

Antibacterial Effectiveness Test of Combination Ethanol Extract of Rosella Flowers (*Hibiscus Sabdariffa*) and Green Betel Leaves (*Piper betle* L) on Growth *Escherichia coli*

I Wayan Anantha Pradivtha^{1*}, Halia Wanadiatri¹, Rusmiatik¹, Novianti Anggie Lestari¹

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Al Azhar, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : January 20th, 2026

Revised : February 06th, 2026

Accepted : February 16th, 2026

*Corresponding Author: I

Wayan Anantha Pradivtha,

Program Studi Pendidikan

Dokter, Fakultas Kedokteran,

Universitas Islam Al Azhar,

Kota Mataram, Nusa Tenggara

Barat, Indonesia;

Email:

ananthapradivtha01@gmail.com

Abstract: Infections from bacteria like *Escherichia coli* continue to be a major health issue, especially because of the rising rates of antibiotic resistance. This situation emphasizes the necessity for creating different antibacterial solutions that come from natural sources. The Roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) and the green betel leaf (*Piper betle* L.) are recognized for having several secondary compounds that may have antibacterial properties. This study aimed to determine the antibacterial effectiveness of a combination of ethanol extracts of roselle flower and green betel leaf against the growth of *Escherichia coli*. This study was an experimental laboratory study using a post-test only control group design. Ethanol extractions from the roselle flower and green betel leaf were assessed separately at a concentration of 100% and together at a ratio of 50%:50%. The antibacterial properties were examined using the disk diffusion technique. Ciprofloxacin was utilized as a positive control, and 10% Dimethyl Sulfoxide acted as a negative control. The findings indicated that the 100% ethanol extract of the roselle flower yielded an average inhibition zone diameter of 19.6 mm, whereas the 100% ethanol extract of the green betel leaf resulted in an average inhibition zone diameter of 29.4 mm. The combined extract at a 50%:50% ratio showed an average inhibition zone diameter of 25.2 mm. Thus, it can be concluded that the mixture of ethanol extracts from the roselle flower and green betel leaf demonstrates significant antibacterial effects against *Escherichia coli*, although it remains less effective than the green betel leaf extract alone.

Keywords: Antibacterial, *Escherichia coli*, green betel leaf extract, roselle flower extract.

Pendahuluan

Infeksi terjadi ketika mikroorganisme berbahaya memasuki tubuh manusia, termasuk bakteri, virus, jamur, atau parasit, dan kemudian mengganggu fungsi organ atau sistem tubuh. Bakteri yang menyebabkan jumlah kematian tertinggi adalah *Staphylococcus aureus*, yang menyebabkan 1,1 juta kematian. Diikuti oleh empat bakteri lainnya: *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Gach et al., 2024; Puluhulawa & Paneo, 2024). Infeksi bakteri mengakibatkan efek klinis yang

serius, seperti kematian, serta implikasi sosial dan ekonomi yang besar. Faktor utama yang berkontribusi terhadap memburuknya situasi ini adalah meningkatnya resistensi antibiotik yang disebabkan oleh penggunaan yang tidak tepat (Cholidah et al., 2020; Imai et al., 2022; Asegu et al., 2022).

Resistensi antibiotik menimbulkan bahaya signifikan bagi kesehatan global, khususnya di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah. Pada tahun 2019, resistensi antibiotik secara langsung dikaitkan dengan 1,27 juta kematian dan dikaitkan dengan tambahan 4,95 juta kematian secara global. Salah satu bakteri

yang berperan penting dalam tingginya angka infeksi dan resistensi antibiotik adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* termasuk dalam lima penyebab utama kematian akibat infeksi bakteri pada tahun 2019, berkontribusi terhadap lebih dari 500.000 kematian, dengan 250.000 di antaranya terkait dengan resistensi antimikroba, terutama karena *Escherichia coli* resisten terhadap sefalosporin generasi ketiga dan fluoroquinolon (Gach *et al.*, 2024; Purnamasari *et al.*, 2022; Limato *et al.*, 2022; Cordero *et al.*, 2025).

Angka infeksi saluran kemih (ISK) di Indonesia tetap tinggi, dengan sekitar 222 juta orang terdampak ISK. Prevalensi infeksi saluran kemih (ISK) di negara ini diperkirakan sekitar 5-15%, atau sekitar 90-100 kasus per 100.000 penduduk setiap tahunnya. Di Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB), ISK sering ditemukan di rumah sakit, termasuk Rumah Sakit Umum Provinsi (RSUD) NTB. Menurut catatan dari Rumah Sakit Provinsi NTB, terdapat 62 kasus ISK yang dilaporkan di unit rawat inap pada tahun 2019 (Susilowati *et al.*, 2024; Amalia *et al.*, 2022). Meningkatnya kejadian dan dampak signifikan infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* menyoroti kebutuhan mendesak akan terapi alternatif, terutama mengingat meningkatnya resistensi antibiotik. Salah satu solusi potensial adalah eksplorasi zat antimikroba alami yang berasal dari bunga roselle dan daun sirih.

Bunga roselle (*Hibiscus sabdariffa*) adalah tanaman dari daerah tropis yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat. Sifat antibakterinya berasal dari adanya metabolit sekunder, termasuk flavonoid dan tanin. Berbagai penelitian sebelumnya telah menunjukkan efektivitas antibakteri bunga roselle, misalnya, penelitian oleh Nababan *et al.*, (2025), yang menemukan bahwa ekstrak etanol bunga roselle menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acnes*. Investigasi lain yang dilakukan oleh Minarto *et al.*, (2022) menemukan bahwa ekstrak etanol dari kelopak roselle menunjukkan sifat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri resisten multidrug seperti *Acinetobacter baumannii* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Daun sirih hijau dikenal karena efek antibakterinya terhadap berbagai strain bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, termasuk *Escherichia coli*. Keunggulan ini didukung oleh keberadaan berbagai metabolit sekunder, seperti flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Zat-zat ini dipahami memiliki mekanisme antibakteri yang berbeda. Sifat antibakteri daun sirih hijau telah dibuktikan melalui banyak penelitian sebelumnya, termasuk penelitian oleh Zulfikri *et al.*, (2023), yang menyoroti efek antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Selain itu, penelitian oleh Afriliana *et al.*, (2025) juga menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya, sebuah penelitian oleh Pangaribuan *et al.*, (2019) mengkonfirmasi efek antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

Meskipun telah banyak penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak etanol bunga roselle (*Hibiscus sabdariffa*) maupun daun sirih hijau (*Piper betle* L) secara tunggal memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, namun hingga saat ini belum terdapat penelitian yang secara spesifik mengevaluasi efektivitas kombinasi kedua ekstrak tersebut. Sementara itu, penggunaan bahan alam secara tunggal sebagai agen antibakteri masih memiliki keterbatasan, baik dari segi efektivitas yang belum optimal maupun spektrum aktivitas yang relatif sempit. Berdasarkan pertimbangan tersebut, perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol bunga roselle (*Hibiscus sabdariffa*) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L). Kombinasi ekstrak etanol bunga roselle (*Hibiscus sabdariffa*) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L) diharapkan bekerja lebih baik untuk membunuh bakteri, terutama untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung dari bulan Juli hingga Desember 2025 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Al-Azhar Mataram, yang mencakup seluruh rangkaian kegiatan mulai dari proses pembuatan ekstrak hingga pengujian aktivitas antibakteri.

Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian *True experiment* dengan rancangan berupa *posttest* dengan kelompok kontrol (*posttest only control group design*) dan menggunakan metode difusi cakram untuk melihat efektivitas dari kombinasi ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan yang terdiri atas ekstrak etanol bunga rosella 100%, ekstrak etanol daun sirih hijau 100%, dan kombinasi ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih dengan perbandingan konsentrasi sebesar 50%:50%, serta terdapat kontrol yang terdiri dari kelompok kontrol positif dengan antibiotik *Ciprofloxacin* dan kelompok kontrol negatif menggunakan DMSO 10%.

Unit Eksperimen

Subjek penelitian adalah bakteri *Escherichia coli* berdasarkan standar ATCC (*American Type Culture Collection*) yang diperoleh di Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Provinsi NTB. Sementara itu, Bunga rosella diperoleh dari daerah Desa Ban, Kecamatan Kubu, Kabupaten Karangasem, Provinsi Bali dalam bentuk yang sudah dikeringkan. Sementara itu, daun sirih hijau diperoleh dari daerah Gunungsari, Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat.

Tahapan penelitian

Beberapa tahapan diantaranya persiapan bahan berupa daun sirih hijau dan bunga rosella, pembuatan ekstrak etanol bunga rosella dengan konsentrasi 100%; ekstrak etanol daun sirih hijau dengan konsentrasi 100%; dan kombinasi ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau dengan perbandingan konsentrasi 50%:50%, serta uji aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak dan kombinasi tersebut terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi cakram. Efektivitas antibakteri dari setiap ekstrak dan kombinasinya dievaluasi dengan memeriksa diameter zona inhibisi yang muncul

di sekitar cakram kertas. Penggaris digunakan untuk mengukur ukuran zona inhibisi yang terbentuk di sekitar cakram kertas.

Analisis data

Tahap analisis data dimulai dengan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk (karena ukuran sampel kurang dari 50) dan uji homogenitas menggunakan Levene. Data dianggap normal dan homogen jika nilai p melebihi 0,05. Jika data memenuhi kriteria normalitas dan homogenitas, uji ANOVA diterapkan, diikuti dengan uji Post Hoc untuk mengidentifikasi perbedaan antar kelompok. Sebaliknya, jika data tidak memenuhi kriteria normalitas atau homogenitas, uji non-parametrik Kruskal-Wallis dilakukan, dan jika terdapat perbedaan yang signifikan, uji Mann-Whitney dapat dilakukan. Interpretasi hasil analisis bergantung pada nilai p . Jika p kurang dari 0,05, ini menunjukkan hubungan yang signifikan (H_0 ditolak, H_a diterima). Di sisi lain, jika $p > 0,05$, ini menunjukkan tidak ada hubungan yang signifikan (H_0 diterima, H_a ditolak)..

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengukuran zona hambatan

Kelompok perlakuan yang menggunakan ekstrak etanol bunga rosella 100%, ekstrak etanol daun sirih hijau 100%, dan campuran 50%:50% dari ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau menunjukkan kemampuan untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*. Hal ini ditunjukkan oleh diameter rata-rata zona inhibisi, khususnya untuk campuran ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau dengan rasio 50%:50% (K3) yang berukuran 25,2 mm, ekstrak etanol bunga rosella 100% (K1) sebesar 19,6 mm, dan ekstrak etanol daun sirih hijau 100% (K2) sebesar 29,4 mm. Sebaliknya, kontrol negatif, yaitu DMSO 10%, tidak menunjukkan daya inhibisi, seperti yang ditunjukkan oleh tidak adanya zona yang jelas di sekitar kertas cakram. Sementara itu, *Ciprofloxacin* berfungsi sebagai kontrol positif, menunjukkan daya inhibisi paling signifikan di semua kelompok, dengan ukuran 40,4 mm.

Tabel 1. Hasil Jumlah Pengukuran Zona Hambatan

Kelompok perlakuan	Luas Zona Hambatan (mm)					Rata-Rata (mm)	Interpretasi	Makna P-Value
	1	2	3	4	5			
K ₁	19	21	19	19	20	19,6	Kuat	0,046
K ₂	30	29	30	29	29	29,4	Sangat Kuat	0,006
K ₃	25	25	26	25	25	25,2	Sangat Kuat	0,000
K ₍₊₎	40	40	41	41	40	40,4	Sangat Kuat	0,006
K ₍₋₎	0	0	0	0	0	0	Lemah	-

Keterangan:

K₁ : Kelompok bakteri *Escherichia coli* yang diberikan ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sadbariffa*) dengan konsentrasi 100%

K₂ : Kelompok bakteri *Escherichia coli* yang diberikan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L*) dengan konsentrasi 100%

K₃ : Kelompok bakteri *Escherichia coli* yang diberikan kombinasi ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sadbariffa*) daun sirih hijau (*Piper betle L*) dengan perbandingan konsentrasi 50%:50%

K₍₊₎ : Kelompok bakteri *Escherichia coli* yang diberikan dengan Ciprofloxacin

K₍₋₎ : Kelompok bakteri *Escherichia coli* yang diberikan dengan DMSO 10%

Hasil uji Kruskal-Wallis

Hasil penilaian normalitas yang dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilk* menunjukkan tidak ada nilai signifikan di antara keempat dataset, khususnya nilai $P < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa data rata-rata yang diperoleh tidak mengikuti distribusi normal karena adanya variasi yang cukup besar di antara data tersebut. Oleh karena itu, uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* diterapkan.

Tabel 2. Hasil Uji *Kruskal-Wallis*

Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	
Parameter	Hasil
<i>Chi-Square</i>	23,474
Df	4
Asymp.Sig	0,000

Hasil uji metode statistik *Kruskal-Wallis* mengungkapkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok yang menerima perlakuan berbeda. Selain itu, untuk mengidentifikasi

pasangan kelompok spesifik dengan perbedaan yang signifikan, data tersebut selanjutnya diperiksa melalui uji *Mann-Whitney Post Hoc*.

Hasil uji Mann-Whitney

Hasil analisis pada tabel 3 menunjukkan kelompok perlakuan ekstrak etanol bunga rosella 100% menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirih hijau 100% (0,007), kombinasi ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau dengan perbandingan konsentrasi 50%:50% (0,006), kontrol positif (0,007), serta kontrol negatif (0,005) yang dibuktikan dengan nilai *p-value* signifikansi $< 0,05$. Kelompok Perlakuan ekstrak etanol daun sirih hijau 100% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan kombinasi ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau dengan perbandingan konsentrasi 50%:50% (0,006), kontrol positif (0,007), serta kontrol negatif (0,005) yang dibuktikan dengan nilai *p-value* signifikansi $< 0,05$.

Tabel 3. Hasil Uji *Mann-Whitney*

Kelompok	Analisis Uji <i>Mann-Whitney</i>				
	Kelompok K ₁	Kelompok K ₂	Kelompok K ₃	Kontrol (+)	Kontrol (-)
Kelompok K ₁		0,007	0,006	0,007	0,005
Kelompok K ₂			0,006	0,007	0,005
Kelompok K ₃				0,006	0,004
Kontrol (+)					0,005
Kontrol (-)					

Kelompok yang menerima perlakuan kombinasi ekstrak etanol dari bunga rosella dan

daun sirih hijau dengan rasio 50%:50% menunjukkan perbedaan yang nyata

dibandingkan dengan kontrol positif (0,006) dan kontrol negatif (0,004), didukung oleh nilai *p* signifikansi kurang dari 0,05. Selain itu, terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif dan kontrol negatif (0,005), dikonfirmasi oleh nilai *p* kurang dari 0,05. Singkatnya, hasil uji Mann-Whitney menunjukkan semua kelompok memiliki efektivitas yang berbeda secara statistik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kesimpulan ini memperkuat temuan dari uji *Kruskal-Wallis* sebelumnya, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan di antara kelompok-kelompok tersebut.

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi sifat antibakteri yang ditunjukkan oleh pembentukan zona inhibisi yang jelas di sekitar cakram kertas pada ekstrak etanol murni bunga roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), ekstrak etanol murni daun sirih hijau (*Piper betle* L.), dan campuran kedua ekstrak tersebut dalam konsentrasi 50%:50% terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dilakukan menggunakan uji sensitivitas melalui metode difusi cakram pada media agar *Mueller-Hinton* (MHA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan menunjukkan efektivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, seperti yang ditunjukkan oleh adanya area jernih di sekitar cakram. Area jernih ini menandakan ruang yang terbentuk di sekitar cakram kertas pada media agar, di mana agen mikroba tidak tumbuh. Ketika agen antimikroba diaplikasikan pada cakram kertas, agen-agen ini berdifusi ke dalam cakram dan mencegah mikroba di sekitarnya untuk tumbuh (Nurhayati *et al.*, 2020).

Efektivitas kelompok perlakuan dan kontrol dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dinilai menggunakan klasifikasi standar yang dibuat oleh David dan Stout (1971), yang dibagi menjadi empat tingkatan: sangat kuat, kuat, sedang, dan lemah. Menurut kriteria yang ditetapkan oleh David dan Stout, kekuatan inhibisi dianggap sangat kuat ketika zona inhibisi lebih besar dari 20 mm, kuat ketika berkisar antara 10 hingga 20 mm, sedang ketika berada antara 5 dan 9 mm, dan lemah ketika berukuran di bawah 5 mm. Klasifikasi ini berfungsi sebagai pedoman untuk menafsirkan zona inhibisi yang terbentuk (Nababan *et al.*, 2025).

Ukuran rata-rata zona inhibisi yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 100% bunga roselle terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 19,6 mm. Menurut temuan ini, tingkat inhibisi ini diklasifikasikan sebagai kuat (10-20 mm). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi senyawa aktif dalam ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, meskipun tidak mencapai tingkat kekuatan penghambatan yang sangat kuat seperti yang didefinisikan oleh klasifikasi David dan Stout. Pengukuran rata-rata zona inhibisi yang disebabkan oleh ekstrak etanol 100% dari daun sirih hijau terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 29,4 mm. Dari hasil ini, zona inhibisi ini dikategorikan sebagai sangat kuat (>20 mm), yang menandakan bahwa konsentrasi senyawa aktif dalam ekstrak secara efektif mencegah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan sesuai dengan kriteria kategori sangat kuat yang diuraikan oleh David dan Stout. Diameter rata-rata gabungan zona inhibisi yang dihasilkan dengan mencampur ekstrak etanol bunga roselle dan daun sirih hijau dengan rasio 50%:50% terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 25,2 mm.

Berdasarkan angka-angka ini, zona inhibisi yang terbentuk juga diklasifikasikan sebagai sangat kuat (>20 mm), menunjukkan konsentrasi senyawa aktif dalam ekstrak dapat secara efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan memenuhi standar kategori sangat kuat menurut David dan Stout. Kontrol positif menunjukkan diameter zona inhibisi sebesar 40,4 mm, yang dikategorikan sebagai sangat kuat. Kontrol positif dalam percobaan ini adalah cakram antibiotik siprofloksasin dengan dosis 5 µg per cakram, sesuai dengan pedoman CSLI. Siprofloksasin dipilih sebagai kontrol positif karena klasifikasinya sebagai antibiotik spektrum luas yang termasuk dalam kelas fluoroquinolon yang banyak digunakan (Faidiban *et al.*, 2020).

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan DMSO 10%, sesuai dengan pelarut yang digunakan untuk mengencerkan zat uji (Hasanah & Rahayu, 2023). Dalam penelitian ini, hasil zona inhibisi untuk kontrol negatif dengan 10% DMSO terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan diameter 0 mm, yang mengindikasikan bahwa tidak ada zona inhibisi yang diamati. Akibatnya, dapat disimpulkan bahwa 10% DMSO tidak

memengaruhi hasil uji. Penerapan kontrol negatif dalam penelitian ini bertindak sebagai titik referensi, karena pelarut yang digunakan untuk mengencerkan bahan uji tidak memengaruhi hasil uji antibakteri. Hal ini menunjukkan bahwa larutan yang digunakan sebagai pengencer untuk zat uji tidak memiliki sifat antibakteri (Sangadji *et al.*, 2022).

Ukuran zona inhibisi yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 100% dari daun sirih hijau lebih besar daripada yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 100% dari bunga roselle. Ukuran rata-rata zona inhibisi untuk ekstrak etanol 100% dari daun sirih hijau adalah 29,4 mm, sedangkan ukuran rata-rata untuk ekstrak bunga roselle 100% adalah 19,6 mm. Zona inhibisi yang lebih besar menunjukkan adanya senyawa bioaktif yang lebih kuat dalam spesies tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri ekstrak etanol 100% dari daun sirih hijau melampaui efektivitas ekstrak etanol 100% dari bunga roselle. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh berbagai jenis metabolit sekunder yang ditemukan dalam setiap ekstrak.

Hasil analisis fitokimia sebelumnya terhadap ekstrak etanol dari daun sirih hijau oleh Sonphakdi *et al.*, (2024), berbagai senyawa metabolit sekunder telah diidentifikasi, termasuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Sebaliknya, penelitian sebelumnya yang mengeksplorasi sifat fitokimia ekstrak etanol bunga roselle, yang dilakukan oleh Salsabilla (2023), mengungkapkan bahwa ekstrak tersebut terutama mengandung flavonoid dan tanin. Analisis fitokimia sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau mengandung lebih banyak metabolit sekunder dibandingkan dengan ekstrak etanol bunga roselle. Variasi ini mengakibatkan ekstrak etanol daun sirih hijau 100% menunjukkan sifat antibakteri yang lebih kuat terhadap *Escherichia coli* daripada ekstrak etanol bunga roselle 100% (Arifin *et al.*, 2025; Faidiban *et al.*, 2020; Salsabilla, 2023; Sonphakdi *et al.*, 2024).

Temuan penelitian ini juga menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol bunga roselle dan daun sirih hijau dengan rasio konsentrasi 50%:50% (25,2 mm) menunjukkan penghambatan yang lebih tinggi terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dibandingkan dengan ekstrak etanol bunga roselle saja, yang berukuran 25,2 mm pada konsentrasi 100% (19,6

mm). Namun, hal ini tidak menunjukkan penghambatan yang lebih signifikan dibandingkan dengan ekstrak etanol daun sirih hijau 100% dengan ukuran 29,4 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau pada konsentrasi 100% menunjukkan aktivitas antibakteri terkuat pada kelompok perlakuan.

Hasil ini menunjukkan bahwa interaksi metabolit sekunder dalam campuran ekstrak etanol dari bunga roselle dan daun sirih hijau dengan rasio 50%:50% tidak efektif dalam bekerja bersama untuk mencegah pertumbuhan *E. coli*. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Caesar & Cech (2019), yang mencatat bahwa kombinasi dua atau lebih senyawa tidak selalu menghasilkan hasil sinergis, karena interaksi dapat bersifat aditif (tidak berinteraksi) atau bahkan antagonis. Interaksi senyawa dianggap sinergis ketika efek keseluruhan melampaui efek individual masing-masing senyawa, aditif ketika efek total sesuai dengan efek individual tersebut tanpa meningkatkan atau mengurangi efek tersebut, dan antagonis ketika efek keseluruhan lebih lemah karena satu senyawa menghambat aksi senyawa lain.

Membandingkan kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol, hasil dari perlakuan ekstrak tunggal dan gabungan menunjukkan variasi pada zona inhibisi yang diamati. Variasi ini disebabkan oleh mekanisme aksi antibakteri yang berbeda antara kontrol positif dan perlakuan ekstrak tunggal dan gabungan. Siprofloksasin berfungsi dengan menghambat DNA gyrase (topoisomerase II) dan topoisomerase IV yang ditemukan pada bakteri. Pemblokiran enzim-enzim ini, yang berperan dalam replikasi, rekombinasi, dan perbaikan DNA, pada akhirnya menghambat proliferasi bakteri (Faidiban *et al.*, 2020).

Ekstrak etanol dari bunga roselle, ekstrak dari daun sirih hijau, dan ekstrak etanol campurannya menunjukkan sifat antibakteri karena adanya metabolit sekunder dengan efek tersebut. Setiap senyawa menggunakan mekanisme unik untuk menekan pertumbuhan bakteri. Flavonoid menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sel, dan mengganggu metabolisme energi. Sementara itu, tanin menonaktifkan enzim, memengaruhi reaksi membran sel, dan menghambat fungsi materi genetik bakteri. Alkaloid mengganggu lapisan

peptidoglikan sel bakteri, yang menyebabkan kematian sel. Flavonoid sebagai agen antibakteri bekerja dengan menghalangi fungsi membran sel melalui pembentukan senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Ekstrak bunga rosella, ekstrak daun sirih hijau, dan kombinasi ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau belum dilakukannya uji skrining fitokimia, sehingga senyawa aktif yang terdapat di ekstrak tersebut tidak dapat diidentifikasi secara spesifik dan hanya mengandalkan data dari peneliti sebelumnya.

Kesimpulan

Berdasarkan temuan dari investigasi dan evaluasi yang dilakukan terhadap kemanjuran antibakteri campuran ekstrak etanol dari bunga rosella dan daun sirih hijau terhadap proliferasi bakteri, ekstrak yang digunakan terdiri dari 100% ekstrak etanol dari bunga rosella, 100% ekstrak etanol dari daun sirih hijau, dan campuran ekstrak tersebut dengan rasio konsentrasi 50%:50%. Ekstrak etanol 100% dari bunga rosella dapat secara efektif membatasi pertumbuhan *Escherichia coli*, menghasilkan zona inhibisi rata-rata berukuran 19,6 mm, yang diklasifikasikan sebagai kuat. Ekstrak etanol 100% dari daun sirih hijau juga dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, dengan zona inhibisi rata-rata 29,4 mm, yang dikategorikan sebagai sangat kuat. Selain itu, campuran ekstrak etanol bunga rosella dan daun sirih hijau dengan rasio 50%:50% dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, menghasilkan zona inhibisi rata-rata 25,2 mm, yang juga diklasifikasikan sebagai sangat kuat.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada Program Studi Pendidikan Dokter, Universitas Islam Al Azhar yang telah memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

Referensi

Afriliana, A., Dwiningrum, R., Wibowo, C. A., & Suswidianoro, V. (2025). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih

Hijau (Piper Betle L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Ajeng. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 11, 195–222.

Arifin, S. H. A. G., Firdhausi, N. F., Hidayati, I., & Faizah, H. (2025). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Combination of Piper betle and Moringa oleifera Extracts Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antimikroba Kombinasi Ekstrak Piper betle dan Moringa oleifera, 12(2), 184–191.

Asegu, L. M., Kitschen, A., Neuwirth, M. M., & Sauerland, D. (2024). The economic burden of nosocomial infections for hospitals: evidence from Germany. *BMC Infectious Diseases*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-024-10176-8>

Caesar, L. K., & Cech, N. B. (2019). HHS Public Access, 36(6), 869–888. <https://doi.org/10.1039/c9np00011a>. Synergy

Cholidah, A. I., Danu, D., & Nurrosyidah, I. H. (2020). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Kombucha Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 186–210. <https://doi.org/10.33759/Jrki.V2i3.102>

Cordero-López, A. P., Vega-Sánchez, V., Martínez-Juárez, V. M., Olave-Leyva, J. I., Gómez-De Anda, F. R., & Reyes-Rodríguez, N. E. (2025). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Ground Beef in Huasca de Ocampo, Hidalgo, Mexico. *Tropical Animal Science Journal*, 48(1), 75–82. <https://doi.org/10.5398/tasj.2025.48.1.75>

Faidiban, A. N., Posangi, J., Wowor, P. M., & Bara, R. A. (2020). Uji Efek Antibakteri *Chromodoris annae* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, 1(2), 67–70.

Gach, M. W., Lazarus, G., Simadibrata, D. M., Sinto, R., Saharman, Y. R., Limato, R., ... Hamers, R. L. (2024). Antimicrobial resistance among common bacterial pathogens in Indonesia: a systematic review. *The Lancet Regional Health - Southeast Asia*, 26, 100414. <https://doi.org/10.1016/j.lansea.2024.1004>

- 14
Hasanah, R. U., & Rahayu, M. S. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Antibacterial Effectiveness Test Of Breadfruit (*Artocarpus Altilis*) Leaf Ethanol Extract On The Growth Of The Bacteria Of *Staphylococcus Aureus*, 6, 11–18. 10.31850/makes.v6i1.1659
- Imai, S., Inoue, N., & Nagai, H. (2022). Economic and clinical burden from carbapenem-resistant bacterial infections and factors contributing: a retrospective study using electronic medical records in Japan. *BMC Infectious Diseases*, 22(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07548-3>
- Limato, R., Lazarus, G., Dernison, P., Mudia, M., Alamanda, M., Nelwan, E. J., ... Hamers, R. L. (2022). Optimizing antibiotic use in Indonesia: A systematic review and evidence synthesis to inform opportunities for intervention. *The Lancet Regional Health - Southeast Asia*, 2(6). <https://doi.org/10.1016/j.lansea.2022.05.002>
- Minarto, E., Irene, & Moehario, L. H. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kelopak Bunga Rosela terhadap Bakteri Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 28(3), 253–263. <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v28i3.2366>
- Mueller, M., & Tainter, C. R. (2025). *Escherichia coli Infection*. (I. S. [Internet], Ed.). tatPearls Publishing; Treasure Island (FL). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>
- Nababan, F., Panjaitan, I. M. S., & Ricky, D. R. (2025). Jurnal Biologi Tropis Antibacterial Effectiveness Test of Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L .) Ethanol Extract Against *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* , and *Propionibacterium acnes* Bacteria. *Jurnal Biologi Tropis*, 25(1), 1074–1083. <https://doi.org/doi.org/10.29303/jbt.v25i1.8765>
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli*: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko. *IPB Press*, 1–151.
- Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 128. <https://doi.org/10.22146/jsv.58745>
- Salsabilla, N. B. (2023). ... Antibakteri Kombinasi Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Dan Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap *Staphylococcus* *Warta Bhakti Husada Mulia: Jurnal/Http://Jurnal.Bhmm.Ac.Id/Index.Php/Jurkes/Article/View/337*
- Sangadji, T., Niwele, A., & Wally, D. I. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70 % Daun Mangkakan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne* Dengan Menggunakan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Indonesia. JURNAL JIKKI*. 2(1), 145–152.
- Sujana, K. V., Katja, D. G., & Koleangan, H. S. J. (2024). Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Chemistry Progress*, 17(1), 87–96. <https://doi.org/10.35799/cp.17.1.2024.54700>
- Sunani, S., & Hendriani, R. (2023). Classification and Pharmacological Activities of Bioactive Tannins. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 3(2), 130–136. Retrieved from <https://jurnal.unpad.ac.id/ijbp>
- Susilowati, F., Yetty, K., Maria, R., & Rizany, I. (2024). Gambaran personal hygiene dengan kejadian infeksi saluran kemih (ISK) pada wanita: A systematic literature review. *Holistik Jurnal Kesehatan*, 18(3), 266–275. <https://doi.org/10.33024/hjk.v18i3.128>
- Zulfikri, Rukmana Nasution, P., & Dianti, C. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Sains Medisina*, 1(5), 298–302