

# Efek antifungi ekstrak kelopak bunga rosela terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum* in vitro

## The antifungal effect of roselle calyx extract on *Trichophyton rubrum* growth in vitro

SITA AULIA SARI, RUBEN DHARMAWAN, PARAMASARI DIRGAHAYU

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuscript received: 8 Juni 2011. Revision accepted: 4 Oktober 2011.

**Abstract.** Sari SA, Dharmawan R, Dirgahayu P. 2012. The antifungal effect of roselle calyx extract on *Trichophyton rubrum* growth in vitro. *Biofarmasi* 10: 17-22. Dermatophytosis is a fungal infection on skin that one of them caused by *Trichophyton rubrum*. Dermatophytosis treatment by using chemical drugs has many shortcomings, such as a high cost and a drug resistance. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyx content was flavonoid, which have an antifungal effect. Flavonoids on roselle calyx include anthocyanin, gossypetin (hexahydroxyflavone) 3-glucoside, flavonol glucoside hibiscritin, flavonoid gossypetin, delphinidine 3-monoglucoside, cyanidin 3-monoglucoside. The objective of this study was to determine the effect of roselle calyx on *Trichophyton rubrum* growth in vitro. The study was performed as an experimental laboratory. The object of study was *T. rubrum*. The sample of *T. rubrum* colonies in this study was taken by a random sampling. The study used *T. rubrum* colonies on seven Sabouraud Dextrose Agar plates. Each plate had four holes. Each hole was filled by aquadest as a negative control, fluconazole 25 µg/mL as a positive control, and various roselle calyx extract concentrations (10%, 20%, 30%, 40% and 50%). The plates were incubated in an incubator with a temperature of 25°C for 7 days and measured for the diameter of roselle calyx extract inhibition effect. The data were collected and analyzed by One-way ANOVA and Least Significance Difference (LSD) tests on SPSS 16.0 for Windows. The result of One-way ANOVA test showed that there was a difference of inhibition diameter mean among all of the various roselle calyx extract concentration groups ( $p < 0.05$ ). The diameter of roselle calyx extract inhibition effect increased for each concentration up to 50%. The inhibition diameter of positive control compared to 20% roselle calyx extract concentration had no a significant difference. The study was concluded that roselle calyx extract has an antifungal effect to *T. rubrum* growth in vitro.

**Keywords:** Antifungal, roselle calyx extract, *Trichophyton rubrum*

### PENDAHULUAN

Kondisi geografis Indonesia yang merupakan daerah tropis dengan suhu dan kelembapan udara yang tinggi mendukung pertumbuhan jamur, sehingga infeksi akibat jamur di Indonesia banyak ditemukan. Penyakit kulit akibat infeksi jamur di Indonesia menunjukkan prevalensi yang cukup tinggi, dan sangat disayangkan lebih banyak ditemukan pada masyarakat yang berekonomi lemah. Kondisi perekonomian yang memburuk saat ini berpengaruh dalam berbagai segi kehidupan, termasuk pada hygiene perumahan dan lingkungan, serta prioritas pemeliharaan kesehatan, yang mengakibatkan prevalensi penyakit kulit akibat infeksi jamur meningkat (Bramono 2008). Menurut data yang diperoleh dari Bagian Penyakit Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Dr. Moewardi, Surakarta, pada tahun 2009 kasus penyakit kulit akibat jamur ditemukan sebesar 40% dari jumlah seluruh kasus yang ditangani.

Penyakit kulit akibat infeksi jamur yang paling banyak dijumpai di Indonesia adalah dermatofitosis. Dermatofitosis merupakan suatu infeksi pada rambut, kulit, atau kuku yang disebabkan oleh dermatofita, antara lain *Trichophyton*, *Microsporum*, dan *Ephydermophyton*, dimana dari hasil biakan yang diperoleh dari penderita,

penyebab kasus dermatofitosis terbanyak adalah *Trichophyton rubrum* (Harahap 2000).

Meskipun dermatofitosis tidak sampai menimbulkan kematian, penyakit kulit tersebut mempengaruhi kualitas hidup seseorang akibat gatal yang mengganggu atau penampilan yang kurang baik (Bramono 2008). Namun pada kenyataannya, obat antijamur relatif sedikit apabila dibandingkan dengan obat-obat antimikroba yang lain (Pratiwi 2001). Obat yang dipakai untuk mengatasi infeksi jamur superfisial diantaranya obat dari golongan mikonazole, bifonazole, flukonazol, ketokonazole, griseofulvin, terbinafine, dan itrakonazole. Di antara obat-obatan tersebut, hanya itrakonazole yang bersifat fungisida, namun sayangnya harganya cukup mahal, sehingga tidak terjangkau oleh masyarakat ekonomi lemah, sedangkan obat yang lain bersifat fungistatik, sehingga kekambuhan dapat sering terjadi (Nasution 2005). Selain itu, telah diketahui adanya resistansi jamur dermatofit terhadap beberapa jenis obat, diantaranya griseofulvin, ketokonazol (Nasution 2005), dan terbinafin (Mukherjee et al. 2003). Berdasarkan hal tersebut, penggunaan tanaman herbal sebagai obat antijamur dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif.

Pemakaian tanaman obat cenderung meningkat seiring dengan berkembangnya industri jamu atau obat tradisional,

kosmetik, farmasi, makanan, dan minuman (Cheppy dan Hernani 2002). Salah satu jenis tanaman obat yang populer akhir-akhir ini adalah rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, diantaranya dapat memperlambat pertumbuhan jamur, bakteri, atau parasit (Buana et al. 2008). Hal ini diduga karena adanya kandungan flavonoid yang dimilikinya. Kelopak bunga rosela mengandung beberapa senyawa flavonoid, seperti *anthocyanin*, *gossyptin* (*hexahydroxyflavone*) *3-glucoside* (Bisset 1994), *flavonol glucoside hibiscitrin*, *flavonoid gossyptin*, *delphinidine 3-monoglucoside*, dan *cyandin 3-monoglucoside* (Maryani dan Kristiana 2005). Senyawa-senyawa flavonoid tersebut memiliki aktivitas biologis sebagai antibakteri, antijamur, antiviral, antiprotozoa, antioksidan, dan antiinflamasi (Cushnie dan Lamb 2005; Hughes et al. 2008).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antifungi ekstrak kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum* secara in vitro.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Setia Budi, Surakarta dan Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

### Alat dan bahan

Alat-alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri dengan diameter 10 cm, Ose kolong, *autoclave*, inkubator, pipet mikron, Bunsen, tabung reaksi, alat pembuat sumuran berdiameter 6 mm, pipet ukur 0,01 mL, penggaris, standar 0,5 McFarland, dan timbangan digital. Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan meliputi *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), biakan *T. rubrum*, ekstrak kelopak bunga rosela, akuades steril, kapsul flukonazol, kloramfenikol, dan NaCl 0,9%.

### Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

### Subjek penelitian

Subjek dari penelitian ini yaitu berupa biakan *T. rubrum* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

### Teknik sampling

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *random sampling* (Utarini dan Trisnantoro 2000). Sampel yang dipilih yaitu biakan *T. rubrum* dalam agar miring berumur 7 hari. Koloni *T. rubrum* diambil untuk diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai kekeruhannya ekuivalen dengan standarisasi 0,5 McFarland (Santos et al. 2006).

### Cara kerja

#### Pembuatan ekstrak

Kelopak bunga rosela dibuat serbuk dengan mesin pembuat serbuk dengan lubang saringan berdiameter 1 mm.

Kemudian serbuk kelopak bunga rosela ditambah dengan etanol 70%, diaduk selama 30 menit, didiamkan selama 24 jam, lalu disaring. Proses tersebut diulang sebanyak tiga kali. Selanjutnya, ampas dipisahkan dengan filtratnya. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator*, pada pemanas *waterbath* bersuhu 70°C. Dari proses tersebut diperoleh ekstrak kental, yang kemudian dituang ke dalam cawan porselin dan dipanaskan dengan pemanas *waterbath* sambil terus diaduk.

Setelah proses ekstraksi selesai akan didapatkan ekstrak kelopak bunga rosela. Pembuatan ekstrak dilaksanakan di LPPT Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

#### Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela yang selanjutnya digunakan pada penelitian.

#### Pembuatan media agar

Sebanyak 5,85 gram serbuk SDA ditambah dengan 90 mL akuades, kemudian diaduk dan dipanaskan.

#### Pembuatan larutan kloramfenikol

Setiap 1000 mL SDA ditambahkan 400 mg kloramfenikol. Dengan demikian, kloramfenikol yang diperlukan untuk pembuatan 90 mL SDA adalah  $(90 \text{ mL}/1000 \text{ mL}) \times 400 \text{ mg} = 36 \text{ mg}$ . Setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 mL NaCl 0,9 %, sehingga NaCl 0,9% yang diperlukan yaitu sebesar  $(36 \text{ mg}/250 \text{ mg}) \times 10 \text{ mL} = 1,44 \text{ mL}$  (Bridson 1998). Penambahan larutan kloramfenikol ke dalam SDA cair bertujuan untuk mencegah tumbuhnya kuman kontaminan (Bridson 1998).

*Sabouraud Dextrose Agar* cair disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit bersama peralatan lain yang akan digunakan. SDA cair yang telah diautoclave selanjutnya dituang ke dalam tiga buah cawan petri yang telah disterilkan dan dibiarkan dingin.

#### Penanaman *Trichophyton rubrum*

Biakan hasil subkultur dari *T. rubrum* diambil dengan menggunakan ose steril dan dipindah ke dalam larutan NaCl 0,9% sampai mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan 0,5 standar McFarland (Santos et al. 2006). Kemudian sebanyak 0,2 mL sampel cair *T. rubrum* dituang ke masing-masing cawan petri yang berisi SDA dan diratakan.

Pada setiap *plate*, ke dalam sumuran-sumuran dimasukkan 0,05 mL ekstrak kelopak bunga rosela dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Sebanyak 0,05 mL flukonazol 25 µg (Ellis 2009) digunakan sebagai kontrol positif (+) dan akuades sebagai kontrol negatif (-) (Ngane et al. 2006).

Semua cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 25°C selama 5-7 hari (Ngane et al. 2006). Zona jernih di sekeliling sumuran selanjutnya diukur dengan menggunakan penggaris.

### Tahap penelitian

Penentuan besar sampel dihitung dengan rumus Federer (Olaleye 2007) sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) > 15$$

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

Oleh karena pada penelitian ini digunakan delapan kelompok perlakuan maka:  $n > 3,5$

Dari perhitungan tersebut, setiap kelompok perlakuan minimal harus memiliki 4 sampel. Dengan demikian pada penelitian ini digunakan 4 sampel untuk masing-masing kelompok perlakuan.

### Pembuatan media Sabouraud Dextrose Agar

Sebanyak 13,65 gram serbuk SDA ditambah dengan 210 mL akuades, kemudian diaduk dan dipanaskan. Kloramfenikol ditambahkan ke dalam SDA cair untuk mencegah tumbuhnya kuman kontaminan (Bridson 1998).

Setiap 1000 mL SDA ditambah dengan 400 mg kloramfenikol. Dengan demikian, kloramfenikol yang diperlukan untuk 330 mL SDA cair yaitu:  $(210 \text{ mL}/1000 \text{ mL}) \times 400 \text{ mg} = 84 \text{ mg}$ . Selanjutnya, setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 mL NaCl 0,9%, sehingga NaCl 0,9% yang diperlukan yaitu sebesar:  $(84 \text{ mg}/250 \text{ mg}) \times 10 \text{ mL} = 3,36 \text{ mL}$  (Bridson 1998).

Larutan kloramfenikol ditambahkan ke dalam SDA cair untuk mencegah tumbuhnya kuman kontaminan (Bridson 1998). SDA cair disterilkan dengan *autoclave* pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit bersama dengan peralatan lain yang akan digunakan. SDA cair selanjutnya dituang ke dalam 7 buah cawan petri yang telah disterilkan dan dibiarkan dingin. Setelah itu dibuat 4 sumuran pada masing-masing *plate* dengan diameter 6 mm.

### Penanaman biakan *Trichophyton rubrum*

Sebanyak 0,2 mL sampel cair biakan *T. rubrum* yang setara dengan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland dituang ke masing-masing cawan petri yang berisi SDA. Cawan petri digoyang untuk meratakan koloni (Santos et al. 2006). Ekstrak kelopak bunga rosela diencerkan dengan akuades sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan berdasarkan hasil penelitian pendahuluan. Jumlah perlakuan yang dilakukan sebanyak lima kelompok perlakuan.

Masing-masing sumuran diisi dengan 0,05 mL akuades sebagai kontrol negatif, 0,05 mL ekstrak kelopak bunga rosela dengan 5 taraf konsentrasi yang berbeda, dan 0,05 mL flukonazol  $25 \mu\text{g}$  sebagai kontrol positif. Setiap kelompok perlakuan diuji dalam 4 sumuran. Semua cawan petri kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu  $25^\circ\text{C}$  selama 5-7 hari (Ngane et al. 2006). Diameter zona jernih di sekeliling sumuran diukur dengan menggunakan penggaris.

### Analisis data

Analisis data dilakukan dengan membandingkan diameter zona hambat di sekeliling sumuran yang

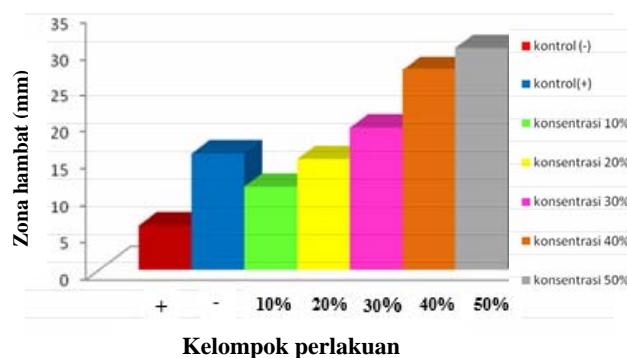
menggambarkan efek antifungi ekstrak kelopak bunga rosela pada berbagai konsentrasi. Data yang diperoleh selanjutnya diolah dengan menggunakan uji statistik parametrik berupa *One-Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test LSD*. Uji ANOVA dilakukan untuk membandingkan rata-rata diameter zona hambat dari ketujuh kelompok sekaligus, sehingga dapat diketahui apakah ketujuh kelompok perlakuan memiliki rata-rata diameter zona hambatan yang berbeda secara signifikan atau tidak, dan untuk membandingkan perbedaan antara masing-masing kelompok perlakuan dilakukan uji LSD. Data selanjutnya diolah dengan menggunakan Program *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 16.0 for Windows*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil penelitian

Dari hasil uji pendahuluan terlihat bahwa diameter zona hambatan pada konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela 20% menunjukkan hasil yang paling mendekati hasil diameter zona hambatan kontrol positif, sehingga konsentrasi 20% dipakai menjadi dasar atau acuan untuk menentukan konsentrasi yang dipakai pada penelitian yang sesungguhnya. Uji pendahuluan dilanjutkan dengan uji penelitian dengan memakai konsentrasi 10% hingga 50% dengan interval 10%, diharapkan semakin pendek intervalnya maka dapat diperoleh hasil yang lebih baik. Hasil uji penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada Gambar 1 dapat dilihat adanya perbedaan diameter zona hambatan yang menunjukkan perbedaan efek antifungal pada masing-masing kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan ekstrak kelopak bunga rosela tampak bahwa efek antifungal terhadap pertumbuhan *T. rubrum* secara *in vitro* meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela yang digunakan. Kontrol negatif dengan menggunakan akuades steril tidak menunjukkan adanya efek antifungi, dengan angka 6 mm pada Gambar 1 merupakan diameter sumuran, bukan merupakan diameter zona hambatan.



**Gambar 1.** Diagram rata-rata zona hambatan berbagai konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela

Data hasil penelitian pada Tabel 2 yang berupa diameter zona hambatan dianalisis dengan uji *One-way ANOVA* yang kemudian dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test* berupa uji *Least Significance Difference (LSD)*. Data diolah dengan Program *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 16.00 for Windows*.

#### *Uji One-way ANOVA*

Perbedaan rata-rata diameter zona hambatan antara seluruh kelompok perlakuan dianalisis secara statistik dengan uji *One-way ANOVA* dan didapatkan  $p < 0,05$ , sehingga dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan rata-rata zona hambatan yang signifikan di antara ketujuh kelompok perlakuan.

#### *Uji Least Significance Difference (LSD)*

Oleh karena terdapat perbedaan yang signifikan di antara kesembilan kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test* berupa uji *LSD* untuk membandingkan rata-rata diameter zona hambatan antar kelompok perlakuan, sehingga dapat diketahui kelompok yang berbeda secara signifikan dengan kelompok lain.

Hasil uji *LSD* menunjukkan perbandingan rata-rata diameter zona hambatan kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok lainnya. Perbandingan rata-rata diameter zona hambatan kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok, kecuali dengan kelompok konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela 20%. Perbandingan rata-rata diameter zona hambatan pada kelompok konsentrasi 10% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok. Perbandingan rata-rata diameter zona hambatan kelompok konsentrasi 20% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok, kecuali dengan kelompok kontrol positif. Perbandingan rata-rata diameter zona hambatan kelompok 30% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok. Perbandingan rata-rata diameter zona hambatan kelompok 40% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok. Perbandingan rata-rata diameter zona hambatan kelompok konsentrasi 50% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

#### **Pembahasan**

Pada tahap persiapan, telah dilakukan uji pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela yang akan digunakan dalam penelitian. Pada uji pendahuluan, ekstrak kelopak bunga rosela dibuat dalam 4 konsentrasi, yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80% (Olaleye 2007). Selain itu, pada uji pendahuluan juga digunakan kontrol positif flukonazol 25 µg/mL. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi standar yang biasa digunakan untuk uji sensitivitas flukonazol terhadap *T. rubrum* secara *in vitro*, dimana flukonazol dapat memberikan hasil yang positif (Ellis 2009). Dari hasil uji pendahuluan ini selanjutnya ditentukan konsentrasi ekstrak yang memberi hasil yang mendekati hasil pada kontrol positif. Berdasarkan hasil uji pendahuluan (Tabel 1), diameter zona hambatan pada konsentrasi 20% merupakan

hasil yang paling mendekati diameter zona hambatan pada kelompok kontrol positif, sehingga konsentrasi 20% dipakai sebagai dasar atau acuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak yang selanjutnya dipakai dalam uji penelitian. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini dimulai dari konsentrasi 10% hingga 50% dengan interval 10%, diharapkan semakin pendek interval konsentrasi maka dapat diperoleh hasil yang lebih optimal.

Pada penelitian ini, biakan *T. rubrum* dibagi dalam tujuh kelompok yang masing-masing diberi perlakuan yang berbeda. Kelompok pertama diberi perlakuan dengan akuades steril sebagai kontrol negatif, kelompok kedua diberi flukonazol 25 µg/mL sebagai kontrol positif, sedangkan kelompok ketiga sampai ketujuh masing-masing diberi ekstrak kelopak bunga rosela dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades steril. Berdasarkan hasil pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa pada kelompok pertama yang menggunakan akuades steril sebagai kontrol negatif tidak terdapat zona hambatan. Biakan *T. rubrum* yang diberi perlakuan dengan kontrol negatif berupa akuades steril memperlihatkan pertumbuhan merata di sekitar sumuran. Hal ini menunjukkan bahwa sampel *T. rubrum* yang digunakan untuk penelitian tumbuh dengan baik.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah flukonazol, karena telah terbukti bekerja secara tepat dan efektif untuk pengobatan infeksi jamur, baik secara superficial maupun sistemik (Adiguna 2004). Konsentrasi flukonazol yang dipakai pada kontrol positif adalah konsentrasi yang menunjukkan hasil sensitif pada uji sensitivitas terhadap *T. rubrum* secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi, yaitu konsentrasi 25 µg/mL (Ellis 2009). Mekanisme antifungi flukonazol adalah dengan mengganggu struktur dan fungsi membran sel jamur. Flukonazol mampu menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama penyusun membran sel jamur. Berkurangnya ergosterol akan menyebabkan membran sel jamur menjadi tidak stabil, sehingga akan terjadi kebocoran komponen-komponen penting dalam sel. Kebocoran komponen-komponen penting dalam sel jamur tersebut akan mengganggu metabolisme sel jamur, sehingga pertumbuhan jamur menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel jamur.

Hasil penelitian pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosela memiliki efek antifungi terhadap *T. rubrum* secara *in vitro*. Hal ini sesuai dengan hipotesis awal yang menyebutkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosela memiliki efek antifungi terhadap *T. rubrum* secara *in vitro*. Efek antifungi ditunjukkan dengan adanya zona hambatan yang terbentuk pada kelompok perlakuan ekstrak kelopak bunga rosela pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela yang digunakan, semakin besar rata-rata diameter zona hambatan yang dihasilkan. Hal ini juga dapat dinyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela yang digunakan maka semakin tinggi efek antifungi yang dihasilkan.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran diameter zona hambatan *Trichophyton rubrum* pada uji pendahuluan

Ulangan	Diameter Zona Hambatan (mm)*					
	Kontrol Negatif (Akuades Steril)	Ekstrak kelopak bunga Rosela				Kontrol Positif (Flukonazol 25 µg)
		20%	40%	60%	80%	
I	6	14	27	34	40	17
II	6	15	27	33	39	15
Rata-rata	6	13,5	27	33,5	39,5	16

\*Keterangan: Pengukuran diameter zona hambatan termasuk diameter sumuran 6 mm

**Tabel 2.** Hasil pengukuran diameter zona hambatan *Trichophyton rubrum* pada uji penelitian

Ulangan	Diameter zona hambatan (mm) *						
	Kontrol Negatif (Akuades Steril)	Kontrol Positif (Flukonazol 25 µg/mL)	Ekstrak Kelopak Bunga Rosela				
			10%	20%	30%	40%	50%
I	6	16	10	16	20	28	30
II	6	15	12	14	20	28	30
III	6	17	11	15	18	26	29
IV	6	15	12	15	19	27	32
Rata-rata	6	15,75	11,25	15	19,25	27,25	30,25

\*Keterangan: Pengukuran diameter zona hambatan termasuk diameter sumuran 6 mm

**Tabel 3.** Hasil uji statistik *One-way ANOVA*

	Diameter Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1762,357	6	293,726	347,507	0,000
Within Groups	17,750	21	0,845		
Total	1780,107	27			

Uji *One-way ANOVA* digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata diameter zona hambatan yang signifikan pada ketujuh kelompok perlakuan. Hasil analisis yang disajikan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa perbedaan rata-rata diameter zona hambatan pada ketujuh kelompok perlakuan berbeda secara signifikan dengan  $p < 0,05$ , yang menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosela mempunyai pengaruh yang berbeda di setiap konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *T. rubrum* secara *in vitro*.

Berdasarkan hasil uji *LSD*, terlihat bahwa kelompok kontrol negatif (akuades steril) memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan akuades steril tidak mempunyai efek

antifungal terhadap *T. rubrum*. Kelompok kontrol positif juga memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok, kecuali dengan kelompok perlakuan ekstrak kelopak bunga rosela dengan konsentrasi 20%. Demikian juga pada kelompok perlakuan ekstrak kelopak bunga rosela dengan konsentrasi 20%, pada konsentrasi tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan, kecuali dengan kontrol positif. Pemberian 0,05 mL ekstrak kelopak bunga rosela dengan konsentrasi 20% menghasilkan zona hambatan yang hampir sama dengan pemberian 0,05 mL flukonazol dengan konsentrasi 25 µg/mL. Meskipun sedikit berbeda (sedikit lebih besar pada flukonazol), dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kedua kelompok tersebut memiliki efek antifungal yang tidak berbeda secara signifikan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosela dengan konsentrasi 20% memiliki keefektifan yang sama dengan flukonazol 25 µg/mL dalam menghambat pertumbuhan jamur *T. rubrum* secara *in vitro*. Adapun pada kelompok perlakuan ekstrak kelopak bunga rosela pada konsentrasi 10%, 30%, 40%, dan 50% masing-masing memiliki perbedaan hasil yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

Dari hasil penelitian ini, ekstrak kelopak bunga rosela dapat digunakan sebagai alternatif terapi untuk infeksi jamur dermatofitosis, khususnya jamur *T. rubrum*. Penggunaan ekstrak kelopak bunga rosela untuk mengatasi infeksi dermatofitosis tersebut dapat digunakan secara topikal maupun sistemik, namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis terapi yang tepat dan dosis toksiknya. Ekstrak tanaman rosela tergolong memiliki derajat toksisitas yang rendah. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada tikus, ekstrak kelopak bunga rosela memiliki dosis letal pada dosis di atas 5000 mg/kg. Selain itu, pemakaian yang lama dan dengan dosis tinggi juga dilaporkan mengganggu testis dari tikus (Ali et al. 2005).

Efek antifungi yang dihasilkan oleh kelopak bunga rosela pada penelitian ini diduga disebabkan karena kelopak bunga rosela mengandung beberapa senyawa flavonoid, seperti anthocyanin, gossyptin (hexahydroxyflavone) 3-glucoside (Bisset 1994), flavonol glucoside hibiscritin, flavonoid gossyptin, delphinidine 3-monoglucoside, dan cyanidin 3-monoglucoside (Maryani dan Kristiana 2005). Pada penelitian ini tidak dilakukan ekstraksi dengan isolasi zat flavonoid, namun pada ekstraksi digunakan pelarut etanol yang akan melarutkan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polar, oleh karena itu flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, dimetilformamid, dan air (Arini et al. 2003). Etanol akan menguap dalam proses ekstraksi, sehingga tidak akan mempengaruhi hasil penelitian. Flavonoid disintesis tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi mikroorganisme, oleh karena itu flavonoid merupakan senyawa antimikrobia yang efektif (Al-Bayati dan Al-Mola 2008). Aktivitas biologis yang dimiliki oleh flavonoid diantaranya antibakteri, antijamur, antivirus, antiprotozoa, antioksidan, dan antiinflamasi (Cushnie dan Lamb 2005). Mekanisme antifungi antara flukonazol dan

ekstrak kelopak bunga rosela dalam menghambat pertumbuhan jamur pada dasarnya sama, yaitu senyawa flavonoid dapat mengganggu struktur dan fungsi membran sel jamur. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan jamur menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel jamur. Gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen dari membran sel jamur dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap jamur (Sabir 2005; Salwa dan Neimat 2007; Lima et al. 2008).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Olaleye (2007) telah dibuktikan bahwa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak metanol kelopak bunga rosela juga merupakan senyawa antibakteri yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marsecens*, *Clostridium sporogens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, dan *Pseudomonas fluorescens*. Selain itu, antosianin yang terkandung dalam kelopak bunga rosela juga memiliki efek kardioprotektif (Jonadet 1990), hipokolesterolemi (Chen et al. 2003), antioksidan, dan hepatoprotektif (Wang et al. 2000).

## KESIMPULAN

Ekstrak kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa*) memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum* secara in vitro, sehingga dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif terapi pada penyakit infeksi dermatofitosis, terutama infeksi jamur *T. rubrum*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiguna MS. 2004. Epidemiologi dermatomikosis di Indonesia. Dermatomikosis Superfisialis. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Al-Bayati FA, Al-Mola HF. 2008. Antibacterial and antifungal activities of different part of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq. J Zhejiang Univ Sci B 9 (2): 154-159.
- Ali BH, Wabel NA, Blunden G. 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L. Phytother Res 19 (5): 369-375.
- Arini S, Nurmawan D, Alfiani F et al. 2003. Daya antioksidan dan kadar flavonoid hasil ekstraksi etanol-air daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.). Buletin Penalaran Mahasiswa UGM 10 (1): 2-6.
- Bisset NG. 1994. Herbal drug and phytopharmaceuticals. Medpharm GmbH Scientific Publisher, Stuttgart.
- Bramono K. 2008. Dermatomikosis dan infeksi HIV/AIDS: Sebagai masalah dan sebagai petunjuk? <http://perdoski.org/>. [8 September 2009].
- Bridson EY. 1998. The oxoid manual. 8<sup>th</sup> edition. Oxoid Limited Hampshire, England.
- Buana MF, Indrianto N, Setyawati L et al. 2008. Budidaya rosela merah (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai makanan tambahan yang bergizi tinggi dan apotek hidup di pekarangan rumah. Program Kreativitas Mahasiswa.
- Chen CC, Hsu JD, Wang SF et al. 2003. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibit the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. J Agric Food Chem 51 (18): 5472-5477.
- Cheppy S, Hernani. 2002. Budidaya tanaman obat komersial. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Chusnie TP, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents 26 (5): 343-356.
- Ellis D. 2009. Antifungal susceptibility testing. [www.mycology.adelaide.edu.au/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/). [30 Januari 2009].
- Harahap M. 2000. Ilmu penyakit kulit. Hipokrates, Jakarta.
- Hughes NM, Vogelmann TC, Smith WK. 2008. Optical effects of abaxial anthocyanin on absorption of red wavelengths by understory species: Revisiting the back-scatter hypothesis. J Exp Bot 59 (12): 3435-3442.
- Jonadet M, Bastide J, Bastide P. 1990. In vitro enzyme inhibitory and in vivo cardio-protective activities of *Hibiscus sabdariffa* L. J Pharm Belg 45 (2): 120-124.
- Lima B, Aguero MB, Zydaglo J et al. 2008. Antimicrobial activity of extracts, essential oil and metabolites obtained from tagetes Mendocina. J Chil Chem Soc.
- Maryani H, Kristiani L. 2005. Khasiat dan manfaat rosela. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N et al. 2003. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. Antimicrob Agents Chemother 47 (1): 82-86.
- Nasution MA. 2005. Mikrobiologi dan mikologi kedokteran: Beberapa pandangan dermatologis. [www.usu.ac.id](http://www.usu.ac.id/). [8 September 2009].
- Ngane AN, Etame RE, Ndifor F et al. 2006. Antifungal activity of *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson (Asteraceae) of Cameroon. Chemotherapy 52: 103-106.
- Olaleye MT. 2007. Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. J Med Plant Res 1 (1): 9-13.
- Pratiwi SF. 2001. Uji daya antijamur minyak atsiri beberapa spesies suku Zingiberaceae. Pharmacoon 2: 46-50.
- Sabir A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp. terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). Majalah Kedokteran Gigi 38: 135-141.
- Salwa AA, Neimat AE. 2007. The effect of Egyptian honeybee propolis on growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. J Dairy Res 74: 74-78.
- Santos DA, Barros MES, Hamdan JS. 2006. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. J Clin Microbiol 44: 98-101.
- Utarni A, Trisnantoro L. 2000. Catatan kuliah metode penelitian. Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wang CJ, Wang JM, Lin WL et al. 2000. Protective effect of *Hibiscus* anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. Food Chem Toxicol 38 (5): 411-416.