

**TESIS**

**EFEK ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa L.*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERUBAHAN STRUKTUR DINDING SEL  
BAKTERI *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA)**



**SWAIDATUL MASLUHIYA AF**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN TROPIS  
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**2015**

**TESIS**

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.)  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERUBAHAN STRUKTUR DINDING SEL  
BAKTERI *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA)**



**SWAIDATUL MASLUHIYA AF**

**NIM. 011214253010**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN TROPIS  
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**2015**

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.)  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERUBAHAN STRUKTUR DINDING SEL  
BAKTERI *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA)**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister

Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis

Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

**SWAIDATUL MASLUHIYA AF**

**NIM. 011214253010**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN TROPIS  
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**2015**

**Lembar Pengesahan**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI, TANGGAL 12 FEBRUARI 2015**

**Pembimbing I**

Prof. Dr. Achmad Basori, Apt., Ms  
NIP : 19500401 197802 1 001

**Pembimbing II**

Kartuti Debora, dr., M.S., Sp.MK(K)  
NIP : 19500625 197802 2 001

**Mengetahui**  
**Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis**  
**Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

Dr. Juniastuti, dr., M.Kes  
NIP. 19710624 199802 2 001

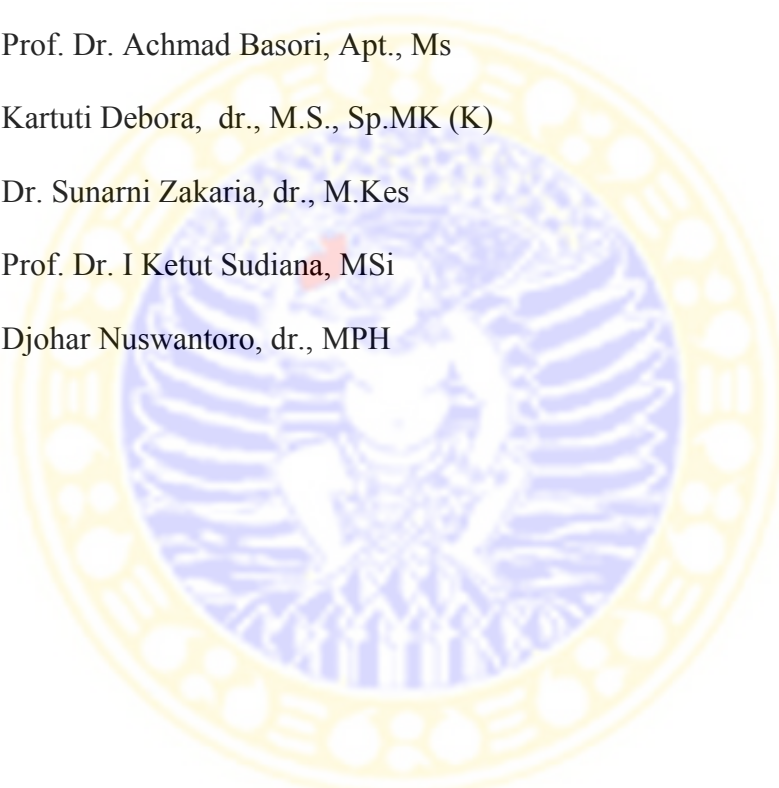
## **PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS**

Telah diuji pada

Tanggal 12 Februari 2015

Panitia penguji,

1. Prof. Dr. Achmad Basori, Apt., Ms
2. Kartuti Debora, dr., M.S., Sp.MK (K)
3. Dr. Sunarni Zakaria, dr., M.Kes
4. Prof. Dr. I Ketut Sudiana, MSi
5. Djohar Nuswantoro, dr., MPH



## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Robbil‘Aalamiin. Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan Tesis dengan lancar. Penulis dalam proses penelitian dan penulisan Tesis ini tidak terlepas dari bantuan, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt. dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., SpPD-KEMD.FINASIM atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.

Prof. Dr. Achmad Basori, Apt., Ms selaku pembimbing I dan Ibu Kartuti Debora, dr., M.S., Sp.MK (K) selaku pembimbing II, yang telah dengan sabar meluangkan waktu dengan penuh perhatian membimbing, mengarahkan penelitian, dan memberikan ide-ide berharga kepada penulis dalam penyusunan tesis ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan karunia-Nya kepada beliau serta memberikan balasan dengan sebaik-baik balasan.

Tim penguji Dr. Sunarni Zakaria, dr., M.Kes., Prof. Dr. I Ketut Sudiana, MSi., dan Djohar Nuswantoro, dr., MPH selaku penguji yang telah memberikan saran untuk perbaikan penelitian dan Tesis.

Dr. Juniastuti, dr., M.Kes selaku ketua jurusan Ilmu Kedokteran Tropis (IKT) yang telah memberikan dukungan dan pengarahan kepada penulis. Tim laboratorium instalasi Mikrobiologi Klinik RS. Dr. Soetomo Surabaya dan Tim di UPT. Mikroskop Elektron FK Unair Surabaya, yang telah banyak memberi bantuan teknis dalam pelaksanaan penelitian.

Ibunda Hj. S. Fatimah, Ayahanda H. Zainur Roziqin, Suami Angga Depi Purwanto, S.Kom, putri tercinta Raline Farzana Arkan, kakak A. Luthfin, adik Asyrotun Novidatin Ni'mah, Romy Mazaya, Nenek Muinah, Bpk. Drs. Sulaimi, Tante Nurhasanah, Umi Hanik, dan semua keluarga besar yang tak pernah berhenti berdoa dan selalu memberi motivasi kepada penulis untuk meraih masa depan yang lebih baik. Terima kasih atas semua dukungan dan doa yang diberikan.

Rekan-rekan seperjuangan IKT 2012. Terima kasih tak terhingga kepada Ibu Uswatun Hasanah S.Gz yang selalu membantu dan mendukung penulis selama kuliah hingga menyelesaikan Tesis. Semoga segala bantuan dan kerjasamanya dibalas oleh Allah SWT, diberkahi kesuksesan dan kebahagiaan bersama keluarga.

Semoga Tesis ini bermanfaat bagi semua pihak dan pengembangan ide selanjutnya. Amin



## RINGKASAN

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.)  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERUBAHAN STRUKTUR DINDING SEL  
BAKTERI *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Swaidatul Masluhiya AF

*Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) merupakan flora normal yang umumnya hidup pada kulit dan membran mukosa (Jawetz, *et al.*, 1996; Stanway, 2007). *S.aureus* merupakan spesies yang paling invasif (Gillespie dan Bamford, 2008) dan dianggap sebagai satu-satunya patogen dari Genusnya (Irianto, 2013). Pada saat ini banyak ditemukan bakteri Gram positif yang bersifat *multidrug* resisten, salah satunya adalah *Methicillin-Resistant S. aureus* (MRSA) (Russel dan Chopra, 1990). Insiden infeksi MRSA terus meningkat di Asia dengan prevalensi mencapai 70%, sedangkan di Indonesia pada tahun 2006 prevalensi sebesar 23,5% (Sulistyaningsih, 2010). Biaya pengobatan untuk infeksi MRSA diperkirakan 6 - 10% lebih tinggi dibandingkan dengan biaya pengobatan untuk bakteri *S.aureus* (Wise, 2003). Penemuan terakhir obat yang terbaik untuk MRSA adalah *Linesolid/Zyfox*, *Daptomycin* dan *Tigecycline* yang harganya sangat mahal dan tidak selalu tersedia di setiap pusat pelayanan kesehatan (Laura, 2009). Obat antibakteri paten yang baru selain mahal juga memiliki beberapa efek samping, misalnya reaksi alergi (Forbes *et al.*, 2007). Selain itu obat antibakteri tersebut ada batasan penggunaan untuk anak-anak dan orang dewasa yang berisiko mengalami gangguan fungsi hati dan gangguan fungsi ginjal. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terhadap bahan antibakteri baru untuk menurunkan insiden infeksi MRSA yang lebih efektif, murah dan mudah didapat.

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tanaman yang berasal dari India barat, Afrika, dan Timur Tengah. Seluruh bagian tanaman ini dapat dimakan. Rosela berkhasiat sebagai antiseptik, diuretik, sedatif, dan tonik (Maryani dan Kristina, 2008). Hasil penapisan fitokimia pada bunga Rosela terdeteksi adanya kandungan alkaloid, flavanoid, saponin dan tanin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Rostinawati, 2009). Hasil penelitian ini belum membuktikan bahwa ekstrak etanol bunga Rosela dapat menyebabkan kerusakan struktur dinding sel bakteri MRSA atau kematian sel bakteri MRSA.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol bunga rosela terhadap MRSA secara *in vitro*, mengetahui hubungan pemberian konsentrasi bertingkat ekstrak etanol bunga rosela terhadap hambatan pertumbuhan MRSA secara *in vitro*, dan mengetahui gambaran perubahan struktur dinding sel MRSA pada pemberian ekstrak etanol bunga rosela dari beberapa konsentrasi. Dilakukan tiga tahapan penelitian eksperimental laboratories, yaitu: (1). Ekstraksi bunga rosela secara maserasi menggunakan etanol 96%, (2). Uji antibakteri terhadap MRSA secara dilusi-agar untuk mengetahui jumlah koloni bakteri. Ekstrak etanol bunga rosela dicampur ke dalam media *Muller Hinton Agar*, konsentrasi  $1 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $0,5 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $0,25 \times 10^4$

$\mu\text{g/ml}$ , dan  $0 \mu\text{g/ml}$ , (3). Pengamatan menggunakan Mikroskop Elektron Skening (MES) untuk mengetahui kerusakan struktur dinding sel MRSA.

Ekstraksi mendapatkan hasil ekstrak etanol bunga rosela pekat dengan rendemen 28,7%. Uji antibakteri terhadap MRSA secara dilusi-agar menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga rosela memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA dengan KHM pada konsentrasi  $0,25 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$  dan KBM  $1 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$ . Terdapat hubungan antara pemberian konsentrasi bertingkat ekstrak bunga rosela terhadap hambatan pertumbuhan MRSA, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak bunga rosela maka semakin besar hambatan pertumbuhan bakteri MRSA yang menyebabkan semakin sedikitnya jumlah koloni bakteri MRSA. Peningkatan konsentrasi ekstrak bunga rosela juga menyebabkan peningkatan ukuran sel bakteri MRSA karena adanya bahan antibakteri ekstrak etanol bunga rosela, dalam hal ini bakteri mengalami kondisi hipertonis sehingga sel bakteri akan mengembang dan kemudian dapat pecah (lisis).

Ekstrak etanol bunga rosela pada konsentrasi  $0 \mu\text{g/ml}$  (kontrol) terlihat morfologi sel bakteri MRSA masih utuh (normal) dengan bentuk kokus, halus dan menonjol. Pada konsentrasi  $0,25 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$  tampak morfologi sel bakteri MRSA tetap utuh, berbentuk kokus dengan ukuran diameter sel yang relatif lebih besar dari pada kontrol. Pada konsentrasi  $0,5 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$  telah mampu melisiskan sebagian sel bakteri MRSA dan dinding sel bakteri MRSA terlihat akan pecah (ruptur). Sedangkan pada konsentrasi  $1 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$  diduga ekstrak etanol bunga rosela mampu melisiskan sel bakteri MRSA yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan MRSA pada pengamatan secara makroskopis. Potensi antibakteri ekstrak etanol bunga rosela sangat lemah terhadap bakteri MRSA sehingga tidak layak digunakan untuk terapi infeksi MRSA karena menurut Nascimento *et al.* (2000) suatu ekstrak bahan alam dinyatakan layak dikembangkan sebagai antibakteri bila dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 10 – 500  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan dari hasil penelitian ini didapatkan KHM sebesar  $0,25 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$ , sehingga melebihi ambang batas sebagai agen terapi antibakteri MRSA. Hal ini sesuai dengan pendapat Holetz *et al.* (2002) yaitu aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas yang kuat dengan nilai KHM kurang dari 512  $\mu\text{g/ml}$ . Jika dibandingkan dengan literatur tersebut, maka nilai KHM dari ekstrak etanol bunga rosela ini sangat tinggi. Semakin tinggi nilai KHM menunjukkan potensi antibakterinya semakin lemah (Forbes *et al.*, 2007).

Meskipun aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga rosela terhadap bakteri MRSA sangat lemah, perlu juga diteliti aktivitas antibakterinya terhadap bakteri yang lain, serta perlu dilakukan penelitian lanjutan di bidang farmasi untuk pemurnian, identifikasi dan kuantifikasi senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri di dalam bunga rosela serta mengetahui bagaimana mekanisme kerjanya.



## SUMMARY

**THE ANTIBACTERIAL EFFECT OF ETHANOL EXTRACT FROM ROSELLA FLOWER (*Hibiscus sabdariffa* L.) ON THE GROWTH AND STRUCTURAL CHANGE OF CELL WALL OF METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Swaidatul Masluhiya AF

*Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) is a normal flora normally living in the skin and mucous (Jawetz, *et al.*, 1996; Stanway, 2007). *S.aureus* is the most invasive species (Gillespie and Bamford, 2008) and considered to be the only pathogen of the genus (Irianto, 2013). Many of Gram-positive bacteria which are multidrug resistant are currently discovered, and one of them is Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) (Russel and Chopra, 1990). The incidence of MRSA infection increases steadily in Asia with prevalence up to 70%, meanwhile in Indonesia (2006) the prevalence reached 23,5% (Sulistyaningsih, 2010). The cost of cure of MRSA infection was predicted 6 - 10% higher than that of *S.aureus* (Wise, 2003). The recent invention of the best medicine for MRSA was *Linesolid/Zyfox*, *Daptomycin* and *Tigecycline* which were very costly and not always available in every Health Service Center (Laura, 2009). The newly effective antibacterial drug is both expensive and with side effects, such as reaction on allergy (Forbes *et al.*, 2007). Antibacterial drug also has limited use for children and adults who have the risk of liver function and kidney function disturbances. That is why it is necessary to do a research on new antibacterial substances to minimize MRSA infection more effectively with lower cost and easily obtained.

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) is a plant originally from West India, Africa, and Middle East. All parts of this plant are consumable. Rosella is effective as antiseptic, diuretic, sedative, and tonic (Maryani and Kristina, 2008). The result of phytochemical filters of Rosella flower shows the presence of alkaloid, flavanoid, saponin and tannin which are known to have antibacterial activity (Rostinawati, 2009). The result of this study has not proven that the extract ethanol of Rosella flower can cause damage on the structure of cell wall or death of MRSA cell.

The objectives of this study are to investigate the antibacterial effect of Rosella flower ethanol extract on MRSA by *in vitro*, to investigate the relationships of giving phased concentration of Rosella flower ethanol extract and the growth obstruction of MRSA by *in vitro*, and to investigate the pictures of cell wall changes of MRSA given the ethanol extract of Rosella flower with different concentration. Three-phase laboratory experiment is conducted: (1). Extracting of Rosella flower by maceration with ethanol 96%, (2). Antibacterial test on MRSA by diluting to know the number of bacterial colonies. The ethanol extract of Rosella flower mixes with the medium of *Muller Hinton Agar* (MHA), with concentration  $1 \times 10^4$  µg/ml,  $0,5 \times 10^4$  µg/ml,  $0,25 \times 10^4$  µg/ml, and 0 µg/ml, (3). Investigation with Scanning Electron Microscope (SEM) is to investigate the structural destruction of MRSA cell wall.

The extraction process produces strong ethanol extract of Rosella flower by 28,7%. Antibacterial test on MRSA by diluting is to show that the ethanol extract of Rosella flower has antibacterial activity on MRSA with MIC on concentration by  $0,25 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$  and MBC on concentration by  $1 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$ . There is an effect of giving phased concentration of the ethanol extract of Rosella flower on obstruction of MRSA growth where the higher the extract concentration of the Rosella flower, the bigger the obstruction of MRSA growth and the fewer the number of the MRSA colonies will be. The increase of the ethanol extract concentration of Rosella flower also causes the increase of MRSA bacterial cell because the presence of the antibacterial element of Rosella flower ethanol extract, in this case the bacteria is in such hypertonic condition that the bacterial cell will expand and lysis.

In the ethanol extract of Rosella flower at concentration 0  $\mu\text{g/ml}$  (control), the cell morphology of MRSA bacteria still looks intact (normal) in coccus shape, smooth and protrudes. At concentration  $0,25 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$  the cell morphology of MRSA bacteria still looks intact in coccus shape with cell diameter size relatively bigger than that of control. At concentration  $0,5 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$  some of the MRSA bacterial cells have been in lysis condition and the cell wall of MRSA looks closely broken (rupture). Meanwhile at concentration  $1 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$ , it is predicted that the ethanol extract of Rosella flower can lysis the cell of MRSA bacteria signed with no presence MRSA growth in macroscopic observation. The potential of antibacterial, ethanol extract of rosella flower, is substantially weak against MRSA bacteria so that it is improper to be used as a therapy for MRSA infection because according to Nascimento *et al.* (2000) a natural extract is reasonably developed as antibacterial if it can hamper the growth of bacteria at concentration 10 – 500  $\mu\text{g/ml}$ . Whereas this observation results MIC by  $0,25 \times 10^4$   $\mu\text{g/ml}$ , and this is beyond the limit as an agent of MRSA antibacterial therapy. This is in accordance with the opinion of Holetz *et al.* (2002) antibacterial activity of an extract is said to have strong activity with the value of MIC less than 512  $\mu\text{g/mL}$ . Compared with the literature, the MIC value of extract of this rosella flower is dramatically high. The higher the value of MIC, the weaker the antibacterial potential will be (Forbes *et al.*, 2007).

Even though the antibacterial activity of rosella flower ethanol extract on MRSA is noticeably weak, the antibacterial activity on other bacteria needs to be observed. The following pharmaceutical observation needs to be conducted for purification, identification and quantification of active compound with antibacterial activity in rosella flower and to observe the mechanism.