

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN EKSTRAK AIR KELOPAK
BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur
Labkes-026 (*Multi Drug Resisten*) dan L.) dan *Mycobacterium tuberculosis* Galur H37Rv
Secara In Vitro**

Penelitian Mandiri

Tina Rostinawati, M.Si, Apt



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PADJADJARAN
JATINANGOR
2008**

ABSTRAK

Tuberkulosa (TBC) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Tanaman rosela berkhasiat dalam pengobatan TBC. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak air dan zat warna yang terkandung dalam tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) mempunyai efek mematikan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* penyebab TBC. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan pada ekstrak etanol dan ekstrak air mengandung senyawa golongan polifenolat, tanin dan flavonoid. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv secara *in vitro*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode pengenceran tabung. Setelah satu minggu diukur absorbansi dan dilakukan pewarnaan BTA (*Basil Tahan Asam*). Hasil pengujian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak air dan ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv tidak memberikan efek yang berbeda terhadap absorbansi. Konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 40%, 60%, dan 80% memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi, tetapi berbeda nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi 100% karena memberikan pengaruh absorbansi yang paling rendah, yaitu rata-rata sebesar 0,662, sedangkan konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 20% merupakan konsentrasi dengan rata-rata absorbansi yang paling tinggi, yaitu sebesar 1,195. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berlainan memberikan efek yang berbeda terhadap absorbansi. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 60% dan 80% memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap absorbansi. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 80% dan 100% juga memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi, tetapi antara konsentrasi 60% dengan konsentrasi 100% memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 20% merupakan konsentrasi dengan rata-rata absorbansi yang paling tinggi yaitu sebesar 1,591, sedangkan konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 100% memberikan pengaruh absorbansi yang paling rendah, yaitu rata-rata sebesar -0,027.

Kata kunci: Tuberkulosa, ekstrak kelopak bunga rosela, *Mycobacterium tuberculosis multi-drug resistant* Galur Labkes-026 dan Galur H37Rv.

ABSTRACT

Tuberculosis (TBC) is an infectious disease which caused by bacteria called Mycobacterium tuberculosis. Roselle plants given an effect in TBC curing process. At previous research showed that water extract and pigment essence which contained in Roselle plant (Hibiscus sabdariffa Linn.) has a deadly effects against Mycobacterium tuberculosis that causing TBC disease. Phytochemical determination result showed that at ethanol and water extract containing poliphenol, tannin and flavonoid compounds. In this research, it had been does performed examination of ethanol and water extract activities againts Roselle calyx to Mycobacterium tuberculosis of strain H37Rv and Labkes-026. The examination of anti-bacterial activities had been done by in vitro. Eksperiment anti-bacterial activities test by tube liquifying method. After one weeks, the absorbances were measured and BTA (Acid Resistant Basil) colouring process were taken. Research results showed that both ethanol extract of Roselle calyx with different concentration of Mycobacterium tuberculosis of strain H37Rv didn't given the different effects into againts absorbance concentration of ethanol extract of Roselle calyx concentration to Mycobacterium tuberculosis of strain Labkes-026 (multi-drug resistant) at 40%, 60%, and 80% had given indiferent influences each other to absorbances, but giving a great differences if compared with 100% concentration because it showed the lowest absorbances effects, which was in total average of 0,662. But the ethanol extract of Roselle calyx in Mycobacterium tuberculosis of strain Labkes-026 (multi-drug resistant) at 20% was the concentrations with average absorbance level of which the highest level too at 1,195. Againts concentration of water extract M. tuberculosis strain Labkes-026 (multi-drug resistant) given, differant effect to absorbance. Concentration of water extract to M. tuberculosis strain Labkes-026 (multi-drug resistant) 60% and 80% didn't given real different influence to absorbance. Concentration of water extract to M. tuberculosis strain Labkes-026 (multi-drug resistant) 80% and 100% alsodidn't give different influence one another to absorbance. But between concentration at 60% and 100% gives different influence of reality. The concentration of the research are both of ethanol and water extract of ethanol have activity against H37Rv and Labkes-026 strains M. tuberculosis 20% was average highest absorbance that is 1,591, while concentration of water extract at M. tuberculosis strain Labkes-026 (multi-drug resistant) 100% had given lowest absorbance influence, that is mean equal - 0,027.

Key words: Tuberculosis, Extract of ethanol, Mycobacterium tuberculosis multi-drug resistant strain Labkes-026 and strain H37Rv.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nyalah maka penulis dapat menyelesaikan penelitian mandiri yang berjudul: “**Aktivitas Antibakteri 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*” sebagai kelengkapan persyaratan kenaikan pangkat.**

Penelitian ini merupakan penelitian awal yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak bunga rosella terhadap bakteri penyebab tuberculosis. Hasil penelitian ini dapat dilanjutkan untuk pengembangan penelitian lebih lanjut dari ekstrak bunga rosella untuk menjadi sediaan farmasi yang berkhasiat, dan aman.

Jatinangor, Maret 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Metode Penelitian.....	5
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Uraian Tanaman	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	6
2.1.2 Deskripsi Tanaman	6
2.1.3 Khasiat dan Kegunaan Tanaman.....	7
2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman.....	8

	Halaman
2.2 Tinjauan Farmakologi	10
2.2.1 Tuberkulosis (TBC).....	10
2.2.2 Morfologi	12
2.2.3 Gejala-gejala Penyakit TBC	12
2.2.4 Penyebaran dan Penyebab TBC	14
2.2.5 Penularan dan Pencegahan TBC	16
2.2.6 Pengobatan TBC.....	19
2.2.7 Obat Anti Tuberkulosis (OAT)	20
 BAB III ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Alat	23
3.2 Bahan Penelitian	23
3.2.1 Bahan Tanaman	23
3.2.2 Biakan Mikroba	23
3.2.3 Bahan Kimia dan Preaksi	24
3.3 Metode Penelitian	24
3.3.1 Determinasi Tanaman dan Pengolahan Simplisia	24
3.3.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela..	24
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela	25
3.3.4 Penapisan Fitokimia.....	25
3.3.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri	28
3.4 Pengolahan Data.....	29

	Halaman
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Determinasi Tumbuhan	30
4.2 Hasil Pemeriksaan Makroskopik Simplisia	30
4.3 Hasil Ekstraksi	31
4.4 Hasil Penapisan Fitokimia	31
4.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri	32
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan	36
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Kandungan Senyawa Kimia dalam Kelopak Bunga Rosela	9
2.2	Kandungan Gizi dalam 100 g Kelopak Segar Bunga Rosela	10
2.3	Obat-obatan Anti TBC yang dianjurkan WHO.....	22
4.1.	Hasil Penapisan Fitokimia dari Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela	32
4.2	Aktivitas Ekstrak Air terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Galur H37Rv.....	47
4.3	Aktivitas Ekstrak Etanol terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Galur H37Rv	49
4.4	Aktivitas Ekstrak Air terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Galur Labkes-026 (<i>multi-drug resistant</i>).....	54
4.5	Aktivitas Ekstrak Etanol terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Galur Labkes-026 (<i>multi-drug resistant</i>)	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Mycobacterium Tuberculosis</i>	12
2.2 Alur diagnosis tuberkulosis paru	15
2.3 Penularan TBC melalui udara	18
4.1 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela terhadap <i>M. tuberculosis</i> Galur H37Rv	33
4.2 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Roselaterhadap <i>M. tuberculosis</i> Galur H37Rv	33
4.3 Perbandingan Rata-rata Absorbansi untuk Setiap Konsentrasi Ekstrak Air & Etanol Kelopak Bunga Rosela terhadap <i>M. tuberculosis</i> Galur H37Rv	34
4.4 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela terhadap <i>M. tuberculosis</i> galur Labkes-026 (<i>multi-drug resistant</i>)	34
4.5 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela terhadap <i>M. tuberculosis</i> galur Labkes-026 (<i>multi-drug resistant</i>)	35
4.6 Perbandingan Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Air & Etanol Kelopak Bunga Rosela terhadap <i>M. tuberculosis</i> galur Labkes-026 (<i>multi-drug resistant</i>)	35
4.7 Anatomi tumbuhan rosela	40
4.8 Makroskopik simplisia bunga rosela	40
4.9 Pewarnaan <i>M. tuberculosis</i> dengan metode Ziehl-Neelsen.....	42
4.10 Pengamatan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> galur H37Rv dengan <i>mikroskop</i> <i>scanning electron</i>	42
4.11 Kultur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> galur H37Rv.....	43
4.12 Labu yang digunakan pada alat freeze dryer	44

4.13 Bunga Es Hasil Vakum	44
4.14 Bagan Prosedur Freeze Drier	45
4.15 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela pada <i>M. tuberculosis</i> Galur H37Rv terhadap Absorbansi	47
4.16 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela pada <i>M. tuberculosis</i> Galur H37Rv terhadap Absorbansi	49
4.17 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air pada <i>M.tuberculosis</i> galur Labkes-026 (<i>multi-drug resistant</i>) terhadap Absorbansi	54
4.18 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol pada <i>M.tuberculosis</i> galur Labkes-026 (<i>multi-drug resistant</i>) terhadap Absorbansi	59

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN		Halaman
A.	MAKROSKOPIK SIMPLISIA BUNGA ROSELA.....	40
B.	HASIL IDENTIFIKASI TANAMAN	41
C.	MIKROSKOPIK BAKTERI.....	42
D.	ALAT FREEZE DRIER	44
E.	BAGAN PROSEDUR FREEZE DRIER.....	45
F.	ANALISIS STATISTIK	46

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tumbuhan famili *malvaceae* telah dikultivasi di Asia sejak lebih dari 300 tahun lalu, tetapi sekarang telah dikultivasi di banyak negara (Tindal, 1983 dikutip dari Ojokoh, 2006). Bunga rosela yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal, yang pada setiap tangkai hanya terdapat satu bunga. Pada tahun 1962 Abdul Aziz Sharaf dari *Sudan Research Unit, Institute of African and Asian Studies*, membuktikan bahwa bunga rosela merah mempunyai beberapa khasiat, salah satunya sebagai antibakteri. Tiga tahun berikutnya Sharaf berhasil membuktikan, bunga rosela dan zat berwarna merah di tanaman ini dapat membunuh *Mycobacterium tuberculosis*, bakteri penyebab TBC (Watt and Breyer, 1962).

Ekstrak air dan zat warna yang terkandung dalam tanaman ini juga mempunyai efek letal (mematikan) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* penyebab TBC. Berdasarkan hasil penelitian direkomendasikan hasil penelitian ekstrak kelopak bunga rosela untuk menurunkan tekanan darah tinggi. Khasiat lain tanaman rosela yang telah dikenal di antaranya sebagai anti kejang (*antispasmodik*) dan sebagai antibakteri (Maryani dan Kristiana, 2005).

Mycobacterium tuberculosis telah menginfeksi sepertiga penduduk dunia. Diperkirakan terdapat 8 juta penduduk dunia diserang tuberkulosis dengan

kematian 3 juta orang pertahun. Diperkirakan 95% penderita tuberkulosis berada di negara-negara berkembang (Karakousis, *et al.*, 2004).

Tuberkulosis pada manusia dapat merusak jaringan tubuh, gejalanya meliputi peradangan selaput paru-paru dan rasa sakit samar-samar, batuk, demam setiap hari dan turunnya berat badan. Pengobatan tuberkulosis selama ini menggunakan INH (*isonicotinic acid hydrazide*) atau streptomisin dan asam-paraaminosalisilat, diberikan dalam bentuk kombinasi. *Mycobacterium tuberculosis* telah resisten terhadap obat-obat TBC yang lazim digunakan seperti isoniazid, rifampisin, etambutol, streptomisin, etionamid dan kanamisin. Resistensi ini terjadi karena adanya mutasi gen *rpoB* dan *katG* sebagai akibat dari pemberian monoterapi atau terapi terlalu singkat. Untuk terapi yang efektif minimal harus diberikan dua macam obat anti TBC (James, 2006).

Pemerintah Indonesia telah menerapkan strategi DOTS (*Directly Observed Treatment Short-Course*) sejak tahun 1995 sebagai upaya penanggulangan tuberkulosis secara nasional. Dengan menggunakan strategi DOTS, maka proses penyembuhan tuberkulosis dapat berlangsung dengan cepat. Dari 1995-1998, cakupan penderita tuberkulosis paru dengan strategi DOTS baru mencapai 36% dengan angka kesembuhan 87%. Sebelum strategi DOTS (1969-1994) cakupan penderita tuberkulosis mencapai angka 56% dengan angka kesembuhan hanya 40% sampai 60% (Ditjen PPM dan PLP, 1998).

Saat ini peningkatan kasus tuberkulosis suatu penyakit infeksi disebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sejalan dengan peningkatan kasus tuberkulosis yang resisten terhadap antibiotika (Obat Anti Tuberkulosis = OAT)

khususnya di negara berkembang termasuk Indonesia. Para peneliti memperkirakan \pm 50 juta orang terinfeksi galur *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap paling tidak satu macam Obat Anti Tuberkulosis (OAT) . Resistensi terhadap antibiotika (Obat Anti Tuberkulosis = OAT) seperti INH/isoniazid, streptomisin, etambutol, rifampisin, dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain pengobatan yang tidak teratur, ketidak patuhan berobat, pemakaian obat tunggal pada penderita TBC. Timbulnya resistensi terhadap Obat Anti Tuberkulosis (OAT) pada *Mycobacterium tuberculosis* disebabkan mutasi random pada kromosom bakteri. Proses mutasi tersebut terjadi secara spontan pada galur lainnya, bahkan terjadinya sebelum kontak dengan obat. Sifat resistensi ini juga disebabkan karena adanya mutasi gen yang terekspresi menjadi protein atau enzim tertentu dalam bakteri tersebut, misalnya terjadinya resistensi terhadap rifampisin karena mutasi gen *rpoB* yang terekspresi menjadi RNA polymerase (Morris., *et al*, 1995).

Berdasarkan data resistensi, maka obat TBC perlu dikembangkan penemuan senyawa alternatif yang dapat digunakan untuk pengobatan tuberkulosis terutama terhadap *Mycobacterium tuberculosis* yang telah resisten. Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas kelopak bunga rosela terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang merupakan bakteri resisten karena pertumbuhannya tidak dapat dihambat oleh rifampisin dan isoniazid dan *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv merupakan bakteri sensitif karena pertumbuhannya mampu dihambat oleh rifampisin (Weyer, 1997).

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diungkapkan di atas, dapat diidentifikasi masalah-masalah sebagai berikut:

- a. Apakah ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela memiliki aktivitas antibakteri terhadap *M.tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan galur H37Rv?
- b. Manakah yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv.

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat umum mengenai manfaat ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) sebagai antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan galur H37Rv.

1.5 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu:

1. Determinasi tanaman dan pengumpulan bahan
2. Penapisan fitokimia simplisia
3. Pembuatan ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.)
4. Penyiapan bakteri uji *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan galur H37Rv dengan médium cair (*middle broth* 7H9)
5. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan galur H37Rv
6. Analisis data dan kesimpulan

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan September 2008 bertempat di Laboratorium Rumah Sakit Paru Dr. H. A. Rotinsulu Bandung.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Uraian Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.). Uraian tanaman rosela meliputi klasifikasi tanaman, deskripsi tanaman, khasiat dan kegunaan tanaman, dan kandungan kimia tanaman.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi dari kelopak bunga rosela (Backer and Bakhuizen, 1963) :

Regnum : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dilleniidae
Ordo : Malvales
Familia : Malvaceae
Genus : Hibiscus
Spesies : *Hibiscus sabdariffa* L.

2.1.2 Deskripsi Tanaman

Rosela merupakan herba tahunan yang bisa mencapai ketinggian 0,5 sampai 3 meter. Batangnya bulat, tegak, berkayu, dan berwarna merah. Daunnya

tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi, pangkal berlekuk. Panjang daun 6 sampai 15 cm dan lebarnya 5 sampai 8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau, dengan panjang 4 sampai 7 cm (Maryani dan Kristiana, 2005).

Bunga rosela yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal, artinya pada setiap tangkai hanya terdapat satu bunga. Bunga ini mempunyai 8 sampai 11 helai kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan, dan berwarna merah. Kelopak bunga rosela ini sering dianggap sebagai bunga oleh masyarakat. Bagian inilah yang sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman (Maryani dan Kristiana, 2005).

Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helaian, panjangnya 3 sampai 5 cm. Tangkai sari yang merupakan tempat melekatnya kumpulan benang sari berukuran pendek dan tebal, panjangnya sekitar 5 mm dan lebar sekitar 5 mm. Putiknya berbentuk tabung, berwarna kuning atau merah. Buahnya berbentuk kotak kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, berwarna merah. Bentuk biji menyerupai ginjal, berbulu, dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Saat masih muda, biji berwarna putih dan setelah tua berubah menjadi abu-abu (Maryani dan Kristiana, 2005).

2.1.3 Khasiat dan Kegunaan Tanaman

Di Indonesia, penggunaan rosela di bidang kesehatan memang belum begitu populer. Namun akhir-akhir ini, minuman berbahan rosela mulai banyak dikenal sebagai minuman kesehatan. Bahan minuman dari rosela yang berbentuk

seperti teh celup juga sudah dapat diperoleh di pasar swalayan. Produk tersebut sebagian besar diperoleh dari luar negeri. Di negara-negara lain, pemanfaatan dan khasiat rosela dalam dunia pengobatan sudah tidak asing lagi (Maryani dan Kristiana, 2005).

Di India, Afrika, dan Meksiko, seluruh bagian tanaman rosela berfungsi sebagai obat tradisional. Daun atau kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) mampu menurunkan tekanan darah (efek hipotensif) yang tidak berbeda nyata dengan pemberian *captopril* 50 mg/hari. Rosela terstandar tersebut dibuat dari 10 g kelopak kering dan 0,52 L air (Herrera and Arellano, 2004).

Terdapat penurunan tekanan darah sistolik sebesar 11,2 % dan tekanan darah diastolik sebesar 10,7 % setelah diberi terapi teh rosela selama 12 hari pada 31 penderita hipertensi sedang, dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terdapat penurunan kreatinin, asam urat, sitrat, tartrat, kalsium, natrium, dan fosfat dalam urine pada 36 pria yang mengkonsumsi jus rosela sebanyak 16-24 g/dl/hari (Maryani dan Kristiana, 2005).

2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman

Karakteristik fisikokimia bunga rosela telah diteliti dan diketahui memiliki vitamin C yang tinggi dengan kadungan gula yang rendah. Asam suksinat dan asam oksalat merupakan dua asam organik yang dominan pada rosela. Tumbuhan rosela juga diketahui memiliki asam askorbat yang lebih tinggi dari pada jeruk dan mangga (Wong *et al*, 2002 dalam Fasoyiro *et al*, 2005).

Fitokonstituen yang ditemukan dalam ekstrak bunga rosela yaitu flavonoid, polisakarida dan asam organik, yang berpengaruh terhadap aktivitas farmakologinya (Daffallah & a-Mustafa, 1996 dalam Hussaini *et al.*, 2004). Bunga rosela diketahui memiliki asam sitrat, tanin dan glukosida seperti delfinidin-3-monoglukosida dan delfinidin yang pada konsentrasi tinggi bersifat toksik bagi jaringan hewan dan manusia (Ojokoh *et al.*, 2002; Morton, 1987).

Tanin merupakan senyawa fenol dimana derajat hidroksilasi dan ukuran molekulnya dapat membentuk kompleks dengan protein (Goldstein and Swain, 1963 dalam Ojokoh, 2006). Asam sitrat dilaporkan pula memiliki kemampuan mengikat logam, membentuk kompleks dengan protein (Evans and Bandemer, 1967). Penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa glukosida sianogenik secara umum bersifat menghambat proses katalisis enzim (Aletor,1993).

Tabel 2.1 Kandungan Senyawa Kimia dalam Kelopak Bunga Rosela (Maryani dan Kristiana, 2005).

Nama Senyawa	Jumlah
Campuran asam sitrat dan asam malat	13 %
Antosianin yaitu <i>gossypetin</i> (hidroksiflavon) dan <i>hisbiscin</i>	2 %
Vitamin C	0,004-0,005%
Protein	
Berat segar	6,7 %
Berat kering	7,9 %
<i>Flavonol glucoside hisbiscritin</i>	-
<i>Flavonoid gossypetine</i>	-
<i>Hisbisetin dan Sadaretin</i>	-
<i>Delphinidin 3- monoglucoside</i>	-
<i>Cianidin 3-monoglucoside (chrysantehnin)</i>	-
<i>Delphinidin</i>	-

Tabel 2.2 Kandungan Gizi dalam 100 g Kelopak Segar Bunga Rosela (Maryani dan Kristiana, 2005).

Zat	Jumlah	Zat	Jumlah
Kalori	44 kal	Besi	3,8 mg
Air	86,2 %	Betakaroten	285 mg
Protein	1,6 g	Asam askorbat	14 mg
Lemak	0,1 g	Tiamin	0,04 mg
Karbohidrat	1,1 g	Riboflavin	0,6 mg
Serat	2,5 g	Niasin	0,5
Abu	1,0 g	Sufida	-
Calcium	160 mg	Nitrogen	-
Fosfor	60 mg		

2.2 Tinjauan Farmakologi

Tinjauan farmakologi yang dibahas antara lain Tuberkulosis (TBC), morfologi, gejala tuberkulosis (TBC), penyebaran dan penyebab tuberkulosis (TBC), penularan dan pencegahan tuberkulosis (TBC), pengobatan tuberkulosis (TBC), Obat Anti Tuberkulosis (OAT).

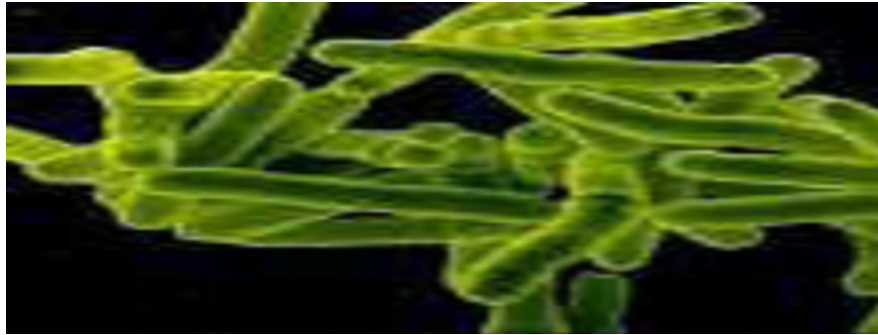
2.2.1 Tuberkulosis (TBC)

Tuberkulosis (TBC) merupakan suatu penyakit menular yang paling sering (sekitar 80%) terjadi di paru-paru. Setelah kuman TB masuk ke dalam tubuh manusia melalui pernafasan, kuman TB tersebut dapat menyebar dari paru-paru ke bagian tubuh lainnya melalui sistem peredaran darah, sistem saluran limfe, saluran nafas, atau penyebaran langsung ke bagian-bagian tubuh lainnya. Penyakit tuberkulosis (TBC) ini juga merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh

bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini berbentuk batang Basil Tahan Asam (BTA). Bakteri ini pertama kali ditemukan oleh Robert Koch pada tanggal 24 maret 1882, sehingga untuk mengenang jasanya bakteri tersebut diberi nama baksil Koch. Bahkan, penyakit TBC pada paru-paru kadang disebut *Koch Pulmonum* (KP) (Jamb, 2007).

Orang yang pertama kali membuktikan bahwa tuberkulosis merupakan suatu penyakit yang dapat ditularkan, yaitu Villemin yang hidup pada tahun (1827-1894). Menurut Robbins (1957) tuberkulosis juga merupakan penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*, dan biasa terdapat pada paru-paru, tetapi mungkin juga pada organ lain seperti kelenjar getah bening (*nodus lymphaticus*). Bakteri yang masuk ke dalam kelenjar getah bening tersebut dapat meminimalkan peradangan pada kelenjar tersebut disertai perubahan struktur jaringan.

Bakteri tuberkulosis yang terdapat di dalam kelenjar getah bening akan tersangkut dan akan dimakan oleh sel-sel phagosit. Apabila jumlahnya sedikit maka biasanya mereka segera dihancurkan. Akan tetapi bila jumlah bakterinya cukup banyak yang tersangkut didalam suatu jaringan atau apabila virulensinya tinggi, serta jika daya tahan tubuh atau imunitas orang yang diserang rendah maka orang tersebut akan menjadi sakit (Misnadiarly, 2006).



Gambar 2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

2.2.2 Morfologi

Semua *Mycobacteria* merupakan Gram (+) positif dan aerob. Secara mikroskopik, jaringan tubuh *M. tuberculosis* berbentuk batang halus berbentuk 3 X 0,5 μ m, dapat juga terlihat seperti berbiji-biji. Sedangkan pada media perbenihan, *M. tuberculosis* berbentuk kokoid, berfilamen, tidak berspora dan tidak bersimpai. Pada pewarnaan cara Zielh-Neelsen, *M. tuberculosis* berwarna merah dengan latar belakang berwarna biru dan pada pewarnaan fluorokhrom, *M. tuberculosis* berfluoresensi dengan warna kuning orange (Frobisher, *et al.*, 1996; Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1994).

2.2.3 Gejala-gejala Penyakit TBC

Penyakit ini terutama mengenai paru-paru, kelenjar getah bening, dan usus. Gejala paling awal biasanya nonspesifik seperti perasaan tidak enak (malaise), kelelahan, anoreksia, dan penurunan berat badan. Diantara gejala yang lebih spesifik, yang paling umum adalah batuk, seringkali disertai sputum mukoid. Gejala lain diantaranya yaitu hemoptisis ringan berulang, nyeri pleura,

demam ringan atau kadang-kadang sesak saat aktivitas. Tanda-tanda yang juga timbul pada stadium lanjut dari penyakit dan tidak begitu spesifik, misalnya ronki (biasanya di apeks) dan selanjutnya, tanda-tanda konsolidasi, efusi pleura, atau kavitasi (Rubenstein, 2005).

a. Gejala sistemik / umum

TB-paru merupakan penyakit yang prevalensi tinggi dibandingkan dengan penyakit tuberculosi lainnya seperti TB-tulang, TB-meningitis dan TB-ekstraparu lainnya. Gejala umum dari TB-paru yang harus diketahui secara praktis, yaitu demam tidak terlalu tinggi yang berlangsung lama, biasanya dirasakan malam hari disertai keringat malam. Kadang-kadang serangan demam seperti influenza dan bersifat hilang timbul. Penurunan nafsu makan dan berat badan, batuk-batuk selama lebih dari 3 minggu (dapat disertai dengan darah). Perasaan tidak enak (*malaise*), lemah.

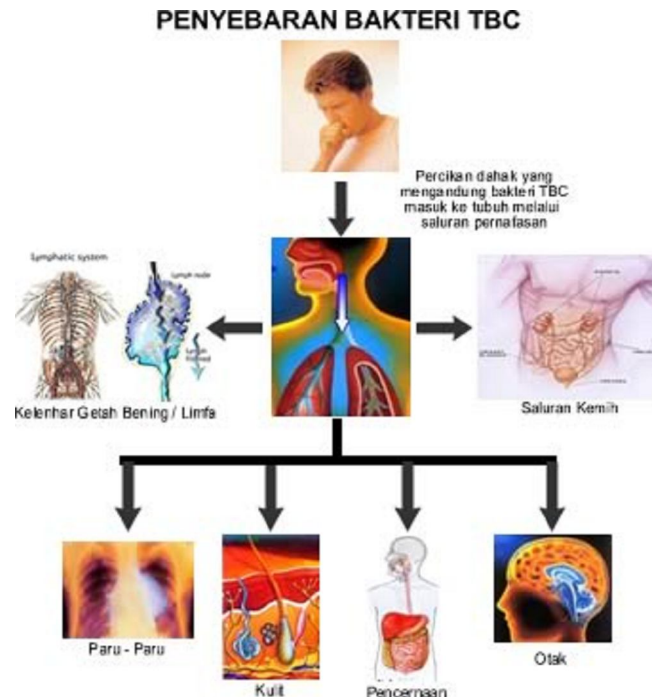
b. Gejala khusus

Gejala khusus dari TB-paru yang harus diketahui secara praktis, yaitu tergantung dari organ tubuh mana yang terkena, bila terjadi sumbatan sebagian bronkus (saluran yang menuju ke paru-paru) akibat penekanan kelenjar getah bening yang membesar, akan menimbulkan suara “mengi”, suara nafas melemah yang disertai sesak. Jika ada cairan dirongga *pleura* (pembungkus paru-paru), dapat disertai dengan keluhan sakit di dada, bila mengenai tulang, maka akan terjadi gejala seperti infeksi tulang yang pada suatu saat dapat membentuk saluran dan bermuara pada kulit di atasnya,

pada muara ini akan keluar cairan nanah. Biasanya pada anak-anak dapat mengenai otak (lapisan pembungkus otak) dan disebut sebagai *meningitis* (radang selaput otak), gejalanya adalah demam tinggi, adanya penurunan kesadaran dan kejang-kejang (Jumiarti, 2007).

2.2.4 Penyebaran dan Penyebab TBC

Penyakit TBC biasanya menular melalui udara yang tercemar dengan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dilepaskan pada saat penderita TBC batuk. Pada anak-anak sumber infeksi umumnya berasal dari penderita TBC dewasa. Bakteri *M. tuberculosis* ini bila sering masuk dan terkumpul di dalam paru-paru akan berkembang biak menjadi banyak (terutama pada orang dengan daya tahan tubuh yang rendah) dan dapat menyebar melalui pembuluh darah atau kelenjar getah bening. Oleh sebab itu infeksi TBC dapat menginfeksi hampir seluruh organ tubuh seperti : paru-paru, otak, ginjal, saluran pencernaan, tulang, dan kelenjar getah bening, meski demikian organ tubuh yang paling sering terkena yaitu paru-paru (Jumiarti, 2007).



Gambar 2.2 Alur diagnosis tuberkulosis paru

TBC merupakan penyakit infeksi yang paling mematikan dan penyebab kematian nomor tiga setelah penyakit jantung. Prevalensinya sangat besar di negara-negara Asia dan Afrika, dimana 60-80% dari anak-anak dibawah usia 14 tahun sudah terinfeksi (Jumiarti, 2007).

Di Indonesia penyakit tuberkulosis merupakan masalah utama kesehatan masyarakat. Tahun 1995, hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) menunjukkan bahwa penyakit TB merupakan penyebab kematian nomor tiga setelah penyakit kardiovaskular dan penyakit saluran pernapasan di semua kelompok usia dan nomor satu di antara golongan penyakit infeksi. Pada tahun 1999, WHO memperkirakan setiap tahun terjadi 583.000 kasus baru TB dengan kematian karena TB sekitar 140.000. Secara kasar diperkirakan setiap 100.000

penduduk Indonesia terdapat 130 penderita baru TB BTA positif, yaitu sekitar 30% penderita terdapat disekitar puskesmas, 30% lainnya ditemukan di pelayanan rumah sakit atau klinik pemerintah dan swasta, praktek swasta, serta sisanya belum terjangkau oleh unit pelayanan kesehatan. Padahal kematian karena TB diperkirakan 175.000 pertahun.

Penggunaan obat anti tuberkulosis (OAT) yang tidak teratur terutama karena pengertian penderita yang kurang tentang pengobatan yang teratur dan memadai dapat menyebabkan terjadinya resistensi kuman. *Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB)* merupakan galur yang resisten terhadap isoniazid (INH) dan rifampisin dengan atau tanpa resisten terhadap obat lain *MDR-TB* merupakan faktor yang dapat mempersulit dalam mengobati penyakit TB dan beresiko kematian yang tinggi (50-60% dalam lima tahun) (Weyer, 1997).

2.2.5 Penularan dan Pencegahan TBC

Penyakit TBC ditularkan dari orang ke orang, terutama melalui saluran pernafasan dengan mengisap atau menelan tetes-tetes ludah / dahak (*droplet infection*), yang mengandung basil dan dibatukkan oleh penderita “TBC terbuka” atau adanya kontak antara tetes-tetes ludah / dahak tersebut dan luka dikulit. Untuk membatasi penyebaran, perlu sekali dipisahkan semua anggota keluarga dekat yang erat hubungannya dengan penderita. Dengan demikian, penderita baru dapat dideteksi pada waktu yang dini (Rubenstein, 2005).

Saat *Mycobacterium tuberculosis* berhasil menginfeksi paru-paru, maka dengan segera akan tumbuh koloni bakteri yang berbentuk globular (bulat).

Biasanya melalui serangkaian reaksi imunologis bakteri TBC akan menjadi dormant (istirahat). Bentuk dormant inilah yang sebenarnya terlihat sebagai tuberkel pada pemeriksaan foto rontgen. Pada sebagian orang dengan sistem imun yang baik, bentuk ini akan tetap dormant sepanjang hidupnya. Sedangkan pada orang-orang dengan sistem kekebalan tubuh yang kurang bakteri ini akan mengalami perkembangbiakan sehingga tuberkel bertambah banyak. Tuberkel yang banyak ini membentuk sebuah ruang di dalam paru-paru. Ruang inilah yang nantinya menjadi sumber produksi sputum (dahak), seseorang yang telah memproduksi sputum (dahak) diperkirakan sedang mengalami pertumbuhan tuberkel berlebih dan positif teinfeksi TBC (Rubenstein, 2005).

Meningkatnya penularan infeksi *M. tuberculosis* disebabkan karena daya tahan tubuh lemah / menurun, virulensi dan jumlah kuman merupakan faktor yang memegang peranan penting dalam terjadinya infeksi TBC. Tuberkulosis yang menyerang jaringan paru ini merupakan satu-satunya bentuk dari tuberkulosis yang mudah menular. Penularan tuberkulosis dari seseorang penderita ditentukan oleh banyaknya kuman yang terdapat dalam paru-paru penderita, persebaran tersebut melalui dahak berupa “droplet” percikan dahak yang keluar dari penderita penyakit TB pada saat bersin atau batuk, mengandung kuman *Mycobacterium tuberculosis* (Jumiarti, 2007).

Penularan perlu diwaspadai dengan mengambil tindakan-tindakan pencegahan untuk menghindari infeksi *M. tuberculosis* dari penderita ke orang lain. Salah satu cara adalah batuk dan bersin sambil menutup mulut / hidung dengan saputangan atau kertas tissue untuk kemudian didesinfeksi dengan Lysol

atau dibakar. Bila penderita berbicara, jangan terlampau dekat dengan lawan bicaranya. Ventilasi yang baik dari ruangan juga memperkecil bahaya penularan.



Gambar 2.3 Penularan TBC melalui udara

Anak-anak dibawah usia satu tahun dari keluarga yang menderita TBC perlu vaksinasi BCG sebagai pencegahan (Jumiarti, 2007).

Adapun uji klinis yang biasanya dilakukan, antara lain sebagai berikut :

1. Reaksi Mantoux (Reaksi tuberculin, 1970) dilakukan untuk menentukan belum atau sudahnya seseorang terinfeksi basil TBC.
 - a. Reaksi positif tampak sebagai kemerah-merahan setempat dan menunjukkan terdapatnya antibody terhadap basil TBC didalam darah.
 - b. Reaksi negatif berarti bahwa orang bersangkutan belum pernah mengalami infeksi primer, ia mudah diserang TBC daripada orang dengan reaksi positif dan dianjurkan vaksinasi BCG.
2. Vaksin BCG (*Basil Calmette Guerin*), daya tahan tubuh seseorang dengan reaksi tuberculin negative dapat diperkuat melalui vaksinasi dengan vaksin BCG. Vaksin BCG juga merupakan vaksin hidup yang memberi sedikit perlindungan terhadap TBC. Vaksin BCG dapat memakan waktu 6-12

minggu untuk menghasilkan efek (perlindungan) kekebalannya, vaksinasi BCG mungkin hanya memberi kekebalan 50-60% terhadap tuberkulosis dan bagi beberapa individu vaksin ini kurang efektif dengan berlalunya waktu, adakalanya dalam waktu 5-15 tahun.

3. Kemoprofilaksis anak-anak di bawah usia satu tahun dari keluarga penderita TBC dapat diberikan secara kontinu selama 6 bulan isoniazida dan rifampisin, tersendiri atau bersamaan sebagai profilaksis.

2.2.6 Pengobatan TBC

Sesuai dengan sifat kuman TB, untuk memperoleh efektifitas pengobatan maka prinsip-prinsip yang dipakai adalah :

1. Menghindari penggunaan monoterapi. Obat Anti Tuberkulosis (OAT) diberikan dalam bentuk kombinasi dari beberapa jenis obat, dalam jumlah cukup dan dosis tepat sesuai dengan kategori pengobatan. Hal ini untuk mencegah timbulnya kekebalan terhadap Obat Anti Tuberkulosis (OAT).
2. Untuk menjamin kepatuhan penderita dalam menelan obat, pengobatan dilakukan dengan pengawasan langsung (DOT = *Directly Observed Treatment*) oleh seorang Pengawas Menelan Obat (PMO).
3. Pengobatan TB diberikan dalam 2 tahap, yaitu tahap intensif dan lanjutan.

Pengobatan harus dimulai segera setelah ada kecurigaan akan diagnosis meningitis tuberkulosis. Untuk pengobatan yang baik selain aktivitas bakterisid juga harus diperhatikan bahwa obat harus menembus sawar darah-otak. Lama pengobatan diambil berdasarkan konsep khemoterapeutika 2 fase yang terdiri atas:

a. Fase Awal

Pengobatan diberikan secara intensif selama 2-3 bulan dengan paling sedikit 3 macam obat. Paling ideal kombinasi INH Rifampisin dan Etambutol atau Pirazinamid. Bila penderita sudah berada dalam stadium 3 atau 4 ditambah dengan Etionamid.

b. Fase Konsolidasi

Diberikan 2 macam obat, paling baik INH dan Rifampisin sampai seluruh pengobatan lamanya 48 bulan sampai 2 tahun (Misnadiarly, 2006).

2.2.7 Obat Anti Tuberkulosis (OAT)

Obat yang digunakan dalam pengobatan tuberkulosis dapat dibagi ke dalam dua kategori, yaitu Obat Anti Tuberkulosis (OAT) primer dan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) sekunder, Obat Anti Tuberkulosis (OAT) primer lebih tinggi khasiatnya dan lebih baik keamanannya dari Obat Anti Tuberkulosis (OAT) sekunder. Yang termasuk Obat Anti Tuberkulosis (OAT) primer antara lain, isoniazid, rifampisin, etambutol, pirazinamid. Dengan keempat macam Obat Anti Tuberkulosis (OAT) primer itu pada umumnya penderita tuberkulosis dapat

disembuhkan. Penyembuhan penyakit umumnya terjadi setelah pengobatan selama 6 bulan (Katzung, 2001).

Bila penderita tuberkulosis dengan obat antituberkulosis (OAT) primer timbul resistensi, maka yang resisten itu digantikan dengan paling sedikit 2 sampai 3 macam obat antituberkulosis (OAT) sekunder yang belum resisten, sehingga penderita menerima 5 atau 6 macam obat sekaligus. Strategi pengobatan yang dianjurkan oleh WHO yaitu DOTS (*Directly Observed Treatment Short Course*) strategi yang digunakan dalam pengendalian atau penanggulangan penyakit TB melalui peningkatan diagnosis TB dengan pemeriksaan dahak secara mikroskopis, pengobatan dengan Pengawasan Menelan Obat (PMO) kesinambungan persediaan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) jangka pendek dengan mutu terjamin serta pencatatan dan pelaporan secara baku untuk memudahkan pemantauan dan evaluasi program penanggulangan TB. Untuk penggunaan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) primer dan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) sekunder adalah asam para-aminosalisilat, etionamid, ticacetazon, fluorokinolon, aminoglikosida dan capreomycin, cycloserin, penghambat beta laktam, clarithromycin, linezolid.

Sedangkan obat-obat antituberkulosis untuk pengobatan tuberkulosis resisten majemuk (*multi-drug resistant tuberculosis = MDR TB*), dengan adanya peningkatan prevalensi bakteri patogen yang resisten saat ini semakin banyak penderita tuberkulosis, terutama karena penggunaan antibiotik yang tidak rasional baik oleh petugas kesehatan maupun penderita sendiri yang tidak patuh terhadap pemberian obat tersebut. Hal ini menyebabkan beberapa orang telah mulai

diidentifikasi resisten terhadap obat antituberkulosis yang ada. Memang belum banyak dilakukan penelitian tentang resistensi ini, namun telah terjadi di beberapa negara termasuk di Indonesia (Ditjen Bina Kefarmasian dan Alkes, 2006).

Temuan tentang resistensi terhadap Isoniazid dan Rifampisin yang cukup tinggi seperti yang dilaporkan WHO, menuntut penggunaan Obat Anti Tuberkulosis generasi kedua (*second lines anti-tubercuosis drugs*) WHO menganjurkan penggunaan obat-obatan berikut dan diawasi langsung oleh para ahli, yaitu:

Tabel 2.3 Obat-obatan yang dianjurkan WHO (WHO, 2003).

Nama Obat	Bentuk dan Dosis Sediaan
Capreomycin	Serbuk untuk injeksi 1000 mg/ vial
Cycloserine	Kapsul atau tablet 250 mg
Para-aminosalicylic acid (PAS)	Tablet 500 mg, Granules 4 g dalam sachset
Ethionamide	Tablet 125 mg, 250 mg
Amikacin	Serbuk untuk injeksi 1000 mg/ vial
Kanamycin	Serbuk untuk injeksi 1000 mg/ vial
Ciprofloxacin	Tablet 250 mg, 500 mg
Ofloxacin	Tablet 200 mg, 400 mg
Levofloxacin	Tablet 250 mg, 500 mg

BAB III

ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Alat

Maserator, test tube, micropipette, ose needle, tip, media bottle, measure glass, spatel, objek glass, microscope, shaker, incubator, oven, laminar air flow, dan spectrophotometer spektronik, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboraturium mikrobiologi.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan tanaman, biakan mikroba, bahan kimia dan pereaksi.

3.2.1 Bahan tanaman

Bahan tanaman berupa kelopak bunga rosela yang diperoleh dari daerah Lembang dan sudah dilakukan determinasi tanaman rosela yang dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran.

3.2.2 Biakan mikroba

Biakan mikroba yang digunakan adalah *M. tuberculosis* galur H37Rv dan *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*).

3.2.3 Bahan kimia dan pereaksi

Bahan kimia untuk ekstraksi adalah etanol 70% dan untuk penapisan fitokimia yaitu pereaksi *Dragendorf* (bismuth kalium iodida), pereaksi *Mayer* (kalium merkuri iodida), larutan gelatin 1%, kloroform, pereaksi *Liebermann-Burchard*, larutan amonia 10%, larutan asam klorida 2 N, larutan eter, larutan kalium hidroksida 5%, larutan besi (III) klorida, serbuk magnesium, larutan amil alkohol, dan aquades. *Middle brooth 7H9* (medium cair), dalam bentuk serbuk yang berfungsi sebagai media pertumbuhan.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan meliputi determinasi dan pengolahan simplisia, ekstraksi, penapisan fitokimia, pengujian aktivitas antibakteri, dan pengolahan data.

3.3.1 Determinasi Tanaman dan Pengolahan Simplisia

Determinasi tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* L) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran. Simplisia diolah dengan cara dirajang dan dihaluskan.

3.3.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela

Simplisia yang telah kering dihaluskan, lalu dilakukan maserasi dengan menambahkan etanol 70% hingga seluruh simplisia terendam oleh etanol dalam

maserator. Maserasi dilakukan selama tiga hari, dan tiap 24 jam ekstrak ditampung dan pelarut diganti dengan yang baru. Setelah tiga hari, ekstrak yang telah dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap.

3.3.3 Pembuatan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela

Simplisia yang telah kering dihaluskan, lalu dilakukan infusa dengan menambahkan air hingga seluruh simplisia terendam. Infusa (sediaan cair) yang dibuat dengan mengambil sari simplisia yang dipanaskan diatas penangas air pada suhu 90°C selama 15 menit sambil diaduk sesekali. Disaring selagi panas dengan kain flanel, kemudian ditambahkan air panas secukupnya pada ampas yang terdapat pada kain flanel tersebut hingga diperoleh volume infus dengan bobot tetap. Setelah semua ekstrak yang telah terkumpul dipekatkan dengan alat *freeze drier* hingga diperoleh ekstrak yang berbentuk serbuk dengan bobot tetap. Penggunaan *freeze drier* dapat dilihat pada (Lampiran E, bagan).

3.3.4 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela. Kandungan yang diperiksa adalah golongan alkaloid, flavonoid, kuinon, polifenol, saponin, tanin, triterpenoid, steroid, monoterpenoid dan sesquiterpenoid.

1) Alkaloid

Serbuk simplisia dibasakan dengan ammonia, kemudian ditambahkan kloroform, dan digerus dengan kuat. Lapisan kloroform dipipet sambil disaring, kemudian ke dalamnya ditambahkan asam klorida 2 N. Campuran dikocok dengan kuat hingga terdapat dua lapisan. Lapisan asam dipipet, kemudian dibagi atas tiga bagian. Bagian pertama ditambahkan pereaksi *Mayer*. Terjadinya endapan atau kekeruhan diamati, adanya endapan putih menandakan bahwa dalam simplisia terkandung alkaloid. Bagian kedua ditambahkan pereaksi *Dragendorff*. Terjadinya endapan atau kekeruhan diamati, adanya endapan jingga kuning menandakan dalam simplisia terkandung alkaloid (Fransworth, 1966).

2) Flavonoid

Sejumlah kecil serbuk simplisia dalam tabung reaksi dicampur dengan serbuk magnesium dan asam klorida 2 N. Campuran dipanaskan di atas penangas air, lalu disaring. Filtrat dalam tabung reaksi ditambahkan amil alkohol, lalu dikocok dengan kuat. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning hingga merah yang dapat ditarik oleh amil alkohol (Fransworth, 1966).

3) Kuinon

Sejumlah kecil serbuk simplisia dalam tabung reaksi dipanaskan di atas penangas air, kemudian disaring. Ke dalam filtrat ditambahkan larutan kalium hidroksida 5%. Adanya senyawa kuinon ditandai dengan terbentuknya warna kuning (Fransworth, 1966).

4) Polifenol dan Tanin

Sejumlah kecil serbuk simplisia dalam tabung reaksi dipanaskan di atas penangas air, kemudian disaring. Kedalam filtrat direaksikan pereaksi besi (III) klorida. Adanya senyawa fenolat ditandai dengan terbentuknya warna hijau-biru hingga hitam, berarti mengandung tanin dan polifenol. Untuk memastikan adanya tanin, ke dalam filtrat ditambahkan larutan gelatin 1%. Adanya senyawa tanin ditandai dengan terjadinya endapan berwarna putih (Fransworth, 1966).

5) Saponin

Simplisia dalam tabung reaksi ditambahkan air lalu dipanaskan selama beberapa saat, kemudian disaring. Setelah dingin filtrat dalam tabung reaksi dikocok dengan kuat selama lebih kurang 30 detik. Pembentukan busa sekurang-kurangnya 1 cm dan persisten selama beberapa menit serta tidak hilang pada penambahan 1 tetes asam klorida menunjukkan bahwa dalam simplisia terdapat saponin (Fransworth, 1966).

6) Triterpenoid dan Steroid

Serbuk simplisia digerus dengan eter, kemudian dipipet sambil disaring. Filtrat ditempatkan dalam cawan penguap, kemudian dibiarkan menguap hingga kering. Kedalam hasil pengeringan filtrat ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Terjadinya warna ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, sedangkan adanya warna hijau biru menunjukkan adanya senyawa steroid (Fransworth, 1966).

7) Monoterpenoid dan Seskuiiterpen

Serbuk simplisia digerus dengan eter kemudian dipipet sambil disaring. Filtrat ditempatkan dalam cawan penguap, kemudian dibiarkan menguap hingga kering. Ke dalam hasil pengeringan filtrat ditambahkan larutan vanillin 10% dalam asam sulfat pekat. Terjadinya warna-warna menunjukkan adanya senyawa monoterpenoid dan seskuiiterpenoid (Fransworth, 1966).

3.3.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri, dilakukan pembuatan media dan pembuatan suspensi bakteri.

a. Pembuatan Media Untuk Bakteri

Middle broth dibuat dengan cara mencampur 5 g *middle broth* dengan 500 mL aquadest dan dikocok homogen. Sebelum digunakan medium dimasukkan ke dalam botol untuk disterilisasi dengan autoklaf \pm 15 menit pada suhu 121°C.

b. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri disuspensikan ke dalam media cair dan diinkubasi selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi kemudian dikocok menggunakan pengocok vortex dan pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer.

Ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela diuji pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Pengujian dilakukan masing-masing duplo dalam tabung yang masing-masing mengandung

medium 500 μL . Tabung diletakkan dengan tegak pada rak, kemudian dimasukkan ke dalam alat shake pada suhu 37°C selama 1 minggu. Sebagai pembanding dipakai standar obat rifampisin 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan isoniazid 0,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang dikerjakan sama dengan ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).

c. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian dilakukan dengan metode pengenceran tabung. Sediaan ekstrak ditimbang teliti, dilarutkan dengan aquadest lalu diencerkan sampai volume tertentu. Kemudian dibuat pengenceran bertingkat, lalu ditambahkan ke masing-masing tabung dengan satu ose bakteri selama 18-24 jam pada suhu 37°C kocok homogen. Setelah itu dibuat kontrol (+) yang berisi 500 μl *middle broth* + 500 μl bakteri, sedangkan kontrol (-) hanya berisi 500 μl *middle broth*.

3.4 Pengolahan Data

Pengolahan data statistik yang digunakan yaitu rancangan desain acak sempurna, karena faktor yang ingin diuji pengaruhnya terhadap absorbansi hanya satu variable yaitu konsentrasi ekstrak. Oleh karena itu dilakukan Analisis Varian (ANOVA) pada taraf 0,05. Uji Newman-Keuls dilakukan untuk mengetahui faktor konsentrasi mana yang berbeda pengaruhnya terhadap absorbansi. Pengujian ini dilakukan bila dari hasil pengujian Analisis Varian (ANOVA) didapatkan data yang berbeda nyata atau signifikan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dengan judul aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv secara *in vitro* dengan menggunakan metode pengenceran tabung yang bertujuan ingin memperoleh hasil penelitian.

4.1 Hasil Determinasi Tumbuhan

Dari hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Jatinangor, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Adm, Universitas Padjadjaran (Lampiran B), diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian berasal dari ordo Malvales, familia malvaceae, genus Hibiscus, dan spesies *Hibiscus sabdariffa* L.

4.2 Hasil Pemeriksaan Makroskopik Simplisia

Pemeriksaan makroskopik meliputi organoleptis simplisia kelopak bunga rosela berwarna merah, mempunyai rasa asam dan berbau khas aromatik serta bebas dari cendawan dan pengotor lainnya. Anatomi tumbuhan dan simplisia kelopak bunga rosela dapat dilihat pada Lampiran A Gambar 4.1 dan Gambar 4.2.

4.3 Hasil Ekstraksi

Simplisia sebanyak 98 g simplisia kelopak bunga rosela diekstraksi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 4,5 L dengan metode maserasi, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental seberat 125,51 g dengan rendemen 37,84%. Sedangkan untuk ekstrak air, simplisia sebanyak 110 g simplisia kelopak bunga rosela diekstraksi dengan aquadest sebanyak 4 liter dengan metode infusa, kemudian didinginkan dengan *trap cold* hingga didapat ekstrak berupa serbuk seberat 128,82 g dengan rendemen 38,16%.

Ekstraksi yang dilakukan dengan maserasi yang merupakan ekstraksi dengan cara dingin. Dengan ekstraksi cara dingin zat-zat yang terkandung di dalam simplisia relatif lebih aman jika dibandingkan dengan penggunaan ekstraksi cara panas, karena kemungkinan zat yang terkandung dalam simplisia tersebut bersifat termolabil. Sedangkan pada ekstrak air dilakukan juga *freeze drier* agar hasil yang didapat konstan, sesuai dengan hasil yang di inginkan.

4.4 Hasil Penapisan Fitokimia

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan dapat diketahui bahwa ekstrak etanol kelopak bunga rosela mengandung senyawa alkaloid, polifenolat, tanin, flavonoid, steroid dan kuinon yang ditandai dengan adanya endapan dan terbentuknya warna yang spesifik untuk senyawa-senyawa tersebut. Hasil penapisan fitokimia, kelopak bunga rosela mengandung diperlihatkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Penapisan Fitokimia dari Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela

Golongan Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Senyawa polifenolat	+
Tanin	+
Flavanoid	+
Monoterpenoid dan seskuiterpenoid	+
Saponin	-
Steroid	+
Triterpenoid	-
Senyawa kuinon	+

Keterangan: hasil uji positif (+)
hasil uji negatif (-)

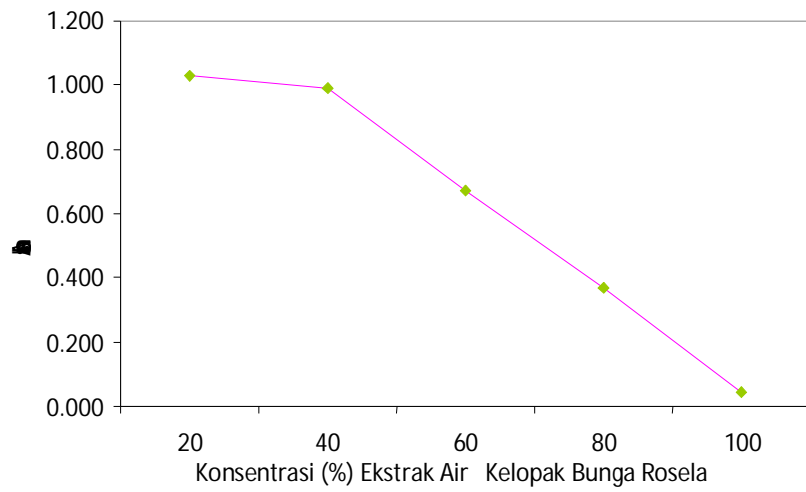
4.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Ekstrak kelopak bunga rosela yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi ekstrak etanol dan ekstrak air dengan volume sebesar 300 μ L, yang diujikan terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dan galur H37Rv. Sedangkan konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

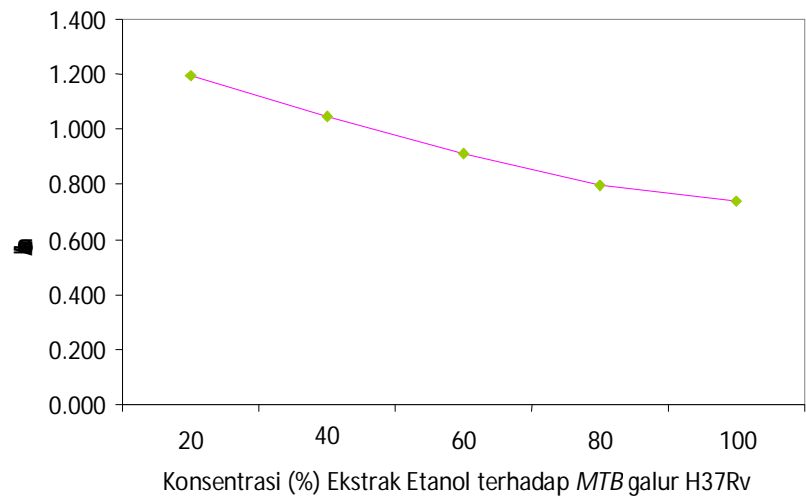
Hasil penelitian mengenai pengaruh konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela yang berlainan terhadap absorbansi, maka digunakan desain eksperimen dengan menggunakan pendekatan analisis Desain Acak Sempurna dengan replikasi sebanyak dua kali.

Konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 40%, 60%, dan 80% memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi, tetapi berbeda nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi 100% karena memberikan pengaruh absorbansi yang paling rendah, yaitu rata-rata sebesar

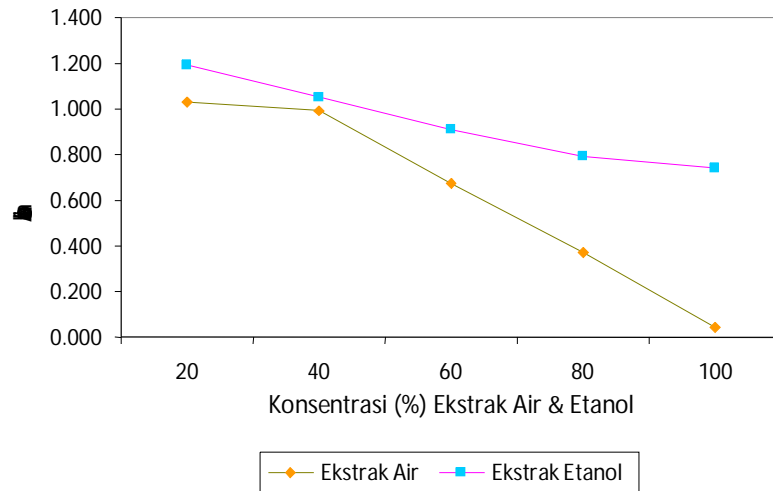
0,662, sedangkan konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga roela pada *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 20% merupakan konsentrasi dengan rata-rata absorbansi yang paling tinggi yaitu sebesar 1,195. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berlainan memberikan efek yang berbeda terhadap absorbansi. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 60% dan 80% memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap absorbansi. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 80% dan 100% juga memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi. Tetapi antara konsentrasi 60% dengan konsentrasi 100% memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes026 (*multi-drug resistant*) 20% merupakan konsentrasi dengan rata-rata absorbansi yang paling tinggi yaitu sebesar 1,591, sedangkan konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 100% memberikan pengaruh absorbansi yang paling rendah, yaitu rata-rata sebesar -0,027.



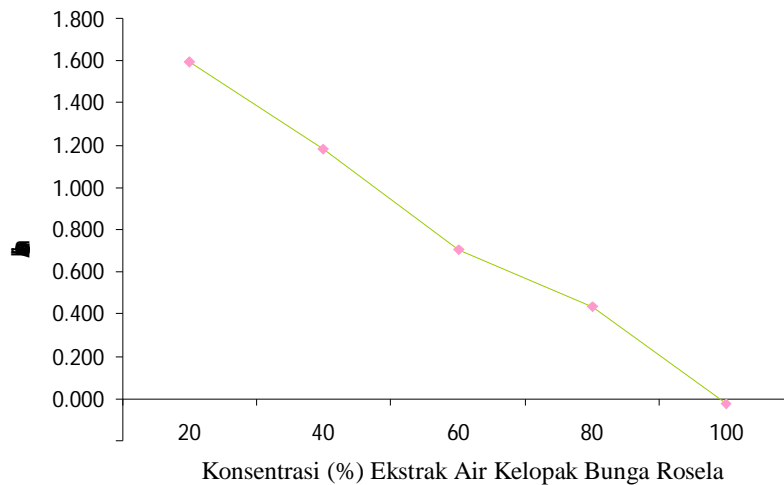
Gambar 4.1 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela terhadap *M. tuberculosis* Galur H37Rv.



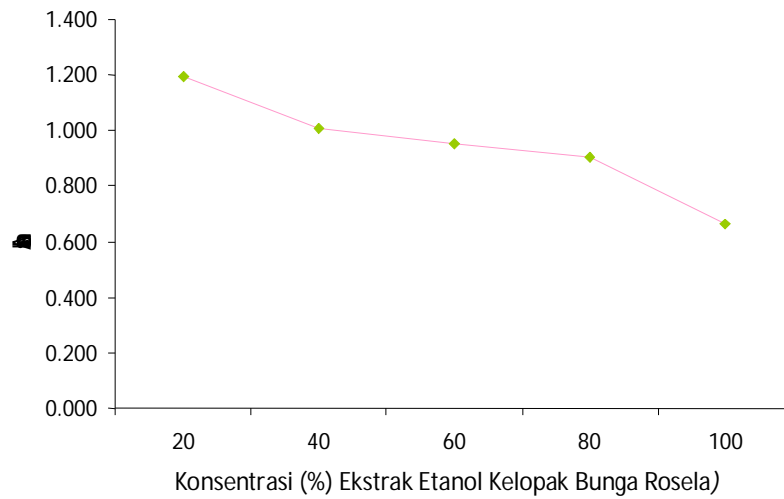
Gambar 4.2 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Roselaterhadap *M. tuberculosis* Galur H37Rv.



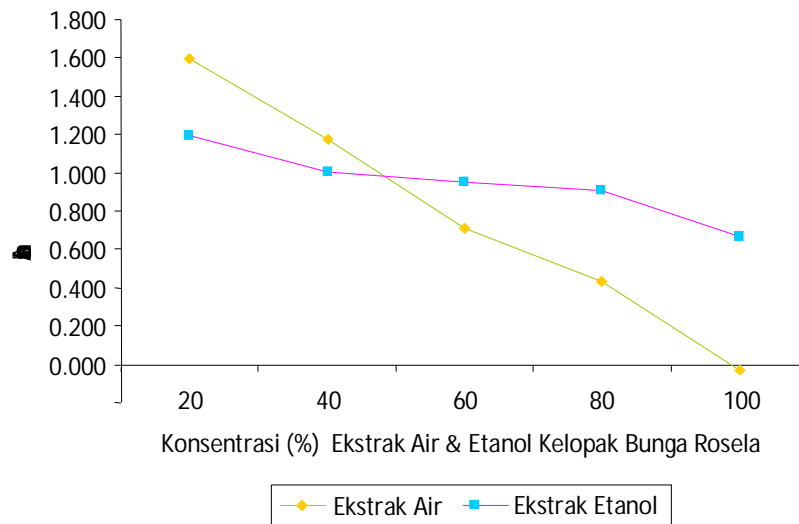
Gambar 4.3 Perbandingan Rata-rata Absorbansi untuk Setiap Konsentrasi Ekstrak Air & Etanol Kelopak Bunga Rosela terhadap *M. tuberculosis* Galur H37Rv.



Gambar 4.4 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela terhadap *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*).



Gambar 4.5 Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela terhadap *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*).



Gambar 4.6 Perbandingan Rata-rata Absorbansi untuk setiap Konsentrasi Ekstrak Air & Etanol Kelopak Bunga Rosela terhadap *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5. 1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv dan galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) dapat di simpulkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosela mempunyai aktivitas terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv dan *Mycobacterium tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resisten*) berdasarkan data analisa statistik.

5. 2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak air dan ekstrak etanol kelopak bunga rosela dapat dikembangkan sebagai senyawa alternatif baru yang dapat digunakan untuk menangani pengobatan TBC terutama terhadap *Mycobacterium tuberculosis* yang telah resisten. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meneliti aktivitas antibakteri dari fraksi-fraksi ekstrak kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang lain untuk mengetahui senyawa aktif antibakteri dari kelopak bunga rosela yang digunakan pada pengobatan TBC.

DAFTAR PUSTAKA

- Aletor, V.A., 1993. Cyanide in garri 1: Distribution of total, bond and free hydrocyanide acid in commercial garri, and the effect of fermentation time on residual cyanide content. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 44: 281-287.
- Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukima. 1998. *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hal. 1-58.
- Essa, M.M., P. Subramanian, G. Suthakar, T. Manivasagam, K. B. Dakshayani, R. Sivaperumal, S. Subash , and G. Vinothini. 2006. Influence of Hibiscus Sabdariffa (Gongura) on the Levels of Circulatory Lipid Peroxidation products nd Liver Marker Enzymes in Experimental Hyperammonemia. *Journal Applied Biomedicine.* 4: 53-58.
- Fasoyiro, S.B., O.A. Ashaye, A. Adeola, and F.O. Samuel. 2005. Chemical storability of fruit-Flavoured (*Hibiscus sabdariffa* L) Drinks. *World Journal of Agricultural Science.* 1(2) :165-168.
- Frobisher, M., L. Sommermeyer, and R. Fuerst, 1969, *Microbiology in Health and Disease.* 2nd Edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company. p. 381-391.
- Husaini, D.C., O.E. Orisakwe, D.N. Akunyili, A.A. Njan, D.D. Akumka, and O. O. Udemezue. 2004. Subchronic Administration of Nigerian Species of Aqueous Extract of Hibiscus Sabdariffa Calyx in Rats did not Produce Cardiotoxicity. *European Bulletin of Drug Research.* 12: 1-5.
- Jamb, S. 2007. *Mikrobiologi dan Immunologi*, Jakarta: Binarupa Aksara. hal. 17-25.
- James, L. 2006. Tuberculosis Deases and Medicians Resistance. *J. Appl Biomed.* 1(3): 33-38.
- Jumiarti, A. 2007. *Kuman TBC Mematikan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. EGC. hal. 5-7.
- Karakousis, P.C., W.R. Bishai, and S.E. Dorman. 2004. *Mycobacterium tuberculosis* Cell Envelope Lipids and the H₂O₂ Immune Response, *Cellular Microbiology*, 6(2), 105.
- Katzung, B.G., 2001. *Basic and Clinical Pharmacology.* 8th Edition. San Fransisco: Mc Graw Hill Co., Inc. p. 803-813.

- Maryani, H., and L. Kristiana. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosela*. Jakarta: Agromedia Pustaka. hal. 28-29.
- Misnadiarly, A.S. 2006. *Penyakit Infeksi TB Paru dan Ekstra Paru*. Jakarta: Pustaka Populer Obat. hal. 18-20.
- Morris, S., H. Bal, G. Suffys, P. Portillo-Gamez, L. Fairchok, M. and D. Rouse. 1995. Molecular Mechanisms of Multiple Drug Resistance in Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Infect. Dis.* 177: 954-960.
- Owulade, A., A. James, and J. Morton. 2004. Effects of Aqueous Extracts of Hibiscus Sabdariffa Calyces and Ocimum Gratissimum Leaves on Intestinal Transit in Rats. *J. Plant Biochem.* 7th Edition. p. 31 – 33.
- Ojokoh, O.A. 2006. Roselle (Hibiscuss Sabdariffa) Calyx Diet and Hispatological Changes in Liver Albino Rats. *J. Food Tec.* 5(2): 110-113.
- Rubenstein, D., 2005. *Kedokteran Klinis*. Jakarta:Erlangga. hal. 35-37.
- Sugihartina, G. 2004. Uji Aktivitas Ekstrak Beberapa Tumbuhan Terhadap *Mycobacterium tuberculosis* yang Sensitif dan Resisten terhadap Obat Antituberkulosis. [Tesis Magister]. Bandung: Institut Tekhnologi Bandung hal. 32.
- Watt, J.M. and B. Breyer.M.G. 1962. *Abstracts of The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa*. 2nd Edition. London: Livingstone, Ltd. p. 75-78.
- Weyer, K. 1997. *The Management of Multi Drug Resistant Tuberculosis in South Africa*. Pretorian: Medical research council. p. 6-28. Available at: <http://www.dechacare.com/> [Diakses 7 Mei 2008].
- WHO. 2003. *Treatment of Tuberculosis Guidelines for National Programmes*. 3th Edition. Geneva: World Health Orgnization. p. 47-52.

LAMPIRAN A
MAKROSKOPIK SIMPLISIA BUNGA ROSELA



Gambar 4.7 Anatomi tumbuhan rosela



Gambar 4.8 Makroskopik simplisia bunga rosela

LAMPIRAN B

HASIL IDENTIFIKASI TANAMAN

HERBARIUM JATINANGOR
LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN
JURUSAN BIOLOGI FMIPA UNPAD
Gedung D2-212, Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor
Telp. 022-7796412, email: phanerogamae@yahoo.com

LEMBAR IDENTIFIKASI TUMBUHAN No. 85/HB/05/2008

Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA UNPAD, dengan ini menerangkan bahwa:

Nama : Inna Fachriani
NPM : D1E040558
Instansi : Fakultas Farmasi Unpad
Telah melakukan identifikasi tumbuhan, dengan No. Koleksi: -
Tanggal Koleksi : 9 Juni 2008
Lokasi : Lembang


Hasil Identifikasi
Nama Ilmiah : *Hibiscus sabdariffa* L.
Sinonim : -
Nama Lokal : Rosela
Suku/Famili : Malvaceae

Klasifikasi (Hirarki Taksonomi)
Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Sub Class : Dilleniidae
Ordo : Malvales
Family : Malvaceae
Genus : *Hibiscus*
Species : *Hibiscus sabdariffa* L.

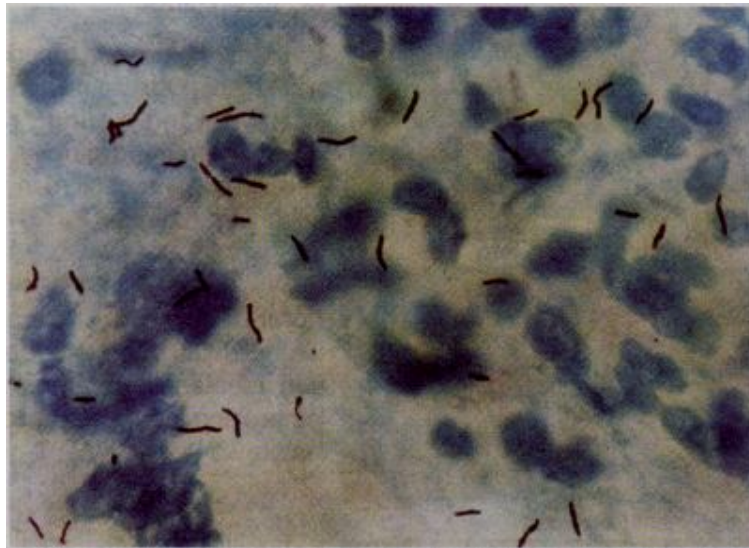
Referensi:
Backer, CA and Bakhuizen v/d Brink RC Jr. 1963. *Flora of Java*, Vol I. Wolter-Noordhoff NV. Groningen. P : 431

Cronquist, Arthur. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press:New York

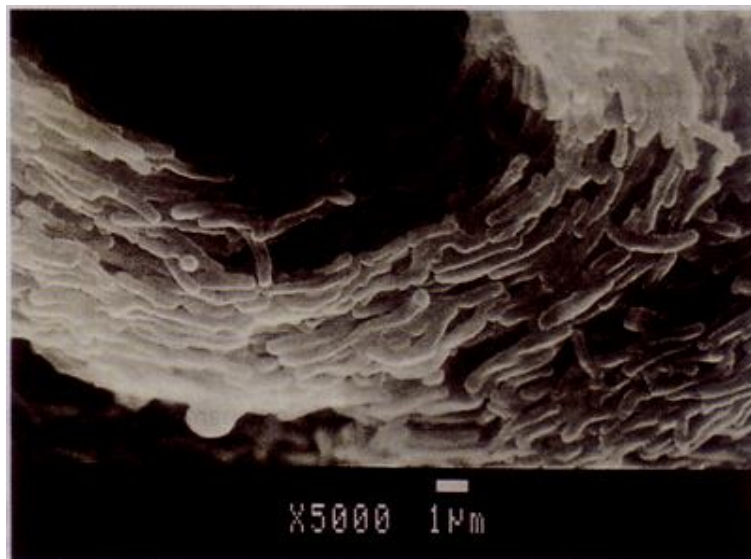
Jatinangor, 14 Juli 2008
Identifikator,


LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN
JURUSAN BIOLOGI FMIPA UNPAD
(Joko Kusmoro, Drs)
NIP. 131 929 817

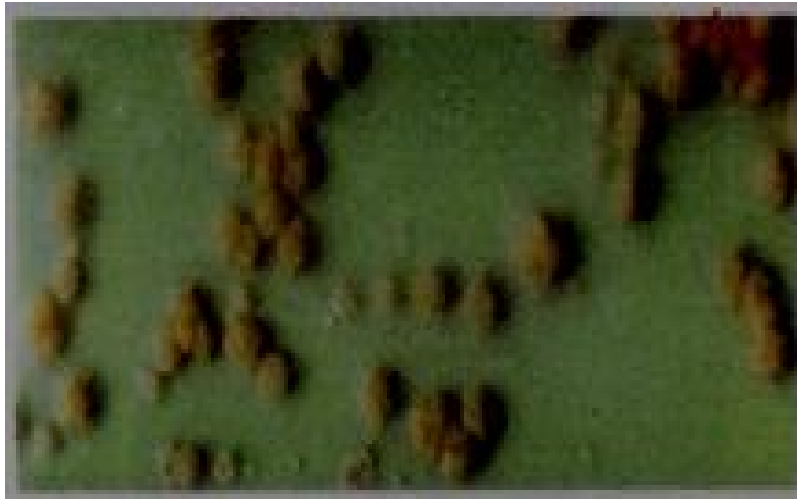
LAMPIRAN C
MIKROSKOPIK BAKTERI



Gambar 4.9 Pewarnaan *Mycobacterium tuberculosis* di dalam perlakuan uji, dengan metode Ziehl-Neelsen.



Gambar 4.10 Pengamatan *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv mikroskop scanning electron pada pembesaran 5000X.



Gambar 4.11 Kultur *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv.

LAMPIRAN D
ALAT FREEZE DRIER



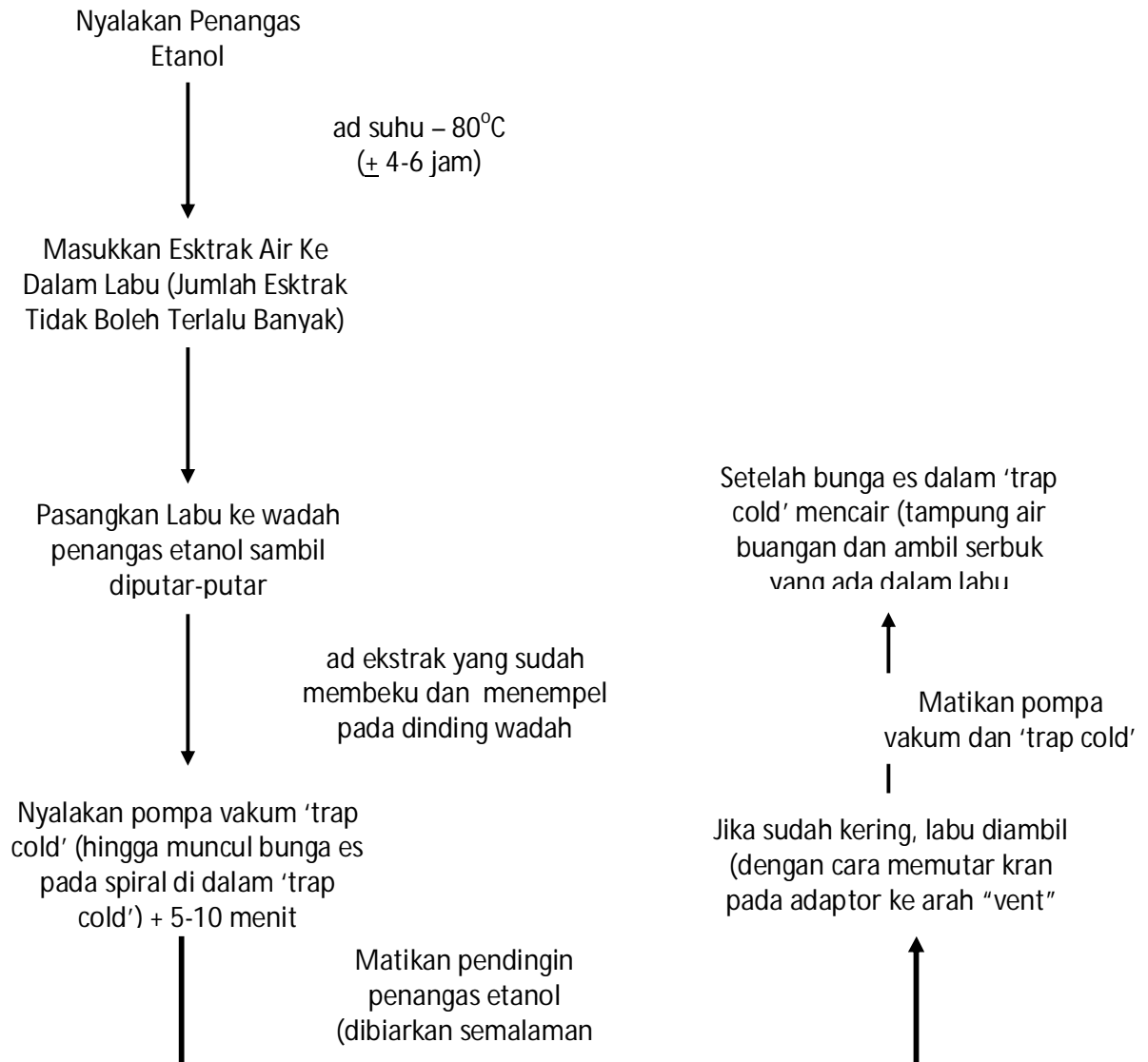
Gambar 4.12 Labu yang digunakan pada alat freeze drier



Gambar 4.13 Bunga es hasil vakum

LAMPIRAN E

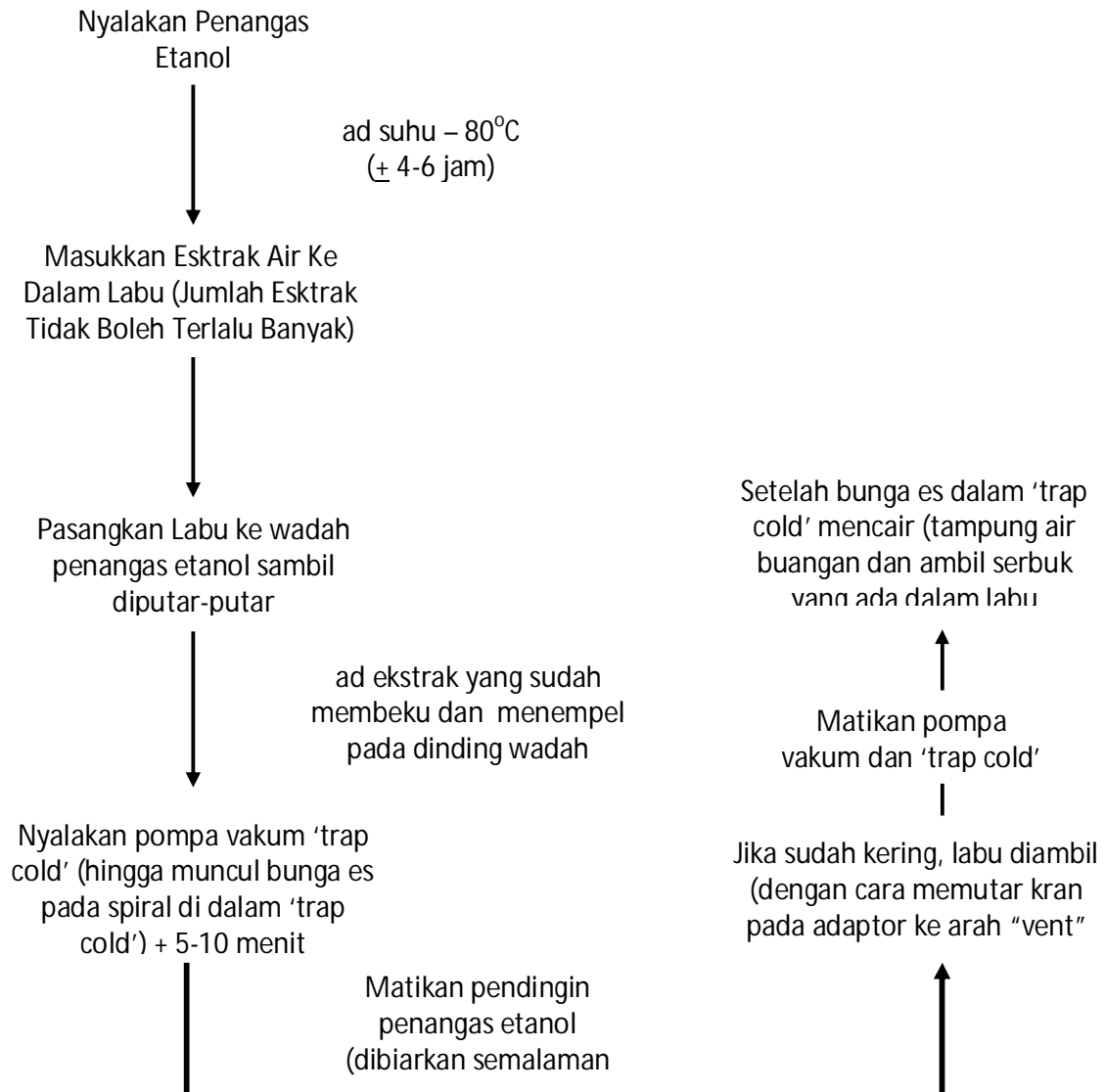
BAGAN PROSEDUR FREEZE DRIER



Gambar 4.14 Bagan prosedur freeze drier

LAMPIRAN E

BAGAN PROSEDUR FREEZE DRIER



Gambar 4.14 Bagan prosedur freeze drier

LAMPIRAN F

ANALISIS STATISTIK

1. Analisis Statistik Menggunakan Desain Acak Sempurna

- a. Hasil Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air pada *M. Tuberculosis* Galur H37Rv terhadap Absorbansi

Berikut ini adalah pengujian hipotesis untuk desain eksperimen absorbansi dengan perlakuan konsentrasi ekstrak air terhadap *M. tuberculosis* galur H37Rv.

Rumusan hipotesis sebagai berikut:

Ho: $\Sigma K_j = 0$ (Tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur H37Rv yang berbeda terhadap absorbansi)

H₁: $\Sigma K_j \neq 0$ (Terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur H37Rv yang berbeda terhadap absorbansi)

Hasil analisis dapat dilihat pada tabel anava berikut:

Tabel.1 Analisis Varians Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air pada *M. Tuberculosis* galur H37Rv terhadap Absorbansi

Sumber Variasi	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel ($\alpha=0,05$)
Rata-rata	1	3,87	3,87		
Konsentrasi	4	1,41	0,35	4,311 ns	5,1922
Kekeliruan Eksperimen	5	0,41	0,08		
Jumlah	10	5,69	-	-	

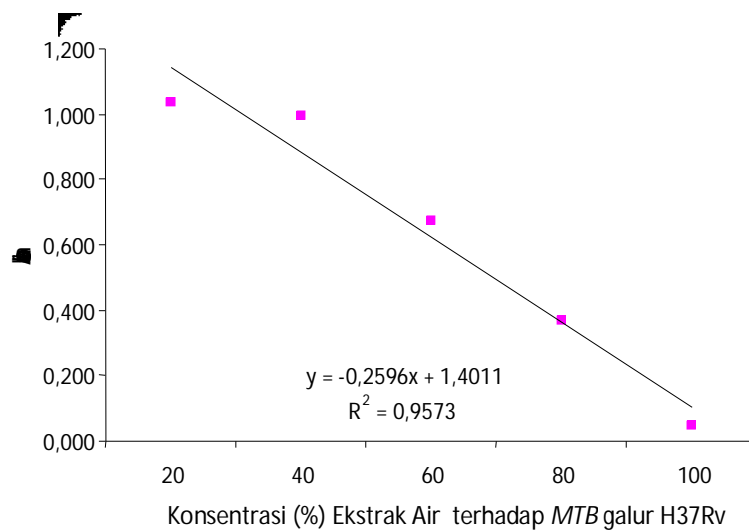
Keterangan : *Berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$
ns: tidak signifikan

Berdasarkan analisis yang ditunjukkan pada tabel anava diatas tampak bahwa nilai F hitung untuk konsentrasi ekstrak air terhadap *M. tuberculosis* galur H37Rv adalah sebesar 4,311 lebih kecil dari F tabel (5,1922) sehingga Ho diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak

air yang berlainan terhadap absorbansi. Dengan kata lain konsentrasi ekstrak air kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur H37RV tidak memberikan efek yang berbeda terhadap absorbansi.

Tabel 4.2 Aktivitas Ekstrak Air terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur H37Rv

Replikasi	Absorbansi Ekstrak Air pada <i>MTB</i> galur H37RV					Jumlah
	20	40	60	80	100	
1	0,860	0,794	0,818	0,484	-0,270	
2	1,204	1,192	0,526	0,252	0,363	
Jumlah	2,064	1,986	1,344	0,736	0,093	6,223
Rata-rata	1,032	0,993	0,672	0,368	0,047	



Gambar 4.15 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela pada *M. tuberculosis* Galur H37Rv terhadap Absorbansi

- b. Hasil Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol pada *M. tuberculosis* Galur H37Rv terhadap Absorbansi

Berikut ini adalah pengujian hipotesis untuk eksperimen absorbansi dengan perlakuan konsentrasi ekstrak etanol terhadap *M. tuberculosis* galur H37Rv. Rumusan hipotesis sebagai berikut:

$H_0 : \Sigma K_j = 0$ (Tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak etanol pada *M. tuberculosis* galur H37Rv yang berbeda terhadap absorbansi)

$H_1 : \Sigma K_j \neq 0$ (Terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak etanol pada *M. tuberculosis* galur H37Rv yang berbeda terhadap absorbansi)

Hasil analisis dapat dilihat pada tabel anava berikut:

Tabel.2 Analisis Varians Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol pada *M.tuberculosis* Galur H37Rv terhadap Absorbansi

Sumber Variasi	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel ($\alpha=0,05$)
Rata-rata	1	8,79	8,79		
Konsentrasi	4	0,28	0,07	2,635ns	5,1922
Kekeliruan Eksperimen	5	0,13	0,03		
Jumlah	10	9,21	-	-	

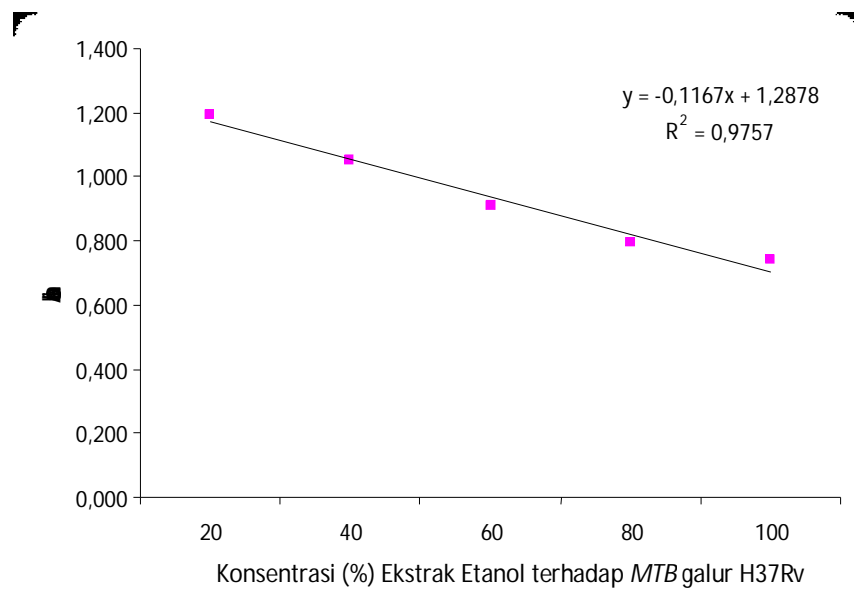
Keterangan : *Berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$
ns tidak signifikan

Berdasarkan analisis yang ditunjukkan pada tabel anava diatas tampak bahwa nilai F hitung untuk konsentrasi ekstrak etanol terhadap *M. tuberculosis* galur H37Rv adalah sebesar 2,6354,311 lebih kecil dari F tabel (5,1922) sehingga H_0 diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak etanol yang berlainan terhadap absorbansi. Dengan kata lain konsentrasi

ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur H37RV tidak memberikan efek yang berbeda terhadap absorbansi.

Tabel 4.3 Aktivitas Ekstrak Etanol terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur H37Rv

Replikasi	Absorbansi Ekstrak Etanol pada <i>MTB</i> galur H37Rv					Jumlah
	20	40	60	80	100	
1	1,386	1,207	0,933	0,773	0,804	
2	1,005	0,892	0,887	0,815	0,676	
Jumlah	1,480	1,588	1,820	2,099	2,391	9,378
Rata-rata	1,196	1,050	0,910	0,794	0,740	



Gambar 4.16 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosela pada *M. tuberculosis* Galur H37Rv terhadap Absorbansi

- c. Hasil Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air pada *M. tuberculosis* Galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) terhadap Absorbansi

Berikut ini adalah pengujian hipotesis untuk absorbansi dengan perlakuan konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*). Rumusan hipotesis sebagai berikut :

$H_0 : \Sigma K_j = 0$ (Tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berbeda terhadap absorbansi)

$H_1 : \Sigma K_j \neq 0$ (Terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berbeda terhadap absorbansi)

Hasil analisis dapat dilihat pada tabel anava berikut :

Tabel.3 Analisis Varians Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air pada *M.tuberculosis* Galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) terhadap Absorbansi

Sumber Variasi	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel ($\alpha=0,05$)
Rata-rata	1	6,02	6,02		
Konsentrasi	4	3,19	0,80	19,369	5,1922
Kekeliruan Eksperimen	5	0,21	0,04		
Jumlah	10	9,41	-	-	

Keterangan : *Berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$
ns tidak signifikan

Berdasarkan analisis yang ditunjukkan pada tabel anava diatas tampak bahwa nilai F hitung untuk konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) adalah sebesar 19,369 lebih besar dari F tabel (5,1922) sehingga H_0 ditolak artinya terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak air yang berlainan terhadap absorbansi. Dengan kata lain

konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berlainan memberikan efek yang berbeda terhadap absorbansi.

- d. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol pada *M. tuberculosis* Galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) terhadap Absorbansi

Berikut ini adalah pengujian hipotesis untuk absorbansi dengan perlakuan konsentrasi ekstrak etanol pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*). Rumusan hipotesis sebagai berikut:

$H_0 : \Sigma K_j = 0$ (Tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak etanol pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berbeda terhadap absorbansi)

$H_1 : \Sigma K_j \neq 0$ (Terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak etanol pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berbeda terhadap absorbansi)

Hasil analisis dapat dilihat pada tabel anava berikut :

Tabel.4 Analisis Varians Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol pada *M.tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) terhadap Absorbansi

Sumber Variasi	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel ($\alpha=0,05$)
Rata-rata	1	8,91	8,91		
Konsentrasi	4	0,30	0,07	15,090	5,1922
Kekeliruan Eksperimen	5	0,02	0,00		
Jumlah	10	9,23	-	-	

Keterangan : *Berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$
ns tidak signifikan

Berdasarkan analisis yang ditunjukkan pada tabel anava diatas tampak bahwa nilai F hitung untuk konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yaitu sebesar 15,090

lebih besar dari F tabel (5,1922) sehingga H_0 ditolak artinya terdapat perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak air yang berlainan terhadap absorbansi. Dengan kata lain konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berlainan memberikan efek yang berbeda terhadap absorbansi.

2. Uji Lanjut Newman Keuls

- a. Uji Lanjut setelah ANAVA *Newman Keuls* terhadap Konsentrasi Ekstrak Air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*)

Hasil pengujian ANAVA menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*), maka perlu dilakukan pengujian uji lanjut setelah ANAVA. Dalam hal ini uji yang digunakan adalah Uji *Newman Keuls*. Tujuannya adalah untuk mengetahui taraf perlakuan mana saja yang berbeda dan juga taraf perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik.

Rumusan hipotesis adalah sebagai berikut :

H_0 : kelima konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap absorbansi ($K_1=K_2=K_3=K_4=K_5$)

H_1 : Minimal ada satu konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang memberikan pengaruh yang berbeda terhadap absorbansi

Hasil uji Newman Keuls untuk mengetahui perbedaan pengaruh konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berbeda terhadap absorbansi dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel.1 Hasil Uji Newman Keuls untuk Konsentrasi

Konsentrasi Ekstrak Air MTB-MDR NO.26	Rata-rata	Kelompok
20	1,591	A
40	1,177	AB
60	0,708	BC
80	0,432	CD
100	-0,027	D

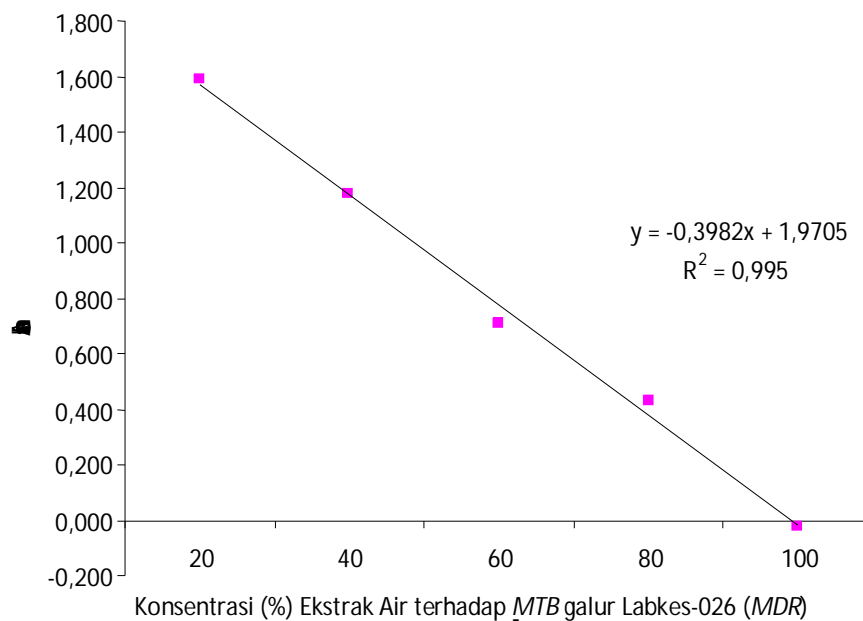
Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 20% dan 40% memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 40% dan 60% juga memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi. Tetapi antara konsentrasi ekstrak 20% dengan konsentrasi 60%, 80% dan 100% memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Begitu pula konsentrasi 40% meberikan pengaruh yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi 80% dan 100%.

Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 60% dan 80% membrikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap absorbansi. Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 80% dan 100% juga memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi. Tetapi antara konsentrasi 60% dengan konsentrasi 100% memberikan pengaruh yang berbeda nyata.

Konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 20% merupakan konsentrasi dengan rata-rata absorbansi yang paling tinggi yaitu sebesar 1,591, sedangkan konsentrasi ekstrak air pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 100% memberikan pengaruh absorbansi yang paling rendah, yaitu rata-rata sebesar -0,027.

Tabel 4.4 Aktivitas Ekstrak Air terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*)

Replikasi	Absorbansi Ekstrak Air terhadap <i>MTB</i> Galur Labkes-026 (<i>MDR</i>)					Jumlah
	20	40	60	80	100	
1	1,454	1,305	0,691	0,188	-0,117	
2	1,728	1,049	0,724	0,675	0,063	
Jumlah	3,182	2,354	1,415	0,863	-0,054	7,760
Rata-rata	1,591	1,177	0,708	0,432	-0,027	



Gambar 4.17 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air pada *M.tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) terhadap Absorbansi

- b. Uji Lanjut setelah ANAVA *Newman Keuls* terhadap Konsentrasi Ekstrak Etanol pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*)

Hasil pengujian ANAVA menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*), maka perlu dilakukan pengujian uji lanjut setelah ANAVA. Dalam hal ini uji yang digunakan yaitu Uji *Newman Keuls*. Tujuannya yaitu untuk mengetahui taraf perlakuan mana saja yang berbeda dan juga taraf perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik.

Rumusan hipotesis adalah sebagai berikut :

Ho : kelima konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap absorbansi ($K_1=K_2=K_3=K_4=K_5$)

H₁ : Minimal ada satu konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang memberikan pengaruh yang berbeda terhadap absorbansi

Hasil uji *Newman Keuls* untuk mengetahui perbedaan pengaruh konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) yang berbeda terhadap absorbansi dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel.2 Hasil Uji *Newman Keuls* untuk Konsentrasi

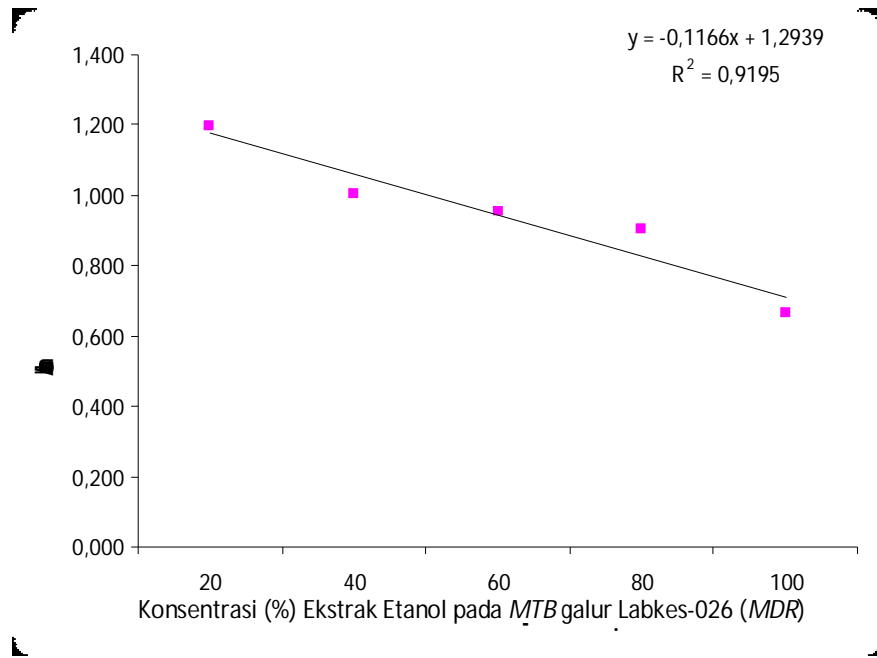
Konsentrasi Ekstrak Etanol <i>MTB-MDR</i> NO.26	Rata-rata	Kelompok
20	1,195	A
40	1,005	B
60	0,954	B
80	0,905	B
100	0,662	C

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 20% memberikan pengaruh yang berbeda terhadap absorbansi jika dibandingkan dengan keempat konsentrasi lain (40%, 60%, 80%, dan 80%). Konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 40%, 60%, dan 80% memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain terhadap absorbansi, tetapi berbeda nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi 100%.

Konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 20% merupakan konsentrasi dengan rata-rata absorbansi yang paling tinggi yaitu sebesar 1,195, sedangkan konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosela pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) 100% memberikan pengaruh absorbansi yang paling rendah, yaitu rata-rata sebesar 0,662.

Tabel 4.5 Aktivitas Ekstrak Etanol terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*)

Replikasi	Absorbansi Ekstrak Etanol pada <i>MTB</i> galur Labkes-026 (<i>MDR</i>)					Jumlah
	20	40	60	80	100	
1	1,269	0,975	1,012	0,940	0,697	
2	1,121	1,035	0,895	0,870	0,627	
Jumlah	1,324	1,810	1,907	2,010	2,390	9,441
Rata-rata	1,195	1,005	0,954	0,905	0,662	



Gambar 4.18 Regresi Linear Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol pada *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resistant*) terhadap Absorbansi