

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN DELIMA PUTIH (*Punica granatum*) TERHADAP *Salmonella typhi*

Sindy Puspitasari^{1*}, Faisal², Gatra Ervi Jayanti³

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang

Email: sindypuspita730@gmail.com* faisal_abd@unisma.ac.id, gatra.ervi@unisma.ac.id

ABSTRACT

Salmonella typhi is a Gram-negative bacterium that causes typhoid fever and remains a significant public health concern, particularly due to the increasing resistance to conventional antibiotics. Natural products such as red betel leaf (*Piper crocatum*) and white pomegranate peel (*Punica granatum*), which contain flavonoids, tannins, and polyphenols, have potential as alternative antibacterial agents. This study aimed to determine the antibacterial activity of single and combined extracts of red betel leaf and white pomegranate peel against *Salmonella typhi*. This experimental study employed the Kirby–Bauer disk diffusion method using a completely randomized design. Chloramphenicol 0.005% was used as the positive control, while sterile distilled water served as the negative control. The treatments consisted of single extracts of red betel leaf, single extracts of white pomegranate peel, and combinations of white pomegranate peel and red betel leaf extracts (P:B) at ratios of 1:1, 1:2, and 2:1 with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. The observed parameter was the diameter of the inhibition zone after incubation at 37°C for 24 hours. Data were analyzed using the Shapiro–Wilk test, Levene's test, One-Way ANOVA, and the Least Significant Difference (LSD) post hoc test. The results showed that red betel leaf extract exhibited moderate antibacterial activity, whereas white pomegranate peel extract demonstrated strong to very strong antibacterial activity. Statistical analysis revealed significant differences among treatments ($p \leq 0.05$), indicating that the combined extracts produced greater inhibitory effects than the single extracts. The largest inhibition zone diameter was observed in the combination ratio of 1:2 at a concentration of 100%, measuring 25.21 mm, which was categorized as very strong antibacterial activity.

Keywords: Natural antibacterial, disc diffusion method, inhibition zone, negative bacteria.

ABSTRAK

Salmonella typhi merupakan bakteri Gram-negatif penyebab demam tifoid yang masih menjadi masalah kesehatan, terutama akibat meningkatnya resistensi terhadap antibiotik konvensional. Pemanfaatan bahan alam seperti daun sirih merah dan kulit delima putih yang mengandung flavonoid, tanin, dan polifenol berpotensi sebagai alternatif antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi daun sirih merah serta kulit delima putih terhadap *Salmonella typhi*. Penelitian eksperimental ini menggunakan metode difusi cakram (Kirby–Bauer) dengan rancangan acak lengkap. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol 0,005%, sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades steril. Perlakuan meliputi ekstrak tunggal daun sirih merah, ekstrak tunggal kulit delima putih, serta kombinasi kulit delima putih dan daun sirih merah (D:S) dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 pada konsentrasi 25, 50, 75 dan 100%. Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Analisis data dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk, uji Levene, One Way ANOVA, dan dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki daya hambat kategori sedang, sedangkan ekstrak kulit delima putih menunjukkan kategori kuat hingga sangat kuat. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($p \leq 0.05$), di mana kombinasi ekstrak menghasilkan daya hambat lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggal. Diameter zona hambat terbesar diperoleh pada kombinasi D:S (1:2) konsentrasi 100% sebesar 25,21 mm yang termasuk kategori sangat kuat.

Kata kunci: Antibakteri alami, metode difusi cakram, zona hambat, bakteri Gram-negatif.

1. Pendahuluan

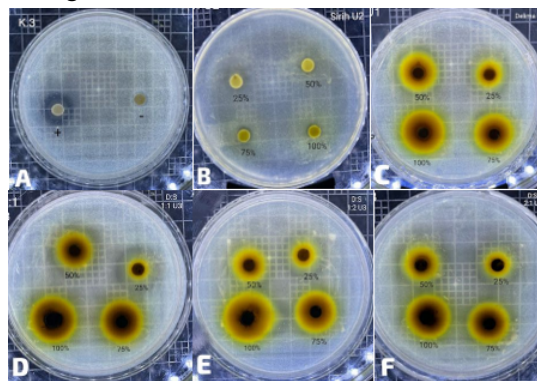
Salmonella typhi merupakan bakteri Gram-negatif penyebab demam tifoid, suatu penyakit infeksi sistemik yang masih menjadi permasalahan kesehatan global (Mustofa dkk., 2020). WHO mencatat 11-20 juta kasus per tahun dengan angka kematian mencapai 128.000-161.000 jiwa, terutama pada masyarakat dengan akses terbatas terhadap air bersih dan sanitasi yang memadai, termasuk kelompok rentan seperti anak-anak (WHO, 2018). Permasalahan utama dalam penanganan penyakit ini adalah meningkatnya resistensi *Salmonellatyphi* terhadap antibiotik lini pertama seperti kloramfenikol, ampisilin, dan trimetoprim-sulfametoksazol, yang berdampak pada penurunan keberhasilan terapi, peningkatan risiko komplikasi, serta bertambahnya durasi dan biaya perawatan (Britto dkk., 2018).

Meningkatnya resistensi antibiotik tersebut mendorong perlunya alternatif atau pendamping terapi yang lebih aman dan efektif. Salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan adalah pemanfaatan bahan alam sebagai agen antibakteri. Peningkatan aktivitas tersebut diduga terjadi akibat interaksi antar senyawa aktif yang bekerja pada target berbeda dalam sel bakteri, sehingga daya hambat menjadi lebih optimal (Das dkk., 2019). Oleh karena itu, penelitian mengenai kombinasi ekstrak tanaman perlu dilakukan untuk mengetahui potensi peningkatan aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) dikenal sebagai salah satu tanaman obat yang banyak dimanfaatkan dalam praktik pengobatan tradisional di Indonesia. Daunnya mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, serta minyak atsiri yang memiliki

aktivitas antibakteri, terutama melalui mekanisme kerusakan struktur membran sel dan gangguan proses metabolisme bakteri (Syafriana & Rusyita, 2019).

Kulit delima putih (*Punica granatum*) juga dilaporkan mempunyai aktivitas antibakteri yang signifikan. Bagian kulit buah ini mengandung senyawa aktif seperti polifenol, tanin, flavonoid, ellagitanin, dan asam ellagik yang bekerja melalui mekanisme denaturasi protein serta penghambatan enzim bakteri. Penelitian Junaidah (2017), melaporkan bahwa ekstrak kulit delima putih dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sekitar 9 mm pada konsentrasi 3,5%, yang termasuk dalam kategori kuat.



Berdasarkan potensi kedua tanaman tersebut, kombinasi ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih diduga dapat memberikan aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan ekstrak tunggal. Namun, efektivitas kombinasi sangat dipengaruhi oleh rasio dan konsentrasi ekstrak yang digunakan, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi daun sirih merah dan kulit delima putih terhadap *Salmonella typhi* menggunakan metode difusi cakram, sehingga diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi kombinasi bahan alam sebagai alternatif antibakteri

2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Malang. Waktu penelitian direncanakan berlangsung selama bulan November 2025 - Januari 2026, meliputi tahap persiapan sampel, ekstraksi, pengujian antibakteri, hingga analisis data.

Penelitian eksperimental menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*) dengan rancangan acak lengkap. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol 0,005%, sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades steril. Perlakuan meliputi ekstrak tunggal daun sirih merah, ekstrak tunggal kulit delima putih, serta kombinasi kulit delima putih dan daun sirih merah (D:S) dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 pada konsentrasi 25, 50, 75 dan 100%. Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Analisis data dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk, uji Levene, One Way ANOVA, dan dilanjutkan dengan uji LSD.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Salmonella typhi*

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun sirih merah, ekstrak kulit delima putih, serta kombinasi keduanya dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan parameter utama berupa diameter zona hambat (mm) yang terbentuk. Pada Gambar 7 menunjukkan zona hambat hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

Gambar 1. Zona Hambat: (A) Kontrol Positif; (B) Daun Sirih Merah; (C) Kulit

Delima Putih; (D) Kombinasi (D:S) 1:1; (E) Kombinasi (D:S) 1:2; (F) Kombinasi (D:S) 2:1

Pada Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak tunggal daun sirih merah, ekstrak tunggal kulit delima putih, serta kombinasi keduanya terhadap *Salmonella typhi* pada berbagai konsentrasi.

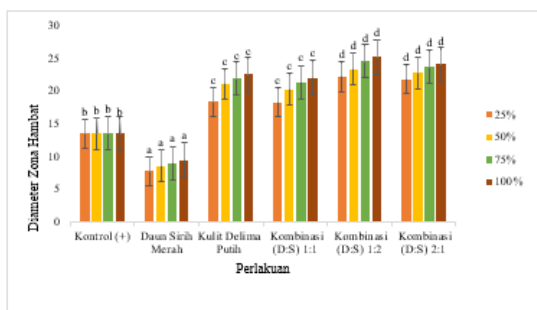
Tabel 1. Diameter Zona Hambat Ekstrak terhadap *Salmonella typh*

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rerata (mm)	Kategori
		U1	U2	U3		
Kontrol (+)	-	13,38	14,35	13,00	13,58	Kuat
Kontrol (-)	-	0	0	0	0	-
Daun Sirih Merah	25	6,96	7,81	8,72	7,83	Sedang
	50	8,08	8,62	9,24	8,65	Sedang
	75	8,36	9,03	9,77	9,05	Sedang
	100	8,84	9,56	10,18	9,53	Sedang
Kulit Delima Putih	25	16,64	18,51	20,02	18,39	Kuat
	50	19,56	21,32	22,53	21,14	Sangat kuat
	75	20,51	22,34	23,01	21,95	Sangat kuat
	100	21,54	23,05	23,21	22,60	Sangat kuat
Kombinasi Delima : Sirih (D: S) 1:1	25	16,21	18,56	20,12	18,30	Kuat
	50	18,52	20,22	22,08	20,27	Sangat kuat
	75	19,51	21,43	23,22	21,39	Sangat kuat
	100	20,07	22,87	23,33	22,09	Sangat kuat
Kombinasi Delima : Sirih (D:S) 1:2	25	20,21	22,21	24,32	22,25	Sangat kuat
	50	21,53	23,65	25,12	23,43	Sangat kuat
	75	22,57	24,53	26,64	24,58	Sangat kuat
	100	23,45	25,67	26,52	25,21	Sangat kuat
Kombinasi Delima : Sirih (D:S) 2:1	25	20,62	21,82	23,12	21,85	Sangat kuat
	50	21,54	22,75	24,22	22,84	Sangat kuat
	75	22,06	23,86	25,35	23,76	Sangat kuat
	100	22,57	24,23	25,67	24,16	Sangat kuat

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan metode Shapiro-Wilk seluruh perlakuan menunjukkan nilai signifikansi (p-value) lebih besar dari 0,05, yaitu berkisar antara 0,272 hingga 0,909. Hal ini menunjukkan bahwa data diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan, baik ekstrak tunggal maupun kombinasi, berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas menggunakan uji Levene menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,121 ($p > 0,05$), yang berarti data memiliki varians yang homogen. Berdasarkan hasil uji One Way ANOVA, diperoleh nilai F hitung sebesar 113,792 dengan nilai

signifikansi $p < 0,05$, yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap diameter zona hambat.

Berdasarkan Gambar 2 diameter zona hambat, terlihat adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap diameter zona hambat *Salmonella typhi*. Hasil analisis menunjukkan bahwa setiap perlakuan memiliki tingkat efektivitas yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 2. Diameter Zona Hambat

3.2 Pembahasan

3.2.1 Perbandingan dengan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai pembandingan untuk mengevaluasi keakuratan hasil uji antibakteri serta memastikan bahwa perubahan pertumbuhan bakteri yang diamati benar-benar disebabkan oleh perlakuan yang diberikan. Pada penelitian ini, kontrol positif menggunakan kloramfenikol sebagai antibiotik standar untuk menilai sensitivitas *Salmonella typhi* terhadap agen antibakteri. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri melalui ikatan pada subunit ribosom 50S sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Terbentuknya zona hambat pada

kontrol positif menunjukkan bahwa metode difusi cakram, media Mueller Hinton Agar (MHA), dan kondisi inkubasi telah mendukung pengujian secara optimal, sehingga aktivitas antibakteri ekstrak dapat dievaluasi secara akurat (Abadi dkk., 2025).

Berdasarkan hasil pengukuran, rerata diameter zona hambat pada kontrol positif termasuk dalam kategori kuat, yang menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* masih sensitif terhadap kloramfenikol. Besarnya diameter zona hambat pada kontrol positif menunjukkan bahwa antibiotik standar memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi dan mampu berdifusi dengan baik ke dalam media agar. Pengujian kontrol negatif menggunakan aquadest steril dilakukan untuk memastikan bahwa pelarut tidak memiliki aktivitas antibakteri. Tidak terbentuknya zona hambat (0 mm) pada kontrol negatif membuktikan bahwa aquadest tidak memengaruhi pertumbuhan *Salmonella typhi*.

3.2.2 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah terhadap *Salmonella typhi*

Pada ekstrak daun sirih merah tunggal, seluruh konsentrasi (25, 50, 75 dan 100%) menunjukkan kategori sedang dengan diameter zona hambat yang relatif stabil. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi tidak disertai dengan peningkatan aktivitas yang signifikan secara proporsional. Secara mekanisme, daun sirih merah mengandung flavonoid, tanin, alkaloid dan minyak atsiri dengan senyawa fenolik seperti eugenol, chavicol, chavibetol, dan fenol (Lubis dkk., 2025)..

Kondisi tersebut sejalan dengan penelitian Mangesa dan Aloatuan (2019), yang menyatakan bahwa ekstrak daun sirih mampu menghambat *Salmonella typhi*, namun daya hambatnya relatif rendah. Rendahnya aktivitas tersebut juga dipengaruhi oleh karakteristik struktural *Salmonella typhi* sebagai bakteri Gram negatif. Pangaribuan dkk. (2019), menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak sirih terhadap bakteri Gram negatif cenderung lebih rendah dibandingkan terhadap bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus*, yang menunjukkan bahwa kompleksitas dinding sel Gram negatif menjadi faktor pembatas utama.

Faktor biologis juga dapat memengaruhi hasil yang diperoleh. Senyawa dengan berat molekul tinggi atau polaritas tertentu cenderung sulit berdifusi secara maksimal melalui matriks agar, sehingga zona hambat yang terbentuk tidak sepenuhnya mencerminkan potensi antibakteri sebenarnya. Damayanti dkk. (2024), menunjukkan bahwa efektivitas ekstrak daun sirih merah terhadap *Salmonella typhi* sangat bergantung pada formulasi dan bentuk sediaan.

3.2.3 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Delima Putih terhadap *Salmonella typhi*

Hasil penelitian pada ekstrak kulit delima putih tunggal menunjukkan adanya pola peningkatan aktivitas antibakteri yang konsisten, yaitu kategori kuat pada konsentrasi 25% dan meningkat menjadi sangat kuat pada konsentrasi 50-100%. Pola ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan efektivitas penghambatan pertumbuhan bakteri. Kulit delima

putih diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti ellagitannin (punicalagin), asam ellagat, flavonoid, polifenol, dan alkaloid yang berperan dalam aktivitas antibakteri (Mansur dkk., 2022). Pada penelitian Rusli dkk. (2024) menunjukkan bahwa ekstrak tanaman dengan kandungan tanin tinggi menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar terhadap *Salmonella typhi* dibandingkan tanaman dengan dominasi flavonoid.

3.2.4 Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Kulit Delima

Kombinasi ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih menunjukkan peningkatan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Hal ini ditunjukkan oleh diameter zona hambat yang berada pada kategori kuat hingga sangat kuat pada seluruh variasi rasio dan konsentrasi.

Pada kombinasi D:S (1:1) aktivitas antibakteri yang dihasilkan berada pada kategori kuat hingga sangat kuat. Perbandingan yang seimbang antara kedua ekstrak konsentrasi flavonoid, tanin, dan polifenol berada dalam proporsi yang relatif setara. Kondisi ini menyebabkan penghambatan terjadi pada beberapa target sel bakteri secara bersamaan, meliputi protein membran, enzim metabolik, dan komponen struktural sel.

Pada kombinasi D:S (1:2) aktivitas antibakteri yang dihasilkan merupakan yang tertinggi dibandingkan rasio lainnya. Dominasi ekstrak daun sirih merah menyebabkan kandungan flavonoid dan senyawa fenolik menjadi lebih tinggi, sehingga interaksi dengan

lapisan lipopolisakarida dan protein membran luar bakteri berlangsung lebih intensif. Akumulasi senyawa aktif pada lokasi target yang lebih besar menyebabkan hambatan terhadap sistem enzimatik dan proses biosintesis sel berlangsung lebih optimal, yang tercermin dari terbentuknya diameter zona hambat tertinggi pada penelitian ini (Tuasalamony, 2022).

Pada kombinasi D:S (2:1) seluruh konsentrasi juga menunjukkan aktivitas antibakteri dalam kategori sangat kuat. Dominasi ekstrak kulit delima putih menyebabkan konsentrasi tanin, ellagitannin, dan asam ellagat menjadi lebih tinggi dibandingkan senyawa

Mekanisme kerja kombinasi ini sejalan dengan penelitian Refwalu dkk. (2023) yang menyatakan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui peningkatan permeabilitas membran dan gangguan sintesis protein. Nugraha dkk. (2017) juga melaporkan bahwa flavonoid berperan dalam merusak membran sel bakteri. Di sisi lain, Noriko (2013) menyatakan bahwa tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein dan enzim sel, sedangkan Ariyanti (2017) menunjukkan bahwa flavonoid dan tanin memiliki mekanisme kerja yang berbeda namun saling melengkapi.

3.2. 5 Karakteristik Zona Hambat yang Tidak Bening

Zona hambat yang tampak keruh dengan batas kurang tegas pada uji aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dapat dikaitkan dengan mekanisme kerja senyawa aktif yang bersifat

bakteriostatik. Kondisi ini menandakan bahwa senyawa antibakteri lebih berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri tanpa menyebabkan kematian sel secara menyeluruh. Purwanti dkk. (2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga yang diuji terhadap *Escherichia coli* dengan metode difusi Kirby-Bauer menghasilkan zona hambat yang tidak sepenuhnya jernih pada konsentrasi 10-60%, yang mengindikasikan dominasi efek penghambatan pertumbuhan dibandingkan efek bakterisidal.

Respons bakteri terhadap senyawa antibakteri juga dipengaruhi oleh kondisi fisiologis sel selama pengujian. Mekanisme kerja senyawa aktif serta fase pertumbuhan bakteri pada saat pengujian dapat memengaruhi karakteristik zona hambat yang terbentuk. Pada satu kultur bakteri, sel-sel tidak berada pada tahap pertumbuhan yang sama, melainkan terdiri atas fase lag, log, stasioner dan kematian, yang masing-masing memiliki tingkat aktivitas metabolisme yang berbeda. Pada metode difusi cakram, *Salmonella typhi* umumnya berada pada fase log karena suspensi bakteri disiapkan berdasarkan standar McFarland, sehingga lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri. Warna kuning yang tampak pada zona hambat juga dapat dipengaruhi oleh karakteristik alami ekstrak yang digunakan. Pada seluruh perlakuan, baik ekstrak tunggal maupun kombinasi, area di sekitar cakram menunjukkan warna kuning yang diduga berasal dari kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan senyawa fenolik. Senyawa-senyawa tersebut memiliki pigmen alami yang dapat memberikan warna kuning hingga kuning

kecokelatan pada medium di sekitar cakram. Keberadaan pigmen ini menyebabkan area hambat tidak tampak bening sempurna seperti pada penggunaan antibiotik sintetis yang umumnya tidak berwarna. Oleh karena itu, tampilan zona hambat yang berwarna kekuningan tidak selalu menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, melainkan dapat disebabkan oleh penyebaran pigmen alami ekstrak ke dalam medium. Kondisi teknis pengujian dapat memengaruhi kejernihan zona hambat, meliputi ketebalan media agar, kepadatan inokulum, serta suhu inkubasi yang berperan dalam menentukan keseimbangan antara pertumbuhan bakteri dan difusi senyawa antibakteri.

3.3 Analisis Statistik

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan metode Shapiro-Wilk, seluruh perlakuan menunjukkan nilai signifikansi (p -value) lebih besar dari 0,05, yaitu berkisar antara 0,272 hingga 0,909. Data diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan, baik ekstrak tunggal maupun kombinasi, berdistribusi normal. Terpenuhinya asumsi normalitas ini menunjukkan bahwa data layak untuk dianalisis menggunakan uji parametrik. Pemilihan uji Shapiro-Wilk didasarkan pada jumlah sampel yang kurang dari 50 ($n < 50$) pada setiap kelompok perlakuan.

Hasil uji homogenitas menggunakan uji Levene menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,121 ($p > 0,05$), yang berarti data diameter zona hambat memiliki varians yang homogen antar kelompok perlakuan. Kondisi ini menunjukkan bahwa variasi data

dalam masing-masing kelompok relatif sama, sehingga perbedaan yang terjadi lebih disebabkan oleh perlakuan yang diberikan (jenis dan konsentrasi ekstrak), bukan oleh variabilitas internal yang tidak merata.

Dengan terpenuhinya kedua asumsi tersebut, analisis dilanjutkan menggunakan uji One Way ANOVA. Hasil uji menunjukkan nilai F hitung sebesar 113,792 dengan signifikansi $p < 0,01$, yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap diameter zona hambat *Salmonella typhi*. Hal ini menunjukkan bahwa variasi jenis ekstrak, baik tunggal maupun kombinasi, memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa setiap perlakuan memiliki tingkat efektivitas yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Kontrol positif (kloramfenikol) memiliki diameter zona hambat sebesar 13,58 mm dan berbeda signifikan dengan semua perlakuan, dengan nilai yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak sirih merah namun lebih rendah dibandingkan ekstrak delima putih dan kombinasi. Ekstrak daun sirih merah menunjukkan nilai rata-rata diameter zona hambat paling rendah (9,53 mm pada konsentrasi 100%) dan berbeda signifikan dengan seluruh perlakuan lainnya. Ekstrak kulit delima putih (22,60 mm) dan kombinasi rasio 1:1 (22,09 mm) tidak berbeda signifikan satu sama lain, sehingga keduanya memiliki efektivitas antibakteri yang relatif setara. Kombinasi rasio 1:2 (25,21 mm) dan 2:1 (24,16 mm) menunjukkan diameter zona hambat tertinggi dan tidak berbeda signifikan

satu sama lain, tetapi berbeda signifikan dibandingkan perlakuan lainnya, termasuk ekstrak delima putih tunggal. Secara keseluruhan, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan komposisi ekstrak berpengaruh signifikan terhadap aktivitas antibakteri ($p < 0,05$). Meskipun kombinasi rasio 1:2 menghasilkan nilai rata-rata tertinggi (25,21 mm), secara statistik tidak berbeda signifikan dengan kombinasi rasio 2:1, tetapi berbeda signifikan dengan ekstrak delima putih tunggal.

Berdasarkan pola tersebut, dapat dilihat bahwa peningkatan aktivitas antibakteri pada kombinasi tidak selalu signifikan secara statistik, meskipun secara numerik menunjukkan nilai yang lebih tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri kombinasi cenderung didominasi oleh ekstrak kulit delima putih, yang secara individual memiliki aktivitas tinggi terhadap *Salmonella typhi*. Penambahan ekstrak daun sirih merah hanya memberikan peningkatan yang relatif kecil (sekitar 2,61 mm atau 11,5% pada rasio 1:2) dan tidak signifikan dibandingkan ekstrak delima putih tunggal.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dengan tingkat efektivitas yang berbeda. Ekstrak daun sirih merah menunjukkan daya hambat kategori sedang, sedangkan ekstrak kulit delima putih memiliki aktivitas lebih tinggi dengan kategori kuat hingga sangat kuat. Kombinasi kedua ekstrak menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggal, dengan diameter zona hambat terbesar pada rasio 1:2 konsentrasi 100% sebesar 25,21 mm yang termasuk kategori

sangat kuat. Kombinasi ekstrak daun sirih merah dan kulit delima putih berpotensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri alami dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, namun masih memerlukan penelitian lanjutan.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, M. J., Rusip, G., Wahyuni, S., & Sartika, D. (2025). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Infusa Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Implementa Husada*, 6(3), 288-299.
- Adriana, U. H., Nofita, N., & Marcelia, S. (2024). Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum x africanum* Lour.) dan Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebagai Antibakteri Pada *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 11(1), 196-203.
- Aisyiyah, N. M., Siregar, K. A. A. K., & Kustiawan, P. M. (2021). Review: Potensi Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Antiinflamasi Pada Rheumatoid Arthritis. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 7(2).
- Aldina, D. R., Husain, M. H., Aini, R. D. R., Salamah, F. Z., & Faisal, F. (2023). Uji Hambatan Bakteri *Escherichia Coli*. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Teknik dan Informatika*, 1(4), 1-7.
- Crisdian, H. A. (2021). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Johar (*Cassia siamea* Lamk.) dan Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Salmonella typhi*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 133-140.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent Advances In Understanding The Antibacterial Properties Of Flavonoids. *International Journal of*

- Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665.
<https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
- Dewi, I.P., Verawaty., T. Taslim., dan R. Khairunnisa. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih Merah dan Lidah Mertua terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Katalisator*, (5)2 : 197-205.
- Dhavesia, V. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* (Doctoral dissertation, Uajy).
- Dhoa, A. L. (2015). Skrining antibakteri kombinasi ekstrak etanol jambu biji, kunyit, meniran dan majaan terhadap *staphylococcus aureus*, *salmonella typhii* dan *escherichia coli* (Doctoral dissertation, Widya Mandala Catholic University Surabaya).
- Produced Juices by HPLC-DAD–ESI/MSn. *Food chemistry*, 127(2), 807-821.
- Hanik, I. (2012). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dan Kloramfenikol Terhadap *Staphylococcus aureus* Sensitif Dan Multiresisten Antibiotik (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Hardini, M. (2017). Daya Hambat Ekstrak Daun Salam (*Sygyzum polyantum* [Wight] Walp) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Semarang).
- Hardodianto, R., Putra, P., Widyaningrum, I., & Fadli, M. Z. (2021). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etil Asetat Rimpang Jahe Merah dan Lengkuas Merah. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)*, 1, 1-8.
- Hasmal, A. L., Iqbal, M., & Triyandi, R. (2025). Pengaruh Konsentrasi dan Volume Etanol Terhadap Rendemen Ekstrak Tanaman Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L.) Menggunakan Metode Maserasi. *Sains Medisina*, 4(2), 55-59.
- Hawkins, J. L., Uknalis, J., Oscar, T. P., Schwarz, J. G., Vimini, B., & Parveen, S. (2019). The effect of previous life cycle phase on the growth kinetics, morphology, and antibiotic resistance of *Salmonella Typhimurium* DT104 in brain heart infusion and ground chicken extract. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1043.
- Hayati, S. J., & Ikhsani, A. (2021). Vaksinasi Sebagai Pencegahan Resistensi Antimikroba Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 2(3), 276-283.
- Heliawati, L., Lestari, S., Hasanah, U., Ajiati, D., & Kurnia, D. (2022). Phytochemical profile of antibacterial agents from red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) against bacteria in dental caries. *Molecules*, 27(9), 2861.
- Helmi, N. (2021). Delima dalam Perspektif Corak 'Ilmi (Tela'ah Kitab Tafsir al-Jawahir Thantawi Jauhari) (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau).
- Hidayat, S. M., & Safitri, C. I. N. H. (2020). Aktivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Buah Asam Jawa Terhadap *Candida albicans* Secara Mikrodilusi. In *Prosiding SNPBS (Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek)* (pp. 611-620).
- Imara, F. (2020). *Salmonella typhi* Bakteri Penyebab Demam Tifoid. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 6, No. 1, pp. 1-5).

- Indriyani, I., Rizqi, U., & Mahmudah, U. (2020). Bagaimana Kreativitas Dan Keaktifan Mahasiswa Mempengaruhi Pemahaman Materi Abstrak Matematika Melalui E-Learning. *Al Khawarizmi: Jurnal Pendidikan Dan Pembelajaran Matematika*, 4(2), 112-131.
- Jamilah, J. (2015). Evaluasi keberadaan gen catp terhadap resistensi kloramfenikol pada penderita demam tifoid. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 1).
- Kapondo, G. L., & Jayanti, M. (2020). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Dan Uji Efektivitas Penghambatan Dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *eBiomedik*, 8(2).
- Kasudaha, F. A., Rahman, I., Mus, N. M., & Sibadu, M. S. A. (2024). Studi *In Vitro* aktivitas antibakteri ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap bakteri *Salmonella typhi*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 4(3).
- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S. W. A., & Nurchayati, Y. (2023). Uji Kualitatif Metabolit Sekunder Pada Beberapa Tanaman Yang Berkhasiat Sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 8(1), 61-70.
- Khasanah, N. (2011). Kandungan Buah-buahan dalam Al Qur'an: Buah Tin (*Ficus carica* L.), Zaitun (*Olea europea* L.), Delima (*Punica granatum* L.), Anggur (*Vitis vinivera* L.), dan Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) untuk Kesehatan. *Jurnal Phenomenon*, 1(1), 5-29.
- Kumakura, D., Yamaguchi, R., Hara, A., & Nakaoka, S. (2023). Disentangling the growth curve of microbial culture. *Journal of theoretical biology*, 573, 111597.
- Kurniawan, E., Jekti, D. S. D., & Zulkifli, L. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) terhadap bakteri patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(1). <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i1.1040>
- Lestari, T. W., & Indrayudha, P. (2013). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) Dan Amoksisilin Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, DAN *Salmonella typhi* serta bioautografinya (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Lubis, R., Khodijah, D., & Nurpermatasari, A. (2025). Antimicrobial Effectiveness Test of Ethanol Extract of Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz And Pav). *Jurnal Farmasimed (JFM)*, 8(1), 384-390.
- Magvirah, T., Marwati, & Ardhani, F. (2019). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2), 41-50
- Mangesa, R., & Aloatuan, F. (2019). Efektifitas dan Kandungan Fraksi Aktif Metanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) sebagai Antibakteri *Salmonella typhi*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), 57-65.
- sains. In *Proceedings of International Pharmacy Ulul Albab Conference and Seminar (PLANAR)* (Vol. 2, pp. 69-76).
- Mappasomba, M., Malaka, M. H., Hamsidi, R., Zulbayu, L. O. M. A., & Sahidin, S. (2020). Aktivitas Antimikroba dan Skrining Fitokimia Beberapa Tanaman Berkhasiat Obat di Kota Kendari. *Pharmauho J. Farm. Sains, dan Kesehat*, 6(1), 20.
- Mikail, H. G., Mohammed, M., Umar, H. D., & Suleiman, M. M. (2022).

- Secondary metabolites: the natural remedies. In *Secondary Metabolites-Trends and Reviews*. IntechOpen.
- Mustofa, F. L., Rafie, R., & Salsabilla, G. (2020). Karakteristik Pasien Demam Tifoid pada Anak dan Remaja. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 625–633.
- dan Kesehatan, 4(2).
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Nuria, M. C., & Faizatun, A. (2009). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *MEDIAGRO: journal of agricultural sciences*, 5(2).
- Nurmansyah, D. (2020). Patogenesis Dan Diagnosa Laboratorium Demam tifoid. *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*.
- Orszulik, S. T. (2024). The quality of antimicrobial susceptibility test discs and implications for clinical outcomes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 109(1), 116237.
- Pangaribuan, B. B. P. (2017). Perbandingan Daya Hambat Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.
- Pebrina, M., Sari, I. K., Eliza, A., & Honesty, D. M. (2019). Antibacterial activities of combination of ethanol extract of Delima fruit (*Punica granatum* L.) and Sereh stem (*Cymbopogon citratus*) on *Staphylococcus aureus*.
- Prihantoro, T., Indra, R., & Sumarno, S. (2006). Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum*) terhadap *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 22(3), 101-106.
- Putria, D. K., Salsabila, I., Darmawan, S. A. N., Pratiwi, E. W. G., & Nihan, Y. A. (2022). Identifikasi Tanin Pada Tumbuh-Tumbuhan Di Indonesia. *PharmaCine: Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*, 3(1), 11-24.
- Rafsanjani, R., Januarista, T., Faisal, F., & Ramadhan, M. (2024). Analisis Kandungan Total Fenol pada Kulit Delima Putih (*Punica granatum* L.) Menggunakan Metode Folin. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Sains Unisma Malang*, 2(2), 88-94.
- Ramadhan, H., Andina, L., Vebruati, V., Nafila, N., Yuliana, K. A., Baidah, D., & Lestari, N. P. (2020). Perbandingan rendemen dan skrining fitokimia dari ekstrak etanol 96% daun, buah dan kulit buah terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 103-112.
- Ramadhani, M. W., & Syauqi, A. (2025). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper betle* var *nigra*) Terhadap Zona Hambat Bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. *Jurnal SAINS ALAMI (Known Nature)*, 8(1), 56-64.
- Refwalu, M. H., Indrayati, A., & Purwidyaningrum, I. (2023). Studi Mekanisme Molekuler Antibakteri dari Daun Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 20(1), 32-45.
- Rosmania, R., & Yanti, F. (2020). Perhitungan Jumlah Bakteri Di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86.

- Rusli, R., Ikbal, I., Vivi, V., Asmawaty, A., & Rusdian, R. (2024). Analisis Fitokimia Dan Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Salmonella typhi*. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*, 19(2), 183-187.
- Safitri, R., & Novel, S. S. (2010). Medium Analisis Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur). *Trans Info Media*.
- Sobirin, M. (2019). Uji Efektivitas Anti Mikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* Linn) terhadap Bakteri *Salmonella* sp. *Jurnal Borneo Cendekia*, 3(1), 76-84.
- Sofa, N. (2025). Uji antibakteri kombinasi bawang putih (*Allium sativum* L.) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*, Nees & T. Nees) terhadap *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Sujono, H., Rizal, S., Purbaya, S., & Jasmansyah, J. (2019). Antibacterial Activity of the Essential Oil from Betel leaf (*Piper betle* L.) against *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kartika Kimia*, 2(1), 30-36.
- Tuasalamony, M. M., Seumahu, C. A., & Pesik, A. (2022). Uji Aktivitas Sediaan Spray Hand Sanitizer Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Daun Serai sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
- Umami, Z. (2019). Formulasi Dan Evaluasi Sabun Cair Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Riuz & Pav.) Serta Uji Aktivitas Sebagai Antiseptik Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* (Doctoral dissertation, Institut Kesehatan Helvetia).
- Usmadi, U. (2020). Pengujian persyaratan analisis (Uji homogenitas dan uji normalitas). *Inovasi Pendidikan*, 7(01).
- Wang, Y., Yin, T., Qian, M., Ismail, B. B., Zou, Z., Zhang, X., ... & Guo, M. (2025). Integrated Phenotypic and Transcriptomic Analyses Unveil the Antibacterial Mechanism of Punicalagin Against *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Foods*, 14(21), 3589.
- Wardani, A. K., & Pertiwi, F. N. E. (2013). Produksi Etanol dari Tetes Tebu oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk flok (NRRL-Y 265). *AgriTech*, 33(2), 131-139. <https://doi.org/10.22146/agritech.9810>
- World Health Organization (WHO). (2018). Typhoid and Other Invasive Salmonellosis. WHO, 1-13