

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdarifa* L)

a. Sistematika

Rosella merupakan tumbuhan semak umur satu tahun, tumbuh tumbuhan mencapai 2,4 m. Bunga tunggal, kuncup bunga dari bagian ketiak daun, tangkai bunga berukuran 5-20 mm; kelopak bunga berlekatan, tidak gugur tetap mendukung buah, berbentuk lonceng; mahkota bunga berlepasan, berjumlah 5 petal, mahkota bunga berbentuk bulat telur terbalik, warna kuning, kuning kemerahan (BPOM RI, 2010).



Gambar 1. Tanaman rosella
Sumber: Foto Dokumen Pribadi Peneliti

Berikut adalah klasifikasi tanaman rosella :

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dilleniidae
Bangsa : Malvales
Suku : Malvaceae
Marga : Hibiscus
Jenis : *Hibiscus sabdariffa* Linn

(BPOM RI, 2010)

b. Kandungan Rosella

Daun rosella herbal mengandung beberapa senyawa fitokimia yang berperan sebagai antioksidan dan agen antibakteri. Senyawa antioksidan yang terdapat pada daun rosella antara lain asam neoklorogenik, asam klorogenat, asam kriptoklorogenik, rutin dan isoquercitrin (Wang et al., 2014). (Mungole & Chaturvedi, 2011) menemukan bahwa senyawa aktif biologis dengan aktivitas antioksidan dan antibakteri yang terkandung dalam daun rosella adalah 0,23 mg/g flavonoid, 0,125 mg/g fenol, 0,13 mg/g saponin, 0,12 mg/g alkaloid, dan 0,17 mg. /g tanin. Selain itu, nilai gizi daun herbal rosella adalah air 86,2%, protein $1,7 \pm 3,2\%$, lemak 1,1%, serat 10%, kalsium 0,18%, asam askorbat 54mg/100g. (Nurnasari & Khuluq, 2018)

Buah rosella berbentuk bulat telur atau bulat, ujungnya runcing, berwarna merah kehijauan, dan ukuran buah rosella $13 \pm 22\text{mm}$ x $11 \pm 20\text{mm}$. Buah rosella terbentuk 1±2 hari setelah penyerbukan, dan biasanya 5 buah. Buah muda ditutupi dengan kulit tipis hijau dan kuning, dan semua bagian buah ditutupi dengan kelopak. Cali rosella (kelopak) mempunyai beberapa warna tergantung pada varietasnya. Kandungan fitokimia buah rosella antara lain: a-terpinil asetat, pektin, anisaldehyd, asam askorbat, kalsium oksalat, asam kaprilik, asam sitrat, asam asetat, etanol, asam format, asam pelargonik, asam propionate, isopropyl alkohol, methanol, benzyl alkohol, 3-metil-1-butanol, benzaldehid dan mineral. Disamping itu kandungan nutrisi buah rosella herbal adalah 9,2% kadar air, 1,145% protein, 2,61% lemak, 12% serat, 12,0% kalsium, 273,2 mg fosfor, 6,7 mg asam askorbat (Mahadevan et al., 2009). Kandungan fitokimia kalik buah rosella merah terdiri dari alkaloid, flavonoid, feno, hidroquinon, steroid, triterpenoid, tanin, dan saponin. Kelompok fitokimia tersebut memiliki senyawa bioaktif sebagai aktivitas antioksidan dan antibakteri. (Mardiah et al., 2015)

Bagian batang dan akar tanaman rosella juga mengandung banyak senyawa metabolit sekunder yang sangat bermanfaat. Senyawa bioaktif

yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri terdapat di bagian batang rosela herbal adalah 0,131 mg/g flavonoid, 0,165 mg/g saponin, 0,745 mg/g alkaloid, dan 0,881 tanin. Sedangkan dibagian akar rosela herbal adalah 0,750 mg/g flavonoid, 0,107 mg/g fenolik, 0,145 mg/g saponin, 0,854 mg/g alkaloid, dan 0,187 mg/g tanin (Mungole & Chaturvedi, 2011).

c. Manfaat Rosella

Tanaman rosella herbal memiliki banyak manfaat, baik sebagai sumber serat alami juga berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber bahan pangan fungsional dan biofarmaka. Hal itu didukung dari banyaknya kandungan senyawa fitokimia potensial yang bermanfaat untuk kesehatan karena memiliki aktivitas farmakologi yang tinggi. Oleh karena itu rosella herbal berpotensi untuk diolah menjadi produk-produk yang memiliki nilai ekonomis tinggi sehingga dapat memberikan nilai tambah lebih terutama dalam peningkatan kesejahteraan petani dan produksi nasional rosela. (Zhen et al., 2016)

Ekstrak rosella herbal memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* bakteri kariogenik dari rongga mulut, dengan konsentrasi penghambatan minimum 2,5 mg/ml. Ekstrak rosella juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri spesies *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* dan *Campylobacter fetus*), bakteri ini yang meng-infeksi daging seperti daging unggas, sapi dan babi pada rentang konsentrasi 96 ± 152 µg/ml. (Da-Costa-Rocha et al., 2014)

Ekstrak air-metanol rosella herbal kering juga menunjukkan efek penghambatan in vitro terhadap beberapa strain bakteri, seperti *S. aureus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marseilles*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli*, *K. pneumonia*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas fluorescens*, namun ekstrak ini tidak mempengaruhi pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Aktivitas antibakteri pada ekstrak rosella terjadi karena adanya kandungan

senyawa gossypetin. Senyawa tannin juga berperan dalam aktivitas antibakteri dalam ekstrak rosella herbal, yaitu menurunkan proliferasi bakteri dengan menghambat aktivitas enzim pada metabolisme bakteri. (Mungole & Chaturvedi, 2011)

Alsham & Alharbi (2014) menjelaskan ekstaksi kalik rosella menggunakan methanol 80% dengan metode maserasi didapatkan larutan ekstrak yang memiliki aktivitas antifungal yang kuat terhadap jamur *Candida albicans* dan terjadi interaksi sinergis dengan *voriconazole* (obat antifungal). Ekstrak rosella herbal efektif menyebabkan jumlah penghambatan pertumbuhan miselium dan spora jamur *Alternaria solani* pada konsentrasi 10%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak rosella herbal adalah inhibitor kuat dari jamur ini dan dapat dikatakan kemampuannya sebanding dengan fungisida standar (Goussous et al., 2010).

Ekstrak biji rosella pada dosis 102, 205 dan 410 mg untuk pengujian di tikus putih jantan galur Wistar memiliki aktivitas anti-inflamasi dengan persentase penghambatan radang sebesar 22,03; 31,48; dan 31,93%. Aktivitas anti-inflamasi ini karena adanya kandungan senyawa polifenol dalam ekstrak rosella. Kadar 0,01-0,5 mg/ml, senyawa polifenol dalam rosella dapat menghambat enzim ksantin oksidase sampai 93% dengan $EC_{50} = 0,742$ mg/ml. Dosis 0,5 mg/ml dapat menghambat nitrat dan produksi PGE2 dan aktivitas iNOS protein pada makrofag sampai 20% pada mencit yang diinduksi lipopolisakarida (LPS). Dosis 10-40 mg/kg dapat menurunkan perubahan patologi hati hewan uji. (BPOM RI, 2010)

Seluruh bagian tanaman rosella herbal memiliki kandungan senyawa potensial dengan aktivitas antioksidan. Bagian tanaman yang diekstrak dengan air yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah di kalik dan yang terendah adalah pada bagian batang. Hal ini karena pada kalik mengandung vitamin C atau asam askorbat (141 mg/100 g), antosianin (2,52 mg/100 g), β -karoten (1.88 mg/100 g),

likopen (164 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), polifenol dan senyawa antioksidan lainnya yang larut air. (Mohd-Esa et al., 2010)

2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya (Sarker et al., 2006):

- a. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
- b. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
- c. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural (Sarker et al., 2006)

Semua senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu sumber tetapi tidak dihasilkan oleh sumber lain dengan kontrol yang berbeda, misalnya dua jenis dalam marga yang sama atau jenis yang sama tetapi berbeda dalam kondisi yang berbeda. Identifikasi seluruh metabolit sekunder yang ada pada suatu organisme untuk studi sidik jari kimiawi dan studi metabolik (Sarker et al., 2006)

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

- a. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan
- b. Pemilihan pelarut
- c. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya
- d. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan, dan sebagainya
- e. Pelarut nonpolar: n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya (Sarker et al., 2006)

Jenis-jenis ekstraksi yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut :

a. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agung, 2017). Metode ini dilakukan dengan memasukan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun disisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

b. *Ultrasound-assisted Solvent Extraction*

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam sampel pelarut dan meninggalkan hasil ekstraksi.

c. Perkolasi

Perlokasi merupakan teknik yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan bahan aktif dari bagian tanaman dalam menyediakan tinktur dan ekstrak cair. Sebuah perkolator biasanya berupa silinder sempit dan panjang dengan kedua ujungnya berbentuk kerucut yang terbuka. Bagian tanaman yang akan diekstrak dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kurang

lebih 4 jam dalam tangki tertutup. Selanjutnya, bagian tanaman ini dimasukkan ke dalam perkolator dan bagian atas perkolator ditutup. Sejumlah pelarut biasanya ditambahkan hingga membentuk lapisan tipis di bagian tanaman yang akan diekstrak. Bagian tanaman ini dibiarkan mengalami maserasi selama 24 jam dalam perkolator tertutup. Setelah itu, cairan hasil perkolasi dibiarkan keluar dari perkolator dengan membuka bagian pengeluaran (tutup bawah) perkolator. Sejumlah pelarut ditambahkan lagi (seperti membilas) sesuai dengan kebutuhan hingga cairan ekstrak yang diperoleh menjadi kurang lebih tiga per empat dari volume yang diinginkan dalam produk akhir. Ampas diteken/dipress, dan dicairkan yang diperoleh ditambahkan ke dalam cairan ekstrak. Selanjutnya, sejumlah pelarut ditambahkan lagi ke dalam cairan ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan volume yang diinginkan. Campuran ekstrak yang diperoleh dijernihkan dengan penyaringan atau sedimentasi dengan dilanjutkan dengan dekantasi. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

d. Soxhletasi

Metode ini dilakukan dengan menempelkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan dibawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur dibawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak banyak memakan waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

e. Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang berhubung dengan kondensor. Kerugian dari dari dua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel, 2012).

3. Bakteri Uji

Bakteri berasal dari bahasa latin *bacterium*; jamak; *bacteria* adalah kelompok organisme yang tidak memiliki membran sel. Organisme ini termasuk ke dalam domain prokariota dan berukuran sangat kecil (mikroskopik). Bakteri bermultiplikasi secara aseksual, dan semua fungsi sel terjadi di sitoplasma atau di membran sitoplasma sel bakteri. Sel-sel bakteri memiliki ukuran panjang dari 1 μm hingga 3 μm sehingga tidak dapat dilihat oleh mata manusia tanpa bantuan mikroskop. (Delost, 2014)

Ada beberapa bentuk dasar bakteri, yaitu bulat (tunggal; *coccus*, jamak; *cocci*), batang atau silinder (tunggal; *bacillus*, jamak; *bacilli*), dan spiral yaitu berbentuk batang melengkung atau melingkar-lingkar. Struktur eksternal sel bakteri meliputi glikokaliks, flagela, filamen aksial, fimbria, dan pili, sedangkan struktur didalam sel bakteri terdapat sitoplasma yang merupakan substansi yang menempati ruangan sel bagian dalam. (Pratiwi & Sylvia, 2008)

Kategori utama bakteri berdasarkan ciri khas dinding sel yaitu eubakteri gram-negatif yang memiliki dinding sel, eubakteri gram-positif yang memiliki dinding sel, eubakteri yang tidak memiliki dinding sel, dan arkeobakteri. Eubakteri gram-negatif yang memiliki dinding sel merupakan kelompok heterogen yang memiliki pembungkus sel yang

kompleks (tipe gram-negatif) terdiri dari selaput luar, selaput dalam, lapisan peptidoglikan tipis dan selaput sitoplasma. Bentuk sel bisa seperti bola, lonjong, batang lurus atau batang melengkung, heliks atau filamentosa. Golongan bakteri yang berbentuk batang gram-negatif fakultatif anaerob antara lain yaitu *Escherichia*, *klebsiella*, *proteus*, *providencia*, *salmonella*, *shigella*, *yersinia*, *vibrio*, *haemophilus*, dan *pasteurella*. Eubakteri gram-positif yang memiliki dinding sel merupakan bakteri yang memiliki bentuk dinding sel jenis gram positif, memberi pewarnaan gram-positif. Sel-sel dapat berebentuk seperti bola, batang, atau filamen. Golongan bakteri yang berbentuk kokus gram-positif antara lain yaitu *enterococcus*, *peptostreptococcus*, *staphylococcus*, dan *streptococcus*. (Jawetsz et al., 1996)

a. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz et al., 1996). Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (V. a Fischetti et al., 2000).

Staphylococcus aureus bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies lain. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama untuk manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa jenis infeksi *Staphylococcus aureus* sepanjang hidup, dengan kisaran keparahan dari keracunan makanan atau infeksi kulit minor hingga infeksi berat yang mengancam jiwa (Soedarto, 2015).



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Dahlia et al., 2012)

a) Klasifikasi *S. aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu :

Domain : Bacteria

Kerajaan : Eubacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Karuniawati, 2010)

b) Patogenesis

Sebagian bakteri *Staphylococcus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Warsa, 2011).

Staphylococcus aureus menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit seperti bisul dan furunkulosis; infeksi yang lebih serius seperti pneumonia, mastitis, flebitis, dan meningitis; dan infeksi pada saluran urine. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga menyebabkan infeksi kronis, seperti osteomyelitis dan endocarditis. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosokomial

akibat tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan di rumah sakit. *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan sindrom renjat toksik (*toxoc shock syndrome*) akibat pelepasan superantigen ke dalam aliran darah (Radji, 2010).

b. Bakteri *Salmonella typhi*

a) Morfologi *Salmonella typhi*

Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif batang, tidak membentuk spora, motil, berkapsul dan berflagella (bergerak dengan rambut getar). Bakteri ini dapat hidup pada pH 6-8 pada suhu 15-41°C (suhu optimal 37°C). Bakteri ini dapat mati dengan pemanasan 54,4°C selama satu jam dan suhu 60°C. selama 15 – 20 menit, pasteurisasi, pendidihan dan khlorinisasi. Terjadinya penularan *S. typhi* pada manusia yaitu secara jalur fekal-oral. Sebagian besar akibat kontaminasi makanan atau minuman yang tercemar. (Vivien Novarina A. Kasim, 2020)



Gambar 3. Bakteri *Salmonella typhi* (Cita, 2011)

b) Klasifikasi *Salmonella typhi*

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Protoebacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>S. enteric I</i>
Serotipe	: <i>typhi</i>

Salmonella sp. pertama ditemukan (diamati) pada penderita demam tifoid pada tahun 1880 oleh Eberth dan dibenarkan oleh Robert Koch dalam budidaya bakteri pada tahun 1881. *Salmonella sp.* adalah bakteri bentuk batang, pada pengecatan gram berwarna merah muda (gram negatif). *Salmonella sp.* berukuran 2μ sampai $4 \mu \times 0,6 \mu$, mempunyai flagel (kecuali *S. gallinarum* dan *S. pullorum*), dan tidak berspora. Habitat *Salmonella sp.* adalah di saluran pencernaan (usus halus) manusia dan hewan. Suhu optimum pertumbuhan *Salmonella sp.* ialah 37°C dan pada pH 6-8. (Vivien Novarina A. Kasim, 2020)

Dalam skema Kauffman dan White tatanama *Salmonella sp.* di kelompokkan berdasarkan antigen atau DNA yaitu kelompok I enteric, II salamae, IIIa arizonae, IIIb houtenae, IV diarizonae, V bongori, dan VI indica. Komposisi dasar DNA *Salmonella sp.* adalah 50- 52 mol% G+C, mirip dengan *Escherichia*, *Shigella*, dan *Citrobacter*. Namun klasifikasi atau penggunaan tatanama yang sering dipakai pada *Salmonella sp.* berdasarkan epidemiologi, jenis inang, dan jenis struktur antigen (misalnya *S.typhi*, *S .thipirium*). Jenis atau spesies *Salmonella sp.* yang utama adalah *S. typhi* (satu serotipe), *S. choleraesuis*, dan *S. enteritidis* (lebih dari 1500 serotipe). Sedangkang spesies *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S.*

paratyphi C termasuk dalam *S. enteritidis*. (Vivien Novarina A. Kasim, 2020)

c) Patogenesis

Kuman menembus mukosa epitel usus, berkembang biak di lamina propina kemudian masuk ke dalam kelenjar getah bening mesenterium. Setelah itu memasuki peredaran darah sehingga terjadi bakteremia pertama yang asimtomatis, lalu kuman masuk ke organ-organ terutama hepar dan sumsum tulang yang dilanjutkan dengan pelepasan kuman dan endotoksin ke peredaran darah sehingga menyebabkan bakteremia kedua. Kuman yang berada di hepar akan masuk kembali ke dalam usus kecil, sehingga terjadi infeksi seperti semula dan sebagian kuman dikeluarkan bersama tinja. (Cita, 2011)

Penyebaran penyakit ini terjadi sepanjang tahun dan tidak tergantung pada iklim, tetapi lebih banyak dijumpai di negara-negara sedang berkembang di daerah tropis, hal ini disebabkan karena penyediaan air bersih, sanitasi lingkungan dan kebersihan individu yang masih kurang baik oleh karena itu pencegahan penyakit demam tifoid mencakup sanitasi dasar dan kebersihan pribadi, yang meliputi pengolahan air bersih, penyaluran air dan pengendalian limbah, penyediaan fasilitas cuci tangan, pembangunan dan pemakaian WC, merebus air untuk keperluan minum dan pengawasan terhadap penyedia makanan. (Cita, 2011)

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme. Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Ganiswara, 1995).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteriostatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar & Chan, 1988).

Menurut Madigan dkk (2015), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antimikrobia mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan mikrobial yaitu:

1. Bakteriostatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakteriostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobial yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.
2. Bakteriosidal memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobial yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.
3. Bakteriolitik menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikrobia. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobial yang berada pada fase logaritmik. Setelah

penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun.

5. Mekanisme Kerja Antibiotik

Menurut Pelczar (1986) bahwa antibiotik dibagi menjadi 2 berdasarkan cara kerjanya, yaitu bakteriostatik dengan menghambat pertumbuhan bakteri, contohnya Tetrasiklin dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri dengan cara menghambat pembentukan dinding sel, contohnya Penisilin. Berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap bakteri antibiotik dikelompokkan sebagai berikut :

- a. Menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara memecah enzim dinding sel dan menghambat enzim dalam sintesis dinding sel, contohnya Vankomisin, Basitrasin, dan golongan beta laktam seperti Penisilin, sefalosporin, karbapenem.
- b. Menghambat sintesis protein bakteri dengan cara mengganggu sintesis protein tanpa mengganggu sel-sel normal dan menghambat tahap-tahap sintesis protein, contohnya Aminoglikosida, Makrolida, Tetrasiklin, Kloramfenikol, Klindamisin.
- c. Mengubah permeabilitas membran sel dengan cara menghilangkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan sel menjadi lisis, contohnya Amfoterisin B, Polimiskin, Nistatin.
- d. Menghambat sintesis folat karena bakteri tidak dapat mengabsorpsi asam folat tetapi harus membuat asam folat dari PABA (asam para amino benzoat) dan glutamat, contohnya Sulfonamida dan Trimetoprin.
- e. Mengganggu sintesis DNA dengan menghambat enzim DNA girase pada bakteri, contohnya Metronidasol, Kinolon, Novobiosin.

6. Antibiotik Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik yang mempunyai aktivitas bakteriostatik dan pada dosis tinggi bersifat bakterisidal. Aktifitasnya menghambat sintesis protein dengan jalan mengikat ribosom yang merupakan langkah penting dalam pembentukan ikatan peptida.

Kloramfenikol termasuk antibiotika yang paling stabil. Larutan dalam air pada pH 6 menunjukkan kecenderungan terurai yang paling rendah. Dalam basa akan terjadi penyabunan ikatan amida dengan cepat. Senyawa ini cepat dan hampir sempurna diabsorpsi dari saluran cerna. Oleh karena itu pemberian peroral menonjol (Dian et al., 2015).

Kloramfenikol bertindak menghambat sintesis protein dengan cepat tanpa mengganggu sintesis DNA dan RNA. Kloramfenikol dihasilkan melalui fermentasi, tetapi sekarang telah dihasilkan melalui sintesis kimia. Kloramfenikol adalah antibiotika pertama yang mempunyai efek terhadap riketsia. Penggunaannya perlu diawasi dengan memonitor keadaan hematologi karena dapat menyebabkan efek hipersensitivitas (Hadisahputra & Harahap, 1994).

Spektrum kerja kloramfenikol hampir identik dengan spektrum tetrasiklin walaupun demikian tidak terjadi resistensi silang antara keduanya. Kloramfenikol terutama berkhasiat untuk infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella*, khususnya *S. typhi* dan *S. paratyphi* yang sampai saat ini belum dapat ditanggulangi dengan antibiotik lain. Seperti halnya tetrasiklin, kloramfenikol tidak berkhasiat pada virus, jamur maupun protozoa (Hadisahputra & Harahap, 1994).

7. Metode Difusi

Prinsip dari metode difusi adalah kemampuan suatu agen antibakteri berdifusi ke dalam media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu metode cakram kertas, metode parit, dan metode lubang/sumuran. (Pratiwi & Sylvia, 2008)

a. Metode cakram kertas

Pada metode cakram kertas digunakan suatu kertas cakram yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji yaitu pada suhu 37°C

selama 18-24 jam. Pada metode difusi, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji (Kusmiyati & Agustini, 2006).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Uji difusi cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/ml (Hermawan et al., 2007) dalam (Dewi et al., 2014).

Metode cakram kertas memiliki kelebihan, yaitu mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium (Bonang, 1992); (Pelczar & Chan, 1988). Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai, maka hasil dari metode cakram kertas sulit untuk diinterpretasikan.

b. Metode parit

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit, interpretasi sama dengan cara Kirby Bauer. Metode ini biasanya digunakan untuk sediaan uji dalam bentuk krim atau salep (Bonang, 1992).

Metode parit memiliki keuntungan sebagai berikut :

- a) mikroorganisme yang berbeda dapat diuji pada satu cawan petri
- b) tiga parit yang berisi antibiotik yang berbeda dapat disertakan di setiap cawan petri

- c) perbandingan langsung dari efek tertentu antibiotik pada setiap organisme dapat dibuat dalam kondisi yang sama
 - d) tidak memerlukan waktu inkubasi pada mikroorganisme sehingga waktu yang digunakan tidak lama
- c. Metode lubang/sumuran

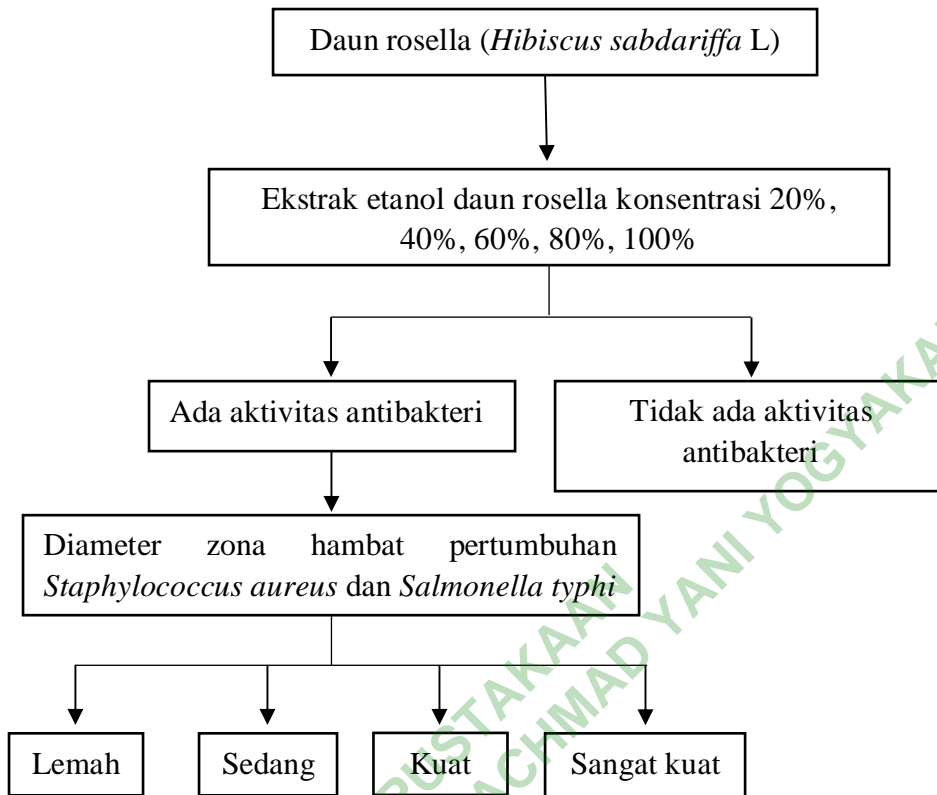
Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Bonang, 1992). Kelebihan metode ini yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan agar tetapi juga sampai bawah. Metode ini dapat digunakan karena lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan zat aktif dapat berdifusi langsung tanpa penghalang.

Hasil diameter zona hambat yang terbentuk dapat dikelompokkan berdasarkan kriteria kekuatan daya antibakteri. Adapun hasil interpretasi zona hambat menurut (Ardiansyah., 2005) dalam penelitian (Sudrajat et al., 2012) sebagai berikut :

Tabel 2. Kriteria kekuatan daya antibakteri

Diameter zona hambat	Kekuatan daya antibakteri
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥21 mm	Sangat kuat

B. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka konsep

C. Hipotesis

Ekstrak daun rosella memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.