Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy) Vol. 14 No. 2,
Bulan Oktober Tahun 2025; 13-24
p-ISSN : 2302-7436; e-ISSN : 2656-8950

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL ASETAT BERAS HITAM (*Oryza Sativa* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Antibacterial Activity Testing of Ethanol Extract And Ethyl Acetate Fraction of Black Rice (Oryza Sativa L.*) Leaves Against Staphylococcus aureus And Escherichia coli*

Yuliana Umi Fathonah[1], Didik Wahyudi[2*], Diah Pratimasari[3]

[1,3] Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
[2] Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

*E-mail Korespondensi: didik.wahyudi@stikesnas.ac.id

Submit 10-08-2025 **Diterima** 18-09-2025 **Terbit** 30-10-2025

ABSTRAK

Beras hitam (*Oryza Sativa* L.) merupakan beras lokal yang memproduksi antosianin dengan intesitas tinggi pada aleuron dan endospremia sehingga warna beras menjadi ungu pekat menjadi hitam. Beras hitam memiliki kandungan kimia flavonoid, tanin, dan alkoloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam (*Oryza Sativa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Serbuk beras hitam dimaserasi menggunakan etanol 96%, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Pengujian metode difusi dengan menggunakan konsentrasi 25%,30%, dan 35% menggunakan kontrol positif Ciprofloxacin 5µg terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan adanya daya hambat. Fraksi etil asetat konsentrasi 35% merupakan fraksi teraktif dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 17,47 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* rata-rata diameter zona hambat fraksi etil asetat sebesar 14,52 mm. Berdasarkan uji analisis data *one way anova*, masing-masing konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat menunjukkan adanya perbedaan bermakna dalam aktivitas antibakteri dan tidak memiliki kemampuan aktivitas antibakteri setara dengan kontrol positif Ciprofloxacin dengan nilai sig.($P<0.05$).

Kata kunci: beras hitam, aktivitas antibakteri, ekstrak etanol, fraksi etil asetat

ABSTRACT

Black rice (Oryza Sativa L.) is a local rice that produces anthocyanins with high intensity in the aleurone and endospremia so that the color of the rice becomes intense purple to black. Black rice contains flavonoids, tannins, and alkoloids. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract and ethyl acetate fraction of black rice (Oryza Sativa L.) against Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria. Black rice powder was macerated using 96% ethanol, then fractionated using ethyl acetate solvent. Testing the antibacterial activity of ethanol extracts and ethyl acetate fractions was carried out using the disc diffusion method. Diffusion method testing using concentrations of 25%, 30%, and 35% using positive control Ciprofloxacin 5µg against Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria. The results of antibacterial activity testing showed that ethanol extract and ethyl acetate fraction of black rice can inhibit bacterial growth with inhibition. The ethyl acetate fraction with a concentration of 35% is the most active fraction with an average inhibition zone diameter of 17.47 mm on Staphylococcus aureus bacteria while on Escherichia coli bacteria the average inhibition zone diameter of the ethyl acetate fraction is 14.52 mm. Based on one way anova data analysis test, each concentration of ethanol extract and ethyl acetate fraction showed a significant difference in antibacterial activity and did not have the ability of anti-bacterial activity. Based on one way anova data analysis test, each concentration of ethanol extract and ethyl acetate fraction showed a significant difference in antibacterial activity and did not have the ability of antibacterial activity equivalent to Ciprofloxacin positive control with sig. (P<0.05).

Keywords*: black rice, antibacterial activity, ethanol extract, ethyl acetate fraction*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan kumpulan penyakit yang mudah menyerang anak-anak maupun dewasa yang disebabkan oleh infeksi bakteri, virus, dan infeksi parasit. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen yang banyak penginfeksi saluran pencernaan manusia. *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran (Monica *et al.,* 2021). Bakteri *E.coli* adalah bakteri Gram negatif yang merupakan flora normal di usus manusia yang dapat menyebabkan Infeksi Saluran Kencing (ISK) dan diare (Lestari *et al,* 2020).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri biasanya ditanggulangi dengan pemberian antibiotik. Menurut Permenkes (2017) penggunaan antibiotik yang relatif tinggi dapat menimbulkan permasalahan serta ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi antibiotik. Meningkatnya kejadian resistensi antibiotik membuat masyarakat beralih menggunakan tanaman untuk alternatif pengobatan, dikarenakn efek samping tanaman obat lebih kecil dibandingkan dengan obat kimia (obat modern) (Damayanti *et al*, 2014).

Banyak pengobatan dengan bahan alami yang tersedia sebagai solusi untuk mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan mikroorganisme yang lain, salah satunya adalah penggunaan bahan obat yang terbuat dari tumbuhan (Agus *et al.,* 2023). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional yang mengandung senyawa obat yaitu beras hitam (*Oryza Sativa* L.). Kandungan senyawa pada beras hitam terdapat senyawa flavonoid, alkaloid dan

tanin yang berpotensi sebagai antibakteri. Warna hitam pada beras hitam diketahui mengandung antosianin yang termasuk dalam kelas flavonoid dan senyawa fenolik (Sari & Ayuchecaria, 2017).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa beras hitam memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Takashi *et al.,* (2019), mengatakan bahwa tanaman beras hitam (*Oryza Sativa* L.) merupakan salah satu tumbuhan herbal yang diduga memiliki efek antimikroba dan biasanya dikonsumsi untuk menurunkan akumulasi lemak pada hati dikarenakan mengandung antosianin. Krisbianto *et al.,* (2019), menyatakan bahwa hasil penelitian pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi 20% merupakan fraksi teraktif yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat 13,06 mm. Penelitian aktivitas antibakteri beras berpigmen telah dievaluasi sebelumnya oleh (Pumirat & Luplertlop, 2013), menyatakan ekstrak etanol beras hitam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) 125 µg/ml dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) 250 µg/ml. Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti akan melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi kertas cakram.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven (Memmert), blender (Philips), ayakan no 60, timbangan analitik (Acis BC 500), cawan porselin, botol maserasi, *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), *beaker glass (pyrex)*, batang pengaduk, (iwaki), corong pisah *(pyrex)*, statif, gelas ukur *(pyrex)*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, corong kaca *(pyrex)*, api bunsen, jarum *ohse*, korek api, cawan petri steril *(pyrex)*, *paper disc* 6 mm, mikropipet, inkubator, jangka sorong *(tricle brand)*, labu takar, pinset, penjepit, kapas lidi steril, *alumunium foil*, *autoclave.*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah beras hitam organik (*Oryza Sativa* L.) yang berasal dari Karangayar, pelarut etanol 96%, aquadest, etil asetat, dimetil sulfoksida (DMSO) 10%, Standar kekeruhan Mc Farland 0,5, H_2SO_4 pekat, $FeCl_3$, HCI, larutan mayer, serbuk magnesium, antibiotik Ciprofloxacin 5 µg. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta dan Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Media yang digunakan adalah media NA *(Nutrient Agar)*, media MHA *(Muller Hinton Agar)*.

Metode Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi beras hitam dilakukan di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional – RSUP Dr. Sardjito Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Preparasi Sampel Beras Hitam

Beras hitam sudah mengalami pengeringan dan penggilingan. Kemudian dilakukan sortasi kering, dibersihkan untuk membersihkan dari kotoran dan debu yang menempel pada beras. Selanjutnya dihaluskan menggunakan diblender hingga menjadi serbuk dan lalu

dilakukan pengayakan menggunakan ayakan no 60 dan ditimbang untuk kemudian dilakukan proses maserasi (Krisbianto *et al.*, 2019).

Pembuatan Ekatrak Etanol 96% Beras Hitam

Ekstraksi beras hitam dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1000 gram serbuk dimasukkan kedalam toples maserasi dan direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 7500 ml. Rendaman ditutup dan dibiarkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 3 hari, rendaman disaring sehingga menghasilkan filtrat 1 dan residu 1. Residu 1 yang ada kemudian direndam kembali (remaserasi) dengan etanol 96% sebanyak 2500 ml. Rendaman kemudian ditutup dan dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 2 hari rendaman disaring sehingga menghasilkan filtrat 2 dan residu 2. Filtrat 1 dan filtrat 2 dicampurkan menjadi satu kemudian dilakukan evaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 ˚C dilanjutkan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental (Sari & Ayuchecaria, 2017)

Fraksinasi

Ekstrak beras hitam yang telah dipekatkan ditimbang seksama 10 gram lalu dilarutkan dengan *aquadest* hangat 100 ml sampai larut kemudian di diamkan pada suhu ruang terlebih dahulu dan difraksinasi dengan pelarut etil asetat sebanyak 100 ml, fraksinasi dilakukan dengan replikasi 3 kali menggunakan corong pisah. Filtrat etil asetat dipekatkan dengan diuapkan di atas *waterbath* pada suhu ± 50°C. filtrat etil asetat yang telah dipekatkan dinyatakan sebagai fraksi air. Kemudian hitung rendemen dari fraksi etil asetat (Krisbianto *et al.*, 2019).

Pengujian Skrining Fitokimia

Identifikasi senyawa kimia seperti flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin dengan menggunakan beberapa pereaksi kimia khusus sehingga akan menghasilkan perubahan warna sesuai ciri khas masing-masing senyawa.

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,05 gram ekstrak dan fraksi beras hitam dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mg serbuk magnesium lalu ditambahkan 2-3 tetes HCI P kemudian dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terbentuk warna merah/jingga/kuning (Kursia *et al.*, 2016).

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,05 gram ekstrak dan fraksi beras hitam dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCI 2N sebanyak 1 ml dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit dan didinginkan. Larutan yang diperoleh lalu ditambakan pada tabung reaksi diteteskan pereaksi Dragendorf. Hasil dari pereaksi Dragendorf terbentuk endapan merah/jingga menunjukkan positif senyawa alkaloid (Kursia *et al.*, 2016).

Uji Tanin

Sebanyak 0,05 gram ekstrak dan fraksi beras hitam dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 tetes $FeCl_3$ 1%. Uji positif apabila timbul biru atau kehitaman menunjukkan positif adanya tanin. (Kumalasari & Andiarna, 2020).

Identifikasi Senyawa Antosianin Pada Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat Beras Hitam Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak dan fraksi ditotolkan menggunakan pipa kapiler di atas lempeng kromatografi pada jarak 2,5 cm kemudian dielusikan dengan jarak pengembang 5 cm. KLT mula-mula dilakukan dengan cara menjenuhkan fase gerak yang digunakan yaitu Etil asetat (PA): Etanol (PA) dengan perbandingan 8:2 di dalam *chamber*. Lalu dilakukan elusi sampai fase gerak mencapai batas elusi. Setelah pengembangan, lempeng KLT dikeringkan, dilakukan deteksi bercak di bawah sinar *UV* dan pereaksi lainnya. Bercak yang dideteksi ditentukan harga RF dan penampakan warnanya. Fase diam yang digunakan adalah lempeng *silica GF254* dengan ukuran 10 x 10cm. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna merah sampai lembayung (Rohmah, *et al.,* 2020).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri uji dengan cara beberapa ohse biakkan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* bakteri kemudian diinokulasikan pada masing-masing media NA (*Nutrient Agar)* miring dengan ohse bulat apseptis dan dengan cara aseptis, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu kekeruhan disetarakan dengan Mc.Farland 0,5% (Monica *et al*, 2021)

Pengujian Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode Difusi

Metode pengujian efek antibakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode difusi cakram. Pengujian ini digunakan media MHA *plate* dengan ketebalan 6 mm. Suspensi bakteri yang telah distandarisasi dengan standar Mc.Farland 0,5 secara *spread plate* diinokulasikan pada media MHA menggunakan kapas lidi steril dengan menyelupkan pada suspensi bakteri yang telah dibuat dan didiamkan selama 15 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Media tersebut terdapat 5 cakram dengan jarak yang sama. Setiap cakram ditetesi sebanyak 50 ul ekstrak etanol, fraksi etil asetat beras hitam, Ciprofloxacin 5 µg sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Cakram yang sudah diberi bahan uji kemudian diletakan di atas media MHA yang sudah diinokulasikan bakteri uji menggunakan pinset. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37^0C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar cakram diukur dan dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri sekitar *disk* menandakan bahwa kandungan beras hitam memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Murdiyansah *et al.,* 2020)

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian menggunakan metode difusi berupa diameter zona hambat ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam (*Oryza Sativa* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* di analisis secara statistik dengan menggunakan SPSS uji *One Way* ANOVA dan perlu dilakukan uji lanjutan yaitu *Post Hoc Test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Beras Hitam (*Oryza sativa* L.)

Serbuk beras hitam yang telah dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 hari, dan kemudian disaring unutk mendapatkan senyawa metabolit, dan dipekatkan, samapi terbentuk ekstrak kental, dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Beras Hitam

Berat serbuk (gram)	Etanol (ml)	Bobot ekstrak kental (gram)	Rendemen b/v (%)	Organoleptis		
				Bentuk	Warna	Bau
1000	10000	61,4	6,14	Ekstrak Kental	Coklat kehitaman	Bau khas

Hasil rendemen ekstrak etanol beras hitam didapatkan hasil sebesar 6,14 %. Hasil ekstrak etanol yang didapatkan lebih sedikit dibandingkan dengan hasil rendemen pada penelitian Krisbianto *et al.,* (2019), menghasilkan rendemen sebesar 8,88%. Perbedaan rendemen yang dihasilkan disebabkan oleh perbedaan perbandingan sampel dan pelarut yang digunakan, pada penelitian ini menggunakan perbandingan 1:10 sedangkan pada penelitian Krisbianto *et al.,* (2019), menggunakan perbandingan 1:15.

Hasil Fraksinasi Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.)

Ekstrak beras hitam yang didapatkan kemudian difraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah. Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan suatu senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etil asetat yang merupakan pelarut semi polar yang dapat menarik senyawa seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin (Rahmiati *et al.,* 2017). Hasil fraksi etil asetat ditampung dalam cawan porselen kemudian diuapkan di atas *waterbath* dengan suhu 50^0C untuk menghilangkan pelarut yang masih tertinggal hingga mendapatkan fraksi kental. Hasil rendemen fraksi kental beras hitam dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Fraksinasi Ekstrak Beras Hitam

Berat ekstrak (gram)	Jenis fraksi	Bobot fraksi (gram)	Rendemen fraksi b/v (%)
40	Etil asetat	13,28	33,22

Hasil rendemen pada penelitian ini sebesar 33,22 % dimana hasil rendemen lebih besar dibandingkan dengan penelitian sebelumnya Krisbianto *et al.,* (2019), yaitu sebesar 27,05%. Perbedaan hasil rendemen disebabkan karena adanya perbedaan perlakuan pada proses fraksinasi. Pada penelitian ini ekstrak yang sudah dilarutkan dengan *aquadest* hangat langsung dilakukan fraksinasi dengan pelarut etil asetat. Sedangkan pada penelitian sebelumnya pada suspensi air ditarik pelarut N-heksana terlebih dahulu sebelum dilakukan fraksinasi dengan pelarut etil asetat sehingga mempengaruhi hasil rendemen tersebut.

Uji Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Beras Hitam (*Oryza sativa* L.)

Berdasarkan hasil pada tabel 3 dapat dilihat uji identifikasi senyawa pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam menunjukkan bahwa diperoleh tiga senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam (*Oryza Sativa* L.) yaitu senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan tanin.

Tabel 3. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia

Kandungan	Pereaksi	Hasil		Hasil Uji
		Ekstrak	Fraksi	
Flavonoid	HCl pekat + serbuk Mg	+	+	Perubahan warna jingga/orange
Alkaloid	Dragendorff	+	+	Perubahan warna jingga hingga merah kecoklatan dengan pereaksi *Dagendroff*
Tanin/Fenolik	FeCl 1%	+	+	Perubahan warna hijau kehitaman

Keterangan : (+) Adanya komponen at yang diidentifikasi
(-) Tidak adanya komponen at yang diidentifikasi

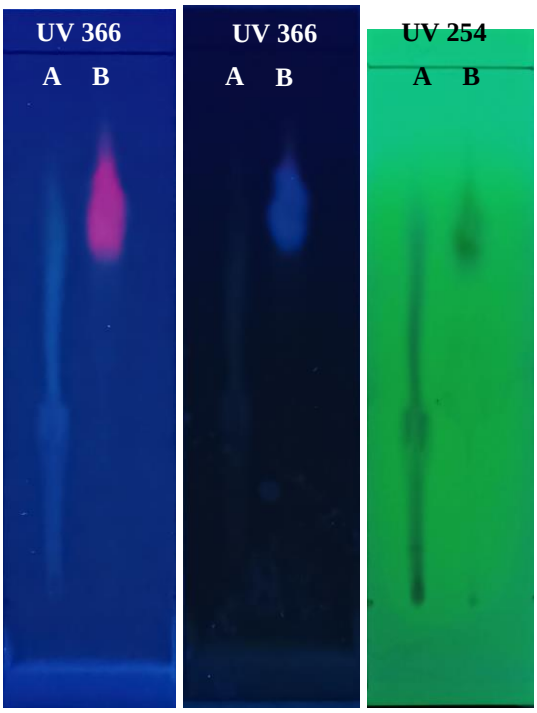
Maka berdasarkan hasil identifikasi tersebut disimpulkan bahwa tidak mempunyai perbedaan kandungan senyawa metabolik antara ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam (*Oryza Sativa* L.) dengan ditandai hasil dari kedua sampel uji menghasilkan hasil positif. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Krisbianto *et al.,* (2019), pada penelitiannya ekstrak etanol beras hitam positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan triterpenoid.

Identifikasi Senyawa Antosianin Pada Ekstrak Beras Hitam Secara Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi senyawa antosianin ekstrak etanol beras hitam dan fraksi etil asetat dengan KLT dilakukan dengan menotolkan sampel pada plat silika GF_{254}nm dan dielusi menggunakan fase gerak etil asetat : etanol dengan perbandingan (8:2). Berdasarkan hasil identifikasi antosianin dengan KLT pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam menghasilkan spot warna merah lembayung. Profil warna spot yang dihasilkan fraksi etil asetat beras hitam ini sama dengan penelitian sebelumnya Ivary *et al.*, (2017), yaitu berwarna merah lembayung pada UV 366 nm. Hal ini menunjukkan fraksi etil asetat beras hitam kemungkinan mengandung senyawa antosianin. Setelah itu dilakukan penampak bercak menggunakan uap amoniak. Penampak bercak ini pernah digunakan oleh Fauziyah *et al.*, (2020) untuk mengidentifikasi antosianin dari ketan hitam. Perubahan warna menjadi biru setelah diuapkan amoniak menunjukan positif antosianin yang termasuk golongan flavonoid.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Senyawa Antosianin Pada Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat Beras Hitam Secara Kromatografi Lapis Tipis

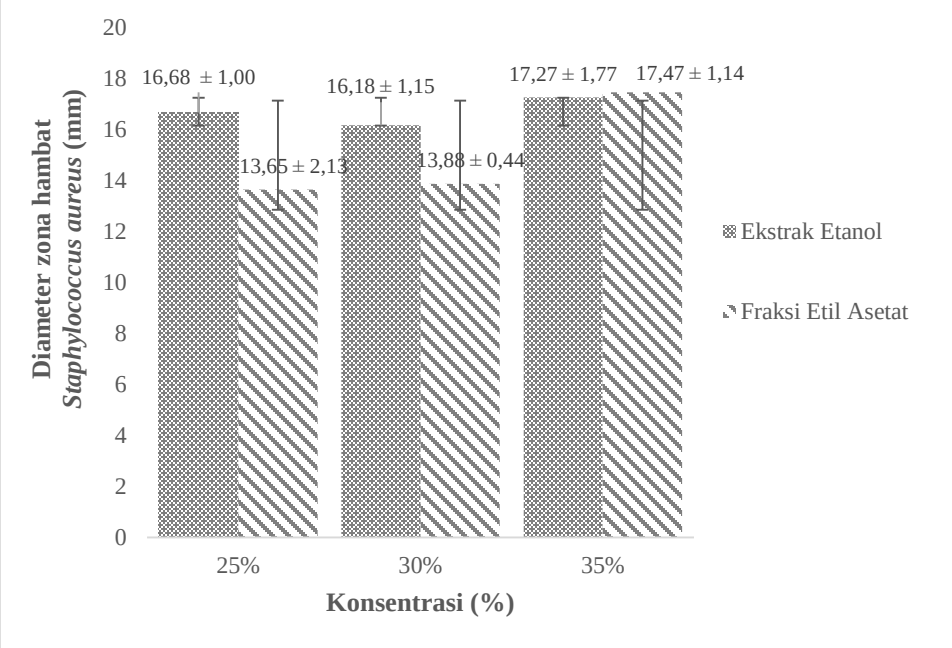
Sampel	Nilai Rf	Nilai hRf	Deteksi Antosianin (Warna/Spot)
Standar antosianin	0,06-0,96	6-96	Merah Lembayung (Ivary *et al.,* (2017))
Ekstrak etanol	0,19	19	Biru
Fraksi etil asetat	0,66	66	Merah Lembayung



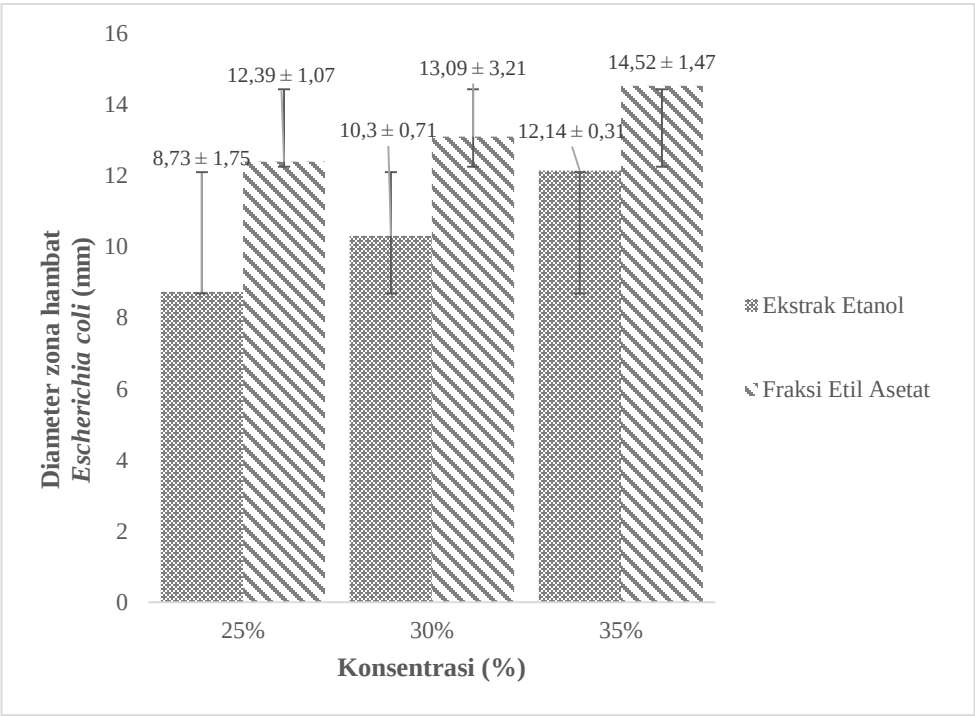
Gambar 1. Hasil Profil KLT (A) Ekstrak etanol beras hitam (B) Fraksi etil asetat beras hitam Fase gerak Etil asetat pa : Etanol pa (8:2) dengan jarak elusi 8 cm (Dokumentasi pribadi, 2024)

Pengujian Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam (*Oryza Sativa* L.,) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menunjukkan adanya diameter zona hambat disekitar kertas cakram setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37^0C. Berdasarkan hasil pada gambar 1 dan 2 pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat dimana semakin besar konsentrasi maka semakin besar daya hambat pada masing-masing kelompok sampel. Kemampuan antibakteri dalam menghambat mikroorganisme tergantung pada konsentrasi dan jenis antibakteri yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi suatu antibakteri, maka daya hambat yang terbentuk semakin besar. Semakin tinggi konsentrasi pada sampel antibakteri, maka zat aktif yang terkandung semakin banyak sehingga akan semakin meningkat dalam menghambat bakteri dan dapat membentuk zona hambat yang lebih luas (Rastina *et al.,* 2015).



Gambar 2. Grafik Hasil Diameter Zona Bening Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.,) Terhadap Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 3. Grafik Hasil Diameter Zona Bening Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.,) Terhadap Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat lebih kuat dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan fraksi etil asetat pada bakteri *Escherichia coli*. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi 35% yang

memberikan zona hambat paling besar dengan didapatkan hasil diameter zona hambat yang hampir sama pada kedua bakteri uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli.* Gambar 2 dapat dilihat daya hambat paling besar ada pada konsentrasi 35% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata untuk ekstrak etanol yaitu 17,27 mm dan pada fraksi etil asetat beras hitam yaitu 17,47 mm. Sedangkan pada konsentrasi 35% terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata untuk ekstrak etanol yaitu 12,14 mm dan pada fraksi etil asetat beras hitam yaitu 14,52 mm. Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar (Murdiyansah *et al.*, 2020), yang memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol (Maneak *et al.*, 2017), selain itu senyawa antosianin yang terkandung dalam fraksi etil asetat mampu menyebabkan kebocoran membran plasma pada bakteri, Dong *et al*. (2022) menyatakan bahwa antosianin mampu mereduksi substansi protein yang menyusun membran plasma pada *Staphylococcus aureus*, dan mengubah struktur eksoportease dan matrik penyusun biofilm pada sel bakteri.

Pengujian analisis statistik *One Way* ANOVA untuk mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri antara konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam (*Oryza Sativa* L.) masing- masing kelompok memiliki nilai signifikansi ($P<0.05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan dari masing-masing konsentrasi. Hal ini menunjkkan bahwa perbedaan konsentrasi berpengaruh signifikan terhadap hasil daya hambat dari sampel ekstrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam. Berdasarkan hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa semua kelompok sampel pada konsentrasi 25%, 30%, dan 35% memiliki aktivitas antibakteri tetapi tidak sebanding (lebih rendah) dengan kontrol positif Ciprofloxacin dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (sig <0.05).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri esktrak etanol dan fraksi etil asetat beras hitam (*Oryza Sativa* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara difusi disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil beras hitam konsentrasi 25%, 30%, dan 35% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli,* fraksi etil asetat beras hitam pada konsentrasi 35% memberikan zona hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.*

DAFTAR PUSTAKA

Agus, S., Indra, N., & Farah, T. (2023). EduInovasi : Journal of Basic Educational Studies EduInovasi : Journal of Basic Educational Studies. *Journal of Basic Educational Studies*, *2*(1), 85–97.

Damayanti, A.(2014). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana*) sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterecoccus faecalis*. Naskah Publikasi. Surakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Dong, Y., Yang, C., Zhong, W., Shu, Y., Zhang, Y., & Yang, D. (2022). Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin from Lycium ruthenicum Murr. *Frontiers in microbiology*, *13*, 974602.

Fauziyah, R. N., Fitriani, N., & Surmita, S. (2020). Effect of fermented glutinous black rice on LDL cholesterol levels. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, *12*(1), 139-148.

Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* in Dairy Milk of The Etawah Crossbred Goat with Subclinical Mastitis in Kalipuro Village, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, *2*(2), 76–82. https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82

Krisbianto, A., Wicaksana, A., Rachman, T., Eni, Hartati, F. K., Hitam, B., Terhadap, L. I., Suhartatik, N., Nur Cahyanto, M., Raharjo, S., & S. Rahayu, E. (2018). *Angewandte Chemie International Edition, 6(11), 951–952.*, *3*(1), 10–27. https://doi.org/10.6066/jtip.2013.24.1.115

Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L). *Indonesian Journal for Health Sciences*, *4*(1), 39. https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2279

Kursia, S., Lebang, J. S., Taebe, B., Burhan, A., R Rahim, W. O., Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, S., Selatan, S., & Farmasi Kebangsaan Makassar, A. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, *3*(2), 72–77. http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/article/view/8643

Lestari *et al.* (2020). Daya Hambat Propolis Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *7*, 237–250.

Maneak, I.E. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi n- heksana, Etil Asetat, serta Air dari Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi. Universitas Setia Budi*

Monica Sandy, Siska Wardani, T., & Dwi Septiarini, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urb) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. *Media Farmasi Indonesia*, *16*(2), 1683–1692. https://doi.org/10.53359/mfi.v16i2.184

Murdiyansah, S., Citra Rasmi, D. A., & Mertha, I. G. (2020). Centella asiatica Activities towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Growth. *Jurnal Biologi Tropis*, *20*(3), 499–506. https://doi.org/10.29303/jbt.v20i3.1418

Pumirat, P., & Luplertlop, N. (2013). The In-vitro Antibacterial Effect of Colored Rice Crude Extracts against *Staphylococcus aureus* Associated with Skin and Soft-Tissue Infection. *Journal of Agricultural Science*, *5*(11), 102–109. https://doi.org/10.5539/jas.v5n11p102

Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Phytochemical Screening Ethyl Acetate Extract of Mangosteen Peel (*Garcinia Mangostana* L.). *Journal Pharmacon*, *09*(4), 58.

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.

Rahmiati, A., Darmawati, S., & Mukaromah, A. H. (2017). Daya Hambat Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, *30 September 2017*, 669–674. http://repository.unimus.ac.id/1203/

Rohmah, Adrianta, K. A. (2020). Identifikasi Senyawa Antosianin Ekstrak Etanol Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa* L.) Sebagai Alternatif Pengobatan DBD. *Medicamento*, *2*(1), 17–22.

Rastina, R., Sudarwanto, M dan Wientarsih, I. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp*. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 9(2): 185-188.

Sari, A. K., & Ayuchecaria, N. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (Oryza Sativa L) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, *2*(2), 327–335.