

Antibacterial Effectiveness Test of Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) Ethanol Extract Against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Propionibacterium acnes* Bacteria

Febryanti Nababan^{1*}, Ivonne M. S. Panjaitan², Donn Richard Ricky²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Advent Indonesia, Bandung, Indonesia;

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Advent Indonesia, Bandung, Indonesia;

Article History

Received : February 28th, 2025

Revised : March 13th, 2025

Accepted : March 20th, 2025

*Corresponding Author:

Febryanti Nababan, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Advent Indonesia, Bandung, Indonesia;

Email: febynbbn@gmail.com

Abstract: Bacterial infections are a growing global health challenge, especially with the increasing cases of antibiotic resistance. This study used a true experimental method with a posttest-only control group design to investigate the antibacterial efficacy of roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) ethanol extract against the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Propionibacterium acnes*. The maceration method was used to extract the roselle flowers using 70% ethanol as the solvent, and the disc diffusion method was used to test for antibacterial activity at extract concentrations of 30%, 40%, and 50%, using the antibiotic chloramphenicol as a positive control. The results showed that the roselle flower ethanol extract exhibited antibacterial activity against all three test bacteria. The highest inhibition zone against *E. coli* was found at 50% concentration (9.87 mm), classified as moderate. For *S. aureus*, the 50% concentration produced the highest inhibition zone (18.13 mm) with strong classification, while 30% and 40% concentrations also demonstrated strong inhibitory effects. For *P. acnes*, all extract concentrations showed strong inhibitory responses with the highest inhibition zone at 50% concentration. Chloramphenicol antibiotic consistently demonstrated higher antibacterial activity across all test bacteria. Statistical analysis revealed significant differences in inhibitory effectiveness based on extract concentration and bacterial type ($p < 0.001$), with a significant interaction between these two factors ($\eta^2 = 0.605$). These findings indicate the potential development of roselle flower ethanol extract as a natural antibacterial agent, although further optimization is needed to enhance its effectiveness.

Keywords: Antibacterial activity, ethanol extract, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, Roselle flower.

Pendahuluan

Infeksi bakteri salah satu tantangan kesehatan global yang terus berkembang, terutama dengan meningkatnya kasus resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri mengalami mutasi genetik atau mengembangkan mekanisme pertahanan yang membuat mereka kebal terhadap obat-obatan yang sebelumnya efektif (Umar, 2023). Penggunaan antibiotik yang

tidak tepat memperburuk kondisi ini. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), salah satu risiko terbesar bagi pembangunan global, ketahanan pangan, dan kesehatan manusia adalah resistensi antibiotik.

Bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Propionibacterium acnes* merupakan penyebab utama berbagai infeksi pada manusia. Kulit manusia dan saluran pernapasan sering kali menjadi tempat tinggal bakteri Gram positif

Staphylococcus aureus. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai macam penyakit, dari penyakit ringan seperti bisul dan impetigo hingga penyakit yang lebih serius seperti meningitis dan pneumonia (Apriliantisyah *et al.*, 2022). Dari 7,69% pada tahun 2015 menjadi 12,94% pada tahun 2018, prevalensi Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) meningkat. Kemudian sedikit menurun menjadi 5,63% pada tahun 2016 sebelum naik menjadi 10,81% pada tahun 2017 (Nuryah *et al.*, 2019).

Saluran pencernaan manusia sering kali menjadi tempat tinggal bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Meskipun sebagian besar strain *E. coli* bersifat jinak, beberapa strain patogen dapat menyebabkan sindrom uremik hemolitik yang dapat mematikan, diare, dan infeksi saluran kemih (Aprillia & Az-Zahra, 2024). Menurut penelitian yang dilakukan di tiga pasar tradisional di Kota Banda Aceh (Pasar Seutui, Pasar Peunayong, dan Pasar Ulee Kareng), prevalensi keseluruhan kontaminasi *Escherichia coli* pada daging ayam broiler adalah 36%, dengan prevalensi tertinggi di Pasar Seutui (100%), diikuti oleh Pasar Peunayong (26,7%), dan terendah di Pasar Ulee Kareng (0%) (Ramdhania *et al.*, 2020).

Salah satu bakteri Gram positif yang berperan dalam patofisiologi jerawat adalah *Propionibacterium acnes*. Bakteri ini hidup di kelenjar sebacea dan folikel rambut kulit, dan pertumbuhannya yang berlebihan dapat menyebabkan peradangan dan timbulnya jerawat (Indarto *et al.*, 2019). Jerawat menyerang 80–85% remaja di Indonesia, dengan prevalensi tertinggi pada kelompok usia 15 hingga 18 tahun. Frekuensinya adalah 12% pada wanita di atas usia 25 tahun dan 3% pada kelompok usia 35 hingga 44 tahun (Wahyudi *et al.*, 2024).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini sering diobati dengan antibiotik sintetis. Namun, karena antibiotik digunakan secara berlebihan dan disalahgunakan, resistensi bakteri meningkat. Misalnya, *S. aureus* telah menjadi resistensi terhadap metisilin, penisilin, dan bahkan vancomycin. *E. coli* juga telah menunjukkan resistensi terhadap antibiotik seperti ampisilin, tetrasiklin, dan siprofloksasin. Sementara itu, *P. acnes* telah

berkembang resistensi terhadap antibiotik topikal seperti eritromisin dan klindamisin, yang sering digunakan untuk mengobati jerawat.

Bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa*) adalah salah satu tanaman obat yang telah menarik perhatian para peneliti karena kandungan senyawa bioaktifnya yang kaya. Bunga rosela dikenal karena kegunaannya dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai kondisi, termasuk hipertensi dan diabetes (Dewi & Santika, 2023). Senyawa yang termasuk fenol, tanin, flavonoid, dan alkaloid yang ditemukan dalam ekstrak bunga rosella telah terbukti memiliki sifat antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi (Harrizul Rivai *et al.*, 2019). Banyak penelitian telah menunjukkan efektivitas ekstrak etanol bunga rosella dalam mencegah pertumbuhan banyak bakteri berbahaya (Almajid *et al.*, 2023). Namun, penelitian tentang efektivitasnya terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Propionibacterium acnes* masih terbatas dan perlu dieksplorasi lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol bunga rosela dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acnes*. Proses ini melibatkan penggunaan pelarut etanol untuk mengekstrak zat kimia aktif dari bunga rosella, kemudian menilai aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dan mengukur zona inhibisi. Diharapkan bahwa temuan penelitian ini akan memberikan bukti ilmiah tentang potensi bunga rosella sebagai agen antibakteri alami yang dapat digunakan untuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri berbahaya.

Bahan dan Metode

Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental sejati (*true experimental*) dengan desain *posttest-only control group*. Peneliti melakukan manipulasi variabel independen berupa konsentrasi ekstrak etanol bunga rosela (30%, 40%, dan 50%) untuk menguji efektivitasnya terhadap tiga jenis bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Propionibacterium acnes*). Pengujian antibakteri

menggunakan metode difusi cakram, dengan antibiotik *Chloramphenicol* sebagai kontrol positif. Setiap perlakuan direplikasi sebanyak tiga kali untuk menjamin validitas hasil. Penelitian juga mengadopsi pendekatan faktorial dalam menganalisis interaksi antara konsentrasi ekstrak dan jenis bakteri yang diuji.

Alat dan bahan

Peralatan penelitian ini adalah blender *philip*, oven, ayakan mesh 40, timbangan analitik, *incubator*, lemari sterilisator, nampan besi, *rotary evaporator*, mesin *shaker*, botol vial, *hot plate*, erlenmeyer, *beaker glass*, jangka sorong digital, cawan petri, gelas ukur, kaca arloji, spiritus, pematik api, jarum ose, kasa steril dan kapas, spidol permanent, stiker label, rak tabung reaksi, tabung reaksi, pinset logam ujung lancip, kertas saring whattman no.1, *transport swab (cutton sterile)*, sarung tangan latex, kertas HVS, *tissue*, *tissue* basah, *hair cap* medis.

Bahan yang digunakan yaitu 1 kg sampel bunga rosela kering, bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Propionibacterium acnes* (diperoleh dari Rumah Sakit swasta di Bandung), etanol 70% (merek Puma), aquadest, medium agar MHA (*Mueller Hilton Agar*), Medium NA (*Nutrient Agar*), *plastic wrap*, *aluminium foil* dan antibiotik *Cloramphenicol*.

Sterilisasi Alat

Alat penelitian ini dicuci bersih terlebih dahulu lalu dikeringkan menggunakan *tissue*, peralatan berbahan dasar kaca tahan panas disterilkan menggunakan lemari sterilisator selama 15-30 menit dengan melapisi peralatan tersebut dengan kertas HVS.

Pembuatan Ekstrak Simplisia

Sampel bunga rosela diperoleh dalam bentuk yang sudah dikeringkan melalui toko daring. Simplisia kering bunga rosela dihaluskan menggunakan blender *Philip* dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 hingga diperoleh serbuk halus bunga dengan ukuran yang homogen.

Ekstrasi Simplisia

Sebanyak 300 gram simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi. Perbandingan bobot simplisia dengan pelarut yang digunakan adalah 1 : 9 sehingga volume pelarut yang digunakan adalah 2700 mL. dengan masa

maserasi selama 3×24 jam dengan menggunakan labu Erlenmeyer. Pelarut yang digunakan pada metode maserasi adalah Etanol 70%. Simplisia serbuk 300 gram dibagi 3 menjadi 100 gram lalu ditempatkan pada wadah erlenmeyer.

Proses maserasi dikerjakan selama 3 hari, dimana setiap harinya dikerjakan dengan perbandingan pelarut 1 : 3 (100 gram simplisia : 300 ml pelarut, setiap hari selama 3 hari). Pada 8 jam awal proses perendaman, simplisia digojokan untuk mempercepat dan meratakan proses pelarutannya dengan memakai bantuan mesin *shaker*. Setelah waktu 24 jam berlalu, pelarut (yang sudah menyerap senyawa dan menjadi ekstrak cair) dipisahkan dari residu atau ampas simplisia yang tersisa. Kemudian maserat kembali ditambahkan dengan pelarut sesuai jumlah perbandingan yang sudah ditentukan. Setelah proses maserasi, ekstrak cair disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 untuk membuang serbuk sari bunga yang tersisa. Setelah itu, penguap putar yang diatur pada suhu 60°C dan 100 rpm digunakan untuk mengonsentrasikan filtrat hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental selanjutnya dipanggang selama 24 jam pada suhu 60°C untuk menghilangkan sisa pelarut dan menghasilkan ekstrak yang lebih kental. Setelah mengental, sampel dibungkus dengan plastik pembungkus dan dijauhkan dari sinar matahari langsung hingga dapat diperiksa lebih lanjut.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Propionibacterium acnes* diisolasi menggunakan ose dan kemudian disuspensikan dalam 10 mililiter larutan NaCl fisiologis pada konsentrasi 0,9% dalam tabung reaksi. Setelah itu, suspensi bakteri tersebut diaduk secara merata untuk memastikan bahwa bakteri terdistribusi dengan baik dalam larutan. Pengamatan dilakukan terhadap tingkat kekeruhan suspensi, karena kekeruhan ini merupakan indikator penting yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Kemudian disamakan dengan standar McFarland 0.5, yang memiliki konsentrasi setara dengan sekitar 1.5×10^8 CFU/mL (*colony-forming units per milliliter*). Sampai mencapai kekeruhan yang sesuai standar (Zamilah et al., 2020).

Pembuatan Media Agar MHA

Pembuatan media agar MHA didasarkan pada jumlah cawan petri yang akan digunakan sebanyak 18 cawan. Tiap cawan petri nantinya akan berisi sebanyak 20 ml media agar. Pembuatan media agar mengikuti petunjuk yang tertera pada kemasan yaitu untuk setiap 38 gram agar dilarutkan dengan air sebanyak 1000 mL. Berdasarkan perhitungan ini, diperlukan 13.68 gram bubuk agar di dalam pelarut air sebanyak 360 ml. Proses pelarutan dilakukan di dalam labu Erlenmeyer yang dipanaskan di atas *hot plate*, larutan diaduk selama proses pemanasan sampai larut. Larutan disterilkan untuk membuang mikroba yang tidak diinginkan setelah agar larut sepenuhnya. Selama lima belas menit, sterilisator digunakan untuk menyelesaikan prosedur sterilisasi. Setiap cawan petri diisi dengan larutan agar steril dalam jumlah yang sama setelah prosedur sterilisasi selesai. Setelah itu, cawan petri berisi larutan agar didinginkan. Proses pendinginan ini penting untuk membentuk konsistensi kenyal yang dibutuhkan.

Pembuatan Konsentrasi Larutan

Pembuatan konsentrasi larutan, kertas cakram ukuran 6 mm dicelupkan ke dalam larutan ekstrak bunga rosela dan antibiotik *Chloramphenicol* berdasarkan konsentrasi. Adapun pembuatan konsentrasi dilakukan sebagai berikut:

1. 30% = sebanyak 0,3 gram ekstrak bunga rosela dan antibiotik yang digunakan dilarutkan pada 1 mL air di cawan petri kecil hingga homogen.
2. 40% = sebanyak 0,4 gram ekstrak bunga rosela dan antibiotik yang digunakan dilarutkan pada 1 mL air di cawan petri kecil hingga homogen.
3. 50% = sebanyak 0,5 gram ekstrak bunga rosela dan antibiotik yang digunakan dilarutkan pada 1 mL air di cawan petri kecil hingga homogen.

Setelah larutan dengan konsentrasi yang diinginkan larut dan homogen, langkah selanjutnya adalah mencelupkan kertas cakram ke dalam larutan tersebut. Kertas cakram ini dibiarkan terendam dalam larutan selama kurang lebih 10 menit. Proses ini penting untuk memastikan bahwa ekstrak bunga dan antibiotik *Chloramphenicol* dapat menyerap dengan baik ke dalam kertas cakram. Setelah proses penyerapan

selesai, kertas cakram yang telah dicelupkan siap untuk digunakan dalam tahap uji bakteri (Sophia *et al.*, 2021).

Pengujian Antibakteri dan Pengukuran Zona Hambat

Cotton swab steril dimasukkan dan direndam di dalam suspensi bakteri selama beberapa detik sebelum selanjutnya *swab* basah bertempelkan bakteri digoreskan pada media MHA pada cawan petri. Proses ini dilakukan secara aseptis untuk mengurangi resiko kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan. Setelah bakteri digoreskan pada media MHA, 3 kertas cakram yang sebelumnya telah direndam di larutan konsentrasi ekstrak dan larutan konsentrasi antibiotik *Chloramphenicol* diletakan pada cawan petri yang sudah di bagi menjadi 3 zona dengan menggunakan pinset ujung lancip yang sudah disterilkan. Proses penggoresan bakteri tersebut diulang untuk setiap konsentrasi ekstrak bunga rosela dan antibiotik *Chloramphenicol* yang digunakan. Setiap sampel diberikan label nama agar tidak tertukar. konsentrasi ekstrak dan antibiotik dilakukan 3 replikasi. proses inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 24 jam, pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong digital dengan satuan milimeter (mm).

Hasil dan Pembahasan

Zona hambat

Penelitian ini mengadopsi sistem klasifikasi yang dirumuskan oleh Davis dan Stout (1971) untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri. Klasifikasi ini menyediakan kerangka terstandar untuk mengkategorikan tingkat penghambatan pertumbuhan bakteri menjadi empat level berdasarkan diameter zona hambat, seperti yang diilustrasikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi daya hambat

Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Hambat
>20	Sangat kuat
10 – 20	Kuat
5 – 9	Sedang
< 5	Lemah

Tabel referensi ini diaplikasikan untuk menganalisis respons penghambatan dari setiap

pengulangan eksperimental pada berbagai konsentrasi ekstrak tanaman dan antibiotik komparator (Mahmudah & Atun, 2017). Sistem kategorisasi ini memungkinkan interpretasi kualitatif yang konsisten terhadap data kuantitatif yang diperoleh dari pengukuran zona hambat.

Data pada Tabel 2, ditemukan bahwa rata-rata zona hambat tertinggi ekstrak adalah pada ekstrak bunga rosela konsentrasi 50% dengan diameter hambat 9,87 mm. ditemukan juga semua zona hambat *Chloramphenicol* sangat kuat menurut klasifikasi David & Stout (1971).

Tabel 2. Zona hambat sampel ekstrak etanol Rosela dan antibiotik *Chloramphenicol* terhadap bakteri *Escherichia coli*

Sampel dan Perlakuan		Zona Hambat (mm)			Rata-rata Zona Hambat (mm)	Kategori Respon Hambat
		Replika 1	Replika 2	Replika 3		
Sampel 1	30% Ekstrak Etanol Rosela	8,6	8,5	7,7	8,26±0,49	Sedang
Sampel 2	40% Ekstrak Etanol Rosela	9,5	9,6	9,9	9,66±0,21	Sedang
Sampel 3	50% Ekstrak Etanol Rosela	10	10,5	9,1	9,86±0,70	Sedang
Kontrol (+) 1	30% Antibiotik Chloramphenicol	40	42,3	41,5	41,26±1,16	Sangat Kuat
Kontrol (+) 2	40% Antibiotik Chloramphenicol	41,3	40,5	47,1	42,96±3,60	Sangat Kuat
Kontrol (+) 3	50% Antibiotik Chloramphenicol	41,9	42,7	47,3	43,96±2,91	Sangat Kuat

Data pada Tabel 3, antibiotik Kloramfenikol termasuk dalam kategori sangat kuat, sedangkan zona hambat tertinggi terdapat pada ekstrak bunga rosella pada konsentrasi 50%

dengan rata-rata 18,13 mm. Konsentrasi ekstrak bunga rosella 30% dan 40% juga termasuk dalam kategori memiliki daya hambat yang kuat.

Tabel 3. Zona hambat sampel ekstrak etanol Rosela dan antibiotik *Chloramphenicol* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Sampel dan Perlakuan		Zona Hambat (mm)			Rata-rata Zona Hambat (mm)	Kategori Respon Hambat
		Replika 1	Replika 2	Replika 3		
Sampel 1	30% Ekstrak Etanol Rosela	11,2	12,1	11,1	11,46±0,55	Kuat
Sampel 2	40% Ekstrak Etanol Rosela	16,5	14,2	15,9	15,53±1,19	Kuat
Sampel 3	50% Ekstrak Etanol Rosela	15,4	21,9	17,1	18,13±3,37	Kuat
Kontrol (+) 1	30% Antibiotik Chloramphenicol	38,9	39,4	40,2	39,5±0,65	Sangat Kuat
Kontrol (+) 2	40% Antibiotik Chloramphenicol	35,8	40,7	40,4	38,96±2,74	Sangat Kuat
Kontrol (+) 3	50% Antibiotik Chloramphenicol	41,9	43,2	40,7	41,93±1,25	Sangat Kuat

Data pada tabel 4, zona hambat tertinggi berdasarkan respon hambat terdapat pada ekstrak rosela adalah konsentrasi 50%. Pada ketiga konsentrasi ekstrak bunga rosela ini semua

memiliki respon hambat yang sama kuat dan respon hambat *Chloramphenicol* berada pada klasifikasi sangat kuat.

Tabel 4. Zona hambat sampel ekstrak etanol Rosela dan antibiotik *Chloramphenicol* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*

Sampel dan Perlakuan		Zona Hambat (mm)			Rata-rata Zona Hambat (mm)	Kategori Respon Hambat
		Replika 1	Replika 2	Replika 3		
Sampel 1	30% Ekstrak Etanol Rosela	10,4	11,1	9,9	10,46±0,60	Kuat

Sampel 2	40% Ekstrak Etanol Rosela	11,5	12,4	14,4	12,76±1,48	Kuat
Sampel 3	50% Ekstrak Etanol Rosela	14	14,9	13,6	14,16±0,66	Kuat
Kontrol (+) 1	30% Antibiotik Chloramphenicol	30,9	39,6	38,6	36,36±4,76	Sangat Kuat
Kontrol (+) 2	40% Antibiotik Chloramphenicol	34,2	38,1	38,1	36,80±2,25	Sangat Kuat
Kontrol (+) 3	50% Antibiotik Chloramphenicol	37,9	39,7	37,1	38,23±1,33	Sangat Kuat

Hasil analisis ANOVA dan Uji Tukey HSD

Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,001$) antar kelompok

perlakuan terhadap *E. coli* dengan nilai F sangat tinggi (259,913), mengindikasikan bahwa variasi konsentrasi ekstrak memberikan pengaruh nyata terhadap zona hambat bakteri.

Tabel 5. Hasil Analisis One-Way ANOVA *Escherichia coli*

ANOVA					
Zona hambat(mm)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5031,458	5	1006,292	259,913	,000
Within Groups	46,460	12	3,872		
Total	5077,918	17			

Uji Tukey HSD menghasilkan dua kelompok berbeda: ekstrak dengan konsentrasi 30-50% (zona hambat 8,27-10,12 mm) dan kelompok kontrol positif (zona hambat 41,27-

43,97 mm) (Tabel 6). Tidak ada perbedaan signifikan dalam masing-masing kelompok, namun terdapat perbedaan nyata antar kedua kelompok tersebut.

Tabel 6. Hasil Analisis uji Tukey HSD *Escherichia coli*

Zona hambat(mm)			
Tukey HSD ^a			
Konsentrasi Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
30%	3	8,2667	
40%	3	9,6667	
50%	3	10,1200	
K+30%	3		41,2667
K+40%	3		42,9667
K+50%	3		43,9667
Sig.		,850	,567

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Analisis ANOVA (Tabel 7) menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,001$) antar perlakuan terhadap *S. aureus* dengan nilai $F = 154,611$,

membuktikan adanya pengaruh yang kuat dari variasi konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas penghambatan bakteri.

Tabel 7. Hasil Analisis One-Way ANOVA *Staphylococcus aureus*

ANOVA					
Zona hambat(mm)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2915,284	5	583,057	154,611	,000
Within Groups	45,253	12	3,771		
Total	2960,538	17			

Uji Tukey HSD menunjukkan dan (3) kontrol positif (zona hambat 38,97-41,93 mm). Konsentrasi 40% bersifat transisional antara kelompok pertama dan kedua. terbentuknya tiga kelompok berbeda: (1) ekstrak 30-40% (zona hambat 11,47-15,53 mm), (2) ekstrak 40-50% (zona hambat 15,53-18,13 mm),

Tabel 8. Hasil Analisis uji Tukey HSD *Staphylococcus aureus*

		Zona hambat(mm)		
Tukey HSD ^a		Subset for alpha = 0.05		
Konsentrasi Ekstrak	N	1	2	3
30%	3	11,4667		
40%	3	15,5333	15,5333	
50%	3		18,1333	
K+40%	3			38,9667
K+30%	3			39,5000
K+50%	3			41,9333
Sig.		,180	,591	,462

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Analisis ANOVA membuktikan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,001$) antar perlakuan terhadap *P. acnes* dengan nilai $F = 102,028$, menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri.

Tabel 9. Hasil Analisis One-Way ANOVA *Propionibacterium acnes*
ANOVA

Zona hambat(mm)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2764,667	5	552,933	102,028	,000
Within Groups	65,033	12	5,419		
Total	2829,700	17			

Uji Tukey HSD menghasilkan dua kelompok berbeda: ekstrak dengan konsentrasi 30-50% (zona hambat 10,47-14,17 mm) dan kelompok kontrol positif (zona hambat 36,37-38,23 mm). Perbedaan signifikan hanya terjadi antar kelompok, bukan dalam kelompok yang sama.

Tabel 10. Hasil Analisis uji Tukey HSD *Propionibacterium acnes*

		Zona hambat(mm)	
Tukey HSD ^a		Subset for alpha = 0.05	
Konsentrasi Ekstrak	N	1	2
30%	3	10,4667	
40%	3	12,7667	
50%	3	14,1667	
K+30%	3		36,3667
K+40%	3		36,8000
K+50%	3		38,2333
Sig.		,422	,915

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Analisis Two-Way ANOVA menunjukkan pengaruh signifikan dari jenis bakteri ($p = 0,001$), konsentrasi ekstrak ($p < 0,001$), dan interaksi keduanya ($p < 0,001$) terhadap zona hambat.

Konsentrasi ekstrak memiliki pengaruh terbesar ($\eta^2=0,985$), diikuti interaksi bakteri-konsentrasi ($\eta^2=0,605$), dan jenis bakteri ($\eta^2=0,310$). Model menjelaskan 98,6% variasi data,

mengindikasikan bahwa sensitivitas ketiga jenis bakteri terhadap berbagai konsentrasi ekstrak berbeda-beda.

Tabel 11. Hasil Analisis Two-Way ANOVA (Perbandinagn antar bakteri dan konsentrasi)

Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: Zona hambat(mm)						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	10781,688 ^a	17	634,217	145,661	,000	,986
Intercept	36908,635	1	36908,635	8476,819	,000	,996
Bakteri	70,279	2	35,140	8,071	,001	,310
Konsentrasi	10471,236	5	2094,247	480,986	,000	,985
Bakteri * Konsentrasi	240,173	10	24,017	5,516	,000	,605
Error	156,746	36	4,354			
Total	47847,070	54				
Corrected Total	10938,434	53				

a. R Squared = ,986 (Adjusted R Squared = ,979)

Kesimpulan

Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak etanol bunga rosela memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acnes*. Analisis statistik menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,001$) pada efektivitas penghambatan berdasarkan konsentrasi ekstrak dan jenis bakteri. *S. aureus* menunjukkan respons dose-dependent yang jelas, dengan zona hambat meningkat seiring peningkatan konsentrasi (11,47-18,13 mm), sedangkan *E. coli* dan *P. acnes* menunjukkan respons yang lebih seragam di semua konsentrasi ekstrak yang diuji (8,27-10,12 mm dan 10,47-14,17 mm). Kontrol positif konsisten menunjukkan aktivitas antibakteri yang jauh lebih tinggi pada semua bakteri uji (36,37-43,97 mm). Interaksi signifikan antara jenis bakteri dan konsentrasi ekstrak ($p<0,001$, $\eta^2=0,605$) mengindikasikan bahwa efektivitas antibakteri ekstrak bergantung pada spesies bakteri target. Hasil ini menunjukkan potensi pengembangan ekstrak sebagai agen antibakteri, meskipun diperlukan optimasi lebih lanjut untuk meningkatkan efektivitasnya.

Ucapan Terima Kasih

Penulis ucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing atas dukungan dan bantuan

dalam penyelesaian penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada semua pihak yang telah berkontribusi secara langsung maupun tidak langsung, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

Referensi

- Alharbi, A. E., AlHussaini, A. M., & Alshami, I. (2024). A comprehensive review of the antimicrobial effects of Hibiscus species. *Cureus*, 16(3), e73062. <https://doi.org/10.7759/cureus.73062>
- Almajid, A., Bazroon, A., AlAhmed, A., & Bakhurji, O. (2023). Exploring the health benefits and therapeutic potential of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) in human studies: A comprehensive review. *Cureus*, 15(12), e49309. <https://doi.org/10.7759/cureus.49309>
- Apriliantisyah, W., Haidir, I., Rasfayanah, R., Sodikah, Y., & Said, M. F. M. (2022). Daya hambat ekstrak kunyit (*Curcuma domestica* Val) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 2(10), Article 10. <https://doi.org/10.33096/fmj.v2i10.127>
- Aprillia, D., & Az-Zahra, N. P. D. (2024). Deteksi *Escherichia coli* pada pemeriksaan air limbah. *Journal of Medical Laboratory*

- Science Technology*, 7(1), 11-18.
<https://doi.org/10.21070/medicra.v7i1.1785>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659-665. <https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
- Dewi, N. P. K. S., & Santika, I. W. M. (2023). Mekanisme Anti-Hipertensi dari Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dalam Pengobatan Berbasis Bahan Alam: A Systematic Review. *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi*, 2, 184–195.
<https://doi.org/10.24843/WSNF.2022.v2.p15>
- Fitriyani, N. L., Susilowati, S., Lestari, W., Hairat, U., Prastiwi, D., Pangandaheng, T., Putri, N. M. D., Serinadi, D. M., Daryaswanti, P. I., & Efitra, E. (2023). *Patofisiologi*. PT. Sonpedia Publishing Indonesia.
- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong terhadap *Propionibacterium acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), 67-78.
<https://doi.org/10.24042/biosfer.v10i1.4102>
- Khasanah, N., & Rianti, E. D. D. (2024). Pengaruh tinggi konsentrasi propolis terhadap efektivitas daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. *Prosiding Seminar Nasional COSMIC Kedokteran*, 2, 198-204.
- Mahmudah, F. L., & Atun, S. (2017). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Penelitian Saintek*, 22(1), 59-68.
<https://doi.org/10.21831/jps.v22i1.15380>
- Misna, M., & Diana, K. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 2(2), 138-144.
<https://doi.org/10.22487/j24428744.2016.v2.i2.5990>
- Nuryah, A., Yuniarti, N., & Puspitasari, I. (2019). Prevalensi dan Evaluasi Kesesuaian Penggunaan Antibiotik pada Pasien dengan Infeksi Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* di RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten. *Majalah Farmaseutik*, 15(2), 123.
<https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v15i2.47911>
- Pariury, J. A., Herman, J. P. C., Rebecca, T., Veronica, E., & Arijana, I. G. K. N. (2021). Potensi kulit jeruk bali (*Citrus maxima* Merr) sebagai antibakteri *Propionibacterium acne* penyebab jerawat. *Hang Tuah Medical Journal*, 19(1), 119-131.
<https://doi.org/10.30649/htmj.v19i1.65>
- Ramdhania, E. Y., Ferasyi, T. R., Sari, W. E., Abrar, M., Ismail, I. I., & Thasmi, C. N. (2020). Angka prevalensi cemaran bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam broiler yang dijual di tiga pasar tradisional Kota Banda Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 4(3), 185-190.
<https://doi.org/10.21157/jimvet.v4i3.15180>
- Retnaningsih, A. (2016). Uji daya hambat daun petai cina (*Leucaena leucocephala* folium) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi agar. *Jurnal Dunia Kesmas*, 5(2), 93-98.
- Rivai, H., Asra, R., & Putri, A. (2019). Analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan kimia dari ekstrak heksan, aseton, etanol dan air dari kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). *Research Gate*.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28840.21768>
- Sophia, A., Suraini, S., & Pangestu, M. W. (2021). Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 8(2), 180-186.
<https://doi.org/10.33653/jkp.v8i2.643>
- Umar, F. (2023). *Mycobacterium tuberculosis: Kajian mekanisme resistensi intrinsik dan resistensi genetik terhadap obat anti tuberkulosis*. PT Pusat Literasi Dunia.
- Wahyudi, A., Sapada, I. E., & Agustin, Y. (2024). Aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol maggot (*Hermetia illucens*)

- terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan: Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, 14(1), 01-10. <https://doi.org/10.52395/jkjims.v14i1.408>
- Wijanarko, B. S., & Cholid, M. A. (2022). *Kelopak bunga rosela merah herbal (Hibiscus sabdariffa var. sabdariffa): Sumber minuman penjaga stamina tubuh*. PT Kanisius.
- World Health Organization. (2023). Antimicrobial resistance. Retrieved February 28, 2025, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Zahki, M. (2023). Efektifitas antibakteri senyawa metabolit sekunder pada beberapa tanaman obat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Usadha*, 2(2), 25-32. <https://doi.org/10.36733/usadha.v2i2.5927>
- Zamilah, M., Ruhimat, U., & Setiawan, D. (2020). Media alternatif kacang tanah untuk pertumbuhan bakteri. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 1(1), 45-51. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.11>