

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT TERONG BELANDA (*Solanum betaceum*) TERHADAP JUMLAH BAKTERI DALAM SUSU SAPI MENGGUNAKAN METODE WAKTU METHYLENE BLUE REDUKTASE

Effect of Giving Eggplant Skin Extract Belanda (*Solanum betaceum*) on the Number of Bacteria in Cow's Milk Using the Time Methylene Blue Reductase Method

Septia Nawang Sari¹, Ahmad Syauqi², Faisal³

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang

Faculty of Mathematics and Natural Science
University of Islam Malang

ABSTRAK

Susu memiliki nilai gizi yang tinggi karena mengandung unsur kimia yang diperlukan oleh tubuh. Namun, susu dapat terkontaminasi oleh mikroorganisme patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella*. Terong Belanda (*Solanum betaceum*) juga dikenal sebagai tamarillo yang mengandung senyawa aktif seperti fenolik, flavonoid, karotenoid, dan antosianin yang berfungsi sebagai agen antibakteri. Bakteri yang pertumbuhannya dapat dihambat oleh ekstrak kulit terong belanda meliputi *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella Enteritidis*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh pemberian ekstrak kulit terong belanda dan konsentrasi yang diperlukan untuk mengurangi jumlah bakteri dalam susu sapi menggunakan metode waktu reduksi metilen biru (MBRT). Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan dengan lima ulangan. Analisis data dilakukan menggunakan analisis ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji aturan empiris menunjukkan bahwa rata-rata rentang yang dapat diandalkan untuk setiap perlakuan tertinggi pada kelompok kontrol [11,3 – 970,7] menit. Untuk konsentrasi 1%, 2%, dan 3%, rata-rata waktu reduksi berkisar antara [250 – 800] menit, sedangkan pada konsentrasi 4%, rentang rata-rata sekitar [148,1 – 879,9] menit. Uji BNT menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, yang menunjukkan efek pemberian ekstrak kulit terong belanda dalam mengurangi jumlah bakteri pada susu. Secara khusus, konsentrasi ekstrak 4% memiliki efek paling signifikan dalam mengurangi bakteri pada susu sapi berdasarkan metode MBRT.

Kata kunci: ekstrak, metilen biru, susu, terong belanda, waktu reduksi

ABSTRACT

Milk is highly nutritious as it contains essential chemical elements needed by the body. However, milk can be contaminated by pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella*. Dutch eggplant (*Solanum betaceum*), also known as tamarillo, contains active compounds such as phenolics, flavonoids, carotenoids, and anthocyanins, which function as antibacterial agents. Bacteria whose growth can be inhibited by Dutch eggplant peel extract include *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, and *Salmonella Enteritidis*. This study aimed to determine the effect of administering Dutch eggplant peel extract and to identify the concentration required to reduce the bacterial count in cow's milk using the methylene blue reductase time (MBRT) method. The research employed an experimental design with a Completely Randomized Design (CRD), consisting of five treatments with five replications each. Data analysis was conducted using analysis of variance (ANOVA), followed by the Least Significant Difference (LSD) test. The empirical rule test showed that the mean reliable range for each treatment was highest in the control group [11.3 – 970.7] minutes. For concentrations of 1%, 2%, and 3%, the mean reduction time ranged between [250 – 800] minutes, while at a concentration of 4%, the mean range was approximately [148.1 – 879.9] minutes. The LSD test indicated a significant difference between treatment groups, demonstrating the effect of Dutch eggplant peel extract in reducing bacterial counts in milk. Notably, the 4% concentration of the extract had the most pronounced effect on reducing bacteria in cow's milk, as determined using the MBRT method.

Keywords: extract, methylene blue, milk, tamarillo, reductase time

Pendahuluan

Susu sapi segar diperoleh dengan cara pemerahan yang dimana tidak mengalami penambahan dan pengurangan sesuatu zat dan hanya dilakukan penurunan suhu [1]. Mikroorganisme patogen dan mikroorganisme pembusuk merupakan jenis mikroorganisme yang dapat menyebabkan kerusakan pada susu [2]. Mikroorganisme patogen yang terdapat pada susu mentah berpotensi menyebabkan kontaminan pada susu, bakteri tersebut antara lain: *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Coxiella burnetii*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* dan *Yersinia enterocolitica*.

Terong belanda (*Solanum betaceum*) atau Tamarillo, termasuk tanaman perdu dari famili Solanaceae yang berasal dari Benua Amerika bagian Peru dan Chili [3]. Terong belanda mengandung senyawa kimia serta nutrisi antara lain vitamin, karbohidrat, karoten, serat, fosfor, magnesium, kalsium, protein, lemak, senyawa flavonoid dan senyawa fenol. Kandungan kulit pada buah terong belanda antara lain saponin, flavonoid dan senyawa golongan fenol [3]. Flavonoid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak terdapat dalam tanaman dan tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan. Terong belanda memiliki kandungan Methyl [1,3,4] oxadiazole sebesar 6,73% sebagai anti inflamasi, anti jamur dan antibakteri [4]. Mikroorganisme *Escheichia coli*, *Salmonella enteritidis* dan *Enterococcus faecalis* dapat terhambat pertumbuhannya oleh ekstrak kulit terong belanda yang diberikan [5].

Flavonoid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang cukup tinggi pada tanaman dan tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan. Terong belanda mampu memperkecil redoks dan menangkal radikal bebas karena mengandung antioksidan [6]. Aktivitas siklus krebs dapat meningkat karena adanya protein arca yang diinduksi oleh protein Cpx. Protein Cpx ini disebabkan oleh induksi beberapa antibiotik seperti beta laktam, aminoglikosida dan flourokuinolon [7].

Methylene blue merupakan pewarna kimia yang banyak digunakan untuk pewarnaan mikroorganisme secara sederhana dan mampu memberikan warna pada mikroorganisme dengan cara berikatan dengan sitoplasma bakteri [8]. Tujuan pewarnaan dengan *methylene blue* adalah untuk mengetahui ketika larutan *methylene blue* diberikan pada sampel susu maka sampel akan berubah warna menjadi biru. Apabila perubahan warna biru menjadi putih membutuhkan waktu yang lama maka dapat diketahui bahwa bakteri dalam susu semakin sedikit, sedangkan apabila perubahan warna biru menjadi putih membutuhkan waktu yang

singkat maka dapat diketahui bahwa bakteri dalam susu semakin banyak. *Methylene blue* memiliki potensi sebagai agen antimikroba.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh pemberian ekstrak kulit terong belanda dan konsentrasi yang diperlukan untuk mengurangi jumlah bakteri dalam susu sapi menggunakan metode waktu *methylene blue* reduktase (MBRT)

Material dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Tabung reaksi, rak tabung reaksi, thermometer, kapas (penutup tabung reaksi), *waterbath*, *stopwatch*, label, mikropipet, pisau, timbangan analitik, blender, kamera digital, gelas ukur, PH meter, *evaporator*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Buah terong belanda (*Solanum betaceum*), susu sapi murni (FH), aquades, *methylene blue*, etanol 96%

Metode

Penelitian ini dilakukan pada periode Maret-April 2024 di Laboratorium Mikrobiologi, yang terletak di Laboratorium Terpadu Halal Center Universitas Islam Malang. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif kuantitatif dengan metode eksperimen satu faktor yaitu penelitian yang dilakukan untuk mencari pengaruh pemberian ekstrak kulit terong belanda (*Solanum betaceum*) dalam mengurangi jumlah bakteri susu sapi dengan menggunakan metode waktu *methylene blue* reduktase. Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif untuk memecahkan masalah penelitian yang melibatkan data dalam bentuk angka dan analisis statistik. Rancangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Langkap (RAL). Rancangan Acak Langkap (RAL) merupakan perlakuan yang dikenakan sepenuhnya oleh unit-unit percobaan yang homogen dan tidak ada batasan terhadap pengacakan secara operasional yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 5 kali ulangan, sehingga berjumlah 25 unit percobaan [9]. Variabel terikat pada penelitian ini adalah perubahan warna dari biru ke putih selama waktu tertentu dengan satuan (Jam) dan variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak kulit terong belanda dengan konsentrasi ekstrak kulit terong antara lain: 0%, 1%, 2%, 3% dan 4%.

Cara Kerja

Preparasi sampel : Pertama-tama yaitu sortasi untuk pemilihan buah yang masih segar dan matang. Dilakukan pencucian buah terong belanda untuk membersihkan kotoran, pembuatan simplisia buah terong belanda dilakukan dengan cara diambil kulitnya dan dibuang atau dimakan daging buah dan bijinya. Kulit terong belanda dikeringkan dengan menggunakan oven selama 24 jam dengan tempertur 40°C. Setelah kulit buah terong belanda kering, kulit buah terong belanda diblender. Kulit buah terong belanda yang sudah diblender kemudian disaring dengan menggunakan saringan kawat. Simplisia kulit buah terong belanda yang dipakai dalam pembuatan ekstrak berjumlah 35 gram. Proses ekstraksi ini menggunakan metode maserasi karena metode ini sangat mudah dilakukan serta bahan alam tidak mudah rusak. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% berjumlah 350 ml, pelarut ini bertujuan untuk mengunggulkan kemampuan pelarut untuk memisahkan senyawa yang bersifat non polar. Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi selama 5 × 24 jam dengan dilakukan penggantian etanol 96% selama 2 kali untuk memaksimalkan senyawa bioaktifnya, Metode maserasi pada penelitian ini menggunakan perbandingan 1:10.

Ekstraksi: Setelah dilakukan maserasi kedua, ekstrak sampel yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 70°C dalam waktu 60 menit dan kecepatan 75 rpm sehingga diperoleh ekstrak pekat.

Proses pengujian: Sampel susu diambil 10 mL kemudian ditambhkan dengan larutan uji menggunakan konsentrasi yang berbeda dimana konsentrasi tersebut antara lain:

0% : 10 ml susu sapi + 0,250 ml *methylene blue*

1% : 10 ml susu sapi + 0,1 gram ekstrak + 0,250 ml *methylene blue*

2% : 10 ml susu sapi + 0,2 gram ekstrak + 0,250 ml *methylene blue*

3% : 10 ml susu sapi + 0,3 gram ekstrak + 0,250 ml *methylene blue*

4% : 10 ml susu sapi + 0,4 gram ekstrak + 0,250 ml *methylene blue*

Setelah sampel susu dihomogenkan dengan *methylene blue* dan ekstrak kulit terong belanda. Sampel susu yang sudah tercampur di masukkan ke dalam waterbath pada temperature 38°C. Pengamatan dilakukan setiap 5 menit untuk memantau perubahan warna pada *methylene blue*, serta mencatat durasi yang diperlukan untuk perubahan warna dari biru menjadi putih.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

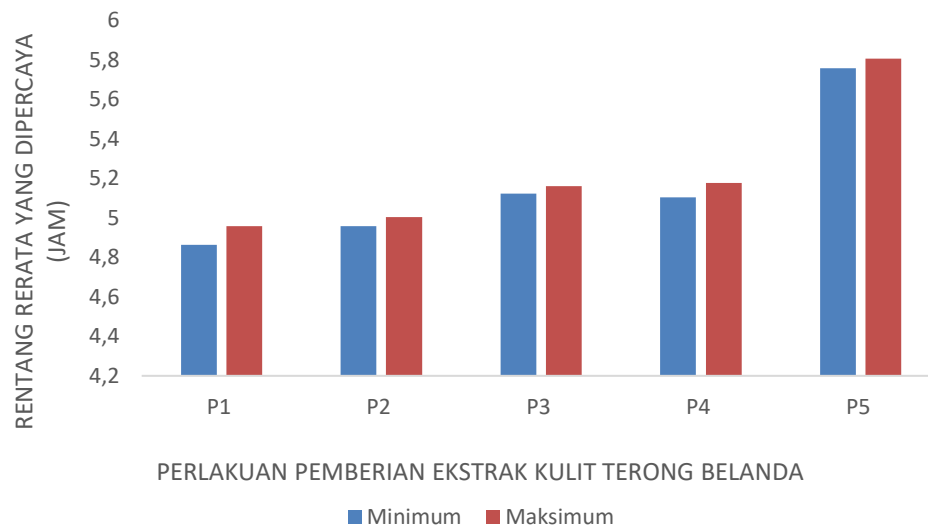
Uji Empirical Rules (Pendugaan Mean) rerata rentang kepercayaan pengaruh pemberian ekstrak terong terhadap jumlah bakteri pada susu sapi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Empirical Rules (Pendugaan Mean)

No	Perlakuan	Rata-rata Waktu (Jam)	Rerata Rentang Yang Dipercaya (Menit)
1	0%	8,1	[11,3 – 970,7]
2	1%	8,3	[259,5 – 736,5]
3	2%	8,5	[318,2 – 709,8]
4	3%	8,5	[148,1 – 879,9]
5	4%	9,6	[339,3 – 816,7]
Jumlah		43	[215,2 – 823,5]

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan 1 membutuhkan waktu 8,1 jam dengan rerata rentang yang dipercaya [11,3 – 970,7] menit, pada perlakuan 2 membutuhkan waktu 8,3 jam dengan rerata rentang yang dipercaya [259,5 – 736,5] menit, pada perlakuan 3 membutuhkan waktu 8,5 jam dengan rerata rentang yang dipercaya [318,2 – 709,8] menit dan pada perlakuan 4 membutuhkan waktu 8,5 jam dengan rerata rentang yang dipercaya [148,1 – 879,9] menit serta pada perlakuan 5 membutuhkan waktu 9,6 jam dengan rerata rentang yang dipercaya adalah [339,3 – 816,7] menit. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan 1 dengan menggunakan konsentrasi 0% ekstrak kulit terong belanda terhadap kisaran jumlah bakteri pada susu sapi membutuhkan waktu yang paling sedikit dibandingkan pada perlakuan yang lainnya, sedangkan pada perlakuan 5 dengan menggunakan konsentrasi 4% ekstrak terong belanda terhadap kisaran jumlah bakteri pada susu sapi membutuhkan waktu yang paling lama. Hal ini di karenakan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin lama durasi perubahan warna biru menjadi putih.

Analisis yang digunakan adalah Perbandingan Antara Rerata Kelompok Dengan Beda Nyata kecil (BNT) 5% pengaruh pemberian ekstrak terong terhadap jumlah bakteri pada susu sapi. Adapun hasil BNT yang diperoleh pada penelitian ini adalah $BNT (5\%) = 0,04$. Perbandingan antara rerata kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 1. Pengaruh Ekstrak Terhadap Jumlah Bakteri pada Susu

Berdasarkan Gambar 1. Pengaruh Ekstrak terhadap Jumlah Bakteri pada Susu menunjukkan bahwa perbandingan antara rerata kelompok perlakuan berbeda nyata sehingga terdapat adanya pengaruh pemberian ekstrak terong terhadap jumlah bakteri pada susu. Pada P3 dan P4 menunjukkan perbandingan antara rerata kelompok perlakuan tidak berbeda nyata atau sama hal ini dikarenakan adanya penggumpalan susu yang ditimbulkan. Penggumpalan susu dipengaruhi oleh keberadaan bakteri *Bacillus cereus* yang menghasilkan enzim untuk memecah membran tipis fosfolipid, sehingga lapisan tersebut bergabung dan membentuk gumpalan yang muncul ke permukaan susu. Berdasarkan gambar 1 menyatakan bahwa kemampuan ekstrak kulit terong belanda dalam mengurangi jumlah bakteri pada susu pada setiap perlakuan adalah berbeda nyata. Hal ini dikarenakan kandungan alkaloid pada kulit terong belanda terdapat senyawa flavonoid dan tanin yang bersifat polar dapat mempermudah senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, tanin dan alkaloid untuk menembus bakteri gram positif yang terdapat dalam susu.

Penggumpalan susu yang timbul tanpa penurunan pH, hal ini disebabkan oleh bakteri seperti *Bacillus cereus* yang menghasilkan enzim yang mencerna lapisan tipis fosfolipid menyatu membentuk suatu gumpalan yang timbul ke permukaan susu.

Pembahasan

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan 3 dan 4 membutuhkan waktu yang sama yaitu 8,5 jam. Hal ini dikarenakan sampel susu pada perlakuan 3 yang sudah diuji telah merubah sifat pada susu sapi sehingga susu menjadi menggumpal, Hal ini terjadi karena bakteri seperti *Bacillus cereus* dalam susu menghasilkan enzim yang memecah lapisan tipis fosfolipid, yang kemudian bergabung membentuk gumpalan yang muncul ke permukaan susu. Selain itu, penggumpalan pada susu juga disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: pH menjadi rendah, suhu yang tinggi, serta campuran susu dengan bahan kimia lain yang sifatnya asam dan basa.

Lapisan fosfolipid merupakan jenis lipid (lemak) yang memiliki struktur khas yang terdiri dari dua bagian utama yaitu bagian hidrofobik (tak suka air) dan bagian hidrofilik (suka air). Struktur ini membuat fosfolipid menjadi komponen penting dalam membentuk membran sel. Membran fosfolipid ganda sangat tipis, dengan ketebalan lapisan biasanya hanya sekitar 5-10 nm (nanometer), yang memungkinkan mereka untuk berfungsi dengan baik dalam pengaturan transportasi molekul, serta mempertahankan kestabilan struktural dan fungsional sel.

Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin lama waktu reduksi maka semakin sedikit bakteri yang ada pada susu dan sebaliknya semakin sedikit waktu reduksi maka semakin banyak bakteri yang ada pada susu. Rata-rata pada tiap perlakuan akan menghasilkan hasil yang berbeda sehingga pemberian ekstrak terong terhadap jumlah bakteri pada susu sapi dihitung dengan Uji Empirical Rules (Pendugaan Mean) mempengaruhi jumlah bakteri pada susu sapi dengan menggunakan metode waktu methylene blue reduktase. Adapun rerata rentang yang dipercaya pada tiap perlakuan yang paling besar adalah pada perlakuan 1 dan pada perlakuan 2, 3 dan 5 rerata rentang yang dipercaya berkisar [250 - 800], sedangkan pada perlakuan 4 adalah [148,1 – 879,9]. Pada perlakuan 2, 3 dan 4 sampel susu yang sudah diuji telah merubah sifat pada susu sapi dimana susu menjadi menggumpal, Penggumpalan ini terjadi karena bakteri seperti *Bacillus cereus* menghasilkan enzim yang memecah lapisan tipis fosfolipid, sehingga lapisan tersebut bergabung dan membentuk gumpalan yang muncul ke permukaan susu.

Tabel 1 diketahui konsentrasi yang dapat mempengaruhi jumlah bakteri dalam susu adalah 4% dimana waktu reduksi semakin lama dan susu tidak rusak dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstrak kulit terong belanda terhadap jumlah bakteri pada susu adalah kemampuan antibakteri yang ada dalam kulit terong belanda yakni flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel, yang mengakibatkan membran sel mengalami lisis dan bakteri tidak dapat berkembang [10]. Konsentrasi 4% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam mengurangi jumlah bakteri pada susu, hal ini disebabkan adanya anti mikroorganisme pada kulit terong belanda cukup besar untuk menghambat pertumbuhan sel bakteri dalam susu. Konsentrasi yang lebih rendah tidak bisa menghambat pertumbuhan bakteri secara sempurna.

Proses kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu mampu merusak membran mikroba berkat sifatnya yang lipofilik, serta menghambat pembentukan dinding sel yang dapat menyebabkan lisis [11]. Sementara itu, proses kerja senyawa fenol dalam mengatasi bakteri adalah dengan merusak dinding sel, menghentikan enzim, dan merusak protein, yang mengakibatkan kerusakan pada dinding sel karena pengurangan permeabilitas. Hal ini mengganggu transportasi senyawa organik yang dibutuhkan dalam sel, sehingga menghambat pertumbuhannya serta dapat menyebabkan kematian pada sel [12]. Oleh karena itu, ekstrak kulit terong belanda dapat mengurangi jumlah bakteri pada susu.

Hasil pengujian BNT menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak kulit terong belanda terhadap jumlah bakteri dalam susu tidak menunjukkan pola yang konsisten antara peningkatan konsentrasi ekstrak dan perubahan jumlah bakteri. Ekstrak yang kental sangat dipengaruhi oleh kemampuan ekstrak dalam berdifusi [13].

Berdasarkan Gambar 1 perbedaan jumlah bakteri sebelum diberi perlakuan dan sesudah diberi perlakuan berbeda nyata. Hal ini dapat diketahui bahwa pada setiap perlakuan dengan menggunakan konsentrasi berbeda dimana pada konsentrasi 4% kisaran jumlah bakteri pada susu sedikit dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Waktu yang dibutuhkan pada konsentrasi 4% adalah 9,6 jam dikarenakan kisaran jumlah bakteri pada susu cukup sedikit hal ini disebabkan oleh kandungan flavonoid pada kulit terong belanda yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada susu sehingga terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit terong belanda terhadap kisaran jumlah bakteri pada susu.

Ekstrak kulit terong belanda (*Solanum betaceum*) mengandung senyawa bioaktif yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri, seperti tanin, alkaloid, saponin dan flavonoid. Oleh sebab itu, ekstrak kulit terong belanda berpotensi memiliki efek inhibisi terhadap pertumbuhan bakteri, termasuk dalam susu sapi.

Senyawa bioaktif dalam ekstrak kulit terong belanda, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin dapat berinteraksi dengan membran sel bakteri. Senyawa-senyawa ini dapat merusak atau mengubah permeabilitas membran bakteri, menyebabkan kebocoran ion dan molekul penting di dalam sel bakteri. Hal ini menyebabkan gangguan pada keseimbangan osmotik sel bakteri, yang akhirnya berujung pada kematian sel. Saponin, salah satu komponen aktif dalam ekstrak terong belanda, dapat membentuk kompleks dengan sterol pada membran sel bakteri. Ini menyebabkan membran menjadi lebih permeabel, memungkinkan kebocoran komponen sel yang vital seperti asam nukleat dan enzim-enzim yang penting bagi kelangsungan hidup bakteri.

Kesimpulan

Adanya pengaruh pemberian ekstrak kulit terong belanda terhadap kisaran jumlah bakteri dengan konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi yang dapat mengurangi jumlah bakteri pada susu sapi adalah 4% dengan rerata kepercayaan [339,3 – 816,7]. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka semakin besar pengaruh ekstrak terong belanda terhadap jumlah bakteri pada susu sapi menggunakan metode waktu *methylene blue reduktase* serta sifat fisika dan kimia pada susu sapi tidak menggumpal atau tidak rusak.

Daftar Pustaka

- [1] SNI. (2011). Susu Segar-Bagian 1: Sapi. SNI-3141.1-2011. *Badan Standardisasi Nasional*. Jakarta.
- [2] Saleh. (2004). Dasar Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak. *Digitized by USU Digital Library*. Universitas Sumatera Utara.
- [3] Widayanti NP, Puspawati NM, Suarsana IN, Asih IARA. (2015). Aktivitas Antioksidan Fraksi n -Butanol Ekstrak Kulit Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) Secara In Vitro Dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoidnya. *Indonesian e-journal of Applied Chemistry*. 4:30–8.
- [4] Maisarah, A. M. (2017). Nutritional Compositions and Antiproliferative Activities of Different Solvent Fractions from Ethanol Extract of *Cyphomandra betacea* (Tamarillo) Fruit. *Malays J Med Sci*, 24(5), pp. 19–32.
- [5] Santos, T. R. J. and Santana, L. C. L. de A. (2019). Antimicrobial potential of exotic fruits residues. *South African Journal Of Botany*. 124, pp. 338–344.
- [6] Sari, N. P. W. (2018). Pengaruh perbandingan terong belanda (*Solanum betaceum Cav.*) dengan rumput laut (*Eucheuma cottonii*) terhadap karakteristik leather. *Jurnal ITEPA*, 7(2), pp. 65–75.
- [7] Faisal. (2020). Efek Penambahan Fraksi Semi Polar (F8-F13) Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri L.* Terhadap Daya Hambat Amoxicillin atau Chloramphenicol pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli*. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. Vol 7, No 1. Universitas Islam Malang.
- [8] Hamdaoui, O and Chiha M. 2006. Removal of *Methylene Blue* from Aqueous Solution By Wheat Bran. *Acta Chimica Slovenia*, 54(2), 407-418.
- [9] Syauqi, A. (2022). Biostatistika Komputasi Parameter Statistika. Unisma Malang.
- [10] Cowan. M.M. (1999). Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4):564-582
- [11] Agustin, B. A., Puspawaty, N., Rukmana, R. M. (2018). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Pluchaea indica Less.*) dan Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*. 11(02):86
- [12] Damayanti, E. and T. B. Suparjana. (2007). Efek Penghambatan Beberapa Fraksi Ekstrak Buah Mengkudu Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Yogyakarta.
- [13] Madan, J., and Singh, R., (2010). Formulation and Evaluation of Aloevera Topical Gels, *Int.J.Ph.Sci.*, 2 (2), 551-555.