

Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Test of Rice Bran Ethanol Extract (*Oryza sativa* L.) on Membrane Leakage in *Staphylococcus aureus*

Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dedak Padi (*Oryza sativa* L.) terhadap Kebocoran Membran Bakteri *Staphylococcus aureus*

Maharani Auza ^a, Haris Munandar Nasution ^{a*}, Ainil Fithri Pulungan ^a, Zulmai Rani ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: harismunandar@umnaw.ac.id

Abstract

Background: Rice bran is commonly utilized only as animal feed and is often regarded as a byproduct of rice milling. However, rice bran contains flavonoid compounds that exhibit antibacterial activity. This study aims to explore the potential of rice bran as an antibacterial agent, specifically against *Staphylococcus aureus*, through antibacterial activity testing and analysis of cell membrane leakage mechanisms. **Objective:** This research aims to utilize rice bran by evaluating its antibacterial activity and its mechanism of bacterial membrane leakage against *Staphylococcus aureus*. **Methods:** This experimental study involved the collection of rice bran samples, plant determination, simplicia characterization, and extraction using maceration with 96% ethanol. Phytochemical screening was conducted to identify active compounds, while antibacterial activity was tested using the disk diffusion method (Kirby-Bauer) at concentrations of 10%, 12.5%, 25%, 50%, 70%, and 80%. The membrane leakage mechanism was assessed by measuring nucleic acid and protein leakage (UV-Vis spectrophotometry) as well as Ca^{2+} and K^{+} ion release (atomic absorption spectrophotometry, AAS). Data were statistically analyzed using SPSS. **Results:** The ethanolic extract of rice bran yielded a 26.38% extraction yield and contained secondary metabolites, including alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids/steroids, and glycosides. The antibacterial assay revealed inhibition zones classified as strong activity. Furthermore, rice bran extract induced membrane leakage in *S. aureus*, evidenced by increased mean absorbance values and standard deviations for DNA, protein (UV-Vis spectrophotometry), and Ca^{2+} and K^{+} ions (atomic absorption spectrophotometry) with rising extract concentrations. **Conclusion:** Rice bran exhibits potential as an antibacterial agent against *Staphylococcus aureus* through a membrane leakage mechanism. These findings support the utilization of rice bran not only as animal feed but also as a source of bioactive antimicrobial compounds.

Keywords: Rice Bran, Antibacterial, Membrane Leakage, Spectrophotometry.

Abstrak

Latar Belakang: Dedak padi umumnya hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan sering dianggap sebagai limbah dari proses penggilingan padi. Padahal, dedak padi mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi dedak padi sebagai agen antibakteri, khususnya terhadap *Staphylococcus aureus*, melalui uji aktivitas antibakteri dan mekanisme kebocoran membran sel. **Tujuan Penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan dedak padi dengan menguji aktivitas antibakterinya serta mekanisme kebocoran membran sel bakteri *Staphylococcus aureus*. **Metode:** Penelitian eksperimental ini meliputi pengumpulan sampel dedak padi, determinasi tumbuhan, karakterisasi simplisia, dan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif, sedangkan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer) pada konsentrasi 10%, 12,5%, 25%, 50%, 70%, dan 80%. Mekanisme

kebocoran membran sel diuji melalui pengukuran kebocoran asam nukleat, protein (spektrofotometer UV-Vis), serta ion logam Ca^{2+} dan K^{+} (spektrofotometer serapan atom/AAS). Data dianalisis secara statistik dengan SPSS. **Hasil Penelitian:** Ekstrak etanol dedak padi menghasilkan rendemen sebesar 26,38% dan mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid, serta glikosida. Uji antibakteri menunjukkan zona hambat yang termasuk dalam kategori aktivitas kuat. Selain itu, ekstrak dedak padi menyebabkan kebocoran membran sel *S. aureus*, ditandai dengan peningkatan absorbansi DNA, protein, serta ion Ca^{2+} dan K^{+} seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. **Kesimpulan:** Dedak padi memiliki potensi sebagai agen antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* melalui mekanisme kebocoran membran sel. Temuan ini mendukung pemanfaatan dedak padi tidak hanya sebagai pakan ternak, tetapi juga sebagai sumber senyawa bioaktif antimikroba.

Kata Kunci: Dedak Padi, Antibakteri, Kebocoran Membran, Spektrofotometri.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 27/01/2025,
Revised: 13/06/2025,
Accepted: 13/06/2025,
Available Online: 13/06/2025.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.907>

Pendahuluan

Penyakit infeksi, atau penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen, masih menjadi masalah kesehatan utama di negara berkembang, termasuk Indonesia. Jenis penyakit ini termasuk yang paling sering ditemukan dalam masyarakat, terutama pada individu dengan sistem imun yang lemah. Infeksi terjadi ketika mikroba patogen berinteraksi dengan tubuh, menyebabkan kerusakan jaringan dan memicu munculnya gejala klinis. Salah satu mikroorganisme patogen penyebab penyakit pada manusia adalah *Staphylococcus aureus*, bakteri gram positif yang dikenal memiliki virulensi tinggi [1]. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang bersifat kosmopolit (dapat ditemukan di berbagai lingkungan), termasuk sebagai flora normal pada tubuh manusia. Bakteri ini bersifat komensal, tetapi dalam kondisi tertentu dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan infeksi. *S. aureus* mengkolonisasi sekitar 30% populasi manusia, terutama di kulit, saluran pernapasan atas, dan saluran pencernaan. Penularannya umumnya terjadi melalui kontak langsung dengan pembawa (*carrier*) atau melalui benda yang terkontaminasi [2].

Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* menjadi perhatian serius mengingat meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik konvensional. Tan et al. melaporkan tingkat resistensi *S. aureus* yang mengkhawatirkan terhadap berbagai antibiotik, yaitu 72,30% terhadap ampicilin, 53,38% terhadap penisilin, 4,73% terhadap nitrofurantoin, dan 1,35% terhadap kloramfenikol [3]. Fenomena resistensi antibiotik ini mendorong perlunya eksplorasi senyawa antibakteri baru dari sumber alam [4]. Salah satu bahan alam yang menjanjikan adalah dedak padi (*Oryza sativa* L.), produk samping penggilingan yang mengandung senyawa flavonoid dengan aktivitas antimikroba yang telah teridentifikasi [5]. Potensi ini menjadikan dedak padi sebagai kandidat agen antibakteri alternatif yang patut dikaji lebih lanjut.

Dedak dan bekatul merupakan hasil samping penggilingan padi yang memiliki karakteristik berbeda. Dedak terdiri dari lapisan terluar butir padi (perikarp dan testa) beserta sebagian lembaga biji, sementara bekatul merupakan lapisan dalam yang lebih halus mengandung endosperm berpati. Dalam praktik penggilingan konvensional, kedua fraksi ini umumnya tidak terpisah secara sempurna sehingga menghasilkan campuran yang dikenal sebagai dedak atau bekatul. Produk samping ini telah dimanfaatkan secara luas sebagai bahan pakan ternak sumber nabati di Indonesia. Peningkatan produksi beras secara langsung berdampak pada peningkatan jumlah hasil samping penggilingan ini. Berdasarkan komposisi hasil

penggilingan, proses pengolahan gabah menghasilkan 65% beras giling, 23% sekam, 10% campuran dedak dan bekatul, serta 2% kotoran dan kehilangan proses. Dengan mengacu pada data produksi padi tahun 2022, diperkirakan proses penggilingan menghasilkan sekitar 5,4 ton campuran dedak dan bekatul per tahun [6].

Dedak dan bekatul biasanya hanya digunakan sebagai komponen pakan ternak dan unggas. Dedak padi dianggap sebagai bahan yang kurang bermanfaat karena dedak padi merupakan limbah dalam pengolahan gabah menjadi beras. Akan tetapi terdapat beberapa penelitian yang sudah memanfaatkan dedak dan bekatul padi sebagai pangan fungsional yaitu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Amelia dan Hismi, 2019 dalam pembuatan formulasi *baby rice cracker* bekatul rasa pisang ambon sebagai pangan fungsional dilatarbelakangi dengan kandungan gizi yang tinggi dari dedak atau bekatul, terutama serat makanan sebagai makanan fungsional [7]. Serta dalam penelitian Amir, *et al.* 2020 Pembuatan formulasi susu bekatul sebagai pangan fungsional, bekatul yang memiliki potensi sebagai makanan bergizi telah banyak diteliti, namun pemanfaatan dan pengembangannya sebagai makanan yang layak dan mudah belum banyak dilakukan [8].

Menurut penelitian Achmad, *et al.* yaitu dari uji fitokimia hasil ekstrak dedak padi putih diketahui mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim, mengikat adhesin, dan merusak dinding sel. Cincin beta dan gugus OH pada flavonoid diduga merupakan struktur yang bertanggung jawab sebagai aktivitas antibakteri [5].

Berdasarkan uraian diatas penelitian ini bertujuan untuk melakukan pemanfaatan dedak padi dengan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dedak padi dengan metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* serta pengujian kebocoran membran sel bakteri yang meliputi pemeriksaan kebocoran DNA dan protein dengan spektrofotometer UV-VIS dan pemeriksaan logam kalium dan kalsium dengan spektrofotometer AAS.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui serangkaian tahapan, dimulai dari pengumpulan dan preparasi sampel dedak padi, dilanjutkan dengan karakterisasi sifat fisiko-kimia sampel. Ekstraksi senyawa bioaktif dilakukan menggunakan pelarut etanol, kemudian ekstrak yang diperoleh dikarakterisasi melalui skrining fitokimia untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dedak padi diuji terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram, diikuti penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Untuk menginvestigasi mekanisme penghambatan bakteri, dilakukan pengujian kebocoran membran sel yang meliputi analisis kebocoran DNA dan protein menggunakan spektrofotometer UV-Vis, serta pengukuran pelepasan ion kalium (K^+) dan kalsium (Ca^{2+}) dengan spektrofotometer Serapan Atom (AAS).

Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan peralatan laboratorium standar yang meliputi berbagai alat gelas seperti beaker glass Pyrex, Erlenmeyer Pyrex, tabung reaksi, centrifuge tube, vial, pipet tetes, dan cawan petri. Peralatan preparasi sampel mencakup lumpang dan stamper, kertas saring, serta aluminium foil. Proses sentrifugasi dilakukan menggunakan *centrifuge* conical Hettich EBA-20, sementara ekstraksi dan penguapan menggunakan *rotary evaporator* B-one, *hotplate* Maspion S-302, serta penangas air. Sterilisasi dan inkubasi dilakukan dengan inkubator dan lemari pengering. Pengukuran presisi menggunakan mikropipet, timbangan analitik, dan pH meter Thermo Scientific, sedangkan analisis sampel dilakukan dengan spektrofotometer UV-VIS Spectroquant® Pharo 300 dan spektrofotometer serapan atom (AAS). Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari pelarut dan reagen kimia seperti akuades, akuades steril, etanol 96%, amil alkohol, kloroform, asam klorida (p), asam nitrat, asam sulfat (p), asam asetat anhidrida, besi (III) klorida, iodium, kalium iodida, raksa (II) klorida, timbal (II) asetat, serta serbuk magnesium. Media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (Oxoid CM0003) dan *Mueller-Hinton Agar* (Oxoid CM0337).

Determinasi Tumbuhan dan Karakterisasi Simplisia

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara menggunakan sampel dedak padi (*Oryza sativa* L.) dari Kilang Padi Sunggal. Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik (morfologi, warna, bau), mikroskopik (preparat dengan

perbesaran 40×10), serta analisis kadar air (destilasi toluen), sari larut air dan etanol (maserasi 24 jam), abu total (pemijaran 600°C), dan abu tidak larut asam (perlakuan HCl 2N) [9,10].

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dedak padi (*Oryza sativa*. L) dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk simplisia 10 bagian (500g) dimasukkan kedalam bejana kemudian dituangkan 75 bagian (3750ml) cairan penyari etanol lalu ditutup dan dibiarkan pada suhu kamar selama 5 hari dan terlindung dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk kemudian diserkai, diperas dan disaring (maserat I). Maserat dipisahkan dengan ampas. Ampas dibilas dengan 1250 ml etanol 96% kemudian disaring dan dipindahkan dalam bejana tertutup (maserat II), maserat digabungkan dan diamkan selama 2 hari lalu di enap tuangkan Ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan diperoleh ekstrak etanol, dan diuapkan kembali diatas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental dan dimasukkan kedalam wadah tertutup [11].

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak etanol dedak padi dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif meliputi uji flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, steroid, dan glikosida. Uji flavonoid menggunakan metode reaksi magnesium-HCl dengan amil alkohol, dimana terbentuknya warna merah/jingga pada lapisan alkohol menunjukkan hasil positif. Alkaloid diuji dengan tiga pereaksi (Mayer, Bouchardat, Dragendroff), dengan hasil positif jika minimal dua pereaksi membentuk endapan karakteristik. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan sampel dalam air panas dan diamati pembentukan busa stabil. Tanin diidentifikasi menggunakan FeCl₃ 1% yang menghasilkan warna biru/hijau kehitaman. Uji triterpenoid dan steroid menggunakan reaksi Liebermann-Bouchard (warna ungu menunjukkan triterpenoid, biru/hijau untuk steroid), sedangkan glikosida diuji dengan reaksi asam asetat anhidrat-H₂SO₄ pekat yang menghasilkan warna biru/hijau [12–15].

Sterilisasi dan Persiapan Uji Aktivitas Antibakteri

Alat dan bahan disterilisasi sesuai jenisnya: alat gelas (oven 170°C, 1-2 jam), bahan termolabil (autoklaf 121°C, 15 menit), dan jarum ose (dipijarkan). Media Nutrient Agar (NA) dan Mueller-Hinton Agar (MHA) disiapkan dengan melarutkan serbuk dalam aquades, disterilisasi (autoklaf 121°C, 15 menit), lalu dituang ke cawan petri (20 mL) atau tabung reaksi (agar miring 3 mL). Suspensi bakteri dibuat dengan mencampur koloni yang telah diremajakan (inkubasi 36-37°C, 18-24 jam) dalam NaCl 0.9% hingga mencapai kekeruhan setara standar McFarland. Ekstrak dedak padi diencerkan dengan DMSO menjadi 6 tingkat konsentrasi (10-80%) menggunakan rumus pengenceran $V_1C_1 = V_2C_2$ [9].

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian dilakukan terhadap ekstrak etanol dedak padi dengan metode difusi agar yaitu dengan menggunakan metode difusi cakram (Kirby & Bauer). Media Mueller Hinton Agar (MHA) yang telah steril dimasukkan sebanyak 20 ml kedalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Kemudian dicelupkan *cotton swab* steril ke suspensi bakteri dan diperas di dinding tabung lalu goreskan ke media MHA dengan merata. Diambil ekstrak dedak padi dengan berbagai konsentrasi 10, 12.5, 25, 50, 70 dan 80%, sebagai pembanding digunakan amoksisilin 0,05% b/v dengan pelarut DMSO untuk kontrol positif dengan mikro pipet dan diletakkan diatas kertas cakram steril. Kertas cakram ditetesi larutan ekstrak dan pembanding sebanyak 20 µL dengan menggunakan mikropipet. Kemudian diletakkan kertas cakram kedalam cawan petri biarkan beberapa saat agar proses difusi berlangsung. Kemudian cawan diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah terinkubasi, diukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan jangka sorong. Dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil yang mampu menghasilkan zona hambat [16].

Uji Kebocoran Membran

Uji kebocoran sel membran dilakukan dengan melakukan uji kebocoran DNA dan protein dengan spektrofotometer UV-Vis dan uji kebocoran ion logam dengan Spektrofotometri Serapan Atom.

Uji Kebocoran DNA

Sepuluh mililiter suspensi bakteri yang telah ditumbuhkan selama 18 jam pada suhu 37°C disentrifugasi selama 20 menit kecepatan 3500 rpm. Filtrat dibuang, kemudian endapan bakteri dicuci dengan

fosfat (pH 7,4). Setelah itu, endapan disuspensikan kembali dalam dapar fosfat dan ditambahkan dengan ekstrak sebanyak 1x dan 2x KHM, kemudian ditambahkan lagi dapar fosfat hingga volume akhir 10 ml. Suspensi diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Suspensi disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm, kemudian supernatan dipisahkan dan diambil untuk menentukan kandungan DNA menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260 nm [17].

Uji Kebocoran protein

Sepuluh mililiter suspensi bakteri yang telah ditumbuhkan selama 18 jam pada suhu 37°C disentrifugasi selama 20 menit kecepatan 3500 rpm. Filtrat dibuang, kemudian endapan bakteri dicuci dapar fosfat (pH 7,4). Setelah itu, endapan disuspensikan kembali dalam dapar fosfat dan ditambahkan dengan ekstrak sebanyak 1x dan 2x KHM, kemudian ditambahkan lagi dapar fosfat hingga volume akhir 10 ml. Suspensi diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Suspensi disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm, kemudian supernatan dipisahkan dan diambil untuk menentukan kandungan protein menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm [17].

Uji Kebocoran logam kalsium (Ca^{2+})

Sepuluh mililiter suspensi bakteri yang telah ditumbuhkan selama 18 jam pada suhu 37°C disentrifugasi selama 20 menit kecepatan 3500 rpm. Filtrat dibuang, kemudian endapan bakteri dicuci dapar fosfat (pH 7,4). Setelah itu, endapan disuspensikan kembali dalam dapar fosfat dan ditambahkan dengan ekstrak sebanyak 1x dan 2x KHM, kemudian ditambahkan lagi dapar fosfat hingga volume akhir 10 ml. Suspensi diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Suspensi disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm, kemudian supernatan dipisahkan dan diambil untuk menentukan kandungan logam kalsium (Ca^{2+}) menggunakan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 422.7 nm [17].

Uji Kebocoran logam kalsium (K^+)

Sepuluh mililiter suspensi bakteri yang telah ditumbuhkan selama 18 jam pada suhu 37°C disentrifugasi selama 20 menit kecepatan 3500 rpm. Filtrat dibuang, kemudian endapan bakteri dicuci dapar fosfat (pH 7,4). Setelah itu, endapan disuspensikan kembali dalam dapar fosfat dan ditambahkan dengan ekstrak sebanyak 1x dan 2x KHM, kemudian ditambahkan lagi dapar fosfat hingga volume akhir 10 ml. Suspensi diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Suspensi disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm, kemudian supernatan dipisahkan dan diambil untuk menentukan kandungan logam kalium (K^+) menggunakan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 766.5 nm [17].

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Analisis data diawali dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas distribusi data. Apabila diperoleh nilai $p > 0,05$, data terdistribusi secara normal. Selanjutnya, dilakukan uji *One-Way ANOVA* dan uji *post hoc Tukey* (HSD). Perbedaan dianggap signifikan secara statistik jika nilai $p < 0,05$. Namun, jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *post hoc* yang sesuai.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Determinasi dan Karakterisasi Simplisia Dedak Padi

Hasil identifikasi tumbuhan di Laboratorium Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara mengkonfirmasi bahwa sampel dedak padi merupakan spesies *Oryza sativa* L. Pemeriksaan karakterisasi simplisia menunjukkan bentuk serbuk berwarna kuning kecoklatan dengan bau khas dan rasa netral pada uji makroskopik, serta ditemukannya granula amilum berbentuk poligonal (baik tunggal maupun majemuk) dengan hilus berupa titik pada pengamatan mikroskopik. Hasil analisis kuantitatif menunjukkan kadar air sebesar 4% (memenuhi syarat MMI <10%), kadar sari larut air 14,84% (memenuhi >12,2%), kadar sari larut etanol 16,01% (memenuhi >15,7%), kadar abu total 3,41% (memenuhi <4%), dan kadar abu tidak larut asam 1,64% (memenuhi syarat <2,7%). Seluruh parameter karakterisasi tersebut memenuhi persyaratan standar yang ditetapkan dalam *Materia Medika Indonesia*.

Tabel 1. Hasil karakterisasi

No.	Pemeriksaan karakterisasi	Hasil karakterisasi (%)	Syarat MMI (%)
1	Kadar air	4	<10
2	Kadar sari larut dalam air	14,84	>12,2
3	Kadar sari larut dalam etanol	16,01	>15,7
4	Kadar abu total	3,41	<4
5	Kadar abu tidak larut dalam asam	1,64	<2,7

Pemeriksaan kadar air pada simplisia dilakukan untuk mengetahui kadar air yang dikandung memenuhi persyaratan atau tidak, karena jika kadar air tinggi akan udah ditumbuhi kapang dan bakteri. Hasil pemeriksaan kadar air simplisia yang diperoleh adalah 4%. Hal ini sudah memenuhi persyaratan kadar air simplisia secara umum adalah <10% [9]. Hasil penetapan kadar air yang diperoleh lebih kecil dari 10%, berdasarkan persyaratan dalam Materi Medika Indonesia (MMI), kadar air yang melebihi 10% dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba, keberadaan jamur atau serangga, serta mendorong kerusakan mutu simplisia [18,19]

Pemeriksaan kadar sari dilakukan menggunakan dua pelarut, yaitu air dan etanol. Pemeriksaan kadar sari larut dalam air adalah untuk mengetahui kadar senyawa kimia bersifat polar yang terkandung di dalam simplisia, sedangkan pemeriksaan kadar sari larut dalam etanol dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa larut dalam etanol, baik senyawa polar maupun non polar. Hasil pemeriksaan kadar sari yang larut dalam air 14,84%, sedangkan kadar sari yang larut dalam etanol 16,01%. Hal ini menunjukkan bahwa pada jumlah senyawa yang semi polar maupun non polar yang dapat terlarut dalam etanol lebih besar daripada jumlah senyawa polar yang dapat terlarut dalam air.

Penetapan kadar abu bertujuan untuk mengetahui kandungan mineral internal yang terdapat dalam simplisia, serta senyawa organik yang tersisa dalam pembakaran. Kadar abu tidak larut dalam asam bertujuan untuk menentukan jumlah slika, khususnya pasir yang ada pada simplisia. Penetapan kadar abu total diperoleh 3,41% dan kadar abu tidak larut dalam asam diperoleh 1,64%.

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tanaman. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya komponen- komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan reagen pendeteksi dan ekstrak dilarutkan dengan sedikit pelarutnya kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid dan glikosida. Berdasarkan hasil pemeriksaan skrining fitokimia simplisia dapat dilihat pada tabel 2 yaitu ekstrak dedak padi mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid dan glikosida.

Tabel 2. Skrining fitokimia ekstrak etanol dedak padi

No	Golongan senyawa	Hasil fitokimia
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Saponin	+
5	Triterpenoid/Steroid	+
6	Glikosida	+

Keterangan :

(+) : Mengandung zat yang diperiksa

(-) : Tidak mengandung zat yang diperiksa

Hasil positif yang diperoleh pada uji alkaloid terlihat dari endapan yang terbentuk. Pengujian alkaloid dapat dilakukan dengan menggunakan 3 pereaksi, yaitu mayer, dragendorff, dan bouchardat. Pereaksi dragendorff akan bereaksi dengan alkaloid membentuk endapan berwarna merah. Peraksi wagner akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan berwarna coklat, sedangkan pereaksi mayer membentuk endapan berwarna putih [20]. Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak

terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut, selain itu komponen alkaloid diketahui sebagai interkrelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri [21].

Pada identifikasi flavonoid, setelah ditambah air panas akan diperoleh filtrat yang akan ditambah serbuk Mg yang terlihat larut dan dilanjut dengan penambahan HCl pekat. Penambahan serbuk Mg digunakan sebagai pereduksi dimana proses reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl pekat. Proses reduksi dengan magnesium dan HCl pekat menghasilkan warna kuning hingga kemerahan [22]. Senyawa flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak dedak padi memanfaatkan gugus alkohol yang mengandung OH dalam merusak dinding sel dan penyusun dinding sel bakteri yang terdiri atas peptidoglikan, lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel mengalami kerusakan dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri dan berkontak dengan DNA bakteri sehingga sel bakteri mengalami lisis dan bakteri akan mati [23].

Dalam uji tanin juga diperoleh hasil positif yang ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Hal ini disebabkan karena sampel dedak padi direaksikan dengan FeCl_3 , agar gugus hidroksi dalam senyawa tanin dapat bereaksi dengan Fe^{3+} , sehingga senyawa tanin tersebut adalah senyawa tanin [24]. Mekanisme kerja dari tanin adalah dengan cara menginaktivasi adhesi sel bakteri dan menginaktivasi enzim, serta mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel. Tanin merusak polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna, hal ini yang menyebabkan sel bakteri menjadi lisis [23].

Dalam pengujian saponin diperoleh hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya terbentuk busa/buih karena senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah larut dalam akuades dan akan menimbulkan busa ketika dikocok. Saponin adalah senyawa aktif kuat yang berperan sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan bocornya metabolit yang menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan pada membran sitoplasma dapat mencegah masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri untuk menghasilkan energi dan akibatnya bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian [20].

Pada identifikasi triterpenoid/steroid dilakukan dengan pengujian Liebermann-Burchard. Pada uji Liebermann-Burchard jika terbentuk warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid. Sedangkan jika terbentuk warna hijau menunjukkan adanya steroid [9]. Hasil uji steroid/triterpen ekstrak dedak padi menghasilkan warna merah muda keunguan, membuktikan bahwa ekstrak dedak padi mengandung senyawa triterpenoid. Mekanisme kerja dari steroid dan terpenoid adalah dengan merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga terjadi kebocoran sel yang diikuti keluarnya material intraseluler [23].

Pada identifikasi glikosida, hasil positif menunjukkan bahwa setelah penambahan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat, terbentuk perubahan warna hijau menandakan adanya senyawa glikosida. Mekanisme glikosida dalam menghambat antibakterinya sama dengan saponin dalam menghancurkan sel bakteri [20].

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dedak padi dilakukan dengan metode difusi cakram (Kirby & Bauer) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan kadar hambat minimum (KHM) dianggap sebagai konsentrasi terendah yang dapat menghasilkan zona penghambatan [16]. Hasil pengukuran diameter rata-rata daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan tabel 3, ekstrak etanol dedak padi berpotensi untuk digunakan sebagai antibakteri dalam proses penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pada konsentrasi uji juga ditunjukkan adanya peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nasri, *et al.* peningkatan diameter zona hambat tersebut dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi yang mempengaruhi jumlah atau konsentrasi larutan uji yang terkandung di dalam kertas cakram [25]. Menurut Davis dan Stout, ada tiga klasifikasi berbeda yang dapat digunakan untuk mengkategorikan respon antibakteri [26]. Salah satu klasifikasi tersebut menyatakan bahwa tidak ada respon jika diameter zona hambat kurang dari 6 mm. Jika zona hambat yang terbentuk memiliki diameter antara 6 sampai 10 mm, hal ini menunjukkan kategori sedang. Jika nilai zona hambat antara 10 sampai 20 mm, maka kategori tersebut dianggap kuat. Jika diameter zona hambat lebih dari 20 mm, maka aktivitasnya dianggap sangat kuat [26].

Tabel 3. Hasil diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri

Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Kategori kekuatan antibakteri
	I	II	III		
10%	9	11	11,5	10,50	kuat
12.5%	11	12	14	12,33	kuat
25%	11	13	14	12,67	kuat
50%	13,5	14	15	14,17	kuat
70%	16,5	16	17	16,50	kuat
80%	16	16,5	18	16,83	kuat
K+	32	32	32	32	sangat kuat
K-	0	0	0	0	Tidak ada

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi ekstrak etanol dedak padi sebagai antibakteri dalam proses penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari konsentrasi 10, 12.5, 25, 50, 70 dan 80% masuk dalam kategori memiliki tingkat aktivitas kuat. Selain itu, pada kontrol positif amoksisilin 0,05% b/v memiliki tingkat aktivitas sangat kuat dan kontrol negatif DMSO (dimetil sulfoksida) tidak adanya respon aktivitas antibakteri. Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ahmad, *et al.* diperoleh hasil zona hambat ekstrak dedak padi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari konsentrasi 12.5, 25, 50, dan 75% yang terbentuk mengalami peningkatan diameter dipeoleh respon aktivitas antibakteri kategori kuat [5], hal ini sesuai dengan uji yang dilakukan dimana diperoleh hasil diameter zona hambat yang terbentuk hasil yang sama dengan penelitian sebelumnya. Didapatkan pula hasil bahwa ekstrak dedak padi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM I) pada konsentrasi yaitu 10% menghasilkan zona hambat sebesar 10,5 mm. Sesuai dengan pernyataan Kurniasari konsentrasi hambat minimum (KHM) diperoleh berdasarkan pembentukan zona hambat disekitar cakram disk dari ekstrak dedak padi pada konsentrasi terkecil [27].

Keuntungan dari hasil metode ini merupakan metode yang sangat mudah dilakukan, efisien dan tidak rumit untuk dilakukan. Hasil dari metode ini dapat memberikan hasil bagi penelitian statistik dan epidemiologi. Ada beberapa faktor teknis yang dapat berpengaruh terhadap ukuran daya hambat pada metode difusi cakram yaitu lamanya waktu pemasangan cakram, kepekatan inokulum, suhu inkubasi, dan waktu inkubasi. Ukuran lempeng cakram, ketebalan media agar, pengaturan jarak antar cakram antimikroba juga dapat mempengaruhi ukuran daya hambat pada metode ini. Faktor lain yang juga berpengaruh yaitu potensi zat aktif antimikroba, dan komposisi media yang digunakan [28].

Hasil Uji Kebocoran Membran

Kebocoran sel bakteri dapat diamati dengan mengukur derajat kerusakan dinding dan membran sel. Derajat kerusakan dinding sel diukur menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS) dengan panjang gelombang 422.7 nm dari jumlah ion logam Ca^{2+} yang terdapat pada dinding sel sedang derajat kerusakan membran diukur menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS) dengan panjang gelombang 766.5 nm dari jumlah ion K^{+} yang terdapat dalam plasma sel maupun dari bahan-bahan yang dilepaskan oleh sel yaitu DNA dan protein yang dapat diserap pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm [29].

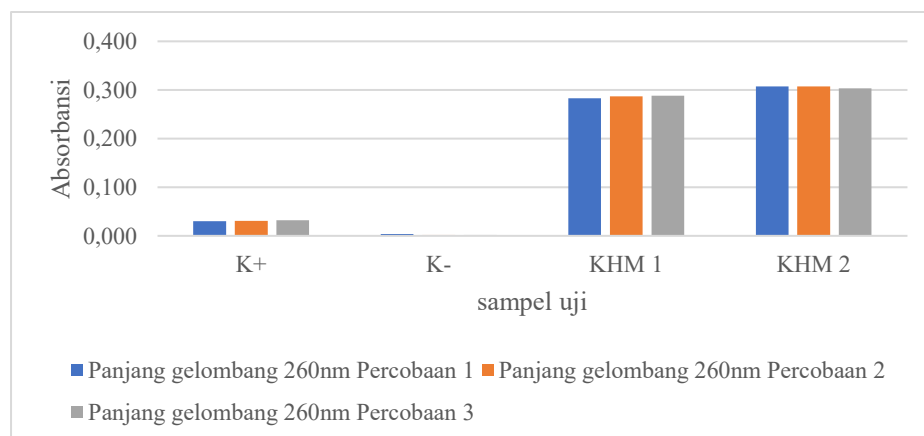
Hasil Uji Kebocoran DNA

Penentuan hasil uji kebocoran DNA terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260 nm. Analisis kebocoran sel membran peningkatan DNA pada media digunakan sebagai indikasi kebocoran sel membran bakteri uji akibat paparan molekul ekstrak dedak padi. untuk membedakan adanya peningkatan absorbansi dari sel bakteri yang bocor akibat penambahan ekstrak dedak padi 1x dan 2x KHM adalah dengan membandingkan absorbansi dari sel yang diberi antibakteri dengan sel yang tidak diberi senyawa antibakteri atau tanpa penambahan ekstrak sebagai perlakuan kontrol negatif dan juga penambahan amoksisilin 0,05% b/v sebagai kontrol positif. Hasil pengukuran uji kebocoran DNA terhadap kebocoran membran sel bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 1.

Berdasarkan tabel 4 adanya peningkatan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm pada kebocoran asam nukleat bakteri *Staphylococcus aureus*. Pemberian ekstrak dedak padi pada konsentrasi 10% (KHM 1) mengakibatkan keluarnya isi sel dari bakteri pada absorbansi 260 nm dengan rata-rata absorbansi $0,286 \pm 0,002$ dan pemberian ekstrak dedak padi pada konsentrasi 12,5% (KHM 2) juga mengakibatkan keluarnya isi sel bakteri dengan rata-rata $0,306 \pm 0,002$. Sebagai kontrol positif bakteri amoxicillin 0,05% b/v mengakibatkan keluarnya isi sel bakteri dengan rata-rata $0,031 \pm 0,001$ dan sebagai kontrol negatif mengakibatkan keluarnya isi sel bakteri dengan rata-rata $0,003 \pm 0,001$. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sogandi dan Rizky, dalam pengujian ekstrak daun jati (*Tectona grandis* Linn.F) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terdeteksi atau semakin meningkat pula kebocoran DNA maupun protein yang terjadi [2]. Penelitian Nasri *et al*, mengenai kebocoran DNA dan protein setelah penambahan ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Hasil penelitian menunjukkan peningkatan rerata kebocoran DNA dan protein yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak [25].

Tabel 4. Hasil uji kebocoran DNA bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 260nm

Sampel uji	Absorbansi (λ 260nm)			Rerata	SD	Rerata $\pm$ SD
	Percobaan 1	Percobaan 2	Percobaan 3			
K+	0,030	0,031	0,032	0,031	0,001	$0,031 \pm 0,001$
K-	0,004	0,002	0,002	0,003	0,00115	$0,003 \pm 0,001$
KHM 1	0,283	0,287	0,288	0,286	0,00265	$0,286 \pm 0,002$
KHM 2	0,307	0,307	0,303	0,306	0,00231	$0,306 \pm 0,002$



Gambar 1. Grafik uji kebocoran asam nukleat bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 260 nm

Analisa ini dilakukan dengan mengamati peningkatan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm pada pengukuran DNA. Komponen isi sel yang bocor keluar dari sel dapat diukur pada panjang gelombang 260 nm yaitu DNA diantaranya purin, pirimidin dan ribonukleotida. Keluarnya DNA dan protein menandakan sel mengalami kebocoran akibat rusaknya dinding sel atau terjadinya perubahan pada permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan bakteri mati [30].

Hasil Uji Kebocoran Protein

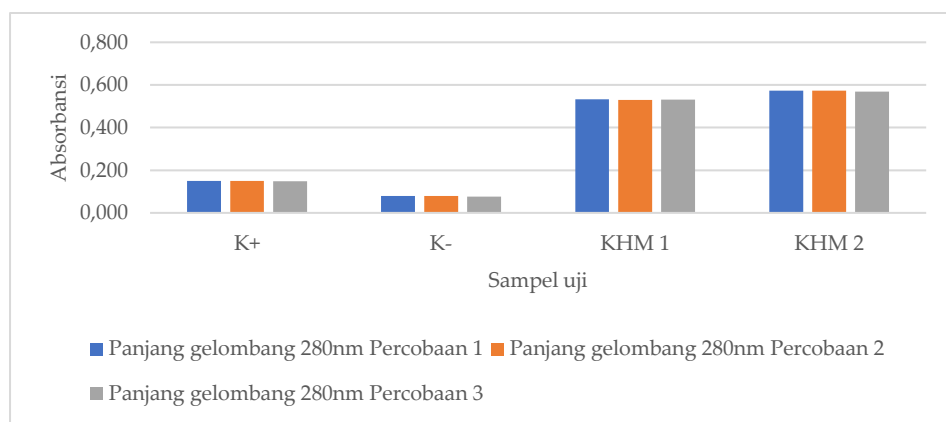
Penentuan hasil uji kebocoran protein terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm. Analisis kebocoran sel membran peningkatan protein pada media digunakan sebagai indikasi kebocoran sel membran bakteri uji akibat paparan molekul ekstrak dedak padi. untuk membedakan adanya peningkatan absorbansi dari sel bakteri yang bocor akibat penambahan ekstrak dedak padi 1x dan 2x KHM adalah dengan membandingkan absorbansi dari sel yang diberi antibakteri dengan sel yang tidak diberi senyawa antibakteri atau tanpa penambahan ekstrak sebagai perlakuan kontrol negatif dan juga penambahan amoksisilin 0,05% b/v sebagai

kontrol positif. Hasil pengukuran uji kebocoran protein terhadap kebocoran membran sel bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 5 dan gambar 2.

Berdasarkan tabel 5 adanya peningkatan nilai absorbansi pada panjang gelombang 280 nm pada kebocoran protein bakteri *Staphylococcus aureus*. Pemberian ekstrak dedak padi pada konsentrasi 10% (KHM 1) mengakibatkan keluarnya isi sel dari bakteri pada absorbansi 280 nm dengan rata-rata absorbansi $0,531 \pm 0,001$ dan pemberian ekstrak dedak padi pada konsentrasi 12,5% (KHM 2) juga mengakibatkan keluarnya isi sel bakteri dengan rata-rata $0,572 \pm 0,002$. Sebagai kontrol positif bakteri amoxicillin 0,05% b/v mengakibatkan keluarnya isi sel bakteri dengan rata-rata $0,150 \pm 0,000$ dan sebagai kontrol negatif mengakibatkan keluarnya isi sel bakteri dengan rata-rata $0,079 \pm 0,001$. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sogandi dan Rizky, dalam pengujian ekstrak daun jati (*Tectona grandis* Linn.F) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terdeteksi atau semakin meningkat pula kebocoran asam nukleat maupun protein yang terjadi. Penelitian Nasri *et al*, mengenai kebocoran DNA dan protein setelah penambahan ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Hasil penelitian menunjukkan peningkatan rerata kebocoran DNA dan protein yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak [25].

Tabel 5. Hasil uji kebocoran protein bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 280 nm.

Sampel uji	Absorbansi (λ 280nm)			Rerata	SD	Rerata $\pm$ SD
	Percobaan 1	Percobaan 2	Percobaan 3			
K+	0,150	0,150	0,149	0,150	0,00058	$0,150 \pm 0,000$
K-	0,080	0,079	0,077	0,079	0,00153	$0,079 \pm 0,001$
KHM 1	0,533	0,530	0,531	0,531	0,00153	$0,531 \pm 0,001$
KHM 2	0,573	0,573	0,569	0,572	0,00231	$0,572 \pm 0,002$



Gambar 2. Grafik uji kebocoran protein bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 280nm

Analisa ini dilakukan dengan mengamati peningkatan nilai absorbansi pada panjang 280 pada pengukuran protein. Komponen isi sel yang bocor keluar dari sel dapat diukur pada panjang gelombang 280 nm adalah protein seperti tirosin dan triptofan. Keluarnya asam nukleat dan protein menandakan sel mengalami kebocoran akibat rusaknya dinding sel atau terjadinya perubahan pada permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan bakteri mati [30].

Menurut Rizky dan Sogandi, adanya kebocoran pada sel bakteri diduga diakibatkan oleh kandungan senyawa fenolik pada ekstrak [2]. Senyawa fenolik akan bereaksi dengan komponen fosfolipid dari membran sel yang kemudian akan menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel sehingga komponen intraseluler seperti asam-asam amino, asam nukleat serta protein akan keluar. Senyawa flavonoid dapat berfungsi sebagai bahan antimikroba karena adanya gugus OH yang bersifat racun terhadap mikroba. Senyawa antimikroba dapat menghambat sintesis dinding sel dan merusak membran sel. Adanya kerusakan membran sel maka akan memudahkan asam-asam organik berpenetrasi ke membran sitoplasma dan menyebabkan perubahan kestabilan dinding yang akhirnya akan menyebabkan kebocoran ion. Pernyataan tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan Achmad, *et. al.* yaitu dari uji fitokimia, hasil ekstrak dedak

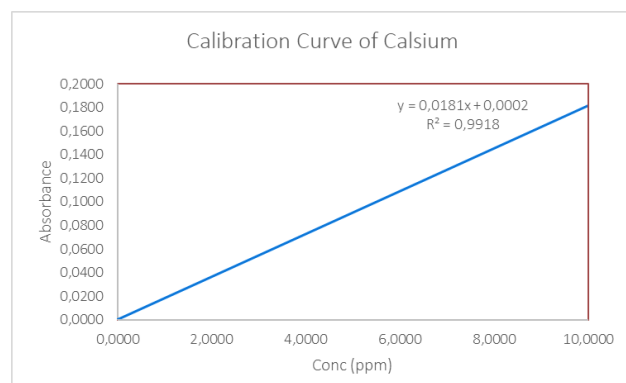
padi putih diketahui mengandung senyawa flavonoid [5]. Flavonoid berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim, mengikat adhesin, dan merusak dinding sel [5]. Cincin beta dan gugus OH pada flavonoid diduga merupakan struktur yang bertanggung jawab sebagai aktivitas antibakteri [5].

Hasil Uji Kebocoran Logam Kalsium (Ca^{2+})

Ekstrak etanol dedak padi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan telah ditentukan nilai konsentrasi terendah yang menimbulkan zona hambat. Aktivitas antibakteri ini perlu ditelusuri pengaruhnya terhadap mekanisme kematian bakteri *staphylococcus aureus*. Pengujian yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengujian terhadap pengeluaran ion logam Ca^{2+} . Adanya ion Ca^{2+} yang terbaca pada spektrofotometri serapan atom (AAS) dengan panjang gelombang 422.7 nm menunjukkan bahwa ada pengeluaran ion Ca^{2+} akibat dari penambahan ekstrak dedak padi terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran uji kebocoran ion logam Ca^{2+} pada bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 6, Tabel 7, Gambar 3, dan Gambar 4.

Tabel 6. Hasil pengukuran kurva kalibrasi kalsium

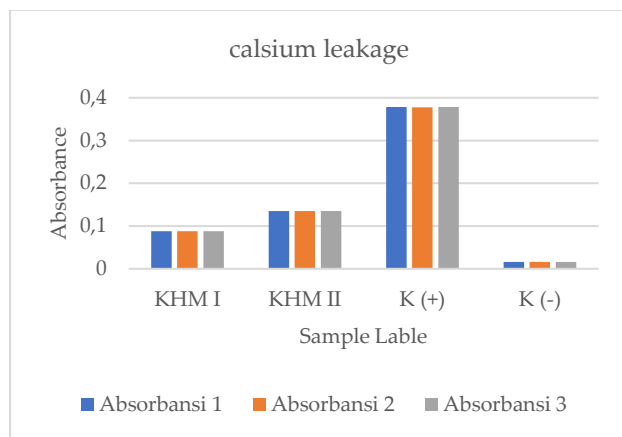
No	Sample lable	Concentration (ppm)	Absorbance	Rep
1	Cal Blank	0,0000	0,0000	3
2	Standar 1	2,0000	0,0377	3
3	Standar 2	4,0000	0,0782	3
4	Standar 3	6,0000	0,1019	3
5	Standar 4	8,0000	0,1378	3
6	Standar 5	10,0000	0,1888	3



Gambar 3. Grafik kurva kalibrasi kalsium

Tabel 7. Hasil uji kebocoran ion logam Ca^{2+} bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri serapan atom dengan panjang gelombang 422,7nm

Measurement	Sample Lable	Absorbance	Rerata $\pm$ SD	Concentration	Unit
1	KHM I	0,0882	0,0882 $\pm$ 0	4,8608	ppm
2		0,0882		4,8600	
3		0,0882		4,8616	
1	KHM II	0,1354	0,1354 $\pm$ 0	7,4692	ppm
2		0,1354		7,4684	
3		0,1354		7,4688	
1	K (+)	0,3781	0,3778 $\pm$ 0,0004	20,8800	ppm
2		0,3774		20,8400	
3		0,3781		20,8800	
1	K (-)	0,0157	0,0158 $\pm$ 0,0005	0,8560	ppm
2		0,0158		0,8600	
3		0,0158		0,8600	



Gambar 4. Grafik uji kebocoran ion logam Ca²⁺ bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri serapan atom dengan panjang gelombang 422,7nm

Berdasarkan tabel 6 pengukuran larutan standar kalsium dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm yaitu pengukuran larutan standar tersebut diperoleh hasil kurva kalibrasi kalsium dengan cara mengukur absorbansi dari larutan standar pada panjang gelombang 422,7nm. Dapat dilihat pada gambar 3 grafik dari pengukuran larutan standar kalsium diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan garis regresi yaitu $Y = 0,0181X + 0,002$. Berdasarkan kurva kalibrasi, diperoleh hubungan yang linier antara konsentrasi dengan absorbansi, dengan koefisien korelasi (r) kalsium sebesar 0,9918. Nilai $r \geq 0,97$ menunjukkan adanya korelasi linier yang menyatakan adanya hubungan antara X (konsentrasi) dan Y (absorbansi) [31].

Berdasarkan tabel 7 Adanya ion logam Ca²⁺ yang terbaca pada spektrofotometri serapan atom (AAS) menunjukkan bahwa adanya pengeluaran ion logam Ca²⁺ pada sampel ekstrak dedak padi terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran ion logam Ca²⁺ yang terbaca pada spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 422.7 nm menunjukkan bahwa ada pengeluaran ion Ca²⁺ pada bakteri *staphylococcus aureus* karena pemberian ekstrak dedak padi. Penambahan ekstrak dedak dengan konsentrasi 10% (KHM 1) mengakibatkan kebocoran ion Ca²⁺ sebesar $0,0882 \pm 0 \mu\text{g/mL}$ dari sel bakteri, sedangkan pemberian ekstrak dedak padi konsentrasi 12,5% (KHM 2) mengakibatkan kebocoran ion Ca²⁺ sebesar $0,1354 \pm 0 \mu\text{g/mL}$. Sebagai kontrol positif amoxicillin 0,05% b/v mengakibatkan kebocoran ion Ca²⁺ sebesar $0,3778 \pm 0,0004 \mu\text{g/mL}$ dan kontrol negatif mengakibatkan sedikit keluarnya ion Ca²⁺ dari sel bakteri yaitu $0,0158 \pm 0,0005 \mu\text{g/mL}$. Dari hasil pengukuran kebocoran membran ion logam terhadap bakteri *staphylococcus aureus* adanya peningkatan nilai rerata dan standar deviasi absorbansi dengan bertambahnya konsentrasi dari ekstrak dedak padi. Seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak dedak padi, maka semakin efektif dalam membunuh bakteri karena semakin tinggi kebocoran intramembran bakteri yang dilihat dari nilai absorbansinya. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wongso pada ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendans*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terdeteksi atau semakin meningkat pula kebocoran sel [30]. Menurut penelitian Riani, deteksi kebocoran sel oleh ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) hasil penelitian menunjukkan dengan meningkatnya konsentrasi bahan uji yang dikontakkan terhadap bakteri maka keluarnya asam nukleat, protein dan ion logam juga meningkat [28].

Ion kalsium (Ca²⁺) terdapat di bagian sitosol yaitu cairan sitoplasma dan juga ditemukan pada dinding sel yang ikut berperan dalam aktivitas enzim. Ion Ca²⁺ berfungsi menghubungkan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri gram negatif dan menjaga kestabilan dinding sel sedangkan pada bakteri gram positif ion Ca²⁺ berfungsi menghubungkan asam teikoat sebagai bahan penyusun sel bakteri. Keluarnya ion Ca²⁺ mengganggu stabilitas dinding sel dan dapat mengakibatkan kematian bakteri [28].

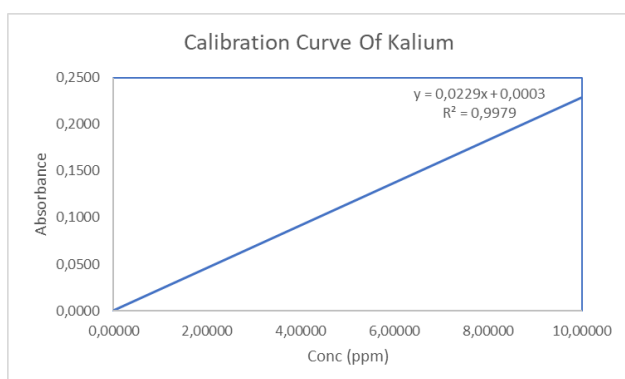
Hasil Uji Kebocoran Logam Kalium (K⁺)

Ekstrak etanol dedak padi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan telah ditentukan nilai konsentrasi terendah yang menimbulkan zona hambat. Aktivitas antibakteri ini perlu ditelusuri pengaruhnya terhadap mekanisme kematian bakteri *staphylococcus aureus*. Pengujian yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengujian terhadap pengeluaran ion logam Ca²⁺. Adanya ion Ca²⁺ yang terbaca pada spektrofotometri serapan atom (AAS) dengan panjang gelombang 422.7 nm menunjukkan bahwa ada pengeluaran ion Ca²⁺ akibat dari penambahan ekstrak dedak padi terhadap bakteri *staphylococcus*

aureus. Hasil pengukuran uji kebocoran ion logam K^+ pada bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 8 dan 9 serta Gambar 5 dan 6.

Tabel 8. Hasil pengukuran kurva kalibrasi kalium

No	Sample lable	Concentration (ppm)	Absorbance	Rep
1	Cal Blank	0,0000	0,0000	3
2	Standar 1	2,0000	0,0451	3
3	Standar 2	4,0000	0,0936	3
4	Standar 3	6,0000	0,1337	3
5	Standar 4	8,0000	0,1898	3
6	Standar 5	10,0000	0,2252	3

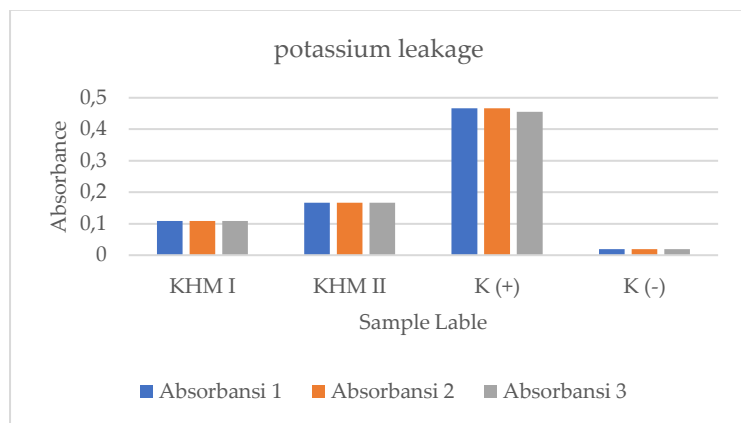


Gambar 5. Grafik kurva kalibrasi kalium

Tabel 9. Hasil uji kebocoran ion logam K^+ bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri serapan atom dengan panjang gelombang 766,5 nm.

Measurement	Sample Lable	Absorbance	Rerata $\pm$ SD	Consentration	Unit
1	KHM I	0,1088	0,1079 $\pm$ 0,0015	4,7393	ppm
2		0,1088		4,7393	
3		0,1062		4,6244	
1	KHM II	0,1671	0,1668 $\pm$ 0,0004	7,2825	ppm
2		0,1630		7,1041	
3		0,1671		7,2825	
1	K (+)	0,4665	0,4627 $\pm$ 0,0065	20,3580	ppm
2		0,4665		20,3580	
3		0,4551		19,8615	
1	K (-)	0,0194	0,01926 $\pm$ 0,0002	0,8346	ppm
2		0,0190		0,8180	
3		0,0194		0,8346	

Berdasarkan tabel 8 pengukuran larutan standar kalium dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm yaitu pengukuran larutan standar tersebut diperoleh hasil kurva kalibrasi kalsium dengan cara mengukur absorbansi dari larutan standar pada panjang gelombang 766,5nm. Dapat dilihat pada gambar 5 grafik dari pengukuran larutan standar kalium diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan garis regresi yaitu $Y = 0,0229X + 0,0003$. Berdasarkan kurva kalibrasi, diperoleh hubungan yang linier antara konsentrasi dengan absorbansi, dengan koefisien korelasi (r) kalium sebesar 0,9979. Nilai $r \geq 0,97$ menunjukkan adanya korelasi linier yang menyatakan adanya hubungan antara X (konsentrasi) dan Y (absorbansi) [31].



Gambar 6. Grafik uji kebocoran ion logam K⁺ bakteri *Staphylococcus aureus* pada spektrofotometri serapan atom dengan panjang gelombang 766,5 nm

Berdasarkan tabel 7 Adanya ion logam K⁺ yang terbaca pada spektrofotometri serapan atom (AAS) menunjukkan bahwa adanya pengeluaran ion logam K⁺ pada sampel ekstrak dedak padi terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran ion logam K⁺ yang terbaca pada spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 766.5 nm menunjukkan bahwa ada pengeluaran ion K⁺ pada bakteri *staphylococcus aureus* karena pemberian ekstrak dedak dengan konsentrasi 10% (KHM 1) mengakibatkan kebocoran ion K⁺ sebesar 0,1079±0,0015 µg/mL dari sel bakteri, sedangkan pemberian ekstrak dedak padi konsentrasi 12,5% (KHM 2) mengakibatkan kebocoran ion K⁺ sebesar 0,1668±0,0004 µg/mL. Sebagai kontrol positif amoxicillin 0,05% b/v mengakibatkan kebocoran ion K⁺ sebesar 0,4627±0,0065 µg/mL dan kontrol negatif mengakibatkan sedikit keluarnya ion K⁺ dari sel bakteri yaitu 0,01926±0,0002 µg/mL. Dari hasil pengukuran kebocoran membran ion logam terhadap bakteri *staphylococcus aureus* adanya peningkatan nilai rerata dan standar deviasi absorbansi dengan bertambahnya konsentrasi dari ekstrak dedak padi. Seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak dedak padi, maka semakin efektif dalam membunuh bakteri karena semakin tinggi kebocoran intramembran bakteri yang dilihat dari nilai absorbansinya. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wongso tahun 2023 pada ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendans*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terdeteksi atau semakin meningkat pula kebocoran sel [30]. Menurut penelitian Riani, deteksi kebocoran sel oleh ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) hasil penelitian menunjukkan dengan meningkatnya konsentrasi bahan uji yang dikontakkan terhadap bakteri maka keluarnya asam nukleat, protein dan ion logam juga meningkat [28].

Ion Kalium (K⁺) merupakan kation utama yang terkandung dalam sitoplasma pada sel yang sedang tumbuh. Ion K⁺ memiliki peran penting dalam mengaktivasi enzim sitoplasma untuk menjaga tekanan turgor serta mengatur stabilitas pH dalam sitoplasma. Ion K⁺ pada bakteri memiliki peranan penting dalam fungsinya menjaga kesatuan ribosom. Keluarnya ion logam dari sel dapat mempengaruhi permeabilitas membran dan atau dinding sel bakteri. Indikasi adanya kerusakan pada membran sitoplasma adalah terjadinya kebocoran kandungan sitoplasma seperti ion K⁺ dan peningkatan K⁺ diluar sel merupakan tanda kerusakan permeabilitas membran [28].

Kebocoran membran pada sel bakteri dapat terjadi karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*) seperti flavonoid, triterpenoid/steroid, alkaloid, saponin, glikosida dan tanin yang bekerja dengan optimal dalam menyebabkan kebocoran dengan mekanisme antibakteri yang bervariasi. Kandungan seperti flavonoid memiliki kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel yang menyebabkan sel menjadi lisis. Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Aktivitas tanin diduga dapat bekerja dengan mengadakan kompleks hidrofobik dengan protein, menginaktivasi enzim dan protein transport dinding sel, sehingga mengganggu pertumbuhan bakteri. Selain itu juga tannin dapat mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel akibatnya menghambat pertumbuhan bakteri atau bahkan mati. Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas

membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati [32].

Faktor lainnya yang dapat memengaruhi kemampuan suatu senyawa antibakteri dalam menyebabkan kebocoran adalah jenis bakteri uji yang digunakan. Bakteri *staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang tidak memiliki lapisan lipopolisakarida sehingga lebih rentan mengalami kerusakan pada strukturnya. Kerusakan yang terjadi pada membran sel ditandai dengan terjadinya kebocoran isi dari sitoplasma, seperti DNA, protein, logam kalsium dan kalium [28].

Hasil Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dedak padi (*Oryza sativa*, L) dalam kebocoran membran terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dianalisis secara statistik dengan program *Statistical Product Service Solution* (SPSS). Data zona hambat dan kebocoran sel diuji homogenitas dengan dan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan *Tukey* (HSD) dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha=0,05$. Jika data tidak terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan *Post-Hoc Mann Whitney*.

Hasil analisis secara statistik pada pengujian aktivitas antibakteri yaitu hasil uji normalitas *saphiro-wilk* dan analisis homogenitas yang menunjukkan bahwa data memiliki nilai sig. $p>0,05$ berarti data tersebut terdistribusi normal dan data homogen, sehingga dapat dilakukan uji *One Way Anova* hasil yang diperoleh adalah nilai sig (0,001) $< 0,05$ maka terdapat perbedaan signifikan antara pemberian ekstrak dedak padi konsentrasi 10%, 12,5%, 25%, 50%, 70%, 80%, kontrol positif dan kontrol negatif terhadap daya hambat atau pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan secara detail, dilanjutkan dengan menggunakan Uji *Tukey HSD* dimana pada kontrol positif (K+) dan (K-) memiliki perbedaan daya hambat yang bermakna terhadap konsentrasi ekstrak dedak padi.

Analisis statistik pada pengujian kebocoran asam nukleat yaitu diperoleh hasil uji normalitas *saphiro-wilk* memiliki nilai sig. $p<0,05$ berarti data tersebut tidak terdistribusi normal dan analisis homogenitas menunjukkan data memiliki nilai sig. $p>0,05$ berarti data homogen. Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal ($p<0,05$) maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Post Hoc Mann Whitney*. uji *Kruskal-Wallis* memiliki nilai sig. (0,001) $<0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi uji kebocoran asam nukleat dan pada uji *Post* dapat diketahui perbandingan konsentrasi antar perlakuan uji kebocoran asam nukleat terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

Analisis statistik pada pengujian kebocoran protein yaitu diperoleh hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* memiliki nilai sig. $p<0,05$ berarti data tersebut tidak terdistribusi normal dan analisis homogenitas menunjukkan data memiliki nilai sig. $p>0,05$ berarti data homogen. Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal ($p<0,05$) maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Post Hoc Mann Whitney*. uji *Kruskal-Wallis* memiliki nilai sig. (0,001) $<0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi uji kebocoran protein dan pada uji *Post Hoc Mann Whitney* dapat diketahui perbandingan konsentrasi antar perlakuan uji protein terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

Analisis statistik pada pengujian kebocoran ion logam kalsium (Ca^{2+}) yaitu diperoleh hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov test* memiliki nilai sig. $p<0,05$ berarti data tersebut tidak terdistribusi normal dan analisis homogenitas menunjukkan data memiliki nilai sig. $p<0,05$ berarti data tidak homogen. Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal dan tidak homogen ($p<0,05$) maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Post Hoc Mann Whitney*. uji *Kruskal-Wallis* memiliki nilai sig. (0,001) $<0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi uji kebocoran ion logam kalsium dan pada uji *Post Hoc Mann Whitney* dapat diketahui perbandingan konsentrasi antar perlakuan uji kebocoran ion logam kalsium terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

Analisis statistik pada pengujian kebocoran ion logam kalium (K^+) yaitu diperoleh hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* memiliki nilai sig. $p<0,05$ berarti data tersebut tidak terdistribusi normal dan analisis homogenitas menunjukkan data memiliki nilai sig. $p>0,05$ berarti data homogen. Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal ($p<0,05$) maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Post Hoc Mann Whitney*. uji *Kruskal-Wallis* memiliki nilai sig. (0,001) $<0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi uji kebocoran kalium dan pada uji *Post Hoc Mann Whitney* dapat diketahui perbandingan konsentrasi antar perlakuan uji kebocoran kalium terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol dedak padi (*Oryza sativa* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder, termasuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid, dan glikosida. Ekstrak tersebut juga menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus*, dengan zona hambat berkisar antara 10,50 mm hingga 16,83 mm pada konsentrasi 10%–80%. Selain itu, ekstrak ini menyebabkan kebocoran membran sel bakteri, yang dibuktikan dengan peningkatan absorbansi asam nukleat, protein (diukur dengan spektrofotometer UV-Vis), serta ion Ca^{2+} dan K^{+} (diukur dengan spektrofotometer serapan atom) seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol dedak padi berpotensi sebagai agen antibakteri melalui mekanisme kerusakan membran sel.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara mandiri dan objektif tanpa konflik kepentingan atau pengaruh eksternal.

Acknowledgment

Penelitian ini dapat terlaksana berkat dukungan dan fasilitas yang diberikan oleh Universitas Muslim Nusantara. Kami menyampaikan penghargaan yang tulus kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam pelaksanaan penelitian ini..

Supplementary Materials

Referensi

- [1] Tampongangoy D, Maarisit W, Ginting A, Tumbel S, Tulandi S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kayu Kapur Melanolepis multiglandulosa Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Bakteri Escherichia coli. J Biofarmasetikal Trop 2019;2:107–14.
- [2] Sogandi S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Jati (Tectona Grandiss Linn. f) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Secara in Vitro. Indones Nat Res Pharm J 2018;3:93–105.
- [3] Tan SL, Lee HY, Mahyudin NA. Antimicrobial resistance of Escherichia coli and Staphylococcus aureus isolated from food handlers' hands. Food Control 2014;44:203–7.
- [4] Ramadhani A, Saadah S, Sogandi S. Efek antibakteri ekstrak daun cengkeh (Syzygium aromaticum) terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus. J Bioteknol Biosains Indones 2020;7:203–14.
- [5] Achmad H, Singgih MF, Ramdhani AF, Ramadhany YF. Inhibitory Power Test of White Rice Bran Extract (Oryza Sativa L.) with the Solution of Ethanol and Aqueous on Porphyromonas Gingivalis (In Vitro) Bacteria. Syst Rev Pharm 2020;11.
- [6] Bahari MI, Thariq M, Aziz FAA, Najid T, Siroth M. BISTUART: Biskuit Ruminansia Berbahan Dasar Dedak Dan Bekatul Dengan Tambahan Rumput Gajah Dan Tepung Tulang. J Integr Sains Dan Qur'an 2023;2:189–96.
- [7] Amelia R, Hizni A. Formulasi baby rice cracker bekatul rasa pisang ambon (Musa paradisiaca) sebagai pangan fungsional: formulation of baby rice cracker rice bran taste of ambon banana (Musa paradisiaca) as a functional food. Medimuh J Kesehat Muhammadiyah 2021;1:125–34.
- [8] Amir Y, Sirajuddin S, Syam A. Daya Terima Susu Bekatul Sebagai Pangan Fungsional. Hasanuddin J Public Heal 2020;1:83–91.
- [9] Dirjen POM. Farmakope Indonesia Edisi. IV. Jakarta: Depkes RI; 1995.
- [10] Depkes RI. Cara Pembuatan Simplisia. 1985.
- [11] Indonesia DK. Farmakope Indonesia Edisi III. 1979.
- [12] Harborne. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB; 1987.

- [13] Harborne AJ. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. springer science & business media; 1998.
- [14] Depkes RI. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
- [15] Indonesia. DKR. Farmakope Hebal Indonesia. Farmakop Herb Indones 2008.
- [16] Salni S, Marisa H, Mukti RW. Isolasi senyawa antibakteri dari daun jengkol (*Pithecolobium lobatum* benth) dan penentuan nilai KHM-nya. J Penelit Sains 2011;14.
- [17] Jamal Y, Irawati P, Agusta A. Chemical constituents and antibacterial effect of essential oil of Javanese pepper leaves (*Piper retrofractum* Vahl.). Media Penelit Dan Pengemb Kesehat 2013;23:65–72.
- [18] Kesehatan D. Materia Medika Indonesia Jilid II. Jakarta Dep Kesehat Republik Indones 1978.
- [19] Indonesia DKR. Materia Medika Indonesia Jilid VI. Jakarta Dep Kesehat Republik Indones 1995.
- [20] Dasopang ES. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sangitan (*Sambucus javanica* Reinw) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* dan *Salmonella thypi*. BIOLINK (Jurnal Biol Lingkung Ind Kesehatan) 2017;4:54–62.
- [21] Nurhasanah G. ES: Antibacterial Activity Testing Of Methanol Extract From The Leaves Of *Chromolaena Odorata* Against Multi-Drug Resistant Bacteria Using The Bioautography TLC Method. J Biosains 2020;6:45.
- [22] Irsyad M. Standardisasi Ekstrak Etanol Tanaman Katumpangan Air (*Peperomia pellucida* L. Kunth) 2013.
- [23] Nurjannah I. Skrining fitokimia dan uji antibakteri ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*citrus hystrix*) dan daun kelor (*moringa oleifera* l.) sebagai zat aktif pada sabun antibakteri 2021.
- [24] Sangi MS, Momuat LI, Kumaunang M. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arenga pinnata*). J Ilm Sains 2012;127–34.
- [25] Nasri N, Kaban VE, Satria D, Syahputra HD, Rani Z. Mekanisme antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Salmonella typhi*. J Pharm Heal Res 2023;4:79–84.
- [26] Davis WW, Stout TR. Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. Appl Microbiol 1971;22:659 65.
- [27] Kurniasari RD. Pengaruh Minyak Atsiri *Lavandula angustifolia* Terhadap Diameter Zona Hambat, Kebocoran Asam Nukleat dan Protein: Uji in Vitro Pada Bakteri *Propionibacterium acnes* 2021.
- [28] Riani KT. Deteksi Mekanisme Antibakteri Melalui Efek Kebocoran Sel Oleh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA n.d.
- [29] Asriani LBS, Yasni S, Sudirman I. Mekanisme antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa terhadap bakteri patogen pangan. J Teknol Dan Ind Pangan 2007;18:126–32.
- [30] Wongso E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) terhadap Kebocoran Membran pada Bakteri *Staphylococcus Aureus* 2023.
- [31] Masfria M, Maulidar NP, Haro G. Penetapan kadar Kalium, Kalsium, Natrium dan Magnesium dalam bunga Nangka (*Artocarpus eterophyllus* Lam.) Jantan secara Spektrofotometri serapan atom. Media Farm J Ilmu Farm 2018;15:81–7.
- [32] Rahmawatiani A, Mayasari D, Narsa AC. Kajian literatur: aktivitas antibakteri ekstrak herba suruhan (*Peperomia pellucida* L.). Proceeding Mulawarman Pharm. Conf., vol. 12, 2020, p. 117–24.