscus extract could inhibit the growth of *M. Tuberculosis*. Meanwhile, only concentration of 100% of the extract could kill the bacteria. In conclusion, the extract of hibiscus flower (*Hibiscus rosa sinensis* L.) could inhibit the growth of *Mycobacterium tuberculosis* and kill the bacteria.

Keywords: *Hibiscus rosa sinensis*, inhibitory potency, killing potency, *Mycobacterium tuberculosis*

Abstrak: Selain sebagai tanaman hias dan penyubur rambut, kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) juga dikenal berefek antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas daya hambat dan daya bunuh ekstrak ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Jenis penelitian ialah eksperimental laboratorium. Ekstrak bunga kembang sepatu diperoleh melalui cara maserasi dengan etanol. Konsentrasi ekstrak 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100% diujikan terhadap bakteri *M. tuberculosis* dengan menggunakan alat spektrofotometer untuk mengetahui daya hambat dan daya bunuh ekstrak terhadap *M. tuberculosis*. Hasil penelitian mendapatkan ekstrak bunga kembang sepatu pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* dan juga dapat membunuh *M. tuberculosis* pada konsentrasi 100%. Simpulan penelitian ini ialah ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Kata kunci: *Hibiscus rosa sinensis*, daya hambat, daya bunuh, *Mycobacterium tuberculosis*.

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia dahulu menggunakan tanaman herbal sebagai obat karena dipercaya memiliki manfaat bagi kesehatan. *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan tanaman herbal sebagai obat dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat.¹ Sekitar 25% penggunaan obat saat ini berasal dari tanaman herbal.² Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) merupa-

kan salah satu spesies dari famili *Malvaceae* memiliki beberapa fungsi bagi manusia antara lain sebagai tanaman hias, bahan makanan, maupun obat-obatan. Masyarakat Indonesia lebih mengenal *Hibiscus rosa-sinensis* L. sebagai tanaman hias karena memiliki keunikan bunga dengan warna dan bentuk mahkota yang beranekaragam.³

Iklim tropis merupakan tempat pertumbuhan penyakit tuberkulosis yang mengin-

feksi paru-paru disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*M. Tuberculosis*).⁴ Tuberkulosis (TB) menjadi masalah kesehatan global utama pada tahun 2016 dan diperkirakan sekitar 10,4 juta orang menderita TB setara dengan 120 kasus per 100.000 penduduk. Terdapat lima negara yaitu Pakistan, Philipina, China, India, dan Indonesia yang memiliki insiden kasus tertinggi TB di dunia. Kementerian Kesehatan menyebutkan bahwa jumlah kasus baru TB di Indonesia sebanyak 420.994 pada tahun 2017 dan berdasarkan jenis kelamin, laki-laki 1,4 kali lebih besar dibandingkan perempuan.⁵

Berdasarkan latar belakang ini peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang ekstrak tanaman bunga kembang sepatu sebagai tumbuhan obat anti tuberkulosis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2019-Desember 2019. Pembuatan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado, sedangkan pembuatan kultur bakteri *M. tuberculosis* (basil tahan asam/BTA) dilakukan di Laboratorium Tuberkulosis Balai Penunjang Pelayanan Kesehatan Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Utara. Jenis penelitian ini ialah eksperimental laboratorium. Sampel bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) diambil dari Kelurahan Winangun, Kecamatan Malalayang, Kota Manado, Sulawesi Utara (Gambar 1).

Dengan pemberian *M. tuberculosis* pada ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dalam media Middlebrook 7H9 dan media Lowenstein Jensen (LJ) diharapkan dapat terlihat seberapa besar efek ekstrak bunga kembang sepatu sebagai tumbuhan obat anti *M. tuberculosis*

Alat-alat yang digunakan ialah gelas kimia, gelas ukur, Erlenmeyer, oven, evaporator, pipa kapiler, batang pengaduk, cawan penguap, cawan Petri, jarum ose,



Gambar 1. Bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) diambil dari Kelurahan Winangun, Kecamatan Malalayang, Kota Manado, Sulawesi Utara

autoclave, aluminium foil, tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, dan spatel, ayakan mesh, blender, corong, pinset, toples kaca, dan timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan ialah bakteri *M. tuberculosis*, ekstrak bunga kembang sepatu, etanol 95%, natrium klorida 0,9%, akuades, media Lowenstein-Jensen (LJ) Broth dan media Middlebrook 7H9.

Ekstrak bunga kembang sepatu dibuat dengan cara maserasi menggunakan larutan etanol 95%, kemudian dilakukan uji fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tersebut.

Pada pembuatan stok kultur *M. tuberculosis* diambil satu koloni bakteri dengan menggunakan kawat ose steril, lalu ditanamkan pada media LJ Broth dengan cara menggores, setelah itu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama ± 2 minggu. Suspensi bakteri yang telah tumbuh diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan dalam tabung reaksi berisi 10 ml larutan natrium klorida 0,9%, setelah itu dilakukan pengenceran dengan memipet 0,5 ml suspensi bakteri (10^8 CFU/ml), dimasukkan ke dalam tabung steril dan ditambahkan larutan natrium klorida 0,9% sebanyak 9,5 ml, dikocok homogen sampai didapatkan kekeruhan larutan standar Mc. Farland, yang berarti konsentrasi suspensi bakteri ialah 10^8 CFU/ml.

Untuk pembuatan larutan stok ekstrak disiapkan konsentrasi ekstrak sebesar 10 g (100%) ditambahkan 10 ml aquades. Larutan stok dibuat seri konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Untuk uji aktivitas antituberkulosis, alat-alat yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama ± 15 menit. Pembuatan kontrol positif yaitu campuran media Middlebrook dengan obat pembanding isoniazid konsentrasi 0,2 μ L dan bakteri *M. Tuberculosis* sedangkan kontrol negatif yaitu media Middlebrook. Pada perlakuan dicampurkan media Middlebrook dengan bakteri uji *M. tuberculosis* dan ekstrak 12,5% (P1), 25% (P2), 50% (P3), 75% (P4), dan 100% (P5). Setiap perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan dan setiap unit perlakuan terdiri dari tiga tabung reaksi.

Penentuan KHM dan KBM dilakukan dengan menggunakan media Middlebrook dan media LJ. Nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis sebelum dan sesudah inkubasi untuk melihat pertumbuhan bakteri uji. Sebanyak 4 ml media Middlebrook steril dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml ekstrak dibuat dengan masing-masing konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%. Selanjutnya dalam media ini ditambahkan 0,5 ml suspensi bakteri pada 10^8 CFU/ml yang sudah disesuaikan dengan standar 0,5 Mc. Farland. Pengamatan dilakukan selama 10 hari. Sebagai kontrol ialah media Middlebrook

7H9. Tabung reaksi tersebut kemudian diukur juga nilai absorbansi (*Optical Density*=OD) bakteri menggunakan spektrofotometer UV-Vis ($\lambda=480$ nm).

Nilai KHM ditentukan dengan membandingkan absorbansi setelah perlakuan inkubasi dikurangi absorbansi sebelum perlakuan. Bila terdapat konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri, ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan (OD bakteri ≤ 0), maka didapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM). Untuk menentukan nilai KBM dilakukan uji lanjutan, yaitu terhadap semua tabung yang digunakan dalam KHM yang tidak menunjukkan kekeruhan apapun terhadap bakteri diteteskan kedalam media padat yaitu media LJ, diinkubasi 1x24 jam. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) didapatkan bila hasil menunjukkan konsentrasi terendah ekstrak mempunyai OD=0 (tidak ada kekeruhan pada permukaan media LJ).

HASIL PENELITIAN

Hasil filtrat bunga kembang sepatu dari proses maserasi menghasilkan ekstrak berupa endapan yang sangat kental berwarna jingga tua sebanyak 56,99 gr. Tabel 1 memperlihatkan hasil uji fitokimia ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) yang dilakukan secara kualitatif untuk menguji kandungan senyawa metabolit sekunder. Didapatkan hasil positif mengandung flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin, dan fenolik.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*)

No	Jenis uji fitokimia	Hasil pengamatan	Hasil pengujian
1	Uji alkaloid		
	a. Meyer	Endapan putih	Positif
	b. Wagner	Tidak ada endapan coklat	Negatif
	c. Dregendorf	Endapan jingga	Positif
2	Uji flavonoid	Larutan merah tua	Positif
3	Uji triterpenoid	Larutan merah	Positif
4	Uji tanin	Larutan hijau tua	Positif
5	Uji saponin	Terdapat buih	Positif
6	Uji fenolik	Larutan hitam	Positif

Pengujian KHM ekstrak bunga kembang sepatu terhadap pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* yang pertama dilakukan dengan metode dilusi cair menggunakan media Middlebrook 7H9 karena media ini merupakan media yang sering digunakan dan pertumbuhan bakteri tuberkulosis lebih cepat selama 10 hari dengan 3 kali pengulangan. Setelah itu dilanjutkan dengan media padat yaitu media Lowenstein Jensen (LJ) untuk menilai KBM diukur 1x24 jam.⁶

Tabel 2 memperlihatkan bahwa ekstrak bunga kembang sepatu memiliki daya hambat bakteri pada konsentrasi 50%, 75%, 100% dengan nilai absorbansi sesudah pengujian memperlihatkan nilai kenaikan yang tidak besar dibandingkan sebelum pengujian. Hasil dari KHM didapatkan dari selisih sebelum dan sesudah pengujian. Pada kontrol positif digunakan obat pembanding isoniazid dengan nilai absorbansi sebelum dan sesudah pengujian tidak banyak meningkat sehingga dinyatakan isoniazid memiliki efek antibakteri. Untuk kontrol negatif digunakan media Middle-brook 7H9 sebagai pembanding dengan konsentrasi yang memiliki daya hambat.

Tabel 3 memperlihatkan hasil pengujian KBM setelah inkubasi 1x24 jam. Pada media LJ di cawan Petri tampak ekstrak

bunga kembang sepatu memperlihatkan daya bunuh bakteri pada konsentrasi 100% dimana permukaan media halus dan tidak rusak yang menandakan tidak terdapat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*, sedangkan pada konsentrasi 50% dan 75% masih terlihat tumbuhnya koloni bakteri pada permukaan media dan dihitung jumlah koloni bakteri menggunakan alat *bacteria colony counter*.

BAHASAN

Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak bunga kembang sepatu yang digunakan ialah 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%. Bakteri yang digunakan ialah bakteri *M. tuberculosis* yang menginfeksi manusia terutama melalui saluran napas.

Metode yang digunakan dalam penelitian ialah metode dilusi; dalam hal ini media cair Middlebrook 7H9. Metode ini paling sering digunakan untuk bakteri spesifik tuberkulosis karena dapat menumbuhkan bakteri tuberkulosis selama 10-14 hari. Kemudian dilanjutkan dengan metode difusi yaitu media padat LJ untuk menilai KBM. Larutan pembanding yang digunakan sebagai kontrol positif ialah obat isoniazid untuk membandingkan efek anti-bakteri dengan ekstrak bunga kembang sepatu.

Tabel 2. Hasil sebelum dan sesudah pengujian KHM

Bahan Uji	Sebelum	Sesudah	Hasil
Ekstrak 12,5%	0,181	0,998	0,817
Ekstrak 25%	0,347	0,842	0,495
Ekstrak 50%	0,565	0,653	0,088
Ekstrak 75%	0,464	0,611	0,147
Ekstrak 100%	0,847	1,138	0,219
Media MB	0,053	0,096	0,149
Isoniazid	0,061	0,075	0,014

Tabel 3. Hasil pengujian KBM

Bahan Uji	Pengulangan	Pengulangan	Pengulangan	Rerata
	I	II	III	
Ekstrak 50%	25	35	25	28,3
Ekstrak 75%	15	17	17	16,3
Ekstrak100%	0	0	0	0
Media MB	0	0	0	0

Isoniazid dengan dosis 0,2 µl memperlihatkan kekuatan antibakteri terhadap *M. tuberculosis* pada 10 hari inkubasi dengan menilai absorbansi daya hambat. Nilai rerata absorbansi sebelum KHM sebesar 0,061 dan sesudah KHM sebesar 0,075 yang menandakan bahwa *M. tuberculosis* sensitif terhadap obat isoniazid. Pada kontrol negatif tidak didapatkan daya hambat karena hanya menggunakan media Middlebrook 7H9 sebagai pembanding. Pada pengamatan bakteri uji *M. tuberculosis* didapatkan larutan ekstrak bunga kembang sepatu konsentrasi 50% menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* dengan nilai absorbansi sebelum KHM sebesar 0,565 dan sesudah KHM sebesar 0,653 (Tabel 2). Hal ini membuktikan adanya efek antibakteri dari ekstrak bunga kembang sepatu terhadap *M. tuberculosis*. Kenaikan nilai absorbansi pada konsentrasi 75% dan 100% tidak sepenuhnya karena pertumbuhan bakteri, tetapi juga dipengaruhi oleh kepadatan konsentrasi yang terjadi pada konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga dapat mempengaruhi penyerapan cahaya yang lebih oleh sel-sel bakteri yang mati dalam konsentrasi ekstrak.⁷ Pada pengamatan larutan uji konsentrasi 12,5% dan 25% tidak didapatkan penghambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* karena pada saat pengukuran didapatkan nilai absorbansi sebelum dan sesudah pengujian memiliki selisih yang cukup besar yang menunjukkan bahwa terdapat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut.

Pada pengamatan bakteri uji *M. tuberculosis*, larutan uji daya bunuh bunga kembang sepatu menggunakan media LJ pada konsentrasi 100% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan *M. tuberculosis* karena media LJ tidak mengalami perubahan sebelum dan sesudah inkubasi (Tabel 3). Media tetap berwarna hijau kebiruan, media tidak rusak ataupun luruh, dan permukaan media tampak halus. Pada konsentrasi 50% dan 75% masih terdapat pertumbuhan *M. tuberculosis*, masing-masing memiliki nilai rerata 28,3 dan 16,3 koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga

kembang sepatu memiliki efek anti tuberkulosis.

Penelitian oleh Rostinawati⁸ terhadap bakteri uji galur sensitif menggunakan ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% mendapatkan bahwa konsentrasi tersebut menunjukkan nilai rerata yang tidak jauh atau tidak berbeda dari nilai absorbansi setiap konsentrasi dengan masing-masing 1,196, 1,050, 0,910, 0,794, 0,740 secara berturut. Hasil penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini yang mendapatkan daya hambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100%.

Senyawa antosianin merupakan flavonoid yang sering ditemukan dalam tumbuhan. Kestabilan senyawa antosianin sangat dipengaruhi oleh suhu, O₂, dan PH. Senyawa antosianin lebih cepat rusak pada suhu tinggi dan warna senyawa antosianin akan berubah mengikuti PH lingkungan sekitar.⁹

Salah satu hal yang membedakan dengan hasil pengujian ini ialah tempat pengambilan sampel dimana penelitian Rostinawati⁸ mengambil sampel di Lembang dengan suhu sekitar 22°C sedangkan pengujian penelitian ini mengambil sampel pada suhu sekitar 28°C yang menandakan adanya perbedaan suhu.

SIMPULAN

Ekstrak etanol bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Uji fitokimia bunga kembang sepatu mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenolik, dan triterpenoid.

Bagi peneliti lanjut, disarankan untuk meneliti efek antibakteri dari bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) di daerah lain. Selain itu, perlu dilakukan uji aktifitas antibakteri ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) secara in vivo untuk menentukan dosis, efek toksisitas, dan efek samping dari bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.).

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Oktara L. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2006; 3(1):1-7.
2. Liperoti R, Vetrano DL, Bernaber R, Onder G. Herbal Medications in Cardiovascular Medicine. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017;69(9): 1188.
3. Hajar S. Studi variasi morfologi dan anatomi daun serta jumlah kromosom *Hibiscus rosa-sinensis* L [Skripsi]. Depok: Universitas Indonesia; 2011.
4. Prasetyono DS. Daftar Tanda & Gejala Ragam Penyakit: Buku Kita (Cetakan I). Yogyakarta: Flash Books, 2012.
5. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Tuberkulosis. 2018.
6. Irianti T, Pratiwi SUT, Kuswandi, Tresnaasih N, Cahya D, Fatmarahmi F, et al. Aktivitas anti-tuberkulosis ekstrak etil asetat daun kenilir (*Cosmos caudatus* H.B.K) dan daun sendok (*Plantago major* L) secara in vitro. *Majalah Obat Tradisional*. 2018;23(1):1-8.
7. Warokka KE, Wuisan J, Juliatri. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* Steenis) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-GiGi*. 2016;4(2):155-9.
8. Rostinawati T. Aktivitas anti bakteri ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*Multi drug resisten*) dan *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv secara in vitro [Penelitian mandiri]. Bandung: Universitas Padjadjaran; 2008.
9. Delgado-Vargas F, Parades-Lopes O. Natural Colorant for Food and Nutraceutical Uses (1st ed). USA: CRC Press, 2003; p. 167-8,184-190.