

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman *Hibiscus rosa-sinensis* L.

1. Klasifikasi Tanaman

Sistematika Tanaman *Hibiscus rosa-sinensis* L. adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Malvales
Famili : Malvaceae
Genus : Hibiscus
Spesies : *Hibiscus rosa-sinensis* L.

(Iqbal & Sulistyorini 2014).

2. Nama Daerah

Hibiscus rosa-sinensis L. biasanya digunakan sebagai tanaman hias yang tumbuh didaerah tropis dan subtropis. Bunga besar dengan banyak variasi warna mulai dari warna putih, merah, orange, kuning, serta tidak beraroma. Nama daerah antara lain bungong raja, bunga-bunga, soma-soma, bunga raja, kembang sepatu (Sumatra), uribang, kembang wera, wora-wari bunga rebhang, mandhaleka (Jawa), pucuk, waribang (Nusa Tenggara), amburanga, embuhanga, kuyanga, ulango, bunga bisu, bunga sepatu (Sulawesi), hua hualo, ubo-ubo (Maluku), dan dioh, gerasa, kando (Irian) (Agoes 2010).

3. Morfologi Tanaman

Hibiscus rosa-sinensis L. merupakan tumbuhan semak, tanaman menahun, tegak, memiliki tinggi \pm 3 m. Batang membulat, berkayu, keras, memiliki diameter \pm 9 cm, saat muda berwarna ungu setelah tua berubah menjadi putih kotor. Daun tunggal, tepi bergerigi, ujung runcing, dasar tumpul, memiliki panjang 10-16 cm, lebar 5-11 cm, berwarna hijau muda hingga hijau tua. Bunga tunggal, berbentuk terompet, letak bunga diketiak bunga, kelopak membentuk lonceng, membagi lima, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari lima belas hingga

dua puluh kelopak, berwarna merah muda, benang sari banyak, memiliki tangkai sari berwarna merah, kepala sari berwarna kuning, bentuk putik tabung berwarna merah, buah kecil, berbentuk oval, memiliki diameter ± 4 mm, berwarna putih saat muda dan berubah menjadi coklat saat tua, biji datar, berwarna putih, akar tunggang dan berwarna coklat muda (Iqbal & Sulistyorini 2014).

4. Penggunaan

Bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. sering digunakan sebagai agen anti asma, mengobati infeksi kulit, antibakteri, antioksidan (Al-Alak *et al.* 2015). Penelitian lain menyebutkan bahwa bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. dapat digunakan sebagai obat batuk, demam, bisul, gondok, luka, emolien dan pendingin (Uddin *et al.* 2010).

5. Kandungan Kimia

Bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. mengandung beberapa komponen termasuk hibisetin golongan flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid/steroid, saponin (Sarma 2016; Kumari *et al.* 2015).

5.1 Flavonoid. Flavonoid merupakan metabolit sekunder dan salah satu kelompok senyawa yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tumbuhan. Flavonoid memiliki sifat fisika kimia antara lain larut dalam air, flavonoid dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter, sebagai glikosida maupun aglikon flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter. Dari tumbuhan glikosida dapat ditarik dengan pelarut polar (Heinrich *et al.* 2005), karena flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam air, sebagian dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan ada dalam lapisan air jika ditambahkan dengan eter. Aktivitas dari flavonoid kemungkinan karena flavonoid memiliki kemampuan membentuk ikatan dengan protein lalu mendenaturasi ikatan protein pada membran sel yang dapat menyebabkan lisisnya sel (Sari 2010). Flavonoid yang terkandung dalam bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. adalah Hibisetin.

5.2 Tanin. Tanin merupakan kandungan tumbuhan yang mempunyai rasa sepat dan dapat menyamak kulit. Tanin larut dalam pelarut organik polar, tetapi tidak larut dalam pelarut non polar (Harbone 1987). Tanin memiliki aktivitas antimikroba dengan menginaktivasi enzim dan mengganggu transport protein

pada lapisan dalam sel. Target tanin pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel kurang sempurna yang dapat menyebabkan sel mikroba lisis (Cowan 1999).

5.3 Alkaloid. Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Mekanisme yang diduga adalah dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel (Robinson 1995).

5.4 Terpenoid/steroid. Terpenoid yang terkandung dalam tanaman merupakan senyawa aromatik dan merupakan suatu senyawa yang terbentuk dalam satuan isoprene. Terpenoid diduga memiliki aktivitas antibakteri dalam beberapa penelitian dengan mekanisme menghambat pertumbuhan dan mengganggu proses terbentuknya membran dan dinding sel yang menyebabkan pembentukan dinding sel tidak sempurna sehingga sel mikroba dapat lisis (Ajizah 2004).

5.5 Saponin. Saponin merupakan senyawa glikosida yang banyak terdapat dalam tanaman yang memiliki rasa pahit, berbusa. Saponin dapat berfungsi sebagai detergen yang memiliki struktur yang dapat berikatan dengan molekul hidrofilik dan molekul lipofilik sehingga dapat merusak membran sitoplasma dan membunuh mikroba (Cheeke 2000).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60° C. Simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum dikeringkan (Depkes RI 2008).

Simplisia dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan adalah simplisia berupa bahan

pelikan yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat murni (Depkes RI 1987).

2. Pemanenan simplisia

Waktu panen simplisia sangat penting karena berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Waktu panen yang tepat adalah waktu dimana bagian tumbuhan yang dipanen mengandung senyawa dalam jumlah yang maksimal (Depkes 1985).

3. Pengeringan simplisia

Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan alat tertentu atau dengan cara pengeringan ditempat teduh atau dibawah sinar matahari. Pengeringan ditempat teduh dilakukan untuk simplisia yang memiliki senyawa yang termostabil. Pengeringan dibawah sinar matahari adalah metode pengeringan yang sering dilakukan di Indonesia (Depkes 1985).

C. Ekstraksi

1. Pengertian dan Metode ekstraksi

Kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksinya (Depkes RI 2000). Metode ekstraksi menurut Depkes RI (2000) adalah sebagai berikut

1.1 Cara Dingin

1.1.1 Maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel sehingga larutan pekat didesak keluar.

1.1.2 Perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Proses terdiri

dengan tahap pengembangan, tahapan maserasi antara, tahapan perkolasi sebenarnya sampai diperoleh perkolat.

1.2 Cara Panas

1.2.1 Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan pendingin balik. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut akan turun ke dalam wadah sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung.

1.2.2 Sokletasi. Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Kelebihan metode sokhlet adalah sampel terekstraksi sempurna, prosesnya cepat dan pelarut yang digunakan sedikit sedangkan kekurangan dari metode sokhlet adalah tidak dapat digunakan pada sampel yang tidak tahan panas.

1.2.3 Digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu biasanya dilakukan pada suhu 40-50° C. Kelebihan metode ini adalah sampel terekstraksi lebih sempurna sedangkan kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan alat khusus untuk proses pengadukan.

1.2.4 Infundasi. Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90° C selama 15 menit. Kelebihan metode infundasi adalah peralatan sederhana, murah dan dapat menyari simplisia dengan pelarut air dalam waktu singkat sedangkan kekurangan dari metode sokhlet adalah sari yang dihasilkan mudah tercemar oleh bakteri, kapang dan jamur.

1.2.5 Dekok. Dekok adalah infuse dengan waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni pada suhu 90-100° C selama 30 menit. Kelebihan metode ini adalah peralatan sederhana, senyawa yang dapat tersari

dengan pelarut air lebih maksimal sedangkan kekurangannya adalah sari yang dihasilkan mudah tercemar oleh bakteri, kapang dan jamur.

2. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan polaritas suatu senyawa. Senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar. Pertama-tama ekstrak yang diperoleh difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang memiliki polaritas yang berbeda-beda. Masing-masing pelarut yang digunakan secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia, fraksinasi diawali menggunakan pelarut non polar kemudian disari dengan pelarut polar (Harbone 1987).

3. Pelarut

Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengestraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang memiliki berat molekul rendah seperti alkohol, saponin, flavonoid. Penggunaan pelarut alkohol 70% paling sesuai untuk bahan baku simplisia yang berupa akar, batang, atau bagian berkayu dari tanaman sedangkan untuk pelarut alkohol 50% sangat berguna untuk menghindari klorofil, resin, atau polimer yang biasanya tidak memiliki aktivitas yang berarti tetapi seringkali menimbulkan masalah farmasetis (Arifianti dkk 2014).

3.1 Etanol 70%. Etanol merupakan pelarut polar yang paling banyak digunakan untuk mengekstraksi senyawa dalam tanaman karena termasuk pelarut universal. Etanol dapat mengekstraksi senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya. Etanol mempunyai titik didih yang rendah yaitu 79°C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan (Sudarmadji dkk 2003).

3.2 n-Heksana. n-heksana merupakan pelarut yang bersifat non polar. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut non polar adalah senyawa yang bersifat non polar seperti lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid, terpenoid, dan karotenoid (Depkes RI 1987). n-heksana merupakan hasil penyulingan

minyak tanah yang telah bersih, tidak berwarna, mudah terbakar, bau karakteristik tidak dapat larut dengan air, dapat larut dalam benzene, alkohol, kloroform, eter (Tiwari *et al.* 2011).

3.3 Etil Asetat. Etil asetat merupakan jenis pelarut organik yang bersifat semi polar dan dapat melarutkan senyawa semi polar pada dinding sel, mudah terbakar dan mudah menguap sehingga harus disimpan dalam wadah tertutup dan terlindung dari panas, larut dalam 15 bagian air bercampur etanol dan eter (Harbone 1987). Sifat etil asetat yang semi polar dapat menarik senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, antrakuinon (Putri dkk 2013).

3.4 Air. Air merupakan pelarut yang bersifat polar dan termasuk dalam pelarut universal yang digunakan untuk ekstrak tanaman produk aktivitas antimikroba (Tiwari *et al.* 2011). Air dapat melarutkan senyawa polar seperti garam alkaloid, tanin, saponin, gula, gom, pati, protein, zat warna, asam organik (Depkes RI 1986).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata, umumnya menggunakan lempeng kaca. Lempeng yang dilapisi dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka dan pemisahan yang tercapai dapat didasarkan pada adsorpsi, partisi atau kombinasi kedua efek yang tergantung pada jenis lempeng, cara pembuatan dan pelarut yang digunakan (Depkes RI 2008). Lempeng KLT umumnya berukuran 20 x 20 cm, sebagai lempeng tepi digunakan lempeng kaca berukuran 5 cm x 20 cm dan jika tidak dinyatakan lain lempeng yang digunakan adalah lempeng silica atau selulosa “pra lapis” (lempeng siap pakai) (Depkes RI 1989).

Perkiraan identifikasi diperoleh dengan pengamatan bercak dengan harga R_f yang identik dan ukuran yang hampir sama, dengan menotolkan bahan uji dan pembanding pada lempeng yang sama kemudian dielusi dengan fase gerak tertentu dalam bejana yang jenuh. Lempeng KLT yang sudah dielusi dilakukan pengamatan penampakan bercaknya pada lampu ultraviolet dengan panjang

gelombang 254 nm dan 366 nm, bila perlu dengan pereaksi semprot yang sesuai untuk melihat lebih jelas penampakan bercaknya (Depkes RI 1989). Perbandingan visual ukuran bercak dapat digunakan untuk memperkirakan kadar secara semi kuantitatif. Pengukuran kuantitatif dimungkinkan jika menggunakan densitometri atau bercak dapat dikerok dari lempeng kemudian diekstraksi dengan pelarut yang sesuai dan selanjutnya diukur dengan spektrofotometri (Depkes RI 2008).

E. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu upaya yang dapat dilakukan untuk memusnahkan mikroorganisme. Pemanasan merupakan cara yang paling umum dilakukan untuk memusnahkan mikroorganisme beserta spora. Mikroorganisme dapat dikendalikan secara fisika yaitu dengan teknik suhu, pengeringan, tekanan osmotik dan plasmolisis, sinar radiasi, tegangan permukaan dan penyaringan.

Panas dalam bentuk uap jenuh bertekanan adalah sarana yang paling praktis dan dapat diandalkan untuk sterilisasi. Uap bertekanan menghasilkan suhu jauh di atas titik didih memiliki keunggulan yaitu pemanasan berlangsung dengan cepat dan mempunyai daya tembus yang diperoleh dari kelembapan yang tinggi sehingga dapat mempercepat proses koagulasi protein mikroorganisme. Autoklaf dapat digunakan untuk sterilisasi dengan prinsip ini. Autoklaf umumnya dioperasikan pada tekanan 1,5 atm dan suhu 121°C. Waktu sterilisasi tergantung dari sifat bahan, wadah dan volume bahan, bahan kimia yang tidak bercampur dengan air tidak dapat disterilkan dengan metode ini karena tidak dapat ditembus oleh uap sehingga mikroorganisme dapat bertahan hidup (Radji 2010).

Sterilisasi kering dianjurkan jika bahan atau alat yang digunakan tidak dapat disterilkan dengan uap bertekanan. Prosedur ini dilakukan untuk peralatan laboratorium dan dibutuhkan suhu 160-180°C selama 1 jam. Pemusnahan dengan pembakaran juga dapat dilakukan pada alat-alat laboratorium seperti jarum ose dengan cara dipijarkan di atas pembakar api bunsen (Radji 2010).

F. Pseudomonas aeruginosa

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang relatif sederhana, termasuk sel prokariotik. Secara umum terdiri dari beberapa bentuk yaitu basil/batang, bulat dan spiral. Bakteri umumnya bereproduksi dengan cara membelah diri menjadi dua sel yang berukuran sama atau pembelahan biner. Bakteri patogen pada saluran cerna merupakan golongan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada saluran cerna manusia. (Radji 2010).

1. Klasifikasi

Kedudukan *Pseudomonas aeruginosa* dalam sistematika taksonomi menurut Brook *et al.* (2001) sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gamma Proteobacteria
Ordo : Pseudomonadales
Famili : Pseudomonadaceae
Genus : Pseudomonas
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

2. Morfologi

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* termasuk dalam famili Pseudomonadaceae. Bakteri ini bersifat Gram-negatif, mempunyai flagel tunggal yang bersifat polar atau terkadang terdiri atas 2-3 flagel, berukuran 0,5 μm x 3-4 μm . Bila ditumbuhkan pada perbenihan tanpa sukrosa, bakteri ini dapat memproduksi lapisan lendir polisakarida ekstraseluler. Galur yang diisolasi dari bahan klinik sering kali mempunyai pili yang berperan penting dalam pelekatan pada permukaan sel dan resistensi bakteri terhadap fagositosis (Radji 2010).

Pseudomonas aeruginosa sering kali dihubungkan dengan penyakit yang ditularkan secara nosokomial pada manusia yaitu infeksi yang didapat di rumah sakit. Bakteri ini sering diisolasi dari penderita luka dan luka bakar berat. Selain dapat menyebabkan infeksi pada kulit, mata atau telinga. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi pada saluran napas bagian bawah, saluran kemih, dan organ lain (Radji 2010).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sangat mudah beradaptasi dan dapat tumbuh dalam lingkungan yang sangat kekurangan sumber energi bahkan dapat hidup dan tumbuh dalam air suling. Bakteri ini dapat menggunakan asetat sebagai sumber karbon dan ammonia sebagai sumber nitrogen. *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C sampai 42°C. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi karbohidrat seperti laktosa, tetapi ada galur yang dapat mengoksidasi glukosa. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dapat didasarkan pada morfologi koloni, pigmen khas yaitu berwarna biru kehijauan dan pertumbuhan pada suhu 42° C (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri oportunistik. Infeksi bakteri ini didahului dengan penurunan kondisi atau kekebalan tubuh penderita. Infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* umumnya bersifat invasif dan toksigenik (Radji 2010). Menurut Radji (2010) tahapan infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terdiri atas

3.1 Penempelan bakteri dan kolonisasi. Mekanisme transmisi *Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogen bagi penderita belum diketahui secara pasti karena bakteri ini banyak tersebar didalam lingkungan dan merupakan flora normal tubuh manusia. Pili dan fimbria sel bakteri akan menempel pada sel-sel epitel dan adhesin bakteri akan berikatan dengan reseptor yang terdapat pada sel-sel epitel, setelah terjadi penempelan pada reseptor di sel epitel bakteri akan berkembang biak dengan pesat dan terjadi kolonisasi.

3.2 Invasi Lokal. Kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* menginvasi jaringan tubuh bergantung pada kemampuan bakteri ini memproduksi enzim ekstraseluler yang dapat merusak fungsi sel-sel kekebalan tubuh penderita. Enzim yang berperan adalah protease, enzim ini dapat merusak jaringan kolagen, Ig A, Ig G, komplemen, dan dapat melisis fibronektin serta merusak jaringan epitel.

3.3 Penyebaran bakteri melalui sistem peredaran darah. Mekanisme penyebaran bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ke dalam sistem peredaran darah belum sepenuhnya diketahui secara pasti. Beberapa produk ekstraseluler bakteri diperkirakan memegang peranan penting dalam penyebaran

Pseudomonas aeruginosa dalam sistem peredaran darah. *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap fagositosis karena memiliki kapsul bakteri yang bersifat mukoid dan lipopolisakarida (LPS), bakteri ini memiliki enzim protease yang dapat menghambat kerja komplemen, merusak antibody Ig G dan menginaktifkan interferon dan sitokin. Endotoksin *Pseudomonas aeruginosa* dapat menimbulkan gejala-gejala seperti demam, hipotensi, koagulasi dipembuluh darah.

Tahap infeksi tersebut tidak harus dilalui semua karena proses infeksi dapat berhenti disetiap tahap bergantung pada sifat dan kondisi penderita.

G. Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Menurut Radji (2010) antibakteri menurut mekanisme kerjanya dapat dibagi menjadi :

1. Menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Oleh karena itu zat yang akan merusak dinding sel akan melisiskan dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel, yang pada akhirnya akan membunuh sel bakteri tersebut. Contoh antibiotik yang termasuk golongan ini adalah penisilin, sefalosporin, vankomisin, basitrasin.

2. Mengganggu atau merusak membran sel

Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Contoh antibiotik yang termasuk golongan ini adalah nistatin, golongan makrolida, poliena, polimiksin.

3. Mengganggu biosintesis asam nukleat

Proses replikasi DNA didalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibiotik dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel

bakteri. Contoh antibiotik yang termasuk golongan ini adalah asam naliksidat dan golongan kuinolon.

4. Menghambat sintesis protein

Sintesis protein merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi (yaitu DNA ditranskripsikan menjadi mRNA) dan proses translasi (yaitu mRNA ditranslasi menjadi protein). Antibiotik yang dapat menghambat proses-proses tersebut akan menghambat sintesis protein. Contoh antibiotik yang termasuk golongan ini adalah kloramfenikol, eritromisin, klindamisin, gentamisin, streptomisin, klindamisin, tetrasiklin.

H. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode difusi

Metode difusi merupakan metode yang banyak dan mudah dilakukan. Metode ini dapat digunakan untuk mengetahui zona bening atau daerah hambat disekeliling obat yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diujikan (Jawetz *et al.* 2007).

Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode sumuran dengan membuat lubang pada media padat yang sudah diinokulasikan mikroba uji kemudian bahan yang diujikan dimasukkan kedalam sumuran, metode kertas cakram atau *disc diffusion* dengan menempelkan kertas cakram yang sudah mengandung bahan uji ke media padat yang sudah diinokulasikan mikroba uji, dan metode silinder.

2. Metode dilusi

Prinsip metode dilusi adalah senyawa antimikroba diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi mikroba uji kedalam media cair lalu diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba uji yang ditunjukkan dengan kekeruhan.

Larutan pada kadar terkecil yang terlihat jernih ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), selanjutnya tabung yang terlihat jernih dikultur ulang pada media padat dan dinkubasi selama 18-24 jam untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Media padat yang menunjukkan tidak adanya

pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi 2008).

I. Media

Media adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi/nutrient/zat makanan yang dipakai untuk menumbuhkan mikroba. Mikroba harus dapat tumbuh dengan baik dalam suatu media sehingga perlu dipenuhi syarat-syarat seperti media harus mengandung semua nutrien yang mudah digunakan oleh mikroba, media harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai, media tidak mengandung zat-zat penghambat, media harus steril (Abdurahman 2008).

Media biakan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam bentuk padat, semi padat dan cair. Media padat mengandung agar 1,2 – 1,5 %, biasanya dalam bentuk lempeng agar atau agar miring. Media padat dapat digunakan untuk mengamati morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media semi padat mengandung agar-agar 0,6 – 0,75%, contohnya pada media SIM. Media cair adalah media yang tidak mengandung bahan pematat seperti BHI, Nutrien Agar (Sri Harti 2016).

Media Berdasarkan kandungan nutrisinya dibagi menjadi 7 yaitu defined media merupakan media yang komponen penyusunnya sudah diketahui atau ditentukan, media kompleks merupakan media yang tersusun dari komponen yang secara kimia tidak diketahui dan umumnya diperlukan karena kebutuhan nutrisi mikroorganisme tertentu tidak diketahui, media umum merupakan media pendukung bagi banyak pertumbuhan mikroorganisme, media Penyubur merupakan media yang berguna untuk mempercepat pertumbuhan mikroorganisme tertentu, media selektif merupakan media yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme tertentu dengan menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain, media diferensial digunakan untuk membedakan kelompok mikroorganisme dan bahkan dapat digunakan untuk identifikasi dan media khusus adalah media untuk bakteri anaerob (Pratiwi 2008).

J. Siprofloksasin

Siprofloksasin merupakan golongan floroquinolon generasi kedua, memiliki efek yang bagus dalam melawan bakteri Gram-negatif. Mekanisme kerjanya dengan menghambat sintesis asam nukleat dimana antibiotik golongan ini dapat masuk kedalam sel dengan cara difusi pasif melalui kanal protein terisi air (porins) pada membran luar bakteri secara intraseluler, menghambat replikasi DNA bakteri dengan cara mengganggu kerja DNA gyrase (topoisomerase II) selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Mycek & Mary 2001).

Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli*, *P. Mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter*, *Haemophylus sp*, *Chlamydia sp*, *Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosae* serta beberapa bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus sp* dan *Streptococcus sp* (Siswandono & Soekardjo 2008).

K. Landasan teori

Hibiscus rosa-sinensis L. biasanya digunakan sebagai tanaman hias yang tumbuh didaerah tropis dan subtropis. Bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. sering digunakan sebagai agen anti asma, mengobati infeksi kulit, antibakteria, antioksidan. Penelitian lain menyebutkan bahwa bunga kembang sepatu dapat digunakan sebagai obat batuk, demam, bisul, gondok, luka, emolien dan pendingin (Uddin B *et al.* 2010; Al-Alak *et al.* 2015). Bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. mengandung beberapa komponen termasuk flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, saponin dan antrakuinon (Sarma 2016; Kumari *et al.* 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.* (2019) pengujian aktivitas antibakteri pada *Pseudomonas aeruginosa* bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. yang diekstraksi dengan etanol memiliki potensi membentuk zona hambat antara 10-15 mm dengan metode cakram pada konsentrasi 80 µg/ml dengan metode maserasi. Hasil maserasi kemudian dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi yang aktif.

Fraksinasi adalah suatu cara pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan polaritas suatu senyawa.

Senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar. Masing-masing pelarut yang digunakan secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia. Fraksinasi diawali menggunakan pelarut non polar kemudian disari dengan pelarut semi polar dan polar. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70%, n-heksana, etil asetat, air. n-heksana dapat melarutkan senyawa seperti lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid, terpenoid, dan karotenoid (Depkes 1987). Etil asetat yang semi polar dapat menarik senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, antrakuinon (Putri dkk 2013). Air dapat melarutkan senyawa polar seperti garam alkaloid, tanin, saponin, gula, gom, pati, protein, zat warna, asam organik (Depkes 1986). Fraksi etil asetat dari bunga kembang sepatu kemungkinan merupakan fraksi teraktif karena mengandung flavonoid yang efektif sebagai agen antimikroba (Ruban & Gajalakhmi 2012).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui zona bening atau daerah hambat disekeliling obat yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diujikan (Jawetz *et al.* 2007). Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode sumuran, metode kertas cakram atau *disc* dan metode silinder. Metode dilusi digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Prinsip metode dilusi adalah senyawa antimikroba diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Siprofloksasin digunakan sebagai kontrol positif karena siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif.

L. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, hipotesis dalam penelitian ini adalah

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol 70% bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. merupakan fraksi teraktif yang memiliki efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif dari ekstrak etanol 70% bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. dalam membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ditentukan dari hasil penelitian.