

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bunga Kembang Sepatu (*Rosa sinensis*)

Kembang sepatu (*Rosa sinensis*) adalah salah satu tanaman hias berbunga yang paling indah dan dapat ditemukan di berbagai tempat, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi. Kembang sepatu memiliki berbagai jenis warna bunga yang indah. Bunga-bunga berwarna kuning, pink, jingga dan merah. Tanaman ini hanya bertahan segar satu hari, dari pagi hari hingga sore. Tanaman ini dapat berbunga walaupun tidak bertahan lama, terutama di tempat yang cukup cahaya dan penyiraman. Tumbuhan bunga ini, memiliki putik dan benang sari dalam satu bunga, sehingga sering disebut bunga banci. Serbuk sari adalah struktur reproduksi jantan yang dihasilkan oleh tumbuhan berbunga di ruang sari (*theca*) yang telah dewasa (Ode Nursia dkk., 2016)

Rosa sinensis juga salah satu anggota famili *malvaceae*, dan dikenal sebagai bunga kembang sepatu, memiliki berbagai warna, bentuk, dan ukuran bunga. Tanaman ini berbunga sepanjang tahun dan tersebar luas di mana-mana, bahkan di daerah tropis dan subtropis. Walau bunganya tidak tahan lama, kembang sepatu sangat indah dan memiliki banyak manfaat, salah satunya seperti menjadi pewarna alami untuk makanan dan minuman karena kembang sepatu mengandung mineral vitamin C dan zat antioksidannya yang baik untuk kesehatan manusia (Rahmawati dkk., 2015)

2.1.1 Morfologi Dan Klasifikasi Bunga Kembang Sepatu

Rosa sinensis, yang sering disebut bunga kembang sepatu, adalah bunga yang sangat umum di Indonesia. Bunga kembang sepatu sering ditemukan dengan berbagai warna mahkota bunga. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Febrionny dkk. (2019), sebagian besar varietas *Malvaceae* di Taman Eden 100 terletak di Kawasan Lumbang Rang, Desa Sionggang Utara, Kecamatan Lumban Julu, Kabupaten Toba Samosir, Sumatera Utara. didominasi oleh *Hibiscus sp* (Febrionny dkk., 2023)



Gambar 2.1 Tanaman Bunga Kembang Sepatu (*Rosa sinensis*)

Bunga kembang sepatu adalah tumbuhan yang bercabang banyak dan dapat mencapai tinggi antara satu dan empat meter. Bunga tunggal atau ganda berwarna merah, merah jambu, jingga, atau putih dapat ditemukan dari berbagai kultivar dan hibrida. Satu daun dengan pangkal runcing dan berbentuk bulat telur oval dengan ujung meruncing dan tepi bergerigi kasar. Ada tujuh tangkai daun berwarna coklat kemerahan dengan panjang 0,5–2,5 cm dan lebar 2-4 cm. Bunga tunggal keluar dari ketiak daun, tegas atau sedikit menggantung, dengan tangkai bunga beruas dan daun penumpu berbentuk garis (Fatimah., 2022)

2.1.2 Klasifikasi Bunga Kembang Sepatu

Menurut Fatimah (2022) Klasifikasi tanaman *Rosa sinensis* ialah:

Kerajaan : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Malvales*
Famili : *Malvaceae*
Genus : *Hibiscus L.*
Spesies : Kembang sepatu

2.2 Kandungan Bunga Kembang Sepatu

Kembang sepatu memiliki flavonoida di bagian bunga, daun, dan akarnya. Bagian bunga kembang sepatu juga mengandung polifenol dan saponin, tanin, skopoletin, cleomiscosin A dan C dan daunnya mengandung polifenol dan saponin (Efendi dkk., 2021). Bunga sepatu memiliki beragam senyawa, seperti phlobatannin, terpenoid, saponin, flavonoid, dan senyawa lain seperti tiamin, niasin dan riboflavin. Beberapa varietas bunga sepatu yang berbeda dikenal mengandung glukosida, flavonoid, pitosterol, terpenoid, tanin, dan senyawa fenolik, yang memberikan kontribusi pada efek farmakologis pada masing-masing tanaman. Meskipun warna bunga bervariasi, kandungan fitokimia mereka sangat serupa. Bunga sepatu kaya akan antosianin, sejenis flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang kuat. (Fatimah., 2022)

2.2.1 Flavonoid

Menurut *Principles of Herbal Pharmacology*, (2013) Flavonoid merupakan bagian dari kelompok senyawa fenolik yang tersebar luas di alam tumbuhan. Sebagaimana diamati pada komponen biologis nonnutrien lainnya, flavonoid dapat memengaruhi efek fisiologis yang diinginkan dan tidak diinginkan pada manusia. Flavonoid sangat umum dan tersebar di seluruh dunia tumbuhan, berfungsi sebagai pigmen yang menentukan warna banyak bunga dan buah. Kata "flavonoid" berawal dari bahasa Latin "flavus" yang memiliki arti kuning, meskipun banyak flavonoid yang berwarna putih, dan ada pula antosianin yang termasuk dalam flavonoid berwarna merah, biru, atau ungu. Flavonoid juga hadir dalam daun, di mana dikatakan melindungi jaringan tanaman dari dampak merugikan radiasi ultraviolet.

2.2.2 Antosianin

Antosianin ialah salah satu pigmen yang terdapat dalam tumbuhan dan memiliki potensi untuk digunakan sebagai pewarna alami pada bahan makanan, serta memiliki kemampuan untuk menggantikan pewarna sintetis. Antosianin menghasilkan warna merah gelap hingga biru pada bunga, buah, dan tanaman. Selain menjadi pewarna alami, antosianin juga termasuk dalam kelompok senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan alami. Senyawa antosianin ini berperan sebagai pembentuk warna, seperti yang terkandung dalam ekstrak bunga sepatu, yang dapat berfungsi sebagai pigmen dalam proses pewarnaan dasar. (Abdulrahman dkk., 2020).

Struktur kimia antosianin terdiri dari dua gugus fenil yang dihubungkan oleh sebuah rantai karbon yang mengandung oksigen. Semua dua puluh jenis antosianin masing-masing memiliki lima belas atom karbon (C15) di luar gugus substitusinya. Gugus substitusi R3' dan R5' dari pigmen sianidin dibuat dengan menambah atau mengurangi gugus hidroksil. Hal ini mempengaruhi kestabilan dan warna antosianin (Fatimah., 2022)

2.2.3 Tanin

Secara mikroskopis, tanin yang bersifat fenolik akan muncul sebagai partikel-partikel berwarna yang memiliki ukuran yang sangat kecil. Tanin dapat ditemukan di berbagai bagian tumbuhan, contohnya pada jaringan pelindung seperti peridermis, jaringan pengangkut, buah yang belum matang, kulit biji, dan jaringan yang terbentuk akibat serangan penyakit. Tanin dapat ditemukan dalam sel biasa atau dalam lamidioblas. Ini dapat ditemukan dalam sitoplasma dalam bentuk tetes atau dalam vakuola di dalam sel. Tanin masuk dengan mudah ke dalam lapisan sel seperti jaringan gabus, melindungi tumbuhan dari pembusukan, kerusakan, dan kehilangan air (Prastiwi, 2021)

2.3 Ekstraksi Bunga Kembang Sepatu

Proses ekstraksi menggunakan pelarut yang tepat untuk membedakan zat dari campuran. Selama proses ekstraksi, pelarut menyebar hingga mencapai bahan padat tumbuhan. Proses ekstraksi berakhir ketika konsentrasi senyawa dalam pelarut dan sel tanaman seimbang. Beberapa metode umum yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa organik dari bahan alam meliputi maserasi, perkolasi, sokletasi, reflux, dan destilasi uap. Pada penelitian ini, menggunakan metode maserasi dan evaporasi menggunakan rotary evaporator (Prastiwi, 2021)

2.3.1 Maserasi Ekstrak Kembang Sepatu

Metode yang paling umum digunakan adalah maserasi. Metode maserasi dapat digunakan di skala industri maupun skala kecil. Proses ini dilakukan dengan menempatkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Ekstraksi berakhir ketika konsentrasi senyawa dalam pelarut dan sel tanaman mencapai keseimbangan. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel melalui penyaringan. Kelemahan utama dari

metode maserasi adalah waktu yang diperlukan cukup lama, penggunaan pelarut yang cukup banyak, serta kemungkinan kehilangan sebagian senyawa. Selain itu, beberapa senyawa mungkin sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun, maserasi memiliki keunggulan dalam melindungi senyawa yang bersifat termolabil dari kerusakan. (Mukhriani, 2014)

2.3.2 *Ultrasound Assisted Extraction (UAE)*

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) adalah metode ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik pada sampel yang akan diekstraksi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa teknik ini dapat digunakan untuk mengekstraksi bahan kimia yang berasal dari berbagai bagian tanaman, seperti alkaloid, flavonoid, polisakarida, protein, dan minyak esensial, selain mempercepat dan mengurangi kerusakan komponen (Fatimah., 2022). Teknik ini adalah teknik maserasi yang diubah dengan bantuan *ultrasound* (sinyal frekuensi tinggi 20 kHz). Wadah ultrasonik dan ultrasound digunakan untuk menyimpan wadah yang mengandung butiran sampel. Ini dilakukan untuk menempatkan tekanan mekanik pada sel sampel sehingga terbentuk rongga. Kerusakan sel dapat menghasilkan senyawa yang lebih larut dalam pelarut dan hasil ekstraksi yang lebih baik (Mukhriani, 2014)

2.3.3 *Rotary Evaporator*

Setelah proses ekstraksi, *Vacuum Rotary Evaporator* memisahkan bahan dengan pelarut, memberikan ekstrak yang dibutuhkan. Penggunaan alat ini cukup sederhana, bahan yang dibutuhkan diletakkan dalam labu, kemudian dipanaskan dengan bantuan penangas dan diputar. Proses ini menghasilkan uap cairan yang kemudian didinginkan menggunakan pendingin, yang juga dikenal sebagai kondensor. Salah satu keunggulan alat ini adalah kemampuannya untuk mengumpulkan kembali pelarut yang telah menguap. Selain itu, hasil yang diperoleh sangat teliti karena metode vakum rotasi evaporator bekerja dengan cara memanaskan larutan, mengurangi tekanan, dan memutar labu secara perlahan sehingga pelarut mudah menguap. Senyawa yang larut dalam pelarut tidak menguap tetapi mengendap di bawah titik didih pelarut, mencegah senyawa yang terkandung dalam pelarut rusak oleh suhu tinggi. Sampel yang dihasilkannya memiliki kemurnian yang lebih tinggi dan memiliki sistem separasi yang lebih

cepat. Ekstrak kasar yang dihasilkan dari proses tersebut adalah padatan atau cairan (Arin, 2018)

2.4 Pewarnaan Bakteri

2.4.1 Pewarnaan Sederhana

Bakteri terdiri dari dua jenis berdasarkan lapisan permukaannya, ialah bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki lapisan sel yang relatif tebal, yang memungkinkan polimer dinding sel lain seperti peptidoglipid, asam teikoat, dan polisakarida melekat pada peptidoglikan secara kovalen. Sedangkan, bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan biasanya terdiri dari lapisan tunggal tipis yang ditutupi dengan lapisan ganda lipid yang terbuat dari lipopolisakarida. Salah satu metode untuk mengidentifikasi bakteri adalah melalui pewarnaan. Pewarnaan bakteri dilakukan agar sel bakteri dapat dikenali dengan lebih jelas, karena biasanya bakteri tidak memiliki warna (transparan). Pewarnaan bakteri meliputi perwarnaan sederhana dan pewarnaan kompleks (bertingkat) seperti pewarnaan gram. Pewarnaan sederhana dapat digunakan semua jenis bakteri dengan tujuan untuk mengetahui morfologi sel, seperti bentuk dan ukuran bakteri. Pewarnaan ini juga disebut sebagai teknik perwarnaan sederhana karena hanya menggunakan satu jenis zat pewarna bakteri seperti, *methylen blue*, *crystal violet* dan *safranin* (Kurniawati et al., n.d. 2023).

Pewarnaan sederhana merupakan jenis pewarnaan yang sangat populer karena mudah dan cepat. Pewarnaan sederhana dapat digunakan untuk membedakan berbagai jenis morfologi, seperti kokus, basil, spirillum, dan sebagainya. Pewarnaan sederhana menggunakan satu jenis zat warna untuk mewarnai sel-sel bakteri. Kebanyakan bakteri lebih mudah terwarnai dengan metode ini karena sitoplasma mereka bersifat basofilik (menyukai zat basa), sedangkan zat warna yang digunakan dalam pewarnaan sederhana umumnya bersifat alkalin (dengan komponen kromoforik yang bermuatan positif) (Prastiwi., 2021)

2.4.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram adalah tahap pertama dalam mengidentifikasi bakteri. Tujuan pewarnaan gram adalah untuk mengidentifikasi sifat gram dan bentuk

bakteri. Bakteri terbagi menjadi dua kelompok: bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Pewarnaan Gram menghasilkan perbedaan warna yang didasarkan pada jenis lapisan sel bakteri. Dalam pewarnaan gram, empat jenis reagen digunakan: fuchsin alkali, iodine, alkohol, dan kristal violet. Perbedaan dalam struktur dinding sel bakteri menentukan hasil dari pewarnaan Gram. Ini menyebabkan perubahan dalam permeabilitas zat warna serta penambahan cairan pencuci. Lapisan sel bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal, sementara lapisan sel bakteri gram negatif memiliki lapisan lipid yang tebal. Namun, ketika dinding sel bakteri gram negatif disiram alkohol, kristal violet akan luntur karena struktur dinding selnya sebagian besar terdiri dari lipid, sehingga bakteri gram negatif akan menjadi merah ketika diberi alkali fuchsin, atau zat warna kedua, sedangkan bakteri gram positif lapisan selnya tertutup dengan peptidoglikan yang tebal sehingga tidak dapat dicuci oleh alkohol, bakteri gram positif akan tetap berwarna ungu meskipun diberi zat warna kedua (Mahmudah dkk., 2016)

2.4.3 Pewarnaan Negatif

Pewarnaan negatif adalah teknik di mana latar belakang diwarnai, sementara sel bakteri tetap tidak terwarnai. Latar belakang yang terwarnai diwarnai dengan tinta china, sehingga sel bakteri berwarna transparan dengan latar belakang hitam. Beberapa bakteri tidak dapat diwarnai dengan zat warna basa. Untuk menghasilkan pewarnaan negatif, pewarnaan asam diperlukan, yang mengandung kromosom bermuatan negatif. Oleh karena itu, latar belakang yang telah terwarnai akan membuat sel yang tidak terwarnai terlihat dengan jelas. Pengecatan ini dapat digunakan pada bakteri seperti *Leptospira* sp., *Treponema* sp., dan *Borrelia* sp (Prastiwi, 2021).

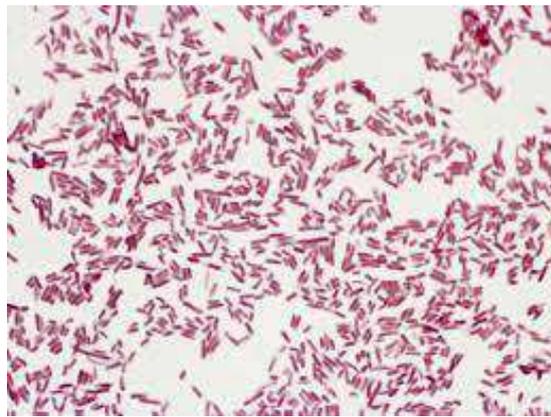
2.5 Safranin

Safranin adalah zat warna yang paling sering diminati dalam industri, terutama dalam tekstil, histologi, sitologi, dan bakteri (Edyani, 2020). Safranin juga dikenal sebagai pewarna sintetis yang umum digunakan untuk pewarnaan sitologi dan histologi. Selain itu dapat digunakan untuk mewarnai jaringan tumbuhan, karena menghasilkan warna merah (Nilamsari, 2020). Safranin efektif dalam mempengaruhi bakteri karena sifatnya yang bersifat basa dan alkalin, menyebabkan adanya daya tarik antara komponen kromofor pada pewarna dan sitoplasma bakteri

yang bersifat basofilik. Namun, penggunaan safranin juga membawa dampak buruk terhadap kesehatan dan lingkungan. Oleh karena itu, sebagai opsi pengganti, bunga kembang sepatu dapat dijadikan sebagai pewarna alami (adah Siregar dkk., 2023).

2.6 *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu bakteri koliform yang masuk dalam keluarga Enterobacteriaceae. *Enterobacteriaceae* adalah kelompok bakteri enterik, yang dapat bertahan dan hidup di dalam saluran pencernaan.



Gambar 2.2 Bakteri *E.coli* Pada Pewarnaan Gram

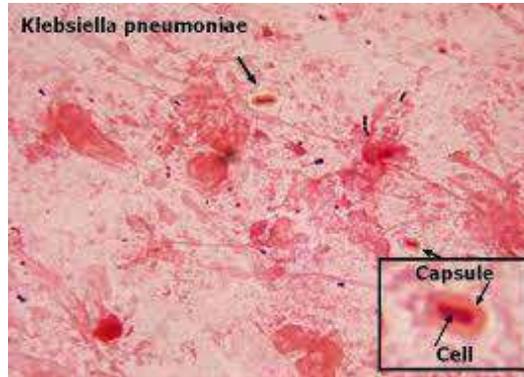
Sumber: (Larasaty, 2019)

Bakteri *E. coli* memiliki bentuk batang, yang merupakan flora alami di usus mamalia, tidak membentuk spora dan bersifat gram-negatif dan fakultatif anaerob. *E. coli*, sebagai bagian dari mikrobiota usus, telah berevolusi untuk dapat bertahan dan berkembang dalam berbagai kondisi lingkungan, termasuk kondisi yang tidak menguntungkan (Sari dkk., 2023) *E. coli* dapat tumbuh dengan baik di air tawar, air laut, atau di tanah, di mana bakteri ini terpapar pada berbagai faktor lingkungan, baik yang bersifat abiotik maupun biotik. (Rahayu dkk., 2018)

2.7 *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah gram-negatif, berkapsul, non-motil, dan mungkin anaerobik. Bakteri ini pertama kali dijumpai oleh Edwin Klebs pada tahun 1875 dari saluran pernafasan pasien yang meninggal karena pneumonia. Tahun 1882, Carl Friedländer mendeskripsikannya, dan bakteri itu disebut basil Friedlander selama beberapa waktu. *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, dan *Klebsiella rhinoscleroma* adalah beberapa spesies *Klebsiella*, yang masing-

masing menyebabkan infeksi oportunistik dan iatrogenik yang signifikan dengan konsekuensi klinis yang signifikan. *Klebsiella* sering tinggal di hidung dan saluran pencernaan manusia tanpa menunjukkan gejala kesehatan (Umaruddin dkk., 2023)



Gambar 2.3 Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Pada Pewarnaan Gram

Sumber: (Azura, 2020)

2.8 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa, yang ditemukan pada tahun 1882 adalah salah satu flora umum yang ditemukan di organ dan kulit manusia dan merupakan penyebab umum infeksi *Pseudomonas*. Bakteri *Pseudomonas* mudah ditemukan di alam dan biasanya ditemukan di tempat yang lembab. Bakteri tersebut membentuk koloni pada orang yang sehat, tetapi menyebabkan penyakit pada orang dengan pertahanan tubuh yang lemah. Bakteri patogen nomor empat yang paling sering ditemukan di rumah sakit adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Infeksi darah, pneumonia, infeksi saluran kemih, dan infeksi pasca operasi adalah beberapa contoh infeksi berat yang bisa mengakibatkan kematian (Umaruddin dkk., 2023)

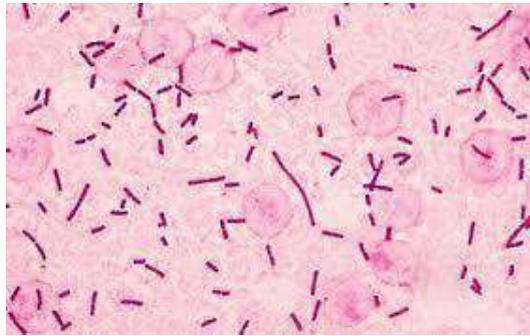


Gambar 2.4 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Pada Pewarnaan Gram

Sumber: (Linda dkk., 2022)

2.9 *Salmonella typhi*

Salmonella typhi adalah bakteri yang berukuran pendek (1–2 μm), gram negatif, dengan batang yang tidak membentuk spora dan biasanya motil dengan flagella peritrisous. Secara biokimia, *Salmonella* adalah bakteri anaerob fakultatif yang dapat memfermentasi glukosa, menghasilkan asam dan gas, tetapi tidak dapat menggunakan laktosa dan sukrosa. Jenis air yang rendah ($a_w < 0,93$) memungkinkan pertumbuhan *Salmonella*. tetapi responsnya bergantung pada strain dan jenis pangan. Temperatur pertumbuhan idealnya adalah 38 derajat Celcius. *Salmonella* aktif berkembang biak pada pH antara 3,6 dan 9,5, dan nilai pH idealnya sekitar normal. (Umaruddin dkk., 2023).



Gambar 2.5 Bakteri *Salmonella typhi* Pada Pewarnaan Gram

Sumber : (Dewa & Agus Made Hendrayana, 2017)