

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS KRIM EKSTRAK BIJI BUAH PEPAYA
(*Carica papaya L*) TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI
Staphylococcus aureus.**



PAULUS TEDE BETAN

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2018**

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS KRIM EKSTRAK BIJI BUAH PEPAYA
(*Carica papaya L*) TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI
Staphylococcus aureus.**

PAULUS TEDE BETAN

NIM : 1413206035

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2018

**UJI AKTIVITAS KRIM EKSTRAK BIJI BUAH PEPAYA
(*Carica papaya L*) TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI
Staphylococcus aureus.**

SKRIPSI

**Dibuat untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi pada
Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa
2018**

Oleh:

**PAULUS TEDE BETAN
NIM: 1413206035**

**Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 20 Juli 2018 oleh:**

Pembimbing Utama,

**Afidatul Muadifah, M.Si
NP. 18.91.01.16**

Pembimbing Serta,

**Sri Rahayu Dwi P., M.Kes, Apt
NP. 0715047201**

**Ketua
STIKes Karya Putra Bangsa**

**dr. Denok Sri Utami, M.H
NIDN. 07.050966.01**

**Ketua Program Studi
S1 Farmasi**

**Tri Anita Sari, S.Farm, Apt
NP. 15.86.01.03**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Paulus Tede Betan

NIM : 1413206035

Program Studi : S1 Farmasi

Menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang saya tulis dengan judul :

UJI AKTIVITAS KRIM EKSTRAK BIJI BUAH PEPAYA (*Carica papaya L*) TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri dan semua sumber yang saya gunakan dalam penulisan ini sudah saya cantumkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku di STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi menggunakan data fiktif atau merupakan hasil jiplakan dari karya orang, maka saya bersedia menerima sanksi yang berlaku di STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Dengan demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Tulungagung, 20 Juli 2018


Paulus Tede Betan
NIM : 1413206035

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul ” **Uji Aktivitas Krim Ekstrak Biji Buah Pepaya (*Carica papaya L*) Terhadap Aktivitas Bakteri *Staphylococcus aureus* ”. Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Karya Putra Bangsa Tulungagung.**

Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan terima kasih banyak kepada :

1. Ibu Denok Sri Utami, M.H selaku Ketua Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Ibu Tri Anita Sari., S.Farm.,Apt selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Bapak Arif Santoso., S.Farm.,Apt selaku Kemahasiswaan Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
4. Ibu Afidatul Muadifah, M.Si selaku pembimbing utama dan Ibu Sri Rahayu Dwi P., M.Kes, Apt selaku pembimbing serta yang telah membimbing penulis dari awal hingga akhir penulisan dengan sabar, mengarahkan , meluangkan tenaga dan waktu yang sangat berharga dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.
5. Ibu Helda Wika Amini.,S.Si., M.Si., M.Sc dan Ibu Amalia Eka Putri., S.Farm., Apt yang telah dengan sabar membimbing, mengarahkan penulis, meluangkan tenaga dan waktu yang sangat berharga dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.
6. Bapak Choirul Huda., M. Farm.,Apt selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberi arahan dan motivasi dari awal masuk kuliah hingga akhir saat ini.

7. Bapak/Ibu dosen Program Studi S1 Farmasi Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis serta seluruh staf dan karyawan, khususnya seluruh Laboran Laboratorium Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung .
8. Kedua orang tua tercinta, mama Magdalena Hoa Koten dan bapa Simon San Betan yang senantiasa memberikan kasih sayang dan dukungan baik moril maupun materil, serta doa tanpa henti yang selalu menyertai setiap langkah penulis
9. Kakakku Maria Goreti Nini Betan dan Marselina Beliti Betan yang sudah dengan sabar memberikan doa, dukungan. Tak lupa pula untuk adik-adik ku, Maria Aplonia Letek Betan dan Mariana Kewa Apeutun, serta seluruh keluarga besar yang tidak bisa disebutkan satu persatu atas dukungannya kepada penulis.
10. Teman-teman seperjuangan di laboratorium Lea Shella Cobra dan Nur Latifah yang telah memberikan motivasi selama penelitian dan dukungan dari awal hingga akhir penyelesaian penulisan skripsi ini.
11. Teman-teman penghuni kos khususnya Mokhammad Dany Pratama yang telah menemani, menghibur, mengingatkan penulis selama ini.
12. Teman-Teman seperjuangan Program Studi S1 Farmasi angkatan 2014, yang bersama-sama berjuang, terima kasih untuk kebersamaannya, pengalamn dan kenangan yang luar biasa selama 4 tahun di bangku kuliah ini dan memotivasi dalam mencapai cita-cita.
13. Kepada teman, adik, saudari Dyah Arum Anggraini yang telah membantu dalam meyelesaikan skripsi ini.
14. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan dan doa hingga terwujudnya skripsi ini.

Semoga Tuhan memberikan balasan yang berlipat ganda atas semua bantuan dan dukungan yang diberikan. Akhir kata, penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan banyak kekurangan,

oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Tak lupa penulis mohon maaf yang sebesar-besarnya apabila selama menempuh pendidikan maupun dalam pergaulan sehari-hari ada hal-hal yang kurang berkenan. Semoga Tuhan Yang Maha Besar memberkati dan melimpahkan rahmat serta karuniaNya kepada kita semua. Amin.

Tulungagung, 20 Juli 2018

Penulis

RINGKASAN

UJI AKTIVITAS KRIM EKSTRAK BIJI BUAH PEPAYA (*Carica papaya L*) TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI *Staphylococcus aureus*.

Tanaman pepaya yang memiliki nama spesies *Carica papaya L*, yang memiliki khasiat sebagai obat terutama biji pepaya yang berpotensi sebagai antibakteri alami. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol 70 % biji pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan besarnya zona hambat yang diberikan dan mengetahui aktivitas antibakteri dari krim ekstrak etanol biji pepaya dibandingkan dengan kontrol positif. Ekstrak etanol 70 % biji pepaya diperoleh melalui metode ekstraksi sokletasi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara uji diameter zona hambat dengan metode difusi agar menggunakan kontrol positif gentamisin, kontrol negatif DMSO 5% .

Hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan menunjukkan nilai diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25 %, 55%, dan 85 % berturut-turut adalah 14,6 mm, 24,6 mm, dan 21 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri pada krim ekstrak etanol 70 % biji pepaya konsentrasi 55 % yang dilakukan menunjukkan nilai diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 24 mm dengan aktivitas antibakteri kategori sangat kuat. Sedangkan kontrol positif gentamisin memberikan aktivitas antibakteri dengan zona hambat 24,3 mm yang sama dengan krim ekstrak biji pepaya 55 %. Evaluasi sediaan meliputi pemeriksaan organoleptis (bau, warna, bentuk), pengujian daya sebar, daya lekat, homogenitas, pH, daya proteksi dan antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim ekstrak biji pepaya memenuhi persyaratan homogenitas, daya sebar krim yang baik (5-7cm), pH krim yang baik (4,5-6,5). Namun, krim ekstrak biji pepaya tidak memenuhi persyaratan daya lekat krim yang baik (<4 detik).

ABSTRACT

TEST OF ACTIVITIES CREAM FROM PEPAYA SEEDS (Carica papaya L) EXTRACT AGAINST BACTERIAL ACTIVITY OF Staphylococcus aureus.

Papaya plant has scientific name as Carica papaya L, which has efficacy as a drug especially for papaya seeds. Papaya seeds have potential as a natural antibacterial. The aim of this research is to investigate the antibacterial effect both of papaya seed extract and cream formulated by papaya seed extract against Staphylococcus aureus. The extraction of papaya seed was performed by soxhlet method with 70% ethanol as solvent. The antibacterial activity test was conducted by diffusion method. We use positive gentamicin as positive control and DMSO 5% as control negative. The optimum concentration of papaya seed extract that has high inhibition zone diameter was applied to establish a cream. The result phytochemistry test showed that papaya seed extract contains flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid. The antibacterial activity test generated inhibition zone diameter of papaya seed extract with concentration of 25%, 55%, and 85% were 14.6 mm, 24.6 mm, and 21 mm, respectively. It indicates that papaya seed extracts have strong category of antibacterial activity. We used 55% papaya seed extract to produce cream. Cream exhibited inhibition zone diameter of 24 mm which has strong activity as well as gentamicin cream. The evaluation of cream such as organoleptic, homogeneity, spreading power, adhesive power, and protection test conforms with specific standard of cream.

Keywords : *Papaya seed extract (Carica papaya L), soxhlet method, cream, Staphylococcus aureus, antibacterial activity*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
RINGKASAN	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Obat Tradisional.....	6
2.2 Pepaya (<i>Carica papaya L</i>)	6
2.2.1 Klasifikasi Pepaya (<i>Carica papaya L</i>).....	6
2.2.2 Morfologi Pepaya (<i>Carica papaya L</i>).....	7
2.2.3 Komponen Kimiawi dari Pepaya (<i>Carica papaya L</i>).....	8
2.2.4 Khasiat Biji Pepaya.....	13
2.3 Simplisia	14
2.3.1 Syarat Simplisia	15
2.3.2 Persiapan Simplisia.....	15
2.4 Ekstraksi.....	17
2.4.1 Maserasi	18
2.4.2 Perkolasi.....	18
2.4.3 Refluks	19

2.4.4	Digesti	19
2.4.5	Infusa	19
2.4.6	Dekok.....	19
2.4.7	Sokletasi.....	19
2.5	Pelarut Ekstraksi	21
2.5.1	Air	22
2.5.2	Aseton	22
2.5.3	Etanol.....	22
2.5.4	Kloroform	23
2.5.5	Etil Asetat	23
2.5.6	Eter.....	23
2.5.7	n-Heksana	23
2.6	Sediaan Krim	24
2.7	Uji Efektifitas Sediaan	27
2.7.1	Organoleptis.....	27
2.7.2	Viskositas.....	27
2.7.3	Daya Lekat.....	27
2.7.4	Daya Sebar.....	28
2.7.5	pH.....	28
2.8	Bakteri.....	28
2.8.1	Penggolongan Bakteri.....	28
2.9	Staphylococcus aureus	30
2.9.1	Klasifikasi Staphylococcus aureus.....	30
2.9.2	Morfologi Staphylococcus aureus	31
2.10	Antibakteri	32
2.10.1	Mekanisme Kerja Antibakteri.....	32
2.11	Metode Uji Aktivitas Antibakteri	34
2.11.1	Metode Difusi	34
2.11.2	Metode Dilusi	36
2.12	Antibiotik Pembanding	36
BAB III METODE PENELITIAN		38

3.1	Bahan	38
3.2	Alat	38
3.3	Populasi Penelitian.....	38
3.4	Sampel Penelitian.....	39
3.5	Variabel Penelitian.....	39
3.5.1	Variabel Bebas	39
3.5.2	Variabel Terikat	39
3.5.3	Variabel Tergantung	39
3.6	Metode Penelitian	40
3.6.1	Pengumpulan Bahan	40
3.6.2	Determinasi Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya L</i>).....	40
3.6.3	Pembuatan Simplisia.....	40
3.6.5	Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya.....	41
3.6.4	Uji Bebas Etanol	41
3.6.5	Uji Fitokimia.....	41
3.6.6	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya.....	42
3.6.7	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	44
3.7	Pembuatan Formulasi Sampel.....	44
3.7.1	Pembuatan Krim	45
3.7.2	Evaluasi Krim	45
3.7.2.1	Uji Daya Lekat.....	45
3.7.2.2	Uji Daya Sebar	45
3.7.2.3	Uji pH	46
3.8	Uji Aktivitas Antibakteri Krim	46
3.9	Jalannya Penelitian.....	47
3.10	Analisis Data.....	48
3.11	Jalan Penelitian	49
BAB IV HASIL PENELITIAN.....		53
4.1	Data Mentah.....	53
4.1.1	Determinasi Tanaman	53

4.1.2	Uji Kadar Air Serbuk Simplisia.....	53
4.1.3	Uji Susut Pengerinan	53
4.1.4	Uji Bebas Etanol Ekstrak.....	53
4.1.5	Skrining Fitokimia	54
4.1.6	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	54
4.1.7	<i>Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap Bakteri Staphylococcus aureus</i>	54
4.1.8	<i>Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Biji Pepaya terhadap Bakteri Staphylococcus aureus</i>	55
4.1.9	Evaluasi Krim	55
4.2	Data Olahan	56
4.2.1	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya.....	56
4.2.2	Evaluasi Krim	57
4.2.3	Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Biji Pepaya	58
BAB V PEMBAHASAN		60
5.1	Determinasi Tanaman	60
5.2	Uji Kadar Air Serbuk Simplisia.....	60
5.3	Uji Susut Pengerinan.....	61
5.4	Uji Bebas Etanol Ekstrak	61
5.5	Skrining Fitokimia	61
5.6	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	65
5.7	<i>Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Carica papaya L Terhadap Staphylococcus aureus</i>	66
5.8	Hasil Uji Analisa Data Ekstrak Biji Pepaya	68
5.9	Evaluasi Sediaan Krim.....	69
5.9.1	Uji Organoleptis.....	69
5.9.2	Uji pH	69
5.9.3	Uji Homogenitas	70
5.9.4	Uji Daya Sebar.....	71
5.9.5	Uji Daya Lekat.....	71
5.9.6	Uji Daya Proteksi.....	72

5.10	Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak <i>Carica papaya L</i> terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	73
BAB VI PENUTUP		75
6.1	Kesimpulan	75
6.2	Saran	75
DAFTAR PUSTAKA		77
LAMPIRAN.....		77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Tanaman pepaya.....	6
Gambar 2 Alat Soklet.....	21
Gambar 3 <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Rancangan Penelitian	49
Pengujian ekstrak dan pengukuran zona hambat	51
Pengujian krim ekstrak dan pengukuran zona hambat.....	51
Pengujian Zona Hambat Krim Ekstrak Biji Pepaya 55 % terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Gambar 4.1 Diameter Zona Hambat Ekstrak Biji Pepaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Gambar 4.2 Stabilitas Krim Ekstrak Biji Pepaya 55 %	58
Gambar 4.3 Diameter Zona Hambat Krim Ekstrak Biji Pepaya 55 % terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Gambar 5.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Biji Pepaya	61
Gambar 5.2 Reaksi Alakloid Dengan Pereaksi Dragendroff	62
Gambar 5.3 Reaksi Alkaloid Dengan Pereaksi Wagner	63
Gambar 5.4 Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium (flavonoid) ...	63
Gambar 5.5 Reaksi Uji Tanin Dengan FeCl_3 1 %	64
Gambar 5.6 Reaksi terpenoid dengan Lieberman-Burchard.....	65
Gambar 5.7 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Gambar 5.8 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	66
Gambar 5.9 Hasil Uji Antibakteri Krim Biji Pepaya Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	69
Gambar 5.10 Hasil Uji Organoleptis Sediaan Krim Ekstrak Biji Pepaya.....	70
Gambar 5.11 Hasil Uji Homogenitas Krim Ekstrak Biji Pepaya.....	71
Gambar 5.12 Uji Daya Sebar Sediaan Krim Ekstrak Biji Pepaya	71
Gambar 5.13 Uji Daya Lekat Krim Ekstrak Biji Pepaya	72
Gambar 5.14 Hasil Uji Daya Proteksi Sediaan Krim Ekstrak Biji Pepaya.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Jenis Pelarut Ekstraksi	24
Tabel 2 Kategori Zona Hambat Antibakteri.....	35
Tabel 2.1 Formula Standar Krim	44
Tabel 2.2 Formula Standar Ekstrak Krim	44
Tabel 4.1 Hasil Uji Kadar Air	53
Tabel 4.2 Hasil Uji Susut Pengeringan Biji Pepaya.....	53
Tabel 4.3 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Biji Pepaya	53
Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Pepaya	54
Tabel 4.5 Hasil Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Uji Antibakteri Biji Pepaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Biji Pepaya terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Tabel 4.8 Hasil Evaluasi Krim	55
Tabel 4.9 Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Biji Pepaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Tabel 4.10 Analisis hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya.....	57
Tabel 4.11 Hasil evaluasi krim.....	57
Tabel 4.12 Diameter Zona Hambat Krim Ekstrak Biji Pepaya 55 % terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Jalan Penelitian.....	81
Lampiran 2. Determinasi Tanaman.....	83
Lampiran 3. Bukti Pembelian Bakteri.....	84
Lampiran 4. Hasil penelitian Pengujian Ekstrak dan Zona Hambat.....	85
Lampiran 5. Perhitungan	89
Lampiran 6. Hasil Analisis Data	90

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sangat kaya akan keanekaragaman hayati (*megabiodiversity*) khususnya tumbuhan. Diperkirakan ada 40.000 spesies tumbuhan yang tumbuh subur di bumi, dan sekitar 30.000 spesies tumbuhan yang tumbuh di berbagai kepulauan Indonesia, dari sekian banyak spesies tumbuhan yang ada, tetapi baru 9.600 spesies tumbuhan yang diketahui berkhasiat obat dan dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional dan industri obat tradisional (Kemenkes RI, 2007). Obat tradisional merupakan obat yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral atau campuran dari bahan yang belum melalui uji klinis dan dipergunakan untuk pengobatan yang berdasarkan pengalaman yang kemudian diwariskan secara turun-temurun. Obat tradisional sudah dikenal secara luas di berbagai negara. Menurut WHO, di Afrika, Asia dan Amerika Latin, obat herbal digunakan sebagai pelengkap pengobatan primer, bahkan di Afrika, 80% dari populasi masyarakatnya menggunakan obat tradisional sebagai pengobatan primer (WHO, 2003). Berdasarkan laporan RISKESDAS (2010), penduduk Indonesia mengkonsumsi obat tradisional (jamu) dan menyatakan bahwa konsumsi jamu bermanfaat bagi tubuh sebanyak 95,60%. Presentase penduduk yang merasakan manfaat dari mengkonsumsi jamu berkisar 83,23% hingga 96,66%. Bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional salah satu contohnya adalah tanaman pepaya (*Carica papaya L.*).

Pepaya merupakan salah satu tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Tanaman ini banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia terutama bagian buah dan daunnya. Pepaya mempunyai manfaat yang besar yaitu memperlancar pencernaan, sebagai sumber antioksidan, bahkan mampu berfungsi sebagai antijamur dan antibakteri. Manfaat tanaman pepaya ini dapat ditemukan juga pada semua tubuhnya, termasuk bijinya (Mardiono, 2013).

Biji pepaya mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah *tocophenol*, terpenoid, flavonoid, alkaloid seperti karpain dan berbagai enzim seperti enzim papain, enzim khimoprotein dan lisozim. Enzim papain berfungsi untuk memecah protein karena memiliki sifat proteolitik, enzim khimoprotein berfungsi sebagai katalisator dalam reaksi hidrolisis antara protein dan polipeptida. Kandungan terpenoid, karpain, dan flavonoid dalam biji pepaya telah diteliti menjadi aktivitas antibakteri yang dapat membunuh bakteri dan merusak integritas membran sel bakteri itu (Paramesti, 2014). Biji pepaya secara tradisional dapat dimanfaatkan sebagai bahan anti bakteri untuk mengobati penyakit infeksi diare (Mardiono, 2013). Manfaat lain seperti obat cacing gelang, gangguan pencernaan, diare, penyakit kulit, kontrasepsi pria, bahan baku obat masuk angin dan sebagai sumber untuk mendapatkan minyak dengan kandungan asam-asam lemak tertentu (Warisno, 2003).

Proses untuk menarik senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada biji pepaya maka dilakukan ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa kimia dari tanaman berkhasiat yang berkhasiat obat. Metode ekstraksi sampel yang digunakan ekstraksi sokletasi. Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang. Penelitian terdahulu dalam ekstraksi biji pepaya sebagai antibakteri menggunakan metode maserasi (Pramesti, 2014). Pemilihan metode ekstraksi sokletasi karena selain waktu yang diperlukan relatif singkat dan juga jumlah pelarut yang digunakan pun lebih sedikit daripada metode ekstraksi maserasi. Sesuai dengan teori prinsip sokletasi yaitu penyaringan yang berulang-ulang sehingga hasil yang didapat sempurna dan menghasilkan rendemen yang lebih besar jika dibandingkan dengan metode cara dingin. Hal ini disebabkan karena dengan adanya perlakuan panas yang dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut didalam kondisi suhu kamar, serta terjadinya penarikan senyawa yang lebih maksimal oleh pelarut yang selalu bersirkulasi dalam proses kontak dengan simplisia sehingga memberikan peningkatan rendemen (Rahman *et al.*, 2017).

Hasil ekstrak biji pepaya yang diekstraksi selanjutnya akan diuji pada bakteri untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri, maka akan diuji pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) adalah bakteri patogen pada manusia, hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dengan derajat keparahan yang beragam. Kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus* dapat menyebabkan keracunan pada manusia. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Ahmad *et al.*, 2017).

Pengujian aktivitas ekstrak biji pepaya sebagai antibakteri dan mengetahui efektivitas ekstrak sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus*, maka dilakukan uji dengan metode difusi cakram atau *Kirby-Bauer test* merupakan metode yang sering digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme kemudian diinkubasi. Area jernih atau disebut juga zona hambat mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba permukaan media agar (Jawetz *et al.*, 2013). Penelitian Peter *et al.*, (2014) pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya diencerkan dalam beberapa konsentrasi yaitu 25% dengan daya hambatnya 3,2 cm, 50% daya hambatnya 4,1 cm dan 75% daya hambatnya 6,3 cm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sedangkan pada bakteri *E. coli* dengan zona hambat masing-masing 2,5 cm, 3,9 cm dan 5,5 cm.

Untuk memudahkan pengaplikasian pada manusia maka ekstrak dengan konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan baik dibuatkan dalam bentuk sediaan. Sediaan yang dibuat pada penelitian ini adalah sediaan krim. Krim adalah sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut dalam bahan dasar yang sesuai. Pembuatan krim dipilih karena kemampuan penyebarannya yang baik terhadap kulit, Krim memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan air pada kulit, mudah dicuci dengan air,

serta pelepasan obat yang baik (Juwita *et al.*, 2013). Proses pembuatan krim memerlukan bahan aktif dan bahan tambahan, bahan aktif yang digunakan berupa ekstrak etanol rimpang kunyit dan bahan tambahan menggunakan TEA, gliserin, asam stearate, metil paraben, setil alcohol dan aquades. Dalam pembuatannya menggunakan tipe krim minyak dalam air (M/A) tipe ini memiliki kadar air yang tinggi sehingga dapat memberikan efek hidrasi pada kulit. Efek hidrasi ini yang dapat meningkatkan permeabilitas kulit sehingga akan meningkatkan penetrasi obat guna mengurangi resiko timbulnya peradangan (Dermawan *et al.*, 2015)

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti akan melakukan penelitian uji aktivitas krim ekstrak biji buah pepaya sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah

1. Apakah ekstrak biji pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ?
2. Berapakah seri konsentrasi ekstrak (25%, 55% dan 85%) yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
3. Apakah krim dari ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi optimum mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak biji pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui besarnya zona hambat ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L*) dalam berbagai konsentrasi (25%, 55% dan 85%) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Mengetahui efek antibakteri dari krim ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi optimum terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

1. *Ekstrak etanol biji buah pepaya (Carica papaya L) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri Staphylococcus aureus.*
2. *Seri konsentrasi 85% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dibandingkan dengan seri konsentrasi yang lainnya (25%, 55%).*
3. *Krim dari ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi optimum memiliki efek antibakteri terhadap Staphylococcus aureus.*

1.5 Manfaat Penelitian

1. Mengetahui adanya efek antibakteri ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. *Meningkatkan pemanfaatan biji pepaya (Carica papaya L) sebagai obat untuk meningkatkan kesehatan masyarakat.*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (BPOM RI, 2017). Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah pepaya atau dalam bahasa ilmiah *Carica papaya L.*

2.2 Pepaya (*Carica papaya L*)



Gambar 1 Tanaman Pepaya (Pratiwi, 2008)

2.2.1 Klasifikasi Pepaya (*Carica papaya L*)

Menurut *United States Departement Of Agriculture*, klasifikasi tanaman pepaya, yaitu :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotylidoneae
Ordo : Caricalis
Famili : Caricaceae

Spesies : *Carica papaya L*

2.2.2 Morfologi Pepaya (*Carica papaya L*)

Tanaman Pepaya (*Carica papaya L*) ini merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Tengah yang termasuk tanaman perdu dengan batang tunggal, tidak berkayu berbentuk silindris dan memiliki rongga. Tanaman ini tidak memiliki cabang, daunnya termasuk tunggal, dengan ujung yang meruncing dan tepi yang bergerigi. Tulang daunnya berbentuk menjari dengan panjang tangkai 25-100 cm. Tanaman pepaya tersebar hampir di seluruh kepulauan di Indonesia dan tumbuh pada ketinggian 1000 mdpl. Tumbuh paling baik pada ketinggian 100 mdpl. Tumbuh di dataran yang tidak keras dan bersuhu tidak terlalu dingin, hidup tidak lebih dari delapan tahun, di tempat terbuka mendapat penyinaran matahari dengan suhu antara 15-35°C (BPOM, 2012).

Pepaya merupakan tumbuhan berhabitus terna dengan tinggi 8-10 m. Akar tanaman tidak berkayu, oleh karena itu tanaman ini membutuhkan tanah yang gembur dengan air yang cukup pada musim kemarau dan sedikit air pada musim hujan. Sistem perakaran tanaman ini adalah akar tunggang dengan akar-akar cabang yang tumbuh mendatar ke semua arah pada kedalaman satu meter atau lebih dan menyebar sekitar 60-150 cm atau lebih dari pusat batang tanaman (Rukmana, 1995). Batang tumbuh lurus keatas dan tidak bercabang. Berbatang basah dengan bentuk silindris. Diameter 10-30 cm dengan tinggi 2,5-10 m, tidak berkayu, berongga di tengah, lunak, mengandung banyak air, dan terdapat getah didalamnya, kulit batang memiliki tanda bekas tangkai daun (Wijayakusuma, 1996).

Daun letaknya berdekatan dengan pucuknya, dengan helai yang lebar. Diameter daun 25-75 cm yang terdiri dari 5-11 lobus tipis dengan bentuk menjari (Palmatus). Tangkai daun panjang menyerupai pipa, halus, kokoh, berongga, berwarna hijau kekuningan, panjangnya 25-100 cm dan tebalnya 0,15 – 1,5 cm. Daunnya merupakan daun tunggal, berukuran besar dan bercangap. Helai daunnya menyerupai telapak tangan manusia. Apabila daun pepaya tersebut dilipat menjadi dua bagian, akan tampak bahwa daun pepaya tersebut simetris. Tangkai daun panjang dan berongga (Muktiani, 2011).

Bunga pepaya adalah bentuk bunga majemuk yang tersusun pada sebuah tangkai atau poros bunga (*Pendunculus*). Bunga pepaya terdiri dari tiga jenis, yaitu bunga jantan, bunga betina, bunga sempurna. Masing-masing bunga ini hanya tumbuh pada satu pohon. Oleh karena itu, tanaman pepaya memiliki tiga bentuk pohon, yaitu pohon jantan, pohon betina, pohon sempurna (Muhlisah, 2007). Bunga berbau harum, berwarna putih kekuningan, dan berlapis lilin. Bunga betina terletak dekat dengan batang sebagai bunga tunggal atau dalam kelompok. Bunga jantan berkumpul dalam tandan, memiliki mahkota dalam bentuk terompet dan warna putih kekuningan (Wijayakusuma, 1996).

Buah pepaya memiliki ukuran dalam bentuk bervariasi. Berkulit tipis dan tidak mudah lepas dari daging buah. Buah yang masih muda berwarna hijau dan apabila masak berwarna kuning. Biji pepaya terletak dalam rongga buah yang terdiri dari lima lapisan. Lapisan luar yang melindungi biji disebut sarkotesta dan bagian dalam biji disebut endosperm. Banyaknya biji tergantung dari ukuran buah. Bentuk biji agak bulat atau bulat panjang dan kecil serta bagian luarnya dibungkus oleh selaput yang berisi cairan. Biji pepaya memiliki panjang 5-9 mm, garis tengah \pm 5 mm. Biji berwarna putih jika masih muda dan berwarna coklat kehitaman setelah tua. Permukaan biji agak keriput, terdapat tonjolan dengan rusuk membujur dan melintang tidak beraturan seperti mata jala dan dibungkus oleh kulit ari yang sifatnya seperti agar serta transparan (Ditjen POM. 1995).

2.2.3 Komponen Kimiawi dari Pepaya (*Carica papaya L*)

Kandungan kimia yang terdapat dalam biji pepaya adalah glucoside cacirin dan carpaine. Getah mengandung papain, chymopapain, lisosim, lipase, glutamin, dan siklotransferase. Glucoside cacirin berkhasiat sebagai obat cacing, meluruhkan haid (emenagog), dan karminatif. Papain membantu mencerna protein di lambung dan digunakan untuk membantu pencernaan yang kurang baik dan radang lambung (Dalimartha, 2009). Biji juga mengandung senyawa benzil isotiosianat (suatu aglikon glikosida glukotropeolin), glikosida sinigrin, enzim mirosin, dan karpasemina. Benzil isotiosianat bersifat bakterisid dan antelmintik (Umri, 2010). Biji pepaya dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri karena biji

pepaya diketahui mengandung senyawa kimia seperti golongan fenol, alkaloid, dan saponin (Warisno, 2003). Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kental metanol biji pepaya diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Secara kualitatif, berdasarkan terbentuknya endapan atau intensitas warna yang dihasilkan dengan pereaksi uji fitokimia, diketahui bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid merupakan komponen utama biji pepaya (Sukadana, 2007). Kandungan senyawa metabolit sekunder dari biji buah pepaya (*C. papaya L.*) dan komponen penyusun *E.coli* dan *Salmonella typhi* (*S.typhi*) berhubungan erat dengan mekanisme antibakteri senyawa metabolit sekunder tersebut. *E.coli* dan *S.typhi* dengan kandungan peptidoglikan lebih sedikit dan dinding sel lebih tipis menjadi lebih mudah untuk dirusak (Pelczar, 2010). Hasil analisa fitokimia yang dilakukan di Afrika menunjukkan biji pepaya mengandung flavonoid, tanin, saponin, anthraquinon dan atherosianosid (Arsyiyanti, 2012).

2.2.3.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan biasanya berupa sistem siklis. Alkaloid mengandung atom karbon, hidrogen, nitrogen dan pada umumnya mengandung oksigen dalam ilmu kimia analisis dinamakan senyawa dengan gugus C, H O dan N. Senyawa alkaloid banyak terkandung dalam akar, biji, kayu maupun daun dari tumbuhan dan juga dari hewan. Senyawa alkaloid merupakan hasil metabolisme dari tumbuh-tumbuhan dan digunakan sebagai cadangan bagi sintesis protein. Kegunaan alkaloid bagi tumbuhan adalah sebagai pelindung dari serangan hama, penguat tumbuhan dan pengatur kerja hormon. Alkaloid mempunyai efek fisiologis. Hampir semua alkaloida yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin dan stiknin adalah alkaloida yang terkenal dan mempunyai efek fisiologis dan psikologis. Alkaloida dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan

dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Darsana, 2012). Menurut Gunawan 2009, menyatakan bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino. sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri. Selain itu, alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat enzim topoisomerase yang mempunyai peran sangat penting dalam proses replikasi, transkripsi, dan rekombinasi DNA dengan cara memotong dan menyambungkan untai tunggal atau untai ganda DNA (Campbell, 2010). Titik didih alkaloid 100-300 °C.

2.2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang paling banyak ditemukan di alam. Senyawa - senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam berbagai tumbuhan (Antia, Okokon, & Okon, 2005). Senyawa ini merupakan pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol dengan titik didih 134-178 °C (Sjahid, 2008). Flavonoid termasuk senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil gula yang akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air, serta dapat dimanfaatkan sebagai anti jamur dan antibakteri (Rahmawan, 2008). 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 (Juliantina, 2008).

Mekanisme kerja fenol sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab

keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel sehingga sel menjadi lisis (Pelczar, 2010).

2.2.3.3 Tanin

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Tanin adalah senyawa aktif metabolit sekunder yang memiliki beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, antioksidan dan antibakteri (Malangngia, Sangi, & Paendonga, 2012). Senyawa tanin ini banyak dijumpai pada tumbuhan berbentuk serpihan mengkilat berwarna kekuningan sampai coklat muda atau serbuk amorf, tidak berbau, atau sedikit berbau khas (Depkes RI, 1995). Kemampuan antibakteri tanin kemungkinan berkaitan dengan kemampuan untuk menginaktivasi adhesin mikroba, enzim dan transport protein pembungkus sel. Tanin juga membentuk kompleks dengan polisakarida (Cowan, 1999). Toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Mekanisme kerja tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mati (Ajizah, 2004). Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Masduki, 1996). Titik didih tanin 89-98 °C.

2.2.3.4 Terpenoid

Terpenoid merupakan komponen yang biasa ditemukan dalam minyak atsiri. Sebagian besar terpenoid mengandung atom karbon dengan kelipatan lima. Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang merupakan komponen utama biji pepaya (*Carica papaya L*) (Sukadana, 2007). Mekanisme triterpenoid 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 (Rachmawati, 2009). Titik didih terpenoid 140-180 °C

2.2.3.5 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim di dalam sel. Saponin dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Cavalieri, 2005). Berdasarkan struktur kimianya, saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas utama yaitu kelas stereroid, kelas steroid alkaloid, dan kelas triterpenoid. Sifat yang khas dari saponin antara lain berasa pahit, berbusa dalam air. Termotabil atau stabil dalam suhu panas.

Berdasarkan penelitian Sukadana *et al.*, (2008), di dalam biji pepaya mengandung triterpenoid aldehida yang mempunyai potensi antibakteri. Menurut Cowan (1999) senyawa terpenoid dapat bereaksi dengan porin yang merupakan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri membuat ikatan polimer kuat sehingga porin akan mengalami kerusakan. Kerusakan porin yang terjadi akan mengganggu proses keluar masuknya substansi sehingga permeabilitas dinding sel bakteri akan menurun. Menurunnya permeabilitas dinding sel bakteri akan menyebabkan sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Minyak biji pepaya berwarna kuning, minyak ini diketahui memiliki asam-asam lemak seperti asam oleat, asam palmitat, asam linoleat, asam stearat dalam jumlah yang relatif sedikit (Sukadana *et al.*, 2008).

Secara ilmiah, Arief (2013) membuktikan biji pepaya mengandung glukosida kaspirin dan karpain. Sing dan Ali (2011) menggunakan biji pepaya yang berasal dari delhi, telah dibuktikan bahwa ekstrak etanol biji pepaya

berkhasiat mengobati penyakit liver, diabetes melitus, hipertensi, hiperkolesterolemia, gangguan ginjal, dan diare. Biji pepaya mengandung minyak kompleks yang terdiri dari palmitat, stearat, asam lemak tak jenuh, fosfolipid, carpaine, benzilisotiosianat, benzilglukosinolat, β -sitosterol, caricin, myosin. Penelitian yang telah dilakukan dilakukan Peter, *at al* (2014) menggunakan ekstrak air dan metanol biji buah pepaya (*Carica papaya L*) varietas pusa dwarf Linn yang diambil dari india terhadap *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherrichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasilnya membuktikan efektifitas antibakteri ekstrak air dan metanol biji pepaya efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

2.2.4 Khasiat Biji Pepaya

Pepaya merupakan jenis tanaman yang banyak dijumpai dan bernilai ekonomis, dan memiliki banyak manfaat, Pepaya (*Carica papaya L*) memiliki berbagai kandungan yang aktif secara biologis pada setiap bagian tubuhnya. Hampir semua bagian tanaman pepaya memiliki manfaat yaitu sebagai bahan makanan dan minuman, bahan kosmetik, industri serta bahan obat tradisional. Akar pepaya digunakan untuk mengatasidacing kremi, mengobati penyakit ginjal dan kandung kemih. Daun pepaya dimanfaatkan untuk dikonsumsi sebagai makanan yang dapat meningkatkan nafsu makan, obat malaria, kejang perut dan mengobati asma pada masyarakat Minahasa. Bunga pepaya digunakan sebagai peluruh haid. Getah pepaya dimanfaatkan untuk mengobati luka iris dengan cara meneteskan geta pada luka (Rukmana, 1995).

Pepaya (*Carica papaya L*) digolongkan kedalam family Caricaceae yang beberapa spesies diantaranya banyak digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit. Tanaman pepaya juga memiliki khasiat farmakologis yang cukup banyak. Semua bagian dari tanaman pepaya memiliki khasiat masing-masing.

Pepaya, selain mengandung vitamin yaitu vitamin C dan vitamin E merupakan antioksidan, vitamin A dan vitamin B, juga mengandung berbagai mineral seperti magnesium dan kalium. Pepaya juga berfungsi dalam melancarkan sistem pencernaan karena mengandung serat yang tinggi. Biji pepaya yang sudah hitam memiliki rasa yang tajam dan agak pedas, biasanya dapat digunakan sebagai

pengganti lada hitam. Dibandingkan dengan daging buah nya biji pepaya memiliki manfaat yang lebih besar dalam bidang medis, biji pepaya mempunyai kemampuan antibakteri yang ampuh melawan beberapa spesies bakteri antara lain *Salmonella sp*, *Escherrichia coli* dan *Staphylococcus sp*. Selain memiliki khasiat sebagai antibakteri biji pepaya juga memiliki manfaat sebagai anti parasit, terutama parasit usus. Bukan hanya itu biji pepaya juga dipercaya memiliki khasiat untuk melindungi ginjal dari toksin penyebab gagal ginjal dan dapat juga membunuh trofozoit *Trichomonas vagianlis*.

Berdasarkan penelitian Sukadana *et al.*, (2008) dalam Maria Martiasih (2012), di dalam biji pepaya mengandung triterpenoid aldehida yang mempunyai potensi antibakteri. Selain senyawa triterpenoid ada juga senyawa lain yang terkandung dalam biji buah pepaya yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu alkaloid karpain. Senyawa ini merupakan senyawa alkaloid yang memiliki cincin laktonat dengan 7 kelompok rantai metilen yang ampuh untuk menghambat kinerja beberapa mikroorganisme. Karpain dapat mencerna protein dari mikroorganisme dan mengubahnya menjadi pepton. Selain triterpenoid dan karpain ada juga senyawa lain yaitu flavonoid, senyawa ini memiliki daya aktivitas antibakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Sukadana, 2008 diacukan dalam Martiasih, 2012).

2.3 Simplisia

Simplisia adalah bentuk jamak dari *simpleks* yang berasal dari kata *simple*, yang berarti satu atau sederhana. Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Simplisia adalah bahan alamiah yang dipakai sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga atau kecuali dinyatakan yang baru mengalami proses setengah jadi seperti pengeringan (Prasetyo, 2013). Simplisia tumbuhan merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk. Berdasarkan jenisnya simplisia dibedakan menjadi tiga jenis yaitu :

Simplisia nabati merupakan Simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya.

Simplisia hewani merupakan Simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

2.3.1 Syarat Simplisia

Simplisia harus memenuhi persyaratan umum edisi terakhir dari buku-buku resmi yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan RI seperti Farmakope Indonesia, Ekstra Farmakope Indonesia dan Materia Medika Indonesia. Menurut Materia Medika Indonesia, syarat simplisia yang baik adalah Kadar air : Tidak lebih dari 10%, angka lempeng total : Tidak lebih dari 10, angka kapang dan khamir : tidak lebih dari 10, mikroba patogen : negatif, aflatoksin: tidak lebih dari 30 bagian per juta, kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia, biologis) : tidak selalu mungkin memperoleh simplisia sepenuhnya murni, bahan asing yang tidak berbahaya dalam jumlah sangat kecil pada umumnya tidak merugikan harus bebas dari serangga, fragmen hewan/kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun/berbahaya.

2.3.2 Persiapan Simplisia

Pembuatan simplisia merupakan proses memperoleh simplisia dari alam yang baik dan memenuhi syarat-syarat mutu yang dikehendaki. Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan (Gunawan, 2004).

Teknik pengumpulan dapat dilakukan dengan tangan atau menggunakan alat (mesin). Apabila pengambilan dilakukan secara langsung (pemetikan) maka harus memperhatikan keterampilan si pemetik, agar diperoleh tanaman/bagian

tanaman yang dikehendaki, misalnya dikehendaki daun yang muda, maka daun yang tua jangan dipetik dan jangan merusak bagian tanaman lainnya. misalnya jangan menggunakan alat yang terbuat dari logam untuk simplisia yang mengandung senyawa fenol dan glikosa. Kadar kandungan zat aktif suatu simplisia ditentukan oleh waktu panen, umur tanaman, bagian tanaman yang diambil dan lingkungan tempat tumbuhnya. Pada umumnya waktu pengumpulan sebagai berikut : Daun dikumpulkan sewaktu tanaman berbunga dan sebelum buah menjadi masak, contohnya, daun *Athropa belladonna* mencapai kadar alkaloid tertinggi pada pucuk tanaman saat mulai berbunga. Tanaman yang berfotosintesis diambil daunnya saat reaksi fotosintesis sempurna yaitu pukul 09.00-12.00. Bunga dikumpulkan sebelum atau segera setelah mekar. Buah dipetik dalam keadaan tua, kecuali buah mengkudu dipetik sebelum buah masak. Biji dikumpulkan dari buah yang masak sempurna. Akar, rimpang (rhizome), umbi (tuber) dan umbi lapis (bulbus), dikumpulkan sewaktu proses pertumbuhannya berhenti.

Cara pengambilan bagian tanaman dari pohonnya biasanya menggunakan teknik-teknik tertentu diantaranya: Klika batang/klika/korteks diambil dari batang utama dan cabang, dikelupas dengan ukuran panjang dan lebar tertentu, sebaliknya dengan cara berselang-seling dan sebelum jaringan kambiumnya, untuk klika yang mengandung minyak atsiri atau senyawa fenol gunakan alat pengelupas yang bukan terbuat dari logam. Batang diambil dari cabang utama sampai leher akar, dipotong-potong dengan panjang dan diameter tertentu. Kayu (lignum) diambil dari batang atau cabang, kelupas kuliltnya dan potong-potong kecil. Daun (folium) Daun tua atau muda (daun kelima dari pucuk) dipetik satu persatu secara manual. Bunga (flos) Tergantung yang dimaksud, dapat berupa kuncup atau bunga mekar atau mahkota bunga atau daun bunga, dapat dipetik langsung dengan tangan. Akar (radix) Bagian yang digunakan adalah bagian yang berada di bawah permukaan tanah, dipotong-potong dengan ukuran tertentu. Rimpang (rhizoma) Tanaman dicabut, rimpang diambil dan dibersihkan dari akar, dipotong melintang dengan ketebalan tertentu. Buah (fructus) Dapat berupa buah yang masak, matang atau buah muda, dipetik dengan tangan. Biji (semen) buah

yang dikupas kulit buahnya menggunakan tangan atau alat, biji dikumpulkan dan dicuci. Bulbus Tanaman dicabut, bulbus dipisahkan dari daun dan akar dengan memotongnya.

Pencucian dan Sortasi Basah dimaksudkan untuk membersihkan simplisia dari benda-benda asing dari luar (tanah, batu), dan memisahkan bagian tanaman yang tidak dikehendaki. Pencucian dilakukan bagi simplisia utamanya bagian tanaman yang berada di bawah tanah (akar, rimpang), untuk membersihkan simplisia dari sisa-sisa tanah yang melekat.

Pengeringan, tanaman atau bagian tanaman dilakukan pengeringan dengan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang awet, tidak rusak dan dapat digunakan dalam jangka relatif lama. Mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau bakteri karena terhentinya proses enzimatik dalam jaringan tumbuhan yang selnya telah mati. Agar reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung, kadar air yang dianjurkan adalah kurang dari 10 %. Mudah dalam penyimpanan dan mudah dihaluskan bila ingin dibuat serbuk. Pengeringan dilakukan dengan dua cara yaitu Pengeringan alamiah Tergantung dari kandungan zat aktif simplisia, pengeringan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu : Sinar matahari langsung, terutama pada bagian tanaman yang keras (kayu, kulit biji, biji dan sebagainya) dan mengandung zat aktif yang relatif stabil oleh panas) serta Diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari secara langsung, umumnya untuk simplisia bertekstur lunak (bunga, daun dan lain-lain) dan zat aktif yang dikandungnya tidak stabil oleh panas (minyak atsiri).

Pengeringan buatan cara pengeringan ini dengan, menggunakan alat yang dapat diatur suhu, kelembaban, tekanan atau sirkulasi udaranya.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara pemisahan bagian aktif sebagai obat dari jaringan tumbuhan ataupun hewan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur yang telah ditetapkan. Prinsip proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi sampai ke material padat dari tumbuhan akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sesuai dengan pelarut yang digunakan (Tiwari, *et al.*, 2011).

Ekstraksi suatu tanaman adalah suatu proses pemisahan secara kimia atau fisika suatu bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan atau tanaman obat (Depkes RI, 2000).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, di mana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Wardiyah, 2015). Efektifitas ekstraksi senyawa kimia dari tumbuhan bergantung pada bahan-bahan tumbuhan yang diperoleh, Keaslian dari tumbuhan yang digunakan, Proses ekstraksi, Ukuran partikel, macam macam perbedaan metode ekstraksi yang akan mempengaruhi kuantitas dan kandungan metabolit sekunder dari ekstrak, antara lain tipe ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu, ekstraksi, konsentrasi pelarut, polaritas pelarut (Wardiyah, 2015).

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan kamar tanpa melalui proses pemanasan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai (Depkes RI, 2000). Prinsip kerja Maserasi adalah melarutkan bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi berarti keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir (Voigt, 1994). Keuntungan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan sederhana, sedangkan kerugiannya yaitu waktu yang dibutuh lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian senyawanya kurang sempurna. Metode ekstraksi ini cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Tiwari, *et al.*, 2011).

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi adalah suatu ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna dan metode ini umumnya dilakukan pada temperature kamar. Metode ini terdiri dari beberapa tahap yaitu: tahap pengembangan bahan, tahap perendaman, tahap perkolasi antara, tahap perkolasi sebenarnya

(penampungan ekstrak) secara berkelanjutan sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Titik akhir dari perkolasi dapat dilakukan dengan pemeriksaan zat secara kualitatif pada perkolat akhir. Metode ini digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan tincture dan ekstrak cairan (Tiwari, *et al.*, 2011).

2.4.3 Refluks

Refluks adalah suatu ekstraksi dengan menggunakan pelarut dengan temperatur yang tinggi selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Ditjen POM, 2000).

2.4.4 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik dengan temperatur yang tinggi, temperatur yang biasa dilakukan dengan metode ini 40-50°C (Ditjen POM, 2000). Digesti cara pengerjaannya atau prinsipnya sama dengan maserasi pengadukan kontinyu tapi pada digesti dengan temperature lebih tinggi dari temperatur ruangan umumnya 25-30 °C (Tiwari, *et al.*, 2011).

2.4.5 Infusa

Infusa adalah ekstraksi yang menggunakan air sebagai pelarut dengan temperatur 90 °C dengan waktu 15 menit. Metode ini dilakukan dengan bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur yang digunakan (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Ditjen POM, 2000).

2.4.6 Dekok

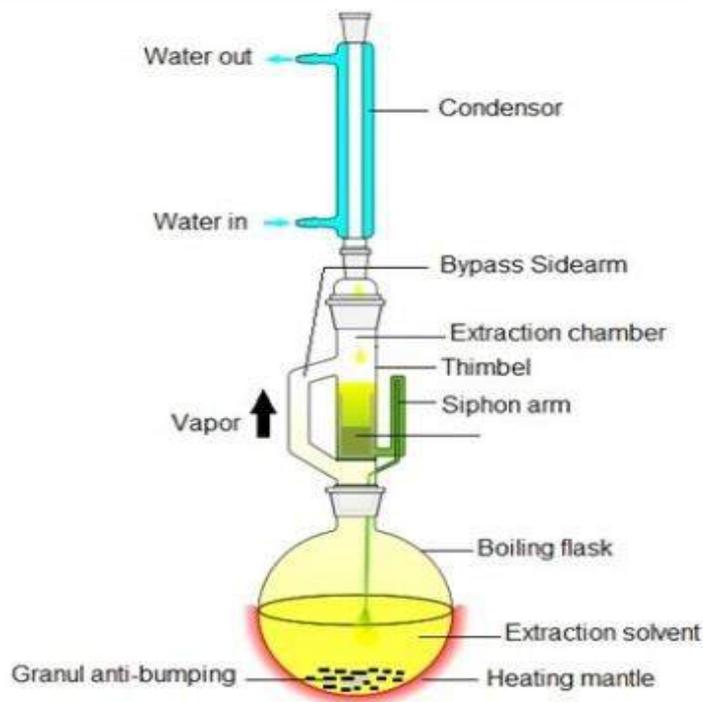
Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Ditjen POM, 2000). Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90 °C selama 30 menit. Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam air dan konstituen yang stabil terhadap panas (Tiwari, *et al.*, 2011).

2.4.7 Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi yang selalu menggunakan pelarut yang baru, metode ini menggunakan seperangkat alat sokletasi sehingga ekstraksi yang terjadi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Prinsipnya adalah penyarian yang dilakukan berulang-ulang sehingga penyarian lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Bila penyarian telah selesai maka pelarutnya dapat diuapkan kembali dan sisanya

berupa ekstrak yang mengandung komponen kimia tertentu. Penyarian dihentikan bila pelarut yang turun melewati pipa kapiler tidak berwarna dan dapat diperiksa dengan pereaksi yang cocok. Ekstraksi dengan menggunakan metode sokletasi yaitu ekstraksi yang menggunakan seperangkat alat soklet dengan pelarut organik yang dilakukan secara berulang-ulang, selalu menjaga jumlah pelarut supaya relatif konstan. Proses sokletasi digunakan untuk ekstraksi lanjutan dari suatu senyawa dari material atau bahan padat dengan pelarut panas. Alat yang digunakan adalah labu didih, ekstraktor dan kondensor. Sampel dalam sokletasi perlu dikeringkan sebelum disokletasi.

Tujuan dilakukannya pengeringan adalah untuk mengilangkan kandungan air yang terdapat dalam sampel sedangkan dihaluskan adalah untuk mempermudah senyawa terlarut dalam pelarut. Didalam sokletasi digunakan pelarut yang mudah menguap. Pelarut itu bergantung pada tingkatannya, polar atau non polar. Untuk mengetahui senyawa hasil penyarian (kandungannya) , dapat dilakukan dengan tes identifikasi dengan menggunakan beberapa pereaksi. Keunggulan metode ini adalah dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung, Digunakan pelarut yang lebih sedikit, Pemanasannya dapat diatur. Kelemahan metode ini adalah tidak cocok untuk senyawa- senyawa yang tidak stabil terhadap panas (senyawa termobil), contoh : Beta karoten



Gambar 2 Alat Soklet (Saifudin, 2014)

2.5 Pelarut Ekstraksi

Pelarut adalah suatu zat yang dipakai untuk melarutkan zat lain. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi harus memiliki sifat yaitu toksisitas pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa yang terkandung dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan hasil ekstraksi terdisosiasi (Tiwari, *et al.*, 2011).

Faktor-faktor yang dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut ekstraksi, yaitu senyawa yang akan diekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi pelarut, mudah dalam penggunaan sebagai pelarut ekstraksi, toksisitas pelarut, potensial bahaya yang ditimbulkan bagi kesehatan. Jenis pelarut menurut Farmakope Indonesia (2007) yang biasa digunakan sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Cairan penyari ini telah diuji kenyamanannya. Pada umumnya alkaloid, damar, oleoresein, dan minyak-minyak memiliki kelarutan yang lebih baik dalam pelarut organik daripada di dalam air,

tetapi sebaliknya garam-garam alkaloid, glukosida, zat-zat lendir, dan sakarida memiliki kelarutan lebih baik dalam air (Syamsuni, 2006)

2.5.1 Air

Merupakan pelarut universal. Biasanya digunakan untuk mengekstrak produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air dapat melarut flavonoid (antosianin) yang tidak memiliki aktivitas signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang mempunyai aktivitas antioksidan. Namun hasil ekstraksi dari pelarut ini dapat ditumbuhi jamur ataupun mikroorganisme lain karena air merupakan salah satu media pertumbuhan mikroorganisme. Keuntungan dengan penarikan dengan air adalah bahwa jenis-jenis gula, gom, asam tumbuh-tumbuhan, garam mineral, dan zat-zat warna akan tertarik atau melarut lebih dahulu dan larutan yang terjadi ini dapat melarutkan zat-zat lain dengan lebih baik dari pada oleh air saja, misalnya damar-damar pada penarikan *Cascara cortex*, atau sejumlah alkaloid pada penarikan dengan air (Syamsuni, 2006). Air memiliki kekurangan sebagai pelarut, yaitu karena air dapat menarik banyak zat, namun banyak diantara zat tersebut yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan jamur dan bakteri, akibatnya simplisia mengembang sedemikian rupa sehingga mempersulit penarikan pada perkolasi (Syamsuni, 2006)

2.5.2 Aseton

Pelarut ini melarutkan beberapa komponen senyawa hidrofilik dan lipofilik dari tumbuhan. Digunakan untuk studi antimikroba karena banyak senyawa fenolik yang terekstraksi. Kelebihan dari pelarut ini adalah dapat bercampur dengan air, mudah menguap, dan toksisitasnya rendah.

2.5.3 Etanol

Pelarut ini memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada ekstrak air, hal ini dibuktikan dengan jumlah polifenol yang lebih tinggi pada ekstrak etanol. Etanol lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak intraseluler dari bahan atau simplisia yang diekstraksi. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan

untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil, Lemak, malam, tanin dan saponin hanya sedikit larut, dengan demikian zat pengganggu yang terlarut terbatas. Untuk meningkatkan penyarian biasanya menggunakan campuran etanol dan air.

2.5.4 Kloroform

Pelarut ini dapat mengekstrak Senyawa terpenoid lakton dapat diekstraksi berturut-turut dengan menggunakan pelarut heksana, kloroform, dan methanol dengan konsentrasi aktivitas tertinggi dalam fraksi kloroform.

2.5.5 Etil Asetat

Merupakan pelarut dengan karakteristik semipolar. Secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar, seperti fenol dan terpenoid.

2.5.6 Eter

Umumnya digunakan secara selektif untuk ekstraksi kumarin dan asam lemak. Kebanyakan zat dalam simplisia tidak larut dalam cairan ini, tetapi beberapa zat mempunyai kelarutan yang baik, misalnya alkaloid misalnya alkaloid basa, lemak-lemak, damar, dan minyak-minyak atsiri. Karena eter bersifat sangat atsiri, maka disamping mempunyai efek farmakologi, cairan ini kurang tepat digunakan sebagai menstrum sediaan galenik cair, baik untuk pemakaian dalam maupun untuk sediaan yang nantinya disimpan lama. Adakalanya eter yang dipakai dicampur dengan etanol, misalnya *Extractum Cubeborum* (Syamsuni, 2006).

2.5.7 n-Heksana

Pelarut ini mempunyai karakteristik yaitu sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas yang dapat menyebabkan hilang kesadaran. Biasanya digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi minyak nabati. Cairan ini adalah salah satu hasil dari penyulingan minyak tanah kasar. Merupakan pelarut yang baik untuk lemak-lemak dan minyak-minyak. Biasanya dipergunakan hanya untuk mengawetkan simplisia yang mengandung lemak-lemak yang tidak diperluakn sebelum simplisia tersebut dibuat sediaan galeniknya, misalnya *Strychnin, Secale* (Pharmacopee Netherland, 1929).

Tabel II.1 Jenis Pelarut Ekstraksi (Saifudin, 2014)

Nama Pelarut	Konstanta dielektrik (ϵ)	Penggunaan
Etanol	25,3	Untuk ekstraksi awal simplisia baik sendiri atau dicampur dengan air kadar < 30%.
Metanol	33	Pelarut utama untuk ekstraksi simplisia. Campuran dengan aseton atau asetonitril untuk fase gerak fase terbalik. Rasio sangat kecil terhadap klorofom atau diklorometana untuk fase gerak KLT fase normal.
Aseton	20,7	Ekstraksi senyawa semi polar. Kadang dicoba dengan sedikit metanol untuk KLT. Dalam bentuk terdeutronasi sebagai pelarut semi polar NMR.
Air	80	Pengekstraksi polar, membuat infusa, membuat dekokta. Dalam bentuk terdeutron sebagai pelarut NMR

2.6 Sediaan Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat, berupa emulsi mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar (Farmakope Indonesia Edisi III). Menurut (Farmakope Indonesia Edisi IV) krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai.

Krim adalah sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair yang diformulasikan sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Sekarang ini batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air, yang dapat dicuci dengan air atau lebih ditunjukkan untuk penggunaan kosmetika (Depkes RI, 1995).

Krim berfungsi sebagai bahan pembawa substansi obat untuk pengobatan kulit, bahan pelumas untuk kulit dan pelindung kulit (mencegah kontak permukaan kulit dengan larutan berair dan rangsangan kulit (Anief, 2007). Menurut Marriot, John F., *et al*, (2010) krim diformulasikan untuk sediaan yang dapat bercampur dengan sekresi kulit. Sediaan krim dapat diaplikasikan pada kulit atau membran mukosa untuk pelindung efek terapeutik.

Prinsip dalam preparasi sediaan krim, seperti sediaan emulsi dan lainnya, kebersihan merupakan hal yang penting. Spatula dan peralatan lainya harus dibersihkan dengan aquades. Pembuatan krim harus dilebihkan karena pada proses pemindahan sediaan krim kewadah akhir, ada kemungkinan tertinggal sediaan ditempat yang sebelumnya. Menentukan bahan yang larut dalam fasa air dan fasa minyak. Larutkan bahan yang larut air dalam fasa air, lelehkan basis lemak dalam cawan evaporasi diatas *waterbath* dalam suhu rendah. Proses ini diawali dengan melelehkan basis yang memiliki titik leleh tinggi. Kemudian didinginkan pada suhu 60°C (pemanasan yang berlebih dapat mendenaturasi agen pengemulsi dan menghilangkan stabilitas produk). Zat yang dapat larut dengan fasa minyak harus diaduk sampai mencair. Suhu fase cair harus disesuaikan 60°C fase terdispersi kemudian ditambahkan kedalam fase pendispersi pada suhu yang sama. Oleh karena itu, untuk produk minyak dalam air, maka minyak yang ditambahkan kedalam air. Sedangkan produk air dalam minyak, yang ditambahkan adalah air kedalam minyak. Pengadukan harus terus dilakukan tanpa adanya udara. Jangan mempercepat proses pendinginan karena akan menghasilkan produk yang buruk (Marriot, John F., *et al*, 2010). Pembuatan sediaan krim meliputi proses peleburan dan proses emulsifikasi. Biasanya komponen yang tidak bercampur dengan air seperti minyak dan lilin dicairkan bersama sama di penangas air pada suhu 70-75 °C, sementara itu semua larutan berair yang tahan panas, komponen yang larut dalam air dipanaskan pada suhu yang sama dengan komponen lemak. Kemudian larutan berair ditambahkan kedalam campuran berlemak yang cair dengan sedikit demi sedikit dan diaduk secara konstan, temperatur dipertahankan selama 5-10 menit untuk mencegah kristalisasi dari lemak, selanjutnya campuran perlahan lahan didinginkan dengan

pengadukan yang terus menerus sampai campuran mengental. Sedangkan larutan berair tidak sama temperaturnya dengan leburan lemak, maka beberapa lemak akan menjadi padat, sehingga terjadi pemisahan antara fase lemak dengan fase cair (Munson, 1991).

Keuntungan sediaan krim ialah kemampuan penyebarannya yang baik pada kulit, memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan air pada kulit, memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan air pada kulit, mudah dicuci dengan air, serta pelepasan obat yang baik. Selain itu tidak terjadi penyumbatan dikulit dan krimnya tampak putih dan bersifat lembut kecuali krim asam stearate (Voight, 1994). Bahan-bahan penyusun krim yang digunakan mencakup emolien, zat sawar, zat humektan, zat pengemulsi, zat pengawet seperti asam stearat, Trietanolamin (TEA), metil paraben, dan gliserin dan setil alkohol.

Asam stearat berbentuk keras, berwarna putih atau kuning pucat, agak mengkilap, Kristal padat atau serbuk putih atau putih kekuningan, bau lemah dan berasa lemak. Kelarutannya yaitu mudah larut dalam benzena, kloroform, dan eter, larut dalam etanol (95%), praktis tidak larut dalam air. Memiliki titik lebur 69°C - 70°C . Penggunaannya dalam sediaan topikal sebesar 1%-20%, digunakan sebagai bahan pengemulsi ketika direaksikan dengan basa (Rowe et al, 2009).

Trietanolamin merupakan cairan kental yang bening, tidak berwarna sampai kuning pucat dan memiliki bau ammoniak yang lemah, bersifat sangat higroskopis, memiliki titik lebur 20°C - 25°C dan pH 10,5. Kelarutannya yaitu mudah larut dalam air, metanol, dan aseton. Digunakan sebagai bahan pengemulsi dengan konsentrasi 0,5%-3%, menambah kebasaaan, dan sebagai humektan (Rowe et al, 2009).

Metil paraben berbentuk Kristal tidak berwarna atau serbuk Kristal putih; tidak berbau atau hampir tidak berbau dan berasa sedikit terbakar. Kelarutannya yaitu sukar larut dalam air, dalam benzene dan dalam karbon tetraklorida; mudah larut dalam etanol dan dalam eter; larut dalam air 80°C . Penggunaan dalam sediaan topikal sebanyak 0,02 % - 0,3 % sebagai antimikroba, efektif pada pH 4-8 (Rowe et al, 2009).

Setil alkohol merupakan alkohol lemak yang berbentuk serpihan licin, granul, atau kubus yang mengandung susunan kelompok hidroksil. Setil alkohol banyak digunakan sebagai bahan pengemulsi dan pengeras dalam sediaan krim. Titik leleh dari setil alkohol sebesar 45-52 °C. Bahan ini sangat mudah larut dalam etanol 95% dan eter serta tidak larut dalam air. Kelarutan akan meningkat bila suhunya dinaikkan. Konsentrasi umum digunakan sebagai pengeras adalah 2-10% dan sebagai bahan pengemulsi maupun emolien adalah 2-5% (Rowe et al, 2009).

Gliserin berbentuk kental, cairan higroskopis, tidak berwarna, tidak berbau, memiliki rasa manis, kira-kira 0,6 kali semanis sukrosa. Kelarutannya yaitu sedikit larut dalam aseton, mudah larut dalam air dan metanol. Penggunaan dalam sediaan topikal digunakan terutama untuk sifat humektan dan emolien. Gliserin digunakan sebagai pelarut atau cosolvent dalam krim dan emulsi, *gliserin* berfungsi sebagai humektan yang digunakan dalam *rentang* konsentrasi 5,0 -15% (Rowe et al, 2009).

2.7 Uji Efektifitas Sediaan

2.7.1 Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan, konsisten, bau, warna, dan homogenitas dari sediaan. Dilakukan pengamatan terhadap konsistensi dan warna krim secara visual, serta diidentifikasi bau dari masing masing krim. Sedangkan homogenitas krim diperiksa dengan cara mengoleskan krim pada sekeping kaca, kemudian dilakukan pengamatan secara visual terhadap adanya bagian bagian yang tidak tercampurkan dengan baik dalam krim. (Dewi, 2013).

2.7.2 Viskositas

Alat yang digunakan untuk uji viscometer dengan rotor yang sesuai (rotor nomor 2). Rotor ditempatkan ditengah tengah beaker glas yang berisi krim, kemudian alat dihidupkan agar rotor mulai berputar. Jarum menunjukkan viskositas secara otomatis akan bergerak kekanan. Setelah stabil, kemudian dibaca viskositas pada skala yang ada pada viscometer tersebut. (Dewi, 2013).

2.7.3 Daya Lekat

Krim ditimbang sebanyak 250 mg dan diletakan diatas objek glas pertama yang telah ditentukan luasnya. Objek glas kedua diletakan diatas objek glass

pertama yang telah diolesi krim, lalu ditekan dengan beban 500 gram selama 5 menit. Objek gelas kedua dipasang pada alat tes yang ujungnya dipasang beban 80 gram dan objek gelas pertama dipasang pada alat tes dengan penjepit kemudian dilepaskan bebannya sampai kedua objek gelas tersebut lepas. Waktu yang diperlukan hingga kedua objek gelas tersebut lepas dicatat. Diulang masing masing 3 kali untuk tiap krim yang diperiksa. (Dewi, 2013).

2.7.4 Daya Sebar

Krim ditimbang sebanyak 50 g kemudian diletakan ditengah tengah cawan petri yang berbeda dalam posisi terbalik. Diletakan cawan petri yang lain diatas krim sebagai beban awal dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter krim yang menyebar diukur. Dilakukan penambahan beban sebesar 50 gram dan dicatat diameter krim yang menyebar setelah 1 menit sampai beban tambahan 50 gram diulang masing masing 3 kali setiap krim yang diperiksa. (Dewi, 2013).

2.7.5 pH

Krim dioleskan pada pH stik universal kemudian dibandingkan hasilnya dengan standart warna yang terdapat pada kemasan Dicapat Ph krim. (Dewi, 2013).

2.8 Bakteri

Bakteri berasal dari bahasa Yunani yaitu dari kata "*Bakterion*" yang artinya tongkat atau batang. Bakteri adalah mikroorganisme bersel satu, dan berkembang biak dengan membelah diri (aseksual). Merupakan golongan organisme prokariotik (tidak mempunyai selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoid. DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang bergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz, 2004).

2.8.1 Penggolongan Bakteri

Bentuk dan ukuran bakteri bermacam-macam dari bentuk sferis yang sangat kecil, silindris dan berbentuk benang spiral sampai bentuk batang yang

berflagel, dan rantai yang berfilamen. Ada bakteri yang dapat menyebabkan penyakit dan ada juga yang menguntungkan bagi kesehatan manusia bahkan merupakan organisme yang diperlukan dalam kehidupan manusia. Sebagai contoh bakteri yang hidup simbiotik di dalam usus besar yang membentuk vitamin K, yang berfungsi sebagai pembeku darah. Bakteri lain yang menguntungkan hidup manusia secara tidak langsung, misalnya yang dimanfaatkan dalam berbagai industri makanan, dan bakteri-bakteri yang menghancurkan sampah-sampah dan hewan serta tumbuhan yang mati. Bakteri dikelompokkan berdasarkan reaksinya terhadap gas oksigen, yaitu bakteri aerob yang membutuhkan oksigen untuk hidupnya, bakteri anaerob yang tidak dapat hidup jika ada oksigen, dan anaerob fakultatif yang membutuhkan oksigen untuk hidupnya, tetapi dapat tetap hidup meskipun tidak ada oksigen (Soedarto, 2015).

Berdasarkan pengecatan gram, bakteri dikelompokkan menjadi 2, yaitu gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang mempertahankan zat warna gram A yang mengandung kistal violet, sewaktu proses pewarnaan gram. Bakteri jenis ini akan berwarna ungu di bawah mikroskop. Lain halnya dengan bakteri gram negatif akan berwarna merah atau merah muda, karena warna ungu dapat dilunturkan kemudian mengikat cat gram D sebagai warna kontras. Perbedaan klasifikasi antara kedua jenis bakteri ini terutama didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel bakteri. Bakteri gram positif susunan lebih sederhana terdiri atas 2 lapis namun memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sementara itu, pada dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks terdiri atas 3 lapis namun lapisan peptidoglikan tipis (Juliantina *et al.*, 2009). Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri standar yang masih sensitif terhadap terapi standar, yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan reaksi pewarnaan bakteri digolongkan dalam dua jenis yaitu golongan gram positif, Dinding sel bakteri gram positif sebagian besarnya terdiri dari beberapa lapisan peptidoglikon yang membentuk struktur yang tebal dan kaku. Karena kekakuan ini dinding sel ini membuat bakteri gram positif resisten terhadap lisis osmotik (Jawetz. 1996). Sedangkan dinding sel pada bakteri gram negatif mengandung lapisan peptidoglikon yang tipis. Terdiri dari dua membran

yaitu membran luar dan membran dalam . pada membran luar terdiri dari protein, lipoprotein, fosfolipid, lipopolisakarida. Bakteri gram negatif mengandung polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Jawetz, 1996).

Berdasarkan bentuk morfologinya, bakteri dibagi menjadi tiga golongan yaitu : Golongan basil, Bakteri dengan bentuk basil atau bacillus berbentuk seperti batang, silindris. Ukuran bakteri basil ada yang lebarnya 0,2 sampai 2,0 μ , sedangkan panjangnya 1 sampai 15 μ . Golongan kokus, Bakteri yang termasuk dalam golongan ini berbentuk bulat, dengan ukuran diameternya 0,5 μ atau ada yang diameternya sampai 2,5 μ . Golongan spiral, Jenis bakteri ini bengkok-bengkok seperti spiral. Bakteri jenis tidak banyak jumlahnya jika dibandingkan dengan golongan kokus maupun golongan basil (Dwidjoseputo, 1990).

2.9 Staphylococcus aureus

2.9.1 Klasifikasi Staphylococcus aureus



Gambar 3 *Staphylococcus aureus* (Soedarto, 2015)

Domain	: Bacteria
Kerajaan	: Eubacteria
Filium	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>

Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.9.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif tidak bergerak, tidak berspora, dan mampu membentuk kapsul berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur. Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung dengan media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat mengandung *aglutinogen* dan *N-asetilglukosamin*.

Staphylococcus memiliki bentuk bulat atau lonjong (0,8-0,9), merupakan jenis yang tidak bergerak, tidak berspora dan gram positif. Tersusun dalam kelompok seperti buah anggur. Pembentukan kelompok ini terjadi karena pembelahan sel terjadi dalam tiga bidang dan sel anaknya cenderung dekat dengan sel induknya. Bersifat aerob dan tumbuh baik pada pembenihan yang sederhana pada temperatur optimum 37 °C dan pH 7,4. Merupakan salah satu bakteri yang cukup kebal diantara mikroorganisme yang tidak berspora tahan panas pada suhu 60 °C selama 30 menit, tahan terhadap fenol selama 15 menit. Bakteri ini adalah bakteri aerob dan anaerob fakultatif yang mampu menfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, hyalurodinase, fosfatase, dan lipase. *Staphylococcus aureus* mengandung lysostaphin yang dapat menyebabkan lisis sel darah merah. Toksin yang dibentuk *Staphylococcus aureus* adalah haemolysin alfa, beta, gamma, delta dan epsilon. Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin, dan eksofoliatin. Enterotoksin dan eksoenzim dapat menyebabkan keracunan makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksofoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus adalah bakteri bola berpasang-pasangan atau berkelompok seperti buah anggur dengan diameter antara 0.8 – 0.1 mikron, non motil tidak berspora dan bersifat positif. Namun kadang-kadang ada yang bersifat gram negatif yaitu pada bakteri yang telah difagositosis atau pada biakan tua yang

hampir mati. Menurut SNI 01-3141-1998, jumlah cemaran mikroba total yang diperbolehkan maksimal 1×10^6 CFU/ml susu dan sel somatik maksimal 4×10^4 sel/ml susu. Menurut SNI 01-3553-1996 jumlah mikroba aerob maksimal dalam air yang layak minum adalah $1,0 \times 10^5$ CFU/ml dan *E.coli* patogen 0 CFU/100 ml. SNI 01-6366-2000 mensyaratkan pemeriksaan TPC perlu dilakukan untuk mengetahui kualitas susu. Jumlah TPC $>10^6$ cfu/ml menyebabkan mikroba cepat berkembang dan toksin sudah terbentuk (Soedarto, 2015).

2.10 Antibakteri

Merupakan suatu zat atau dalam bentuk obat untuk membunuh, membasmi jasad renik yang dihasilkan dari sintesis atau berasal dari senyawa non organik. Ada dua sifat antibakteri yaitu bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik adalah antibakteri yang mekanisme kerjanya hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sedangkan Bakterisidal adalah antimikroba yang dapat membunuh mikroorganisme. Secara umum antibiotik dibedakan menjadi antibiotik spektrum sempit diindikasikan untuk terapi infeksi bakteri yang secara spesifik telah diketahui jenis bakterinya melalui kultur, dan antibiotik spektrum luas untuk terapi infeksi yang belum diketahui pasti bakteri penyebab infeksi dan terapi empirik. Spektrum luas (aktivitas luas) antibiotik yang bersifat aktif bekerja terhadap banyak jenis mikroba yaitu bakteri gram positif dan gram negative. Contoh antibiotik dalam kelompok ini adalah sulfonamid, ampicilin, sefalosporin, kloramfenikol, tetrasiklin, dan rifampisin. Spektrum sempit (aktivitas sempit) merupakan antibiotik yang bersifat aktif bekerja hanya terhadap beberapa jenis mikroba saja, bakteri gram positif atau gram negative saja. Contohnya eritromisin, klindamisin, kanamisin, hanya bekerja terhadap mikroba gram-positif. Sedangkan streptomisin, gentamisin, hanya bekerja terhadap kuman gram-negatif (Wiryalie, 2017).

2.10.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibiotik, awalnya dikenal dengan nama antibiosis yaitu substansi yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme dalam perkembangannya dibedakan menjadi bakteri, fungi, protozoa, dan cacing.

Antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan spektrumnya, antibiotik dapat dibedakan menjadi antibiotik dengan spektrum luas mampu menghambat pertumbuhan gram positif maupun negatif, dan antibiotik dengan spektrum sempit yang hanya dapat menghentikan pertumbuhan bakteri spesifik pada gram negatif atau positif saja.

Berdasarkan mekanisme aksinya, antibiotik dapat dibedakan menjadi beberapa penggolongan yaitu (Mahsuna, 2011) sebagai berikut:

Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel, antibiotik golongan ini bekerja dengan merusak lapisan peptidoglikon penyusun dinding sel bakteri. Contoh antibiotik adalah golongan penisilin, monobaktam, sefalosporin, karbapenem, basitrasin, vankomisin, dan isoniazid.

Antibiotik yang merusak membran plasma, membran plasma bersifat semi permeabel. Fungsi dari membran plasma adalah untuk mengendalikan transport metabolit keluar masuk sel. Fungsi ini dapat terganggu jika strukturnya mengalami kerusakan. Antibiotik jenis ini bekerja dengan merusak struktur membran plasma sehingga terjadi gangguan fungsi dan akhirnya akan membunuh mikroorganisme tersebut. Antibiotik jenis ini biasanya berasal dari golongan polipeptida seperti polimiskin B, amfoterisin B, mikonazol, dan ketonazol.

Antibiotik yang menghambat sintesis protein, golongan antibiotik ini yang memiliki kemampuan untuk menghambat sintesis protein dari mikroorganisme ini antara lain golongan aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan makrolida. Aminoglikosida contohnya streptomisin, gentamisin, dan tobramisin, adalah antibiotik dengan gula amino yang bergabung dalam ikatan glikosida. Umumnya, antibiotik memiliki spektrum yang luas dan sifatnya bakterisidal. Antibiotik jenis ini akan berikatan dengan ribosom bakteri pada subunit 30S yang kemudian akan menghambat translokasi peptidil-tRNA sehingga terjadi kesalahan pembacaan mRNA, akibatnya bakteri tidak dapat mensintesis protein yang sangat penting untuk pertumbuhan dirinya. Contohnya oksitetrasiklin, klortetrasiklin, tetrasiklin, dan doksisisiklin, dapat menghambat sintesis protein bakteri dengan berikatan pada bagian 16S subunit 30S, sehingga situs A pada ribosom tidak dapat berikatan dengan monoasil-tRNA. Antibiotik golongan ini

merupakan antibiotik berspektrum luas yang dapat mempenetrasi jaringan tubuh. Kloramfenikol memiliki struktur yang sederhana dengan ukuran yang kecil sehingga mudah berdifusi ke dalam tubuh. Antibiotik ini menghambat sintesis protein dengan menghalangi aktivitas enzim peptidil transferase pada subunit 50S sehingga ikatan peptida pada asam amino yang baru melekat pada tRNA dan asam amino terakhir terhenti perkembangannya. Makrolida, contohnya eritromisin, memiliki cincin lakton makrosiklik yang mampu memasuki dinding sel pada sebagian besar bakteri gram negatif.

Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA), antibiotik golongan ini bekerja dengan menghambat proses transkripsikan replikasi pada proses sintesis asam nukleat bakteri. Contoh antibiotik yang termasuk golongan ini adalah kuinolon dan rifampin. Rifampin adalah golongan antibiotik turunan rifamisin yang bekerja dengan cara mengikat subunit β -RNA polimerase bakteri sehingga transkripsi mRNA terhambat, sedangkan kuinolon bekerja dengan menghambat enzim DNA girase pada replikasi DNA, sehingga proses replikasi DNA dan transkripsi mRNA terhambat.

Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial, antibiotik jenis ini bekerja dengan memberikan kompetitor berupa antimetabolit sehingga sintesis metabolit akan terganggu. Contoh antibiotik jenis ini adalah sulfanilamid dan para amino benzoid acid (PABA).

2.11 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Kemampuan antibiotik dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri harus diukur agar didapatkan suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Untuk mengukur kemampuan antibakteri suatu antibiotik dapat digunakan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi adalah metode ini terdiri dari beberapa teknik yaitu (Pratiwi, 2008).

2.11.1 Metode Difusi

2.11.1.1 Teknik E-test

Uji ini dilakukan untuk memperkirakan kadar hambat minimum (*Minimum Inhibitory Concentration*) terhadap suatu jenis bakteri. Uji ini dilakukan dengan meletakkan strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari kadar yang

tertinggi hingga kadar terendah diatas medium Agar yang sebelumnya telah ditanami oleh bakteri yang akan diuji. Area jernih yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

2.11.1.2 Teknik Disc Diffusion

Untuk menentukan aktivitas antimikroba. Bakteri ini disemaikan dalam medium agar, kemudian piringan yang berisi agen antibakteri diletakan di atas medium agar tersebut. Terbentuknya area jernih di sekitar piringan tersebut menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh antibakteri pada permukaan media agar tersebut.

Tabel II.2 Kategori respon hambatan pertumbuhan berdasarkan diameter zona hambat (Greenwood, 1995)

Diameter zona hambat pertumbuhan	Respon Hambatan
≤ 20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15	Lemah
>5 mm	Tidak ada

2.11.1.3 Teknik Ditch-Plate

Teknik ini dilakukan dengan memotong bagian tengah dari medium agar hingga membentuk sumuran, kemudian pada sumuran tersebut diletakan agen antibakteri, kemudian bakteri yang akan diuji digoreskan secara membujur ke arah sumur tersebut.

2.11.1.4 Teknik Cup-Plate

Teknik ini dilakukan dengan membuat beberapa lubang pada media agar yang telah diberi bakteri. Lubang-lubang tersebut kemudian diisi dengan berbagai zat antibakteri yang akan diuji. Kemudian media agar tersebut diinkubasikan selama 24 jam dan diamati zona hambat yang terbentuk pada sekeliling lubang.

2.11.1.5 Teknik Gradient-Plate

Teknik ini dilakukan dengan mencampur media agar dengan larutan uji dengan berbagai konsentrasi. Campuran yang ada kemudian dituangkan ke dalam cawan petri yang diletakan dengan posisi miring kemudian dituangkan nutrisi

kedua. Plate yang diinkubasi selama 24 jam kemudian digoreskan bakteri yang akan di uji dari arah kosentrasi tertinggi hingga kosentrasi terendah.

2.11.2 Metode Dilusi

Merupakan suatu metode yang digunakan untuk uji antibakteri dengan membuat seri pengenceran konsentrasi antibakteri. Metode dilusi terdiri dari beberapa pengujian (Pratiwi, 2008)

2.11.2.1 Dilusi Cair / Broth Dilution Test

Metode ini dilakukan untuk menentukan kadar hambat minimum (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan kadar bunuh minimum (*Minimum Bactericidal Concentration*). Metode ini dilakukan dengan membuat beberapa pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang kemudian akan ditambahkan bakteri uji kedalamnya. Larutan uji dengan kadar terkecil yang memberikan warna jernih ditetapkan sebagai MIC. Dari larutan tersebut, akan dilakukan pengkulturan ulang pada media cair tanpa menambahkan apapun, kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam. Jika hasil larutan didapatkan tetap jernih, maka hasil inkubasi tersebut akan ditetapkan sebagai MBC.

2.11.2.2 Dilusi / Solid dilution Test

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair, yang membedakan adalah media yang digunakan pada metode ini merupakan media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.12 Antibiotik Pemanding

Antibiotik pemanding yang akan digunakan pada penelitian uji efektivitas maserat etanolik biji pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah krim Gentamisin, karena klindamisin efektif melawan bakteri kokus Gram positif, seperti golongan *Staphylococcus* yang resisten terhadap penisilin. Gentamisin digunakan untuk mengobati beberapa jenis infeksi yang disebabkan oleh bakteri, termasuk pada kulit. Mekanisme kerja gentamisin adalah menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri (Tiran et al., 2014).

Karakteristik krim gentamisin menurut Dirjen POM (1995) adalah sebagai berikut:

- a. Rumus Kimia : $C_{21}H_{34}N_5O_7 \cdot H_2SO_4$
- b. Berat Molekul : 575,5954
- c. Pemerian : Serbuk, putih sampai kekuning-kuningan.
- d. Kelarutan : Larut dalam air, tidak larut dalam etanol, dalam aseton, dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzena.
- e. Aktivitas Antibakteri : Antibiotika golongan aminoglikosida yang mempunyai potensi tinggi dan berspektrum luas terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan sifat bakterisid.
- f. Golongan Antibakteri: gentamisin merupakan golongan aminoglikosida
- g. Mekanisme Kerja : Antibiotik golongan aminoglikosida lainnya yaitu menghambat sintesis protein bakteri. Dalam hal ini, antibiotik golongan aminoglikosida terikat pada sub unit 30 S ribosom yang akan mengakibatkan kode genetika mRNA tidak terbaca dengan baik sehingga tidak terbentuk sub unit 70 S, akibatnya biosintesis protein bakteri dikacaukan. Efek ini terjadi tidak hanya pada fase pertumbuhan bakteri melainkan bila bakteri tidak membelah diri. Semua aminoglikosida terikat pada sub unit 30 S dari ribosom secara selektif (Wattimena, 1987; Tjay, 2002).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Biji pepaya, etanol 70%, etanol, *Nutrient Agar* (NA), media NB, FeCl₃, kloroform, asam asetat pekat anhidrat, perekasi dragendroff, pereaksi wagner, antibiotik krim klindamisin, aquades steril, larutan pengencer NaCl, *methylen blue*, *iodine*, safranin, *clindamycin*, setil alcohol, TEA, gliserin, metil paraben, dan KOH 0,1%, biakan bakteri *Staphylococcus aureus* , cakram uji kosong, cakram uji antibiotik, spirtus.

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada proses ekstraksi adalah labu alas bulat, seperangkat alat soklet (kondensor, labu alas bulat, timbal, sifon, pipa F), *hot plate*, batu didih, pisau, blender, pengayak, neraca analitik, beaker glass, kertas saring, corong kaca, pipet volume, gelas ukur, cawan porselin dan oven.

Alat-alat yang digunakan dalam proses analisis fitokimia antara lain, Pipet tetes, gunting, cawan porselin, pipet volum, *push ball*, *stop watch*, penangas air, gelas ukur, dan tabung reaksi.

Alat-alat yang digunakan dalam uji antibakteri adalah cawan petri, pipet mikro, tabung reaksi, kertas saring, kapas, jarum ose, autoklaf, bunsen, inkubator, pinset, tissue, alumunium foil dan penggaris.

Alat-alat untuk pembuatan sediaan krim adalah mortir stamper, sudip, batang pengaduk, beaker glass, gelas ukur, kertas perkamen, sendok tanduk, pot krim, alat uji homogenitas, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, alat uji bobot jenis.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi penelitian merupakan seluruh subjek atau objek dengan karakteristik tertentu yang akan diteliti . Populasi penelitian ini adalah biji pepaya matang yang diambil di daerah Tulungagung, Jawa Timur.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah biji pepaya matang yang diambil di daerah perkebunan Bapak Anang Desa Tambakrejo, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan segala sesuatu yang ditetapkan peneliti sebagai hal yang dipelajari untuk memperoleh informasi sehingga dapat diambil sebuah kesimpulan (Sugiyono, 2013). Pada penelitian ini terdapat tiga variabel penelitian yaitu variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel Bebas atau variabel Independent adalah merupakan variabel yang diduga memiliki fungsi sebagai penyebab timbulnya variabel yang lain. Variabel bebas adalah variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi penyebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (terikat) (Pratiknya, 2007). Variabel bebas pada penelitian ini adalah Ekstrak biji pepaya dibuatkan dalam beberapa seri konsentrasi yaitu konsentrasi 25%, 55% dan 85%, dengan aquadest steril sebagai kontrol negatif dan antibiotik krim klindamisin sebagai kontrol positif.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terkait atau dependent adalah variabel yang keberadaannya menjadi suatu akibat dikarenakan adanya variabel bebas. Disebut variabel terkait karena kondisi atau variasinya terkait dan dipengaruhi oleh variasi variabel lain (Azwar, 2004). Variabel terikat pada penelitian ini adalah Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *Nutrient Agar* (NA).

3.5.3 Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah variabel penelitian yang diukur untuk mengetahui besarnya efek atau pengaruh variabel lain. Besarnya efek tersebut diamati dari ada-tidaknya, timbul-hilangnya, membesar-mengecilnya, atau berubahnya variasi yang tampak sebagai akibat perubahan pada variabel lain termaksud (Sugiyono, 2013). Variabel tergantung pada penelitian ini adalah

Antibiotik krim gentamisin sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif.

3.6 Metode Penelitian

Dalam metode penelitian ini terdapat beberapa tahapan penelitian yaitu pengumpulan bahan, determinasi bahan, pembuatan simplisia, pemurnian bebas ekstrak etanol, uji fitokimia, uji aktivitas bakteri.

3.6.1 Pengumpulan Bahan

Biji pepaya yang digunakan pada penelitian ini adalah Biji pepaya yang diperoleh dari perkebunan di Desa Tambakrejo, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.6.2 Determinasi Tanaman Pepaya (*Carica papaya L*)

Determinasi dilakukan bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman. Sampel tanaman biji papaya diidentifikasi di UPT Materia Medica Batu Malang, Jawa Timur.

3.6.3 Pembuatan Simplisia

Biji pepaya yang diperoleh dari perkebunan di daerah Desa Tambak Rejo, Kecamatan Sumber Gempol, kemudian disortasi dari bahan pengotor atau sisa daging buah. Kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir sambil dipecahkan selaput pembungkus bijinya sampai bersih, setelah itu dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari hingga kering (selama ± 2 hari). Menurut Winangsih *et al.*, (2013) Pengeringan panas matahari lebih efektif dalam menghilangkan kadar air jika dibandingkan dengan pengeringan dengan diangin-anginkan, karena menurut semakin rendah kadar air rendemen ekstrak yang diperoleh semakin tinggi Kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak dengan nomor mesh ayakan 60. Setelah itu disimpan di dalam wadah tertutup kering dan rapat dalam ruangan (Depkes RI, 2000).

3.6.4 Uji Kadar Air Simplisia Serbuk

Uji kadar simplisia serbuk dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g ekstrak dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan timbang

pada jarak 1 jam sampai perbedaan 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25 % (Depkes RI, 2000).

3.6.5 Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya

Serbuk biji pepaya kemudian diekstrak menggunakan metode sokletasi dengan pelarut etanol 70 %. Alasan pemilihan pelarut etanol 70 % lebih polar dibandingkan dengan etanol 95 dan 96, sehingga dengan pelarut yang bersifat lebih polar, senyawa aktif dapat tertarik lebih banyak, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan senyawa lainnya yang bersifat polar. Sampel biji pepaya serbuk berukuran 60 *mesh* kemudian ditimbang sebanyak 30 g, dibungkus menggunakan kertas saring, diikat dengan benang pada kedua ujungnya dan dimasukkan dalam tabung Soklet. Labu Soklet diisi dengan pelarut etanol 70%. Unit alat Soklet dipasang dilengkapi pendingin balik, dan dilakukan pemanasan pada suhu titik didih pelarut, dibiarkan terjadi sirkulasi sampai pelarut menjadi jernih atau kurang lebih sebanyak 6 siklus. Hasil sokletasi selanjutnya diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kental biji pepaya.

3.6.4 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dibuat dengan dimasukkan sejumlah ekstrak yang akan diuji kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran tersebut dihomogenkan dan dipanaskan, dan ditutup bagian atas tabung dengan kapas. Jika tidak tercium bau ester maka positif bebas etanol (Depkes RI, 1995).

3.6.5 Uji Fitokimia

Uji identifikasi kimia bertujuan untuk mengetahui senyawa – senyawa apa saja yang terdapat dalam suatu tanaman serta untuk mengetahui apakah tumbuhan tersebut memiliki potensial untuk dimanfaatkan. Uji identifikasi Fitokimia senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri dalam penelitian ini diantaranya.

3.6.5.1 Uji Alkaloid

Identifikasi alkaloid 0,5 gram ekstrak ditambah dengan sedikit larutan HCL 2N dipanaskan kemudian ditambahkan larutan wagner terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes RI 1977)

3.6.5.2 Uji Flavonoid

Uji Flavonoid diantaranya ada uji wilstatter yaitu dengan sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan serbuk magnesium dan 2-4 tetes HCl pekat. Kemudian campuran dikocok sampai terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon (Rahayu, Nunung, & Vina, 2015).

Pengujian flavonoid dengan NaOH 10%, diambil sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan larutan NaOH 10% beberapa tetes. Terjadinya perubahan warna menunjukkan adanya flavonoid karena tergolong senyawa fenol (Rahayu, Nunung, & Vina, 2015)

3.6.5.3 Uji Tanin

Uji tanin dengan menyiapkan ekstrak sampel ditambah metanol sampai sampel terendam semuanya lalu ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Marlindaa, Sangia, & Wuntua, 2012).

3.6.5.4 Uji Terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan menyiapkan 2 ml ekstrak yang telah dilarutkan dalam pelarutnya. Larutan tersebut kemudian diuapkan di dalam caan porselen. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform dan ditambahkan 0,5 asam asetat pekat anhidrad. Asam sulfat pekat sebanyak 2 ml ditambahkan melalui dinding tabung reaksi. Reaksi positif triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan (Rahayu, Nunung, & Vina, 2015).

3.6.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya

3.6.6.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organism hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma* atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer atau tabung reaksi dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminum foil kecuali untuk bahan yang tidak

tahan panas seperti karet distresilisasi dengan alcohol 70% dan jarum ose disterilkan dengan nyala bunsen (Pratiwi, 2008).

3.6.6.2 Pembuatan Media Kultur

3.6.6.2.1 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Bahan media NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml *aquadest*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.6.6.2.2 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Bahan serbuk media NA ditimbang sebanyak 9 g dilarutkan dalam 450 ml *aquadest*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.6.6.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose biakan bakteri (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspense bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland. Biarkan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland mempunyai populasi 1×10^7 CFU/ml - 1×10^8 CFU/ml (Jawetz *et al.*, 2005).

3.6.6.4 Pembuatan Larutan Uji

Pada pembuatan larutan uji ekstrak biji pepaya dibuat dengan merujuk pada penelitian, ekstrak biji pepaya diencerkan dengan air suling (Paramesti, 2014). Pada penelitian ini setelah dioptimasi menggunakan air suling dan tween ekstrak tidak tercampur sempurna dengan pelarut, karena ekstrak dalam bentuk kental sehingga tidak memberikan zona hambatan yang baik. Pada penelitian ini menggunakan seri konsentrasi 25%, 55% dan 85% dalam volume 1 ml DMSO 5%. DMSO 5% dapat melarutkan senyawa non polar dan senyawa polar secara sempurna tanpa memberikan aktivitas antibakteri (Kumar *et al.*, 2008).

3.6.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya Terhadap *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram 6 mm. Ekstrak biji pepaya dengan berbagai konsentrasi (25%, 55% dan 85%) ditambahkan pada masing-masing cakram sejumlah 10 microliter. Kertas cakram yang telah disterilkan dan telah diresapi dengan ekstrak biji pepaya ditempatkan pada permukaan media NA dengan menggunakan pinset steril dan ditekan dengan lembut ke bawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam amoksisilin. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam aquades. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jaya Prakash dan Nagarajan, 2016).

3.7 Pembuatan Formulasi Sampel

Tabel 1 Formulasi standar krim (Abdurraafi *et al*, 2015)

Jenis	Konsentrasi		
	25%	55%	85%
Esktrak	25%	55%	85%
Asam stearate	12	12	12
Setil Alkohol	2	2	2
TEA	3	3	3
Gliserin	8	8	8
Metil Paraben	0,2	0,2	0,2
Aquades	100	100	100

Tabel 2 Formulasi krim ekstrak

Jenis	Konsentrasi		
	25%	55%	85%
Esktrak Biji pepaya	25%	55%	85%
Asam stearate	2,4	2,4	2,4
Setil Alkohol	0,4	0,4	0,4
TEA	0,6	0,6	0,6
Gliserin	1,6	1,6	1,6
Metil Paraben	0,04	0,04	0,04
Aquades	20	20	20

3.7.1 Pembuatan Krim

Pembuatan formulasi sediaan krim ekstrak biji pepaya dengan perbandingan konsentrasi ekstrak biji pepaya yang pertama mencampurkan bahan-bahan fase minyak (asam stearat dan setil alkohol). Kedua mencampurkan bahan-bahan fase air (TEA, gliserin, metil paraben dan air). Kemudian yang ketiga fase minyak dan fase air dipanaskan pada suhu yang sama dengan tempat berbeda (tidak dicampur). Setelah fase minyak melebur semuanya, kemudian fase minyak dimasukkan ke dalam mortir yang sebelumnya telah dipanaskan terlebih dahulu. Dilanjutkan dengan fase air dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam mortir yang berisi fase minyak sambil diaduk secara konstan. Kemudian ekstrak biji pepaya yang sebelumnya telah dilarutkan dengan sebagian fase air ditambahkan dan digerus hingga didapatkan massa krim yang homogen (Abdurrafi *et al.*, 2015).

3.7.2 Evaluasi Krim

Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan, konsisten, bau, warna, dan homogenitas dari sediaan. Dilakukan pengamatan terhadap konsistensi dan warna krim secara visual, serta diidentifikasi bau dari masing-masing krim. Sedangkan homogenitas krim diperiksa dengan cara mengoleskan krim pada sekeping kaca, kemudian dilakukan pengamatan secara visual terhadap adanya bagian-bagian yang tidak tercampurkan dengan baik dalam krim. (Dewi 2013).

3.7.2.1 Uji Daya Lekat

Daya Lekat yaitu krim ditimbang sebanyak 250 mg dan diletakan diatas objek gelas pertama yang telah ditentukan luasnya. Objek gelas kedua diletakan diatas objek glass pertama yang telah diolesi krim, lalu ditekan dengan beban 500 gram selama 5 menit. Objek gelas kedua dipasang pada alat tes yang ujungnya dipasang beban 80 gram dan objek gelas pertama dipasang pada alat tes dengan penjepit kemudian dilepaskan bebannya sampai kedua objek gelas tersebut lepas. Waktu yang diperlukan hingga kedua objek gelas tersebut lepas dicatat. Diulang masing-masing 3 kali untuk tiap krim yang diperiksa. (Dewi 2013).

3.7.2.2 Uji Daya Sebar

Daya Sebar yaitu krim ditimbang sebanyak 50 g kemudian diletakan ditengah tengah cawan petri yang berbeda dalam posisi terbalik. Diletakan cawan

petri yang lain diatas krim sebagai beban awal dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter krim yang menyebar diukur. Dilakukan penambahan beban sebesar 50 gram dan dicatat diameter krim yang menyebar setelah 1 menit sampai beban tambahan 50 gram diulang masing masing 3 kali setiap krim yang diperiksa. (Dewi 2013).

3.7.2.3 Uji pH

pH yaitu krim dioleskan pada pH stik universal kemudian dibandingkan hasilnya dengan standart warna yang terdapat pada kemasan dicatat pH krim.

3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Krim

Uji aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Krim ditambahkan pada masing cakram sejumlah 10 mikroliter. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan krim ekstrak biji pepaya ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam krim klindamisin. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam aquadestilata, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diukur diameter zona hambat (Jayaprakash dan Nagarajan, 2016). Satu ose bakteri dari medium *Nutrient Broth Agar* diambil dan dicampurkan kedalam NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Suspensi bakteri kemudian disamakan kekeruhannya dengan larutan standar 0,5 Mc Farlan. Suspensi bakteri yang telah disamakan kekeruhannya tersebut kemudian dioleskan menggunakan ose steril secara merata di permukaan media *Nutrient Agar*. Ekstrak biji pepaya diencerkan dengan menggunakan pelarut DMSO 5 % sehingga didapatkan konsentrasi 25 %, 55 %, 85 %. Cakram kosong yang direndam kedalam konsentrasi larutan ekstrak selama 15-30 menit kemudian diletakan di atas permukaan medium agar steril di dalam *laminar air flow*. Cawan petri yang berisi bakteri dalam cakram kosong yang telah direndam pada larutan ekstrak kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk berupa

zona terang yang berada disekitar cakram kemudian diukur menggunakan penggaris sebagai diameter zona hambat.

3.9 Jalannya Penelitian

Kelompok I : Kontrol negatif (DMSO 5 %)

Kelompok II : Kontrol positif (krim gentamisin)

Kelompok III : Ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi 25%

Kelompok IV : Ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi 55%

Kelompok V : Ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi 85%

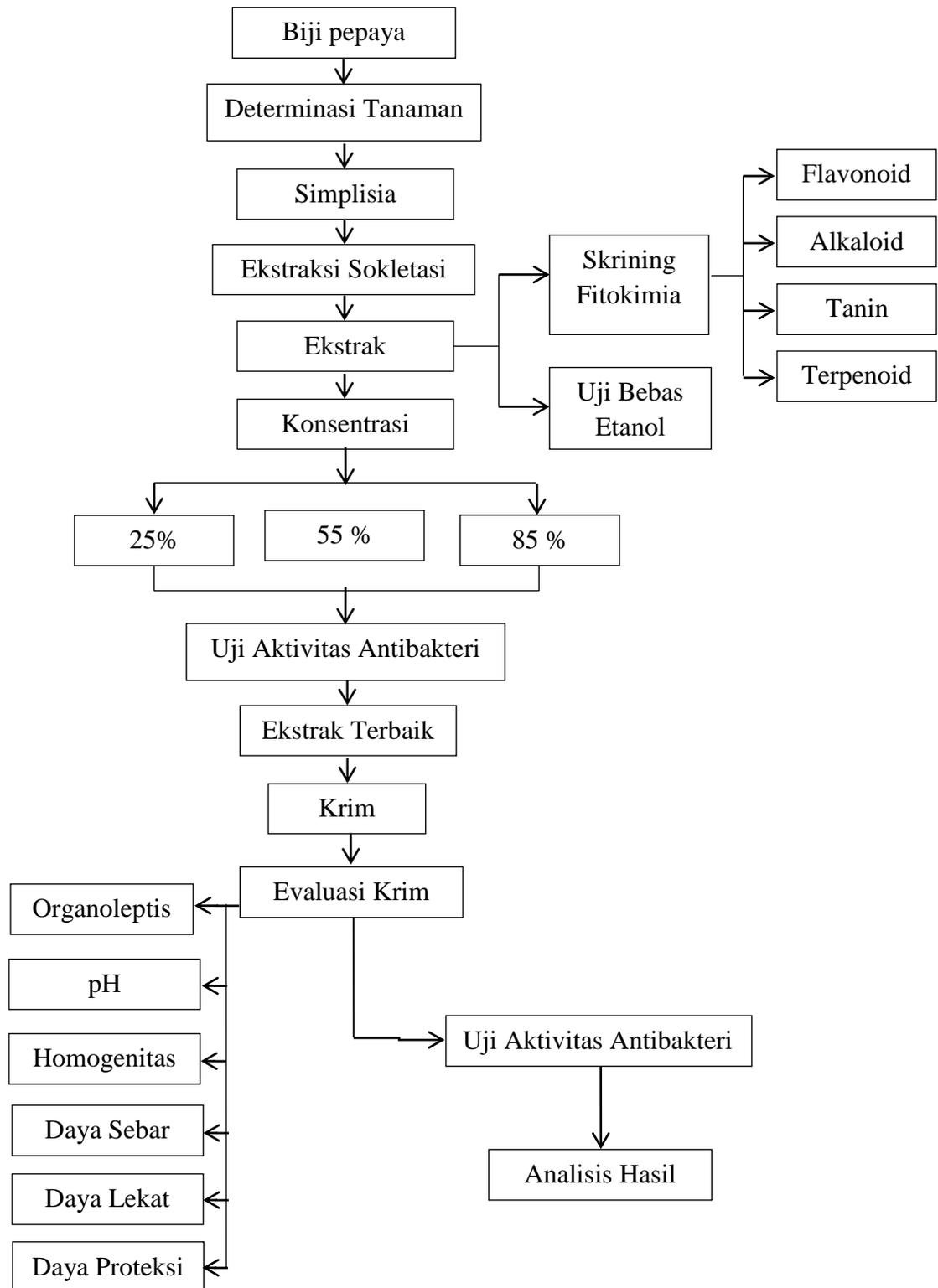
Penelitian ini dimulai dari determinasi tanaman pepaya dan selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia serbuk dari 2,5 kg biji pepaya. Simplisia tersebut dilakukan uji kadar air dan susut pengeringan. Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi, sebanyak 30.130 g simplisia serbuk diekstraksi menggunakan metode soklet dengan pelarut etanol 70 % dan diperoleh ekstrak biji pepaya. Ekstrak biji pepaya kemudian dilakukan uji bebas etanol, skrining fitokimia (flavonoid, alkaloid, tanin dan terpenoid). Ekstrak tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 25%, 55%, 85% dan diuji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram dan diperoleh daya hambat. Ekstraksi dengan seri konsentrasi yang menghasilkan daya hambat terbaik selanjutnya akan dibuat dalam formulasi krim. Krim tersebut kemudian dilakukan evaluasi sediaan dan uji aktivitas antibakteri. Evaluasi sediaan yang dilakukan meliputi uji organoleptik (bentuk, bau dan warna), pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat dan daya proteksi. Uji aktivitas antibakteri krim terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan diperoleh daya hambat. Daya hambat tersebut kemudian akan dilakukan analisis hasil dengan menggunakan aplikasi SPSS 16.

3.10 Analisis Data

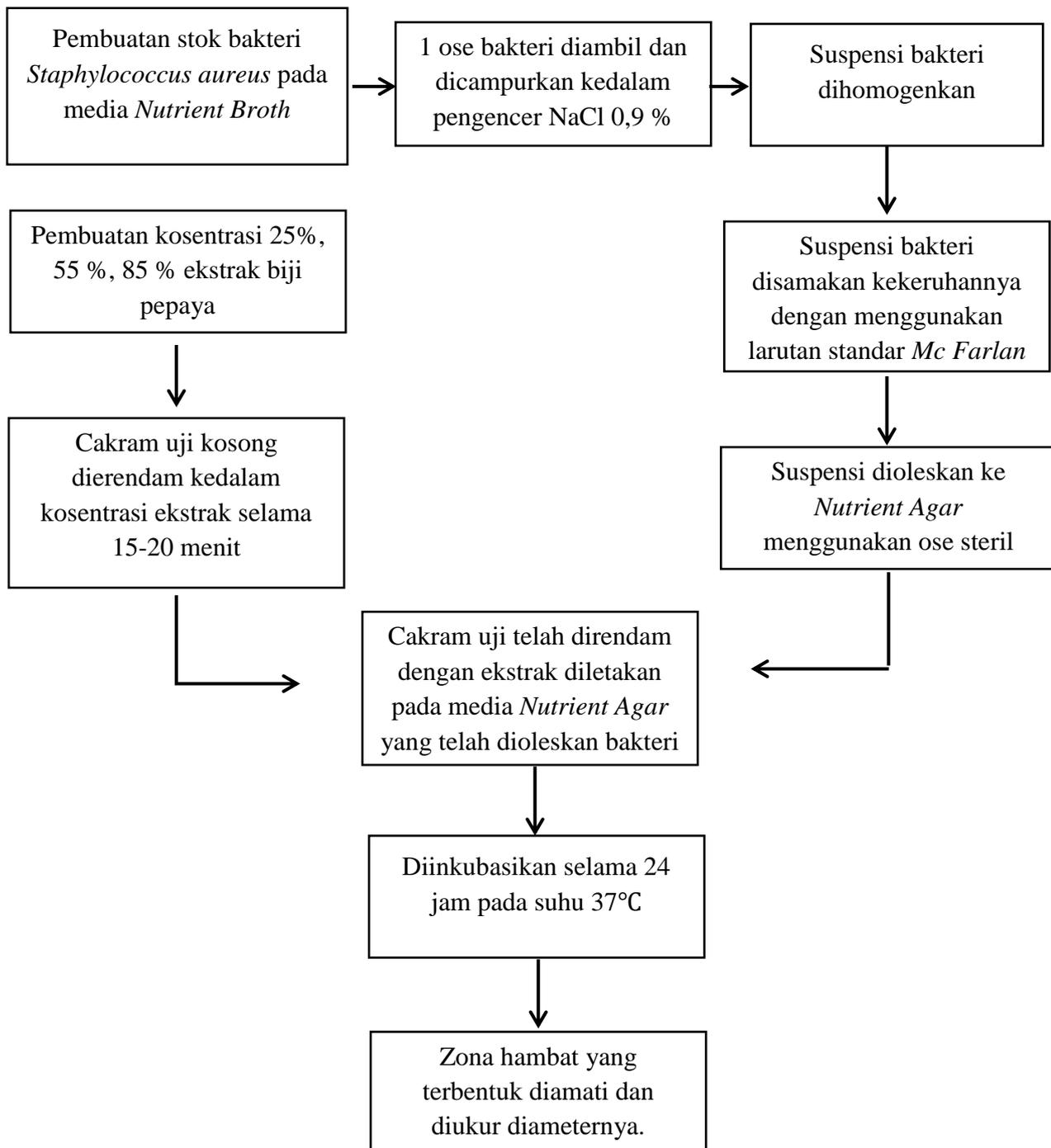
Pengolahan dan analisa data dilakukan dengan menggunakan program SPSS hal ini berfungsi untuk melihat apakah perbedaan efektifitas yang terjadi dari masing-masing cakram uji yang telah berisi ekstrak biji pepaya dengan kosentrasi 25%, 55%, 85%, kontrol negatif dan kontrol positif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherrichia coli*. Pengolahan data dapat dilakukan setelah penentuan normalitas. Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik dan jika data tidak berdistribusi normal, dapat digunakan dalam statistik non parametrik. Uji normalitas dilakukan dengan *Kolmogorov-Smirnov*. Data berdistribusi normal jika $\text{Sig} > 0,05$ dan jika $\text{Sig} < 0,05$ maka data tidak berdistribusi normal (Sujarweni, 2012).

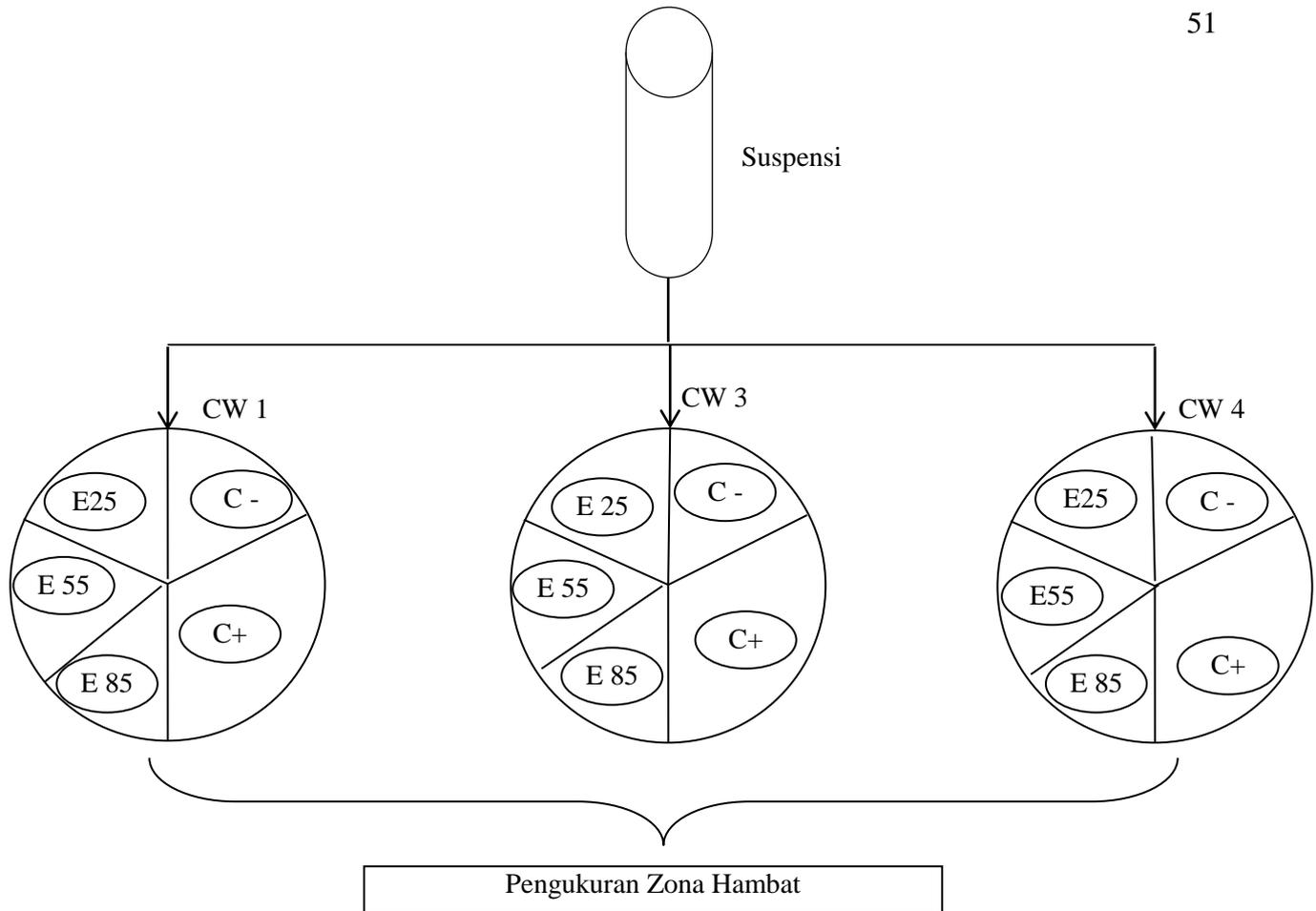
Data yang terdistribusi normal, selanjutnya dianalisis dengan *One-Way Anova*. Data diterima jika $\text{Sig} > 0,05$ dan jika $\text{Sig} < 0,05$ maka data ditolak (Yamin & Kurniawan, 2014). Asumsi *One-Way Anova* dilakukan dengan uji homogenitas yang bertujuan untuk menguji kesamaan(homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel-sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistics*. H_0 ditolak jika $p \text{ value } \textit{levene statistics} < 0,05$ (Yamin & Kurniawan, 2014).

3.11 Jalan Penelitian



Gambar 1. Rancangan Penelitian

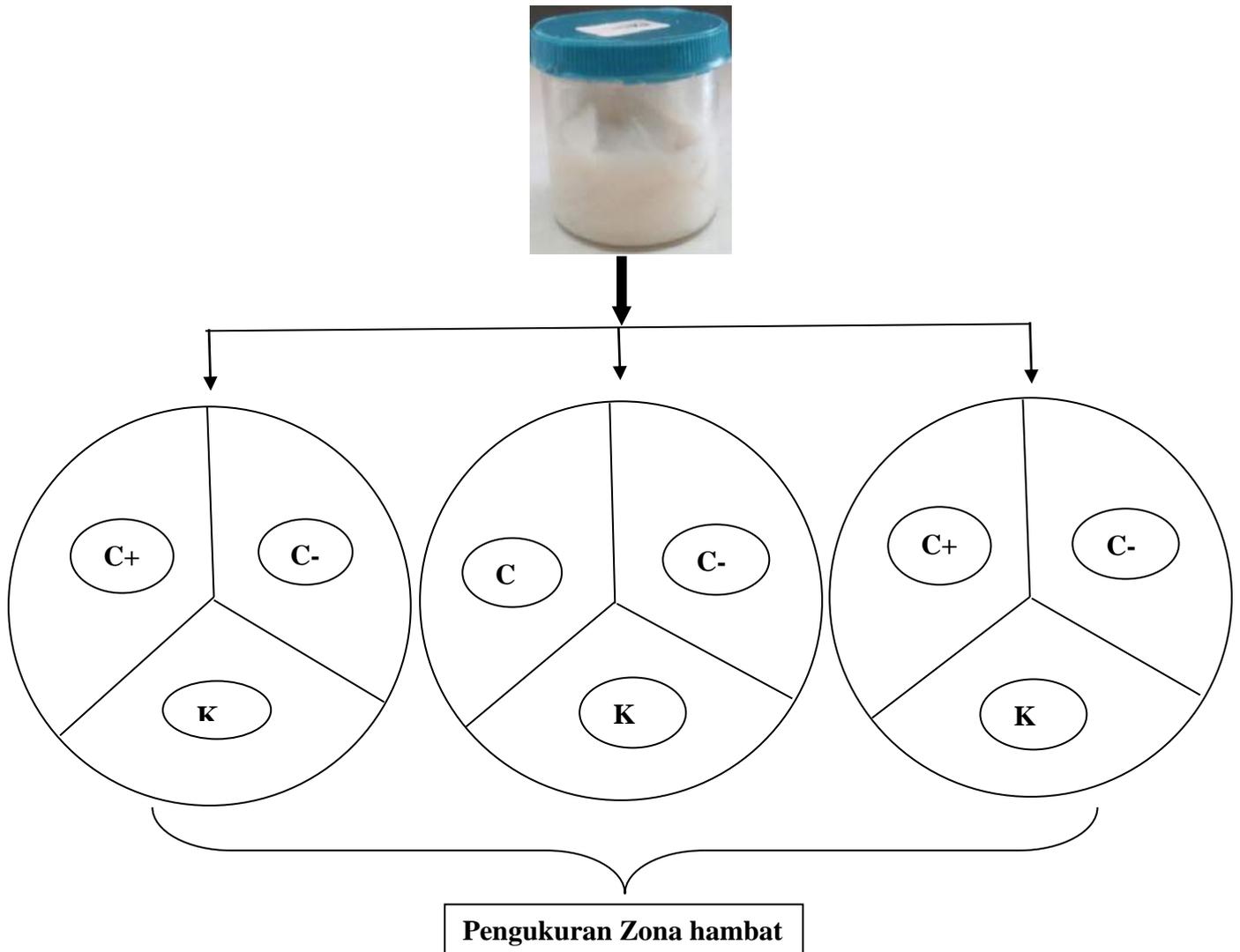




Gambar 2 Pengujian ekstrak dan pengukuran zona hambat

Keterangan:

- C- dan C+ : Kontrol negatif dan kontrol positif
- E25 : Ekstrak biji pepaya konsentrasi 25%
- E55 : Ekstrak biji pepaya konsentrasi 55%
- E85 : Ekstrak biji pepaya konsentrasi 85%



Gambar 3 Pengujian krim ekstrak dan pengukuran zona hambat

Keterangan:

C- dan C+ : Kontrol negatif dan kontrol positif

K E : Krim ekstrak biji pepaya konsentrasi 25%

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1 Data Mentah

4.1.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman terlebih dahulu dilakukan untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan. Determinasi tanaman ini dilakukan di UPT Materia Medica Batu Malang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman pepaya (*Carica papaya L*) dari famili *Caricaceae*.

4.1.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Tabel 4.1 Hasil Uji Kadar Air

Sampel	Sebelum Dioven (g)	Sesudah Dioven (g)	Persentase Kadar Air
Biji Pepaya	10	9,05	9,5 %

Rumus :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot simplisia sebelum di oven} - \text{Bobot simplisia sesudah di oven}}{\text{Bobot simplisia sebelum di oven}} \times 100\%$$

4.1.3 Uji Susut Pengerinan

Tabel 4.2 Hasil Uji Susut Pengerinan Biji Pepaya

Sampel	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Persentase Penyusutan
Biji pepaya	1.900	950	50 %

Rumus :

$$\% \text{ Susut pengerinan} = \frac{\text{Bobot Kering}}{\text{Bobot Basah}} \times 100\%$$

4.1.4 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Tabel 4.3 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Biji Pepaya

Sampel	Hasil	Keterangan
Biji pepaya	+	Tidak tercium bau ester

4.1.5 Skrining Fitokimia

Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Pepaya

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Mg, HCl pekat	+	Terbentuknya warna orange
Tanin	FeCl ₃ 1%	+	Terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau
Terpenoid	Pereaksi Liebermann-Burchard	+	Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet
Alkaloid	Pereaksi Wagner	+	Terdapat endapan coklat muda
	Pereaksi Dragendorff	+	Terbentuk nya warna jingga dan endapan coklat muda

4.1.6 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Tabel 4.5 Hasil Indentifikasi *Staphylococcus aureus*

Sampel	Hasil	Keterangan
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Menunjukkan warna ungu bergerombol

4.1.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

abel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Uji Antibakteri Biji Pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*

Sampel	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Ekstrak biji pepaya 25 %	21,5 mm	19 mm	22,5 mm	21 mm

Ekstrak biji pepaya 55%	24,5 mm	25,5 mm	24 mm	24,6 mm
Ekstrak biji pepaya 85%	15 mm	16 mm	19 mm	16,6 mm
Kontrol (+)	24 mm	25 mm	24 mm	24,3 mm
Kontrol (-)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Keterangan : kontrol (+) yaitu Krim Gentamisin, Kontrol (-) yaitu DMSO 5%

4.1.8 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Biji Pepaya terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Biji Pepaya terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sampel	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Krim ekstrak biji pepaya konsentrasi 55%	23 mm	24,5 mm	24,5 mm	24 mm
Kontrol (+)	26 mm	26 mm	25 mm	25,5 mm
Kontrol (-)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Keterangan : kontrol positif (+) yaitu krim gentamisin, kontrol negatif (-) yaitu air suling steril.

4.1.9 Evaluasi Krim

Tabel 4.8 Hasil Evaluasi Krim

Parameter	Hari Ke		
	0	14	28
Organoleptis			
- Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid
- Warna	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan
- Bau	Berbau khas	Berbau khas	Berbau khas

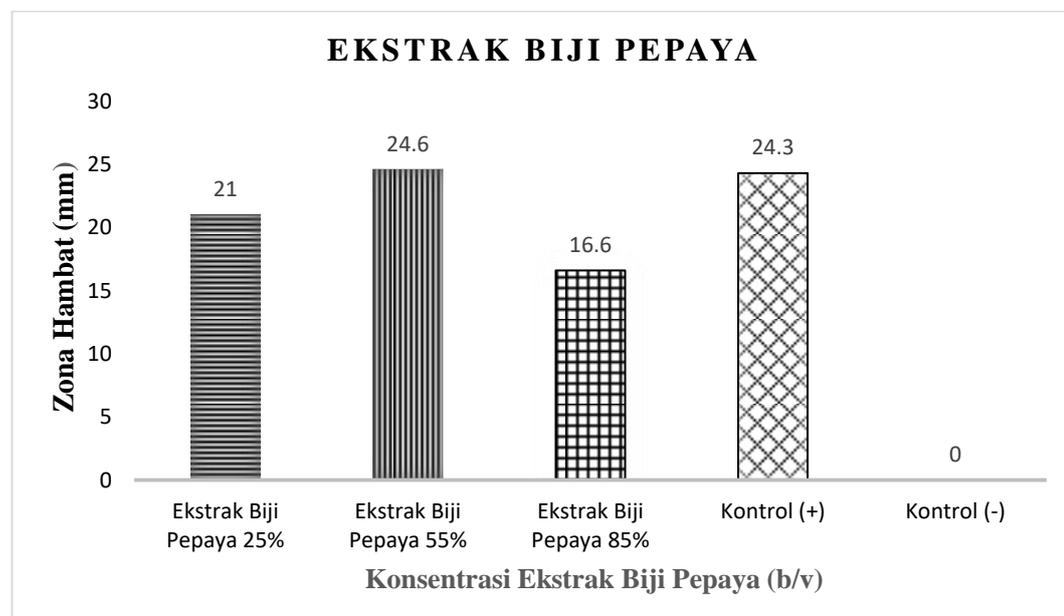
Ph	6	6	6
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
Daya Sebar	4,75 cm	4,87 cm	5,5 cm
Daya Lekat	1,86 detik	2,62 detik	2,23 detik
Daya Proteksi	Tidak terdapat warna merah muda	Tidak terdapat warna merah muda	Tidak terdapat warna merah muda

4.2 Data Olahan

4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya

Tabel 4.9 Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Biji Pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD
Ekstrak Biji Pepaya 25%	21 \pm 1,80
Ekstrak Biji Pepaya 55%	24,6 \pm 0,50
Ekstrak Biji Pepaya 85%	14,6 \pm 5,13



Gambar 4.1 Diamter zona hambat ekstrak Ekstrak Biji Pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*

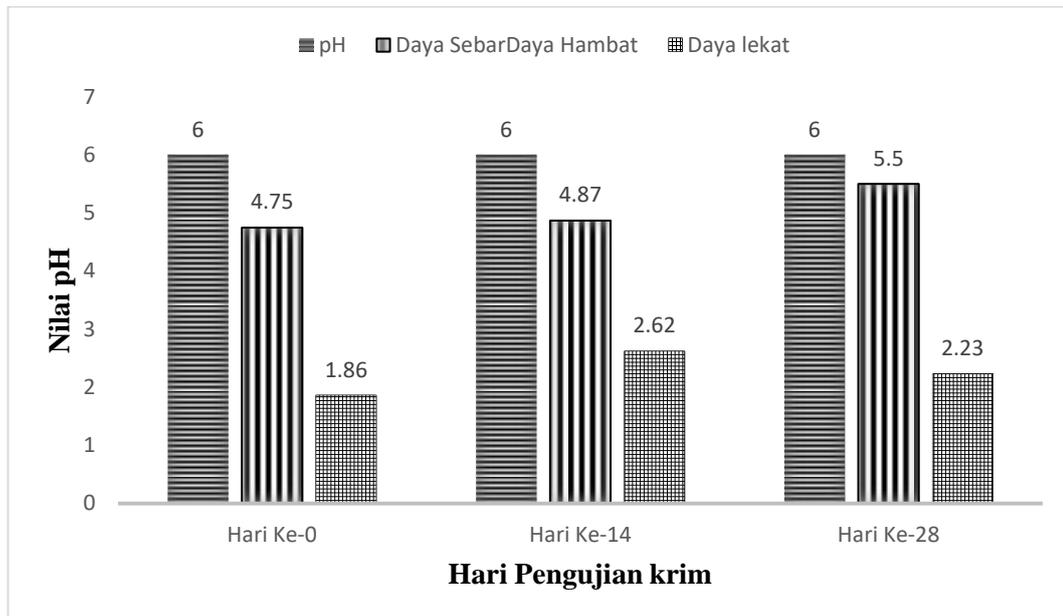
Tabel 4.10 Analisis hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya

Analisis Data	Metode	Sig.
Uji Normalitas	<i>Kolmogrov-Smirnov Test</i>	0,200
Uji Homogenitas	<i>Levene Statistic</i>	0,250
Analisa Hasil	<i>One-Way ANOVA</i>	0,003

4.2.2 Evaluasi Krim

Tabel 4.11 Hasil evaluasi krim

Uji	Krim Hasil	Krim Standar
Organoleptis		
a. Bentuk	Semi solid	Semi solid
b. Warna	Putih coklat	Putih
c. Bau	Bau khas	-
Homogenitas	Homogen	Homogen
pH	6,00±0,00	4,5 – 6,5
Daya Sebar	5,04±0,40	5-7 cm
Daya Lekat	2,2±0,38	>3 detik
Daya Proteksi	Tidak ada noda merah	Tidak ada noda merah

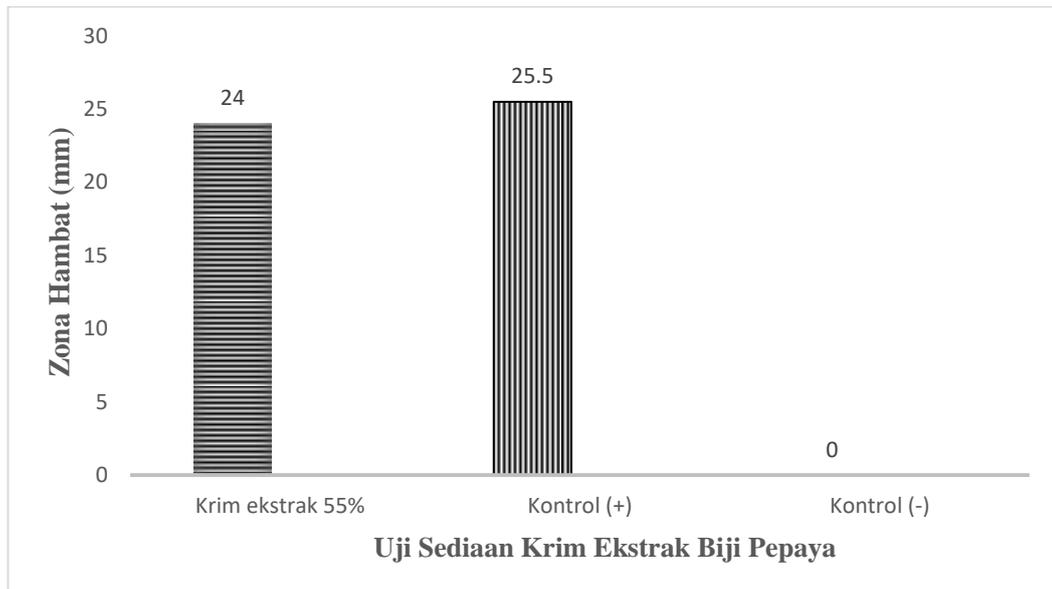


Gambar 4.2 Stabilitas krim Ekstrak Biji Pepaya 55%

4.2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Biji Pepaya

Tabel 4.12 Diameter Zona Hambat Krim Ekstrak Biji Pepaya 55 % terhadap *Staphylococcus aureus*

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD
Krim Ekstrak 55%	24 \pm 0,86
Kontrol (+)	25,5 \pm 0,57
Kontrol (-)	0,00 \pm 0



Gambar 4.3 Diamter zona hambat sediaan krim ekstrak biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi sampel tanaman dilakukan di Materia Medica Batu Malang. Hasil determinasi tersebut menunjukkan bahwa sampel tanaman akan yang digunakan untuk penelitian adalah spesies *Carica papaya L.* Dengan klasifikasi tanaman, yaitu :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionota (Tumbuhan berpembuluh)
Super divisi	: Spermatophyta (Berbiji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan Berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Violales
Suku	: Caricaceae
Marga	: Carica
Jenis	: <i>Carica papaya L.</i>
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a-1. (Lampiran 2)

5.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Pengujian kadar air dalam serbuk simplisia ini bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar air yang terkandung didalam simplisia tersebut, hal ini bertujuan untuk ketahanan simplisia dalam penyimpanan agar terhindar dari pertumbuhan jamur dalam simplisia. Kadar air yang diperbolehkan dalam simplisia adalah tidak lebih dari 10 %, karena reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air simplisia kurang dari 10 % sehingga penjamuran tidak terjadi (BPOM, 2010). Hasil penelitian menunjukkan presentase kadar air simplisia biji pepaya setelah dilakukan tiga kali replikasi yaitu sebesar 9,5%, dengan hasil ini simplisia biji pepaya memenuhi syarat kadar air dalam simplisia yaitu tidak lebih dari 10 %.

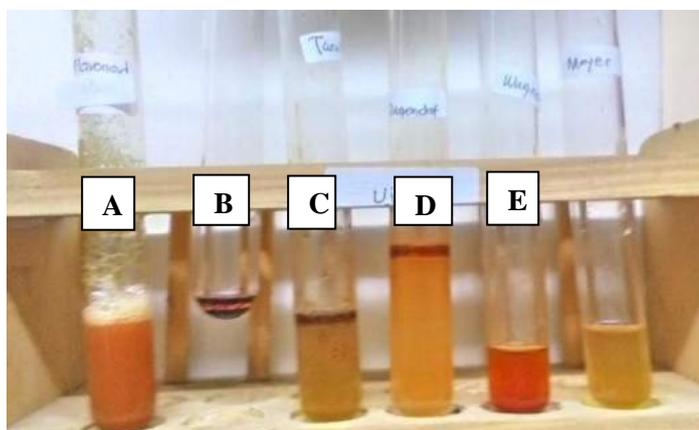
5.3 Uji Susut Pengerinan

Uji susut pengerinan ini bertujuan untuk menetapkan batasan maksimal rentang besarnya bobot senyawa yang hilang pada saat proses pengerinan, saat pengerinan tidak hanya menghilangkan kadar air yang terkandung pada sampel tetapi juga ada senyawa yang juga ikut menguap, misalnya minyak atsiri dan sisa pelarut organik (Rizqa, 2010). Susut pengerinan simplisia biji pepaya pada penelitian ini adalah 50 %.

5.4 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol dalam ekstrak bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan bebas dari etanol karena etanol juga memiliki sifat antibakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi aktivitas antibakteri ekstrak saat pengujian aktivitas antibakteri (Sumiati, 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya positif bebas dari etanol yang di tandai dengan tidak ada bau ester yang tercium (Depkes RI, 1995).

5.5 Skrining Fitokimia



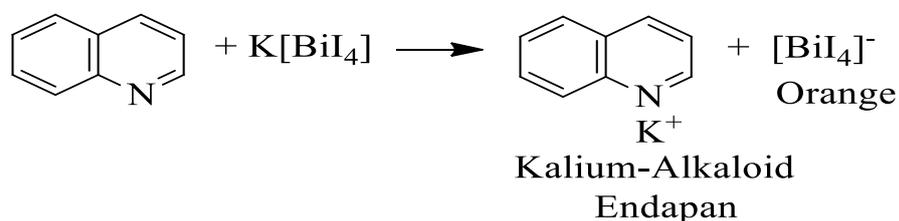
Gambar 5.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Biji Pepaya

Keterangan :

- A: Hasil uji fitokimia flavonoid
- B: Hasil uji fitokimia terpenoid
- C: Hasil uji fitokimia tanin
- C: Hasil uji fitokimia alkaloid dengan pereaksi Dagendrof
- D: Hasil uji fitokimia alkaloid dengan pereaksi Wagner

Skrining fitokimia ini dilakukan dengan tujuan untuk memastikan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam biji pepaya. Menurut penelitian warisno (2003), kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam biji pepaya yaitu golongan terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan maka didapatkan hasil (Gambar 5.5) bahwa ekstrak biji pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid.

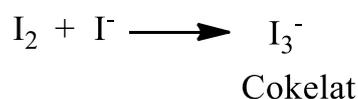
Pada uji alkaloid ekstrak biji pepaya dilakukan uji pada dua pereaksi yaitu dragendroff dan wagner, kedua pereaksi ini menunjukkan adanya alkaloid pada ekstrak biji pepaya dengan ditandai warna yang menjadi khas alkaloid. Hasil positif alkaloid pada dragendroff ditandai dengan terbentuknya warna jingga dan terdapat endapan coklat muda sampai kuning. Endapan ini adalah kalium-alkaloid. Uji dengan menggunakan dragendroff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Berikut reaksi yang terjadi pada uji alkaloid dengan pereaksi dragendroff :

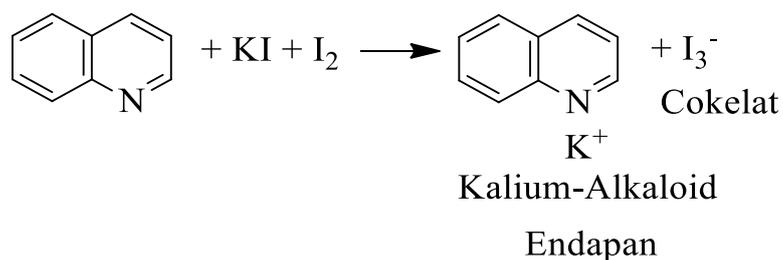


Gambar 5.2 Reaksi alkaloid dengan reagen dragendroff

Hasil positif alkaloid pada uji wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat mudah sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pembuatan reaksi wagner, iodin bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodide menghasilkan ion I_3^- yang berwarna coklat, sedangkan ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

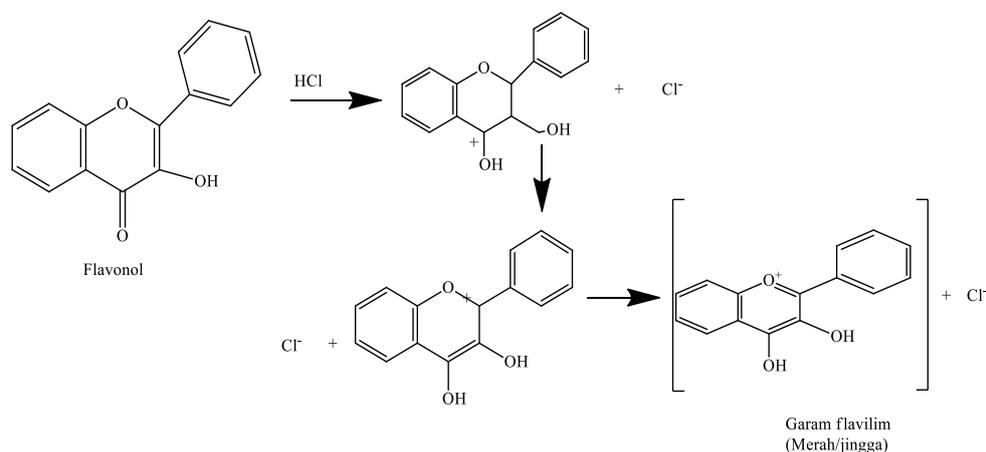
Berikut reaksi yang terjadi pada uji alkaloid dengan pereaksi wagner :





Gambar 5.3 Reaksi alkaloid dengan reagen wagner

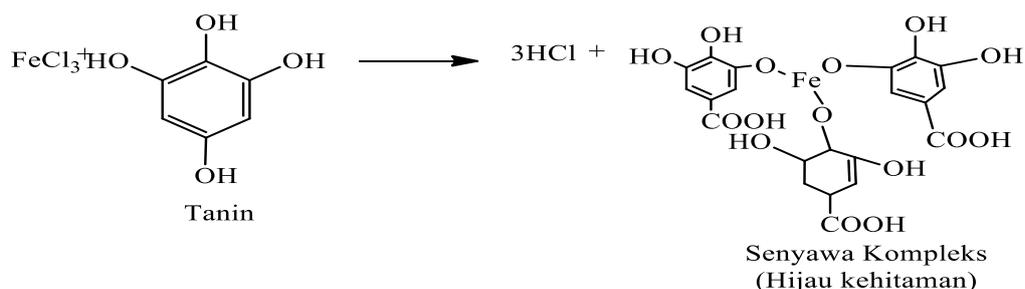
Pada uji flavonoid ekstrak biji pepaya postif mengandung senyawa flavonoid dengan terbentuknya warna kuning kejinggaan akibat adanya reduksi dengan magnesium dan HCl pekat yang menghasilkan warna jingga pada uji flavonoid ini (Yuliasuti *et al.*,2017). Magnesium dan asam klorida pada uji wilstater bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H₂ sedangkan logam Mg dan HCl pekat pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah tua atau jingga. Jika didalam suatu ekstrak tumbuhan terdapat senyawa flavonoid akan terbentuk garam flavillum saat penambahan Mg dan HCl yang berwarna merah atau jingga, dengan reaksi sebagai berikut :



Gambar 5.4 Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium (Flavonoid)

Pada uji tanin ekstrak biji pepaya menunjukkan positif mengandung tanin karena terbentuknya warna hijau kehitaman yang disebabkan karena adanya reaksi

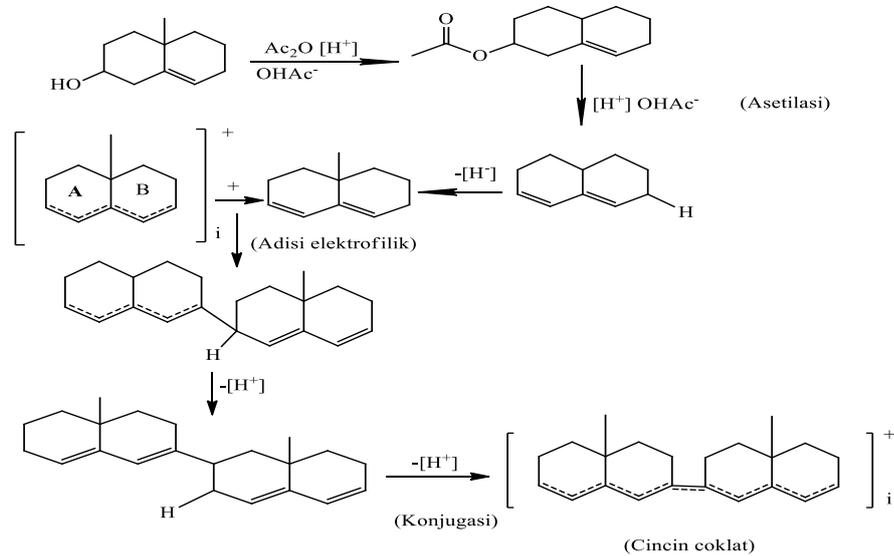
antara FeCl_3 dengan salah satu gugus hidroksil aromatis (Sangi, Simbala, & Makang, 2008). Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3 1 % karena tanin akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks. Berikut reaksi yang terjadi dari uji tanin dengan FeCl_3 1 %



Gambar 5.5 Reaksi Uji Tanin Dengan FeCl_3 1 %

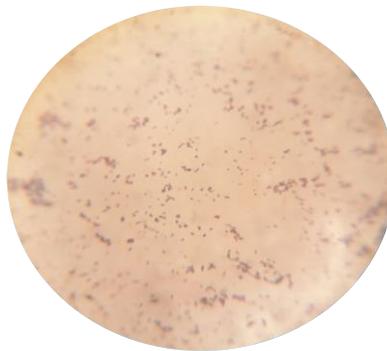
Pada uji terpenoid, menurut penelitian Sukadana *et al.*, (2008), biji pepaya mengandung senyawa triterpenoid aldehida yang mempunyai potensi sebagai antibakteri. Identifikasi terpenoid menggunakan uji Lieberman-Burchard (anhidrida asetat- H_2SO_4 pekat), ekstrak biji pepaya setelah ditambahkan dengan pereaksi kloroform, asam asetat pekat anhidrat, dan asam sulfat pekat terjadi pembentukan cincin kecoklatan pada pembatasan larutan hal ini membuktikan bahwa ekstrak biji pepaya positif mengandung terpenoid (Harborne, 1987). Perubahan ini dikarenakan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip reaksi dalam mekanisme reaksi uji terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik diikuti dengan pelepasan hidrogen beserta elektronnya dilepas akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin coklat.

Berikut reaksi yang terjadi dari uji terpenoid dengan Liebermann-Burchard (anhidrida asetat- H_2SO_4 pekat) :



Gambar 5.6 Reaksi Terpenoid dengan Liebermann-Burchard

5.6 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

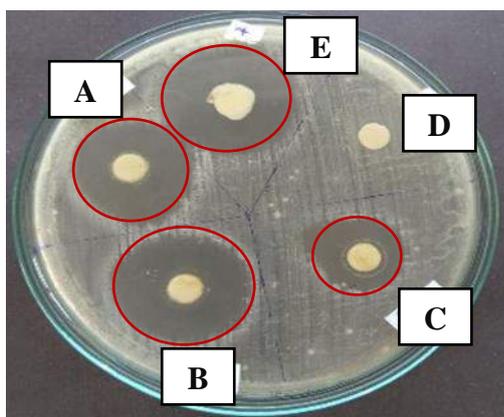


Gambar 5.7 Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Identifikasi *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan uji pewarnaan gram. Hasil penelitian pada Gambar 5.6 menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi positif *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuk warna ungu dan bergerombol pada saat diidentifikasi dibawah mikroskop hal ini dikarenakan *Staphylococcus aureus* merupakan gram positif yang dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet sehingga sel bakteri *Staphylococcus aureus* akan

terlihat berbentuk kokus berwarna ungu (gram positif), bergerombol seperti anggur atau terlihat hanya satu bakteri (Puspawati, Adirestuti, & Abdulbasith, 2017).

5.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Carica papaya L* Terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar 5.8 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

A: Ekstrak biji pepaya konsentrasi 25 %

B: Ekstrak biji pepaya konsentrasi 55 %

C: Ekstrak biji pepaya konsentrasi 85 %

D: Kontrol negatif DMSO 5%

E: Kontrol positif krim gentamisin

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya ini dilakukan dengan menggunakan metode Disc Diffusion Kirby-Bauer. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak biji pepaya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak biji pepaya dibuat dalam beberapa seri konsentrasi yaitu konsentrasi 25 %, 55 %, dan 85 %, masing-masing konsentrasi memberikan efek antibakteri yang ditandai dengan zona bening yang dihasilkan. Berdasarkan pada hasil penelitian ini semua seri konsentrasi ekstrak biji pepaya memberikan respon zona hambatan yang kuat, dengan menggunakan pelarut

DMSO 5 %. Menurut Kumar., *et al* (2008), DMSO 5% dapat melarutkan senyawa non polar dan senyawa polar secara sempurna tanpa memberikan aktivitas antibakteri . Pelarut DMSO 5 % digunakan sebagai kontrol negatif untuk menunjukkan bahwa tidak ada efek antibakteri yang dihasilkan, kontrol negatif menggunakan DMSO 5 % pada beberapa bakteri menunjukkan adanya sedikit zona bening pada uji diameter zona hambat, hal ini disebabkan oleh cakram yang ditetesi DMSO 5% saat penanaman pada uji diameter zona hambat belum kering sehingga menimbulkan zona bening pada uji diamter zona hambat. DMSO memiliki aktivitas antibakteri pada kosentrasi diatas 5 % (Kumar *et al.*, 2008). Kontrol positif yang digunakan adalah krim gentamisin. Krim ini merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang mempunyai potensi tinggi dan berspektrum luas terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan sifat bakterisid.

Berdasarkan hasil penelitian yang tertera diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % biji pepaya (*Carica papaya L*) aktif sebagai antibakteri dikarenakan komponen kimia yang terkandung dalam ekstrak. Pada penelitian Paramesti (2014) Kosentrasi yang memberikan hambatan yang lebih efektif adalah ekstrak dengan kosentrasi 75 %, tetapi pada penelitian ini setelah dilakukan uji dengan kosentrasi ekstrak seperti yang dilakukan penelitian sebelumnya yaitu kosentrasi 5 %, 25 %, 50 %, dan 75 % tidak memberikan zona hambat yang baik atau efektif, sehingga kosentrasi dinaikan menjadi 25 %, 55 % dan 85 %. Pada ketiga kosentrasi ekstrak yang dibuat semuanya memiliki sifat antibakteri hal ini ditunjukkan dengan zona bening yang dihasilkan hanya berbeda pada besarnya zona hambat. Ekstrak dengan kosentrasi 55 % memberi zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan kosentrasi 85 %. Menurut Elifa (2010) dan Dewi dalam Tambun (2015), diameter zona hambat tergantung pada kecepatan difusi dapat dipengaruhi oleh perbandingan jumlah pelarut dan zat terlarut. Dalam keadaan tertentu antibakteri dapat bekerja secara optimal pada kosentrasi yang rendah. Hasil pengujian fitokimia ekstrak biji pepaya mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan

bahwa senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakteri adalah golongan terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan tanin (Warisno, 2008).

5.8 Hasil Uji Analisa Data Ekstrak Biji Pepaya

Uji statistik efektifitas ekstrak biji pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS karena data hasil penelitian lebih dari 2 kelompok dan berpasangan maka dilakukan uji kebermaknaan dengan menggunakan *One way ANOVA*. Sebelum dilakukan uji ke *One way ANOVA* ada 2 syarat yang harus dipenuhi data yaitu distribusi data normal dengan nilai $p > 0,05$ dan variasi data normal dengan nilai $p > 0,05$. Dari hasil uji statistik *Kolmogrov-Smirnov Test* untuk uji normalitas distribusi data didapatkan hasil distribusi yang normal yaitu 0,200 yang berarti $p > 0,05$, dari hasil ini maka dilanjutkan ke uji *One way ANOVA* dan didapatkan hasil 0,003. Data ini disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak. Ekstrak dengan konsentrasi 25 % memiliki perbedaan yang signifikan terhadap ekstrak dengan konsentrasi 85 % tetapi dengan konsentrasi 55 % tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Ekstrak dengan konsentrasi 55 % tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 25 % tetapi dengan ekstrak konsentrasi 85 % memiliki perbedaan yang signifikan. Ekstrak dengan konsentrasi 85 % memiliki perbedaan yang signifikan terhadap ekstrak konsentrasi 25 % dan 55 %, jadi ekstrak yang lebih efektif dalam penghambatan bakteri antara ekstrak 85 % dan 55 % adalah ekstrak 55 % yang lebih efektif

5.9 Evaluasi Sediaan Krim

5.9.1 Uji Organoleptis



Gambar 5.9 Hasil Uji Organoleptis Sediaan Krim Ekstrak Biji Pepaya

Hasil pengamatan organoleptis sediaan krim ekstrak biji pepaya pada hari ke-0 menunjukkan bahwa formula memiliki warna putih kecoklatan, hal ini karena ditambahkan ekstrak biji pepaya kedalam basis krim yang berwarna putih, bau khas biji pepaya, memiliki tekstur krim yang lembut, tidak lengket dan sedikit berminyak setelah diaplikasikan ke kulit. Setelah dilakukan penyimpanan selama 21 hari krim tidak mengalami perubahan warna dan tidak mengalami perubahan tekstur dan tetap berbau khas biji pepaya.

5.9.2 Uji pH

Pengukuran nilai pH pada sediaan krim ekstrak biji pepaya dilakukan pada hari minggu ke- 1 minggu ke- 3 dan minggu ke- 5 selama satu setengah bulan. Pengukuran pH bertujuan untuk mengetahui kesesuaian derajat keasaman sediaan krim dengan kulit agar saat digunakan tidak menyebabkan iritasi kulit. Hasil pengukuran nilai pH dapat dilihat pada table 4.1. Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa pada minggu ke-1, minggu ke- 3 dan minggu ke- 5 nilai pH krim masing-masing yaitu 6. Setelah dilakukan penyimpanan selama satu setengah bulan nilai pH dari sediaan krim tidak mengalami perubahan, sehingga sediaan krim ekstrak biji pepaya ini dapat dikatakan sudah sesuai dengan pH kulit karena sediaan krim dapat ditoleransi pada kulit dengan baik jika sesuai dengan rentang pH kulit yaitu interval 6 - 7 (Safitri, Puspita, & Yurina, 2014). Jika nilai pH krim yang terlalu basa dapat menyebabkan kulit menjadi bersisik, sedangkan pH yang terlalu asam dapat menimbulkan iritasi kulit (Rahmatika, 2017).

Menurut SNI, pH krim yang baik yaitu 4,5 – 8 yang ideal sehingga dapat disimpulkan bahwa krim ekstrak biji pepaya ini memiliki pH yang baik sehingga tidak menyebabkan iritasi dan kulit bersisik . Pengujian pH juga bertujuan untuk mengetahui nilai derajat keasaman sediaan krim, nilai pH juga digunakan untuk menjadi parameter dalam menentukan stabilitas suatu sediaan. Berdasarkan tabel dapat diketahui bahwa tidak terjadi peningkatan nilai pH yang terjadi pada minggu pertama sampai minggu terakhir hal ini menunjukkan bahwa sediaan krim tetap stabil selama penyimpanan.

5.9.3 Uji Homogenitas



Gambar 5.10 Hasil Uji Homogenitas Krim Ekstrak Biji Pepaya

Pengamatan homogenitas tekstur sediaan krim dilakukan pada minggu ke-1, minggu ke-3 dan minggu ke-5 selama satu bulan setengah. Hal ini bertujuan untuk melihat dan mengetahui apakah bahan-bahan yang digunakan dalam sediaan krim sudah tercampur semua. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa sediaan krim ekstrak biji pepaya homogen pada hari minggu ke-1, minggu ke-3 dan minggu ke-5. Homogenitas tekstur sediaan krim ditunjukkan dengan tidak adanya partikel kasar atau gumpalan-gumpalan pada kaca objek. Homogenitas ini dibuktikan dengan warna krim yang merata untuk setiap formula dan tidak ditemukannya partikel dalam krim karena bahan-bahan dalam krim sudah tercampur dengan baik (Putri, 2013).

5.9.4 Uji Daya Sebar



Gambar 5.11 Uji Daya Sebar Sediaan Krim Ekstrak Biji Pepaya

Pengujian daya sebar pada menunjukkan kemampuan daya menyebar formula krim dengan jenis minyak dalam air yang mudah menyebar karena adanya gliserin yang berfungsi sebagai humektan untuk mempertahankan tingkat kandungan air dalam krim dengan mengurangi penguapan air sehingga krim lebih mudah menyebar dan tetap terjaga kelembabannya (Putri, 2013). Besarnya daya sebar dari minggu pertama sampai minggu terakhir pengujian menunjukkan sediaan krim relatif stabil berada dikisaran 4 – 5 cm yang dapat dikatakan sediaan memiliki daya sebar yang baik karena menurut Genatrika et al, (2016) daya Sebar krim yang baik 5-7 cm (Genatrika, Nurkhikmah, & Hapsari, 2016). Namun penelitian lain menjelaskan daya menyebar tidak bisa dijadikan sebagai data absolut karena tidak ada literatur yang menyebutkan angka idealnya secara pasti meskipun demikian sediaan krim diharapkan bisa menyebar dengan luas agar bisa menutupi daerah yang diobati (Putri, 2013).

5.9.5 Uji Daya Lekat



Gambar 5.12 Uji Daya Lekat Krim Ekstrak Biji Pepaya

Hasil uji daya lekat pada tabel menunjukkan rata-rata daya lekat, semakin lama waktu melekat krim maka krim juga akan melekat semakin lama pada kulit sehingga akan semakin banyak zat aktif dari krim yang diabsorpsi oleh kulit (Putri, 2013). Daya lekat sediaan krim ekstrak biji pepaya setelah dilakukan pengujian daya lekat adalah kurang dari 4 detik, sehingga tidak sesuai dengan persyaratan daya lekat krim yang baik, karena persyaratan daya lekat krim yang baik yaitu lebih dari 4 detik (Genatrika, Nurkhikmah, & Hapsari, 2016). Kemampuan daya melekat formula krim minyak dalam air cenderung lebih kecil karena mengandung lebih banyak air jika dibandingkan krim air dalam minyak karena daya lekat krim dipengaruhi oleh viskositas semakin tinggi viskositas maka semakin lama waktu melekat krim pada kulit (Putri, 2013).

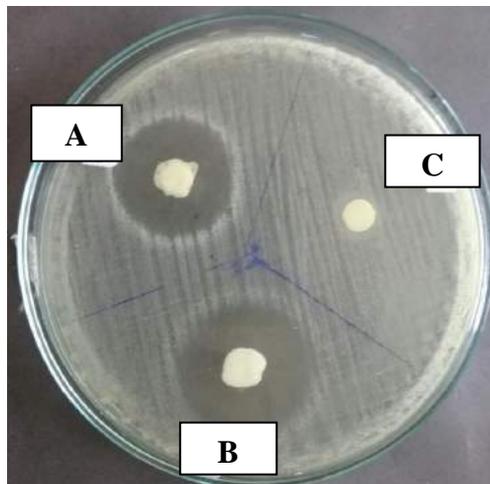
5.9.6 Uji Daya Proteksi



Gambar 5.13 Hasil Uji Daya Proteksi Sediaan Krim Ekstrak Biji Pepaya

Pengujian daya proteksi dilakukan untuk melihat kemampuan proteksi atau perlindungan dari lingkungan luar yang dapat mengurangi efektivitas krim. Berdasarkan hasil uji daya proteksi terhadap sediaan krim ekstrak biji pepaya diketahui tidak menunjukkan noda merah sehingga dapat dikatakan krim memiliki daya proteksi yang baik. Hal ini dibuktikan pada 5 menit uji, semua krim tidak menunjukkan adanya noda merah pada kertas saring (Erawati, Pratiwi, & Zaky, 2016).

5.10 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak *Carica papaya L* terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar 5.14 Hasil Uji Antibakteri Krim Biji Pepaya Terhadap *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

A: Krim Ekstrak biji pepaya 55 %

B: Kontrol positif krim gentamisin

C : Kontrol negatif aquadest steril

Pengujian aktivitas antibakteri krim ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L*) dilakukan dengan menggunakan metode *Dinisc Diffusion Kirby-Bauer*. Tahapan awal yang dilakukan yaitu menggunakan kapas swap steril yang dicelupkan ke dalam suspensi bakteri uji, kemudian diputar beberapa kali dan ditekan ke dinding tabung di atas cairan untuk menghilangkan inokulum yang berlebihan di kapas. Bakteri uji diinokulasikan pada permukaan media agar NA dengan cara mengulaskan kapas berisi suspensi bakteri tadi ke seluruh permukaan media. Prosedur ini diulangi sebanyak empat kali dengan memutar media agar sekitar 180°C. Langkah terakhir adalah mengusap tepi-tepi agar untuk bakteri tumbuh merata pada media (CLSI, 2012). Kertas cakram berdiameter 6 mm yang steril direndam dalam krim ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi sediaan krim 0,5% dari konsenrasi ekstrak 55% yang memiliki zona hambat terbesar diantara konsentrasi ekstrak yang lain. Sebagai kontrol positif yang digunakan adalah gentamisin krim dan kontrol negatif yang digunakan adalah air suling.

Pemilihan ekstrak dengan konsentrasi 55 % untuk pembuatan sediaan krim karena setelah dilakukan pengujian dengan beberapa konsentrasi ekstrak yaitu 25 %, 55 %, 85 %. Konsentrasi 55 % lebih efektif dalam memberikan efek antibakteri yang ditandai dengan zona hambat yang diberikan ekstrak. Pembuatan krim dilakukan dengan beberapa optimasi konsentrasi sediaan krim yaitu krim dengan konsentrasi 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 % dan 0,5 %. Krim dengan konsentrasi 0,5 % memberikan efek antibakteri yang lebih efektif yang ditandai dengan zona hambat yang diberikan sediaan. Dari hasil ini dapat disimpulkan efek antibakteri yang diberikan berdasarkan besarnya ekstrak yang terkandung dalam sediaan tersebut dan tercampur sempurna dengan semua bahan lainnya.

Berdasarkan Tabel 4.1 hasil uji aktivitas antibakteri krim ekstrak biji pepaya memperlihatkan zona hambat yang optimum yaitu sebesar 24 mm yang dapat dikategorikan sangat kuat. Pada pengujian ekstrak biji pepaya menunjukkan besarnya rata-rata zona hambat yaitu 24,6 mm sedangkan pada sediaan krim rata-rata zona hambatnya adalah 24 mm. Hasil ini tidak mempunyai perbedaan jauh antara ekstrak biji pepaya dan sediaan krim ekstraknya. Hal ini dipengaruhi oleh basis yang terdapat dalam krim, basis dapat mempengaruhi sifat fisik suatu sediaan krim dan pelepasan zat aktif yang terkandung dalam krim. Pelepasan zat aktif tergantung pada viskositas sediaan. Berdasarkan prinsipnya, viskositas berbanding terbalik dengan koefisien difusi (kecepatan ekstrak keluar dari basis) (Rahmawati, Sukmawati, & Indrayudha, 2010). Semakin tinggi viskositas maka akan semakin tinggi tahanan dari suatu senyawa obat untuk berdifusi keluar dari basisnya sehingga pelepasan obat dari basisnya menjadi lambat sedangkan semakin kecil viskositas maka akan semakin rendah tahanan dari suatu senyawa obat untuk berdifusi keluar dari basisnya sehingga pelepasan obat dari basisnya menjadi cepat begitu pula sebaliknya (Putri, 2013). Penelitian ini formulasi sediaan nya yaitu minyak dalam air, yang mengandung komponen air lebih banyak dibandingkan jenis krim air dalam minyak sehingga viskositas krim minyak dalam air lebih rendah dibandingkan jenis krim air dalam minyak, sehingga zat aktif ekstrak biji pepaya dapat berinteraksi dan berdifusi keluar dari basisnya memberikan zona hambat.

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil beberapa kesimpulan yaitu :

1. Ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dengan zona hambat pada rata-rata konsentrasi 25 % sebesar 21 mm , 55 % sebesar 24,6 mm , dan pada konsentrasi 85 % sebesar 14,6 mm.
2. Pada penelitian ini, ekstrak biji pepaya yang memberikan zona hambat yang lebih besar adalah ekstrak biji pepaya konsentrasi 55 %. Ekstrak biji pepaya konsentrasi 55% memberikan hambatan yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan klasifikasi efek hambatan Greenwood (1995)
3. Sediaan krim dari ekstrak biji pepaya 55 % dapat memberikan hambatan pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 24 mm.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka disarankan untuk selanjutnya :

1. Dapat melakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri krim ekstrak biji pepaya terhadap bakteri lain.
2. Dapat melakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas antibakteri krim ekstrak biji pepaya terhadap pertumbuhan bakteri dengan metode pengujian lainnya.
3. Sebaiknya dalam pengujian aktivitas antibakteri pada sediaan krim, kontrol negatifnya menggunakan basis dari krim tersebut.
4. Basis sediaan juga harus dilakukan pengujian antibakteri, untuk memastikan apakah basis tersebut berpotensi sebagai antibakteri atau tidak .
5. Sebaiknya tidak memakai bahan (setil alkohol) yang bersifat antibakteri dalam pembuatan sediaan krim antibakteri.

6. Seharusnya dilakukan pengujian viskositas sediaan krim, untuk mengetahui kekentalan sediaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Antia, B., Okokon, J., & Okon, P. (2005). Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of *Persea americana* *Persea americana* Mill. *Indian J Pharmacol* , 37(5), 325 - 326.
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of Microbiological Medial* (Fourth ed). Washington, D.C.: CRC Press.
- Aulia Rahman, I. T. (2017). Perbedaan Total Flavonoid Antara Metode Maserasi Dengan Sokletasi Pada Ekstrak Daun Ramania (*Bouea macrophylla Griff*). *Jurnal Kedokteran Gigi Vol I No 1*
- BPOM. (2010). Monografi Ekstrak Tumbuhan Indonesia, Direktorat Standardisasi Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen BPOM RI, Jakarta.
- CLSI.(2012). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eleventh Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute,. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, 32(1)
- Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia Ed IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (1995). *Materia Medika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. (2007). *Materia Medika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dewi, A.K., Isolasi. Identifikasi, dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* Terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta, *Jurnal Sain Veteriner* 31(2), pp. 138-150
- Ditjen POM. (2007). *Sediaun Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman. 10-11.
- Ditjen POM. (2007). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obal*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman. 10-12.
- Dwidioseputro. 2003. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta. Djambatan
- Erawati, E., Pratiwi, D., & Zaky, M. (2016). Formulation Development And

Evaluation Of Physical Preparation Cream Ethanolic Extract 70% Of Labu Siam Leaves (*Sechium edule (Jacq.)Swartz*). *Farmagazine Vol. 3 No. 1 Februari 2016, 3(1)*.

Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Bandung : ITB.

Genatrika, E., Nurkhikmah, I., & Hapsari, I. (2016). Formulation Of Black Cumin Oil (*Nigella sativa L.*) As Antiacne Cream Against Bacteria *Propionibacterium acnes*. *PHARMACY, 13(02)*, 192 - 201.

Ghazali, I. (2011). *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS19*. Semarang: BP Universitas Diponegoro.

Greenwood. *Antibiotic susceptibility (sensitivity) tes, antimicrobial and chemotherapy*. USA: Mc Graw Hill Company. 1995

Jawetz, Melnick, Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi kedokteran. Edisi 22*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Jawetz, Melnick, Adelberg's. 2007. *Mikrobiologi kedokteran. Edisi 23*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Juliantina. (2009). Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen antibakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia, Vol. 1, No. 1, P. 12-20*.

Kumar CS., VL Dronamraju., Sarada, Rengasamy R. 2008. Seaweed Extract Control thr Iraf Spot Disease of The Medical Plant *Gymnema sylvestre India Journal of Sciense and Technology, vol 1 no 13*.

Kusuma, Sri Agung Fitri. 2010. *Staphylococcus aureus*. Jatinagor Universitas Padjajaran.

Mardiono, S. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya(*Carica papaya L*) terhadap *Escherichia coli*. *Proceeding Seminar Nasional Keperawatan "Complementary Therapy: From Research to Practice"*. STIK Bina Husada Palembang.

Maisarah, A.M., Nurul Arnica, B., A\$mah R., and Fauziah O. 2013. Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*. *International Food Research Journal 20(3)*: 1043-1048.

Malangngia, L. P., Sangi, M., & Paendonga, J. J. (2012). Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*). *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE, 1(1)*, 5 - 10.

Marlinda, M., Sangia, M. S., & Wuntua, A. D. (2012). *Analisis Senyawa*

Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas, Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill Jurnal) MIPA UNSRAT Online, 1(1), 24 - 28.

Martiasih, M.Sidharta,B.,Atmodjo, P. 2012. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap Escherichia coli dan Streptococcus pyogenes*: Fakultas Teknologi Univesitas Atma Jaya Yogyakarta

Maslukhah, Y. L., Widyaningsih, T. D., Waziroh, E., Wijayanti, N., & Sriherfyna, F. H. (2016). Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona palustris BL*) Skala Pilot Plant : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 245-252.

Mulyono, L.M. 2013. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (Carica papaya L) Terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya vol.2 no.2

Paramesti, N. N. (2014). *Efektivitas Ekstrak Biji Pepaya Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Escherichia coli*. Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah Jakarta.

Peter, Jyostna Kiran. Yashab Kumar. Priyanka Pandey. Harison Masih. (2014).*Antibacterial Activity of Seed and Leaf Extract of Carica papaya var. Pusedwarf Linn*. Departemen Mikrobiologi dan Fermentasi Universitas Naini, India. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18711992>)

Pharmacopee Netherland. (1929). *Pharmacopee Netherland* (v ed.). Brussel: Staatsuitgerij's Gravenhthg.

Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga Medical Series. Hal 22-42, 188-189.

Puspadewi, R., Adirestuti, P., & Abdulbasith, A. (2017). Deteksi *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* Pada Jajanan Sirup. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 26-33, 2017, 3(1), 26 - 33.

Putri, V. S. (2013). *FORMULASI KRIM EKSTRAK ETANOL HERBA PEGAGAN (Centella asiatica (L.) Urban) KONSENTRASI 6% DAN 10% DENGAN BASIS COLD CREAM DAN VANISHING CREAM SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP Staphylococcus aureus*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Suarakarta.

Rahayu, S., Nunung, K., & Vina, A. (2015). *Ekstrak Dan Identifikasi Senyawa Favonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami I. al Kimiya*, 2(1), 1 - 8.

Rahmatika, M. (2017). *Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba (Angelica keiskei Koidz) Dengan Setil*

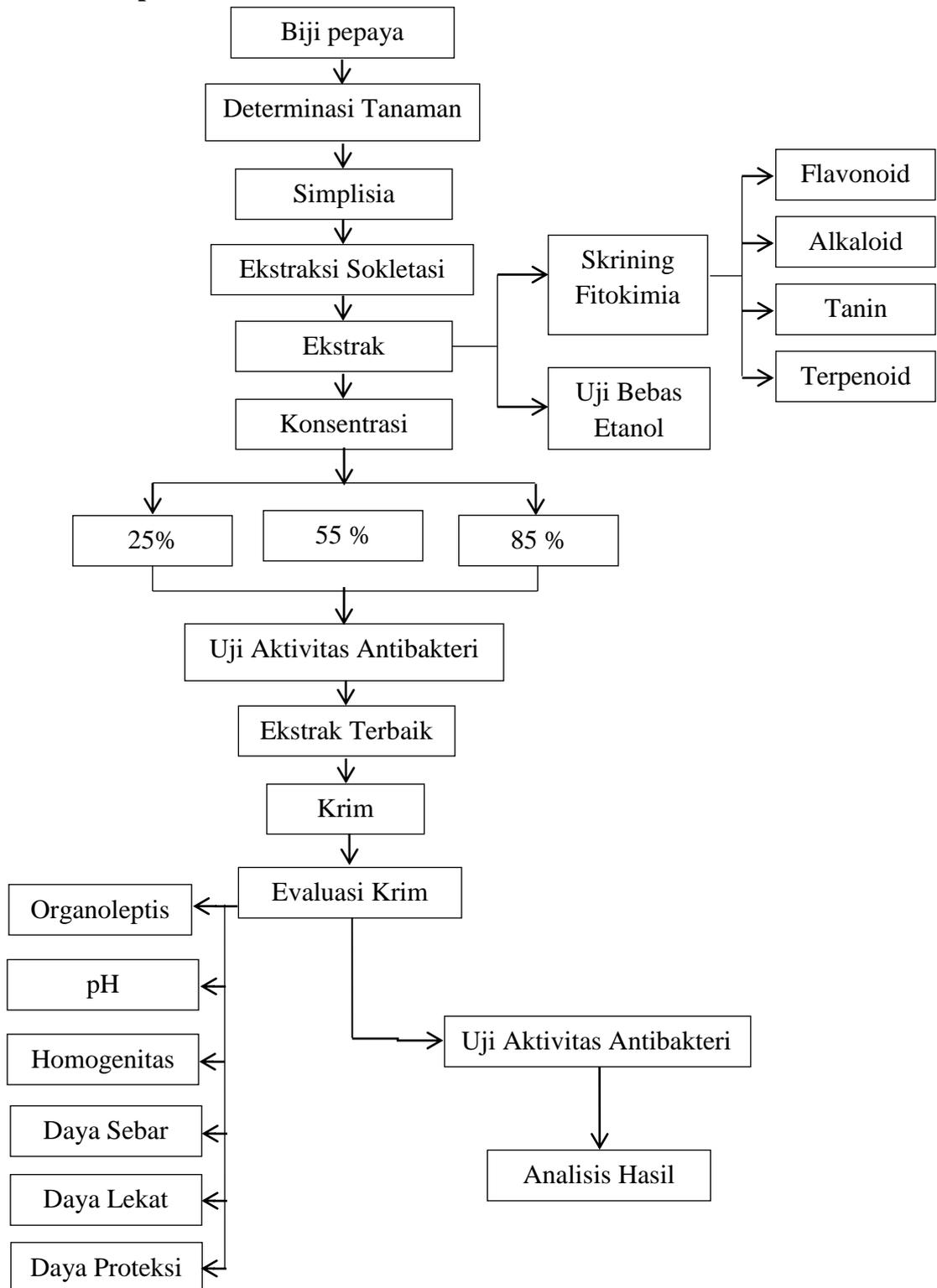
Alkohol Sebagai *Stiffening Agent*. (U. S. Hidayatullah, Penyunt.) Jakarta: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Farmasi.

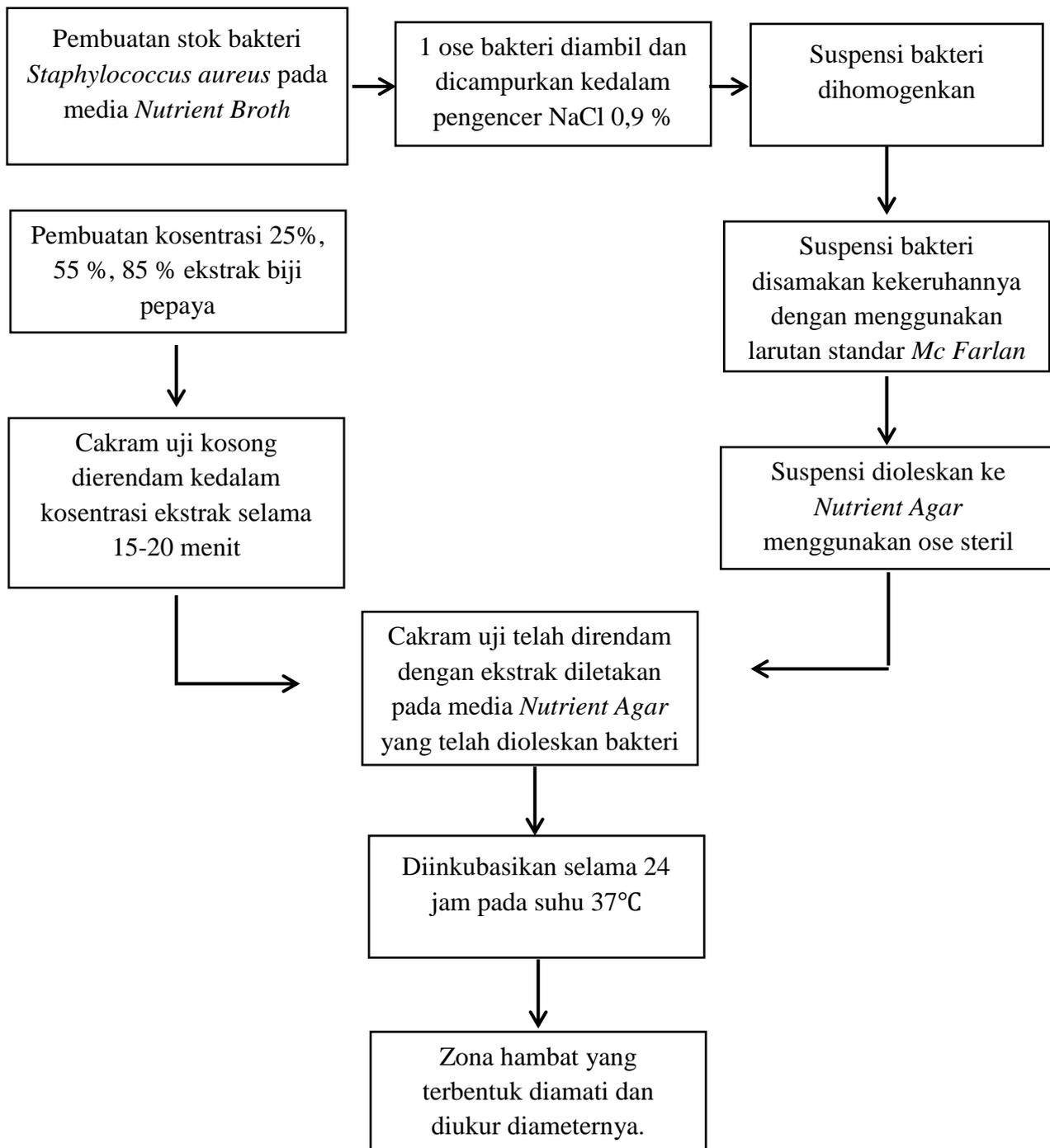
- Rahmawati, D., Sukmawati, & Indrayudha, P. (2010). Formulasi Krim Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana Val & Zipp*) : Uji Sifat Fisik dan Daya Antijamur terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro*. *Majalah Obat Tradisional*, 15(2), 56-53.
- Rowe et al. (2009). *Handbook Of Pharmaceutical Excipients, 6th Ed, The*. London.: Pharmaceutical Press.
- Safitri, N. A., Puspita, O. E., & Yurina, V. (2014). Optimasi Formula Sediaan Krim Ekstrak Stroberi (*Fragaria x ananassa*) sebagai Krim Anti Penuaan. *Majalah kesehatan FKUB*, 1(4).
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa slam metabolic sekunder*. Yogyakarta: deepublish budi utama.
- Sangi, M. M., Simbala, H. E., & Makang, V. M. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chen Prog*, 1(1), 47-53.
- Sapri, Fitriani, A., & Narulita, R. (2014). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dengan Metode Maserasi . *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. Kalimantan Timur: Akademi Farmasi Samarinda.
- Siadi. K. 2012 Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida Yang Efektif Dengan Menambah Larutan NaCl. *Jurnal mipa* 35 (2): 77-83
- Sujarweni, V. W. (2012). *SPSS untuk Paramedic*. Yogyakarta: Gava Medika.
- Sukadana, I. M., Santi, S. R., dan Juliarti, N. K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya L.*). *Jurnal Kimia*, 2 (1) : 15-18.
- Syamsuni. (2006). *Farmasetika Dasar Dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Tambun, S.H., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Petai (*Parkia speciose Hassk.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Eschericia coli* ATCC 25922, Skripsi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Tiran et al. (2014). Aktivitas antibakteri lotion minyak kayu manis terhadap *Staphylococcus epidermidis* penyebab bau kaki. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, vol. 11, No. 2, p. 72-80.

- Tjitrosoepomo, Gembong.2011. *Morfologi Tumbuhan*.Gajah Mada University Press: Jakarta
- Umri, Rachmawati Nuru1.2010. *Perbandingan Potensi Daya Hambat Ekstrak Etanol dari Biji Pepaya yang dikeringkan dengan Matahari langsung dan diangin-anginkan terhadap Escherichia coli*. Farmasi Politekes Depkes Jakarta.
- Voigt R, 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi 5*. Gadjah Mada.
- Warisno (2003). *Budidaya Pepaya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wardiyah, S. (2015). *Perbandingan Sifat Fisik Sediaan Krim, Gel, dan Salep yang Mengandung Etil P- Metoksisinamat Dari Ekstrak Rimpang Kencur (Kaemferia Galanga Linn)*. Jakarta: UIN SYARIF HIDAYATULLAH.
- Wiryalie, L. (2017). *CeRiiaxone – Hospital Pack. Dokter Umum di Jakarta, Indonesia*, CDK-250/ vol. 44 no. 3 th. 2017.
- Yamin, S., & Kumiawan, H. (2014). *SPSS Complete Teknik Analisis Terlengkap dengan Software SPSS*. Jakarta: Salemba Infotek.

LAMPIRAN

1. Lampiran Alur Penelitian





Lampiran 2. Determinasi Tanaman

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 42A/ 102.7/ 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : PAULUS TEDE BETAN
NIM : 1413206035
Instansi : STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman pepaya

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Violales
Suku	: Caricaceae
Marga	: Carica
Jenis	: <i>Carica papaya</i> L.
Nama Umum	: Rente (Aceh), Pertek (Gayo), Kates (Palembang), Kalikih (Minangkabau), Gedang (Lampung), Gedang (Sunda), Kates (Jawa), Kates (Madura), Gedang (Bali), Kustela (Banjar), Bua medung (Dayak Busang), Kates (Sasak), Kampaya (Bima), Kala Jawa (Sumbawa), Padu (Flores), Papaya (Gorontalo), Papaya (Manado), Unti Jawa (Makasar), Papai (Buru), Papaya (Halmahera), Papae (Ambon), Palaki (Seram), Kapaya (Tidore), Tapaya (Ternate).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a-1.

2. Morfologi : Habitus: Perdu, tinggi ±10 m. Batang: Tidak berkayu, silindris, berongga, putih kotor. Daun: Tunggal, bulat, ujung runcing, pangkal bertoreh, tepi, bergerigi, diameter 25-75 cm, pertulangan menjari, panjang tangkai 25-100 cm, hijau. Bunga: Tunggal, bentuk bintang, di ketiak daun, berkelamin satu atau berumah dua; bunga jantan terletak pada landan yang serupa malai, kelopak kecil, kepala sari berbilang pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompet, tepi bertaju lima, bertabung panjang, putih kekuningan, bunga betina berdiri sendiri, mahkota lepas, kepala putik lima, duduk, bakal buah beruang satu, putih kekuningan. Buah: Buni, bulat memanjang, berdaging, masih muda hijau setelah tua jingga. Biji: Bulat atau bulat panjang, kecil, bagian luar dibungkus selaput yang berisi cairan, masih muda putih setelah tua hitam. Akar: Tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan.

3. Nama Simplisia : Caricae Semen / Biji pepaya.

4. Kandungan : Biji pepaya mengandung glucoside carcirindan, alkaloid, steroid, tanin, minyak atsiri, oleat dan asam palmiat, juga mengandung fenol, terpenoid dan saponin. Biji pepaya juga mengandung karbohidrat dalam jumlah kecil, air, abu, protein, dan juga lemak. Bijinya juga mengandung saponin.

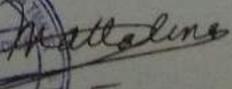
5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.plantamor.com/papaya>, diakses tanggal 17 Desember 2010.
- Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/papaya>, diakses tanggal 21 Desember 2010.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 30 Januari 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu


Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes
NIP. 19611102 199103 1 003



Lampiran 3. Bukti Pembelian Bakteri

SURAT PERNYATAAN

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :

NAMA : ANGGIATI AMBARSARI

ALAMAT : KANIGORO, BLITAR

INSTITUSI : STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA SAYA MENGETRI DAN MEMAHAMI AKIBAT DARI ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)}

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Eschericia coli*
3. *Clostridium pereringens*
4.
5.

TERHADAP SAYA, ORANG DISEKITAR SAYA DAN LINGKUNGAN SAYA.

SAYA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)} DIATAS HANYA UNTUK KEPERLUAN PENELITIAN

DENGAN INI SAYA MENYATAKAN BAHWA SAYA AKAN MEMPERLAKUKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)} TERSEBUT DENGAN SANGAT MEMPERHATIKAN BIOSAFETY DAN BIOSECURITY SELAMA ISOLAT BAKTERI TERSEBUT ADA PADA SAYA.

YANG MEMBUAT PERNYATAAN


(ANGGIATI AMBARSARI)


Dr. Anita Sari, S. Farm, Apt

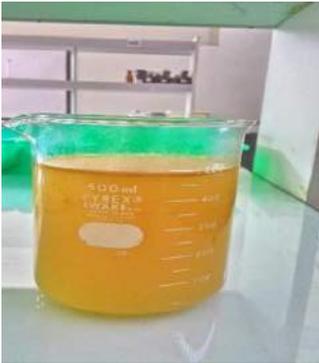
Ket :

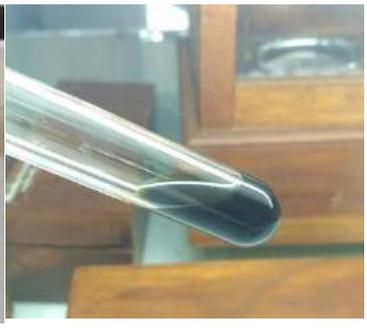
^{*)} Coret yang tidak perlu

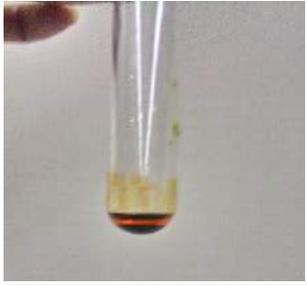
Surat pernyataan harus dibubuhi dengan stempel resmi institusi

Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian

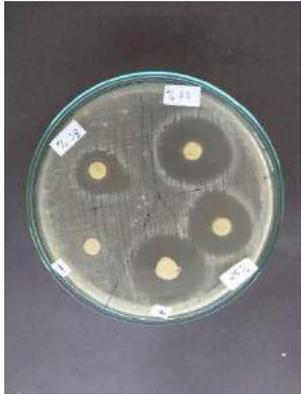
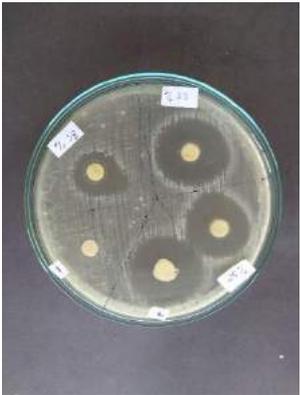
Biji pepaya	Pengeringan dengan Sinar Matahari	Serbuk Halus Biji Pepaya
		

Shokletasi Biji Pepaya	Hasil Shoklet Biji pepaya	Ekstrak Biji Pepaya
		

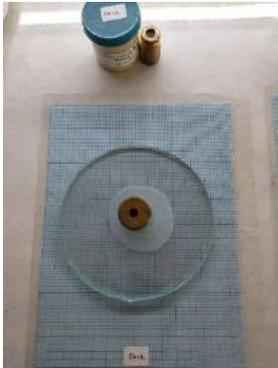
Uji Alkaloid	Uji Flavonoid	Uji Tanin
		

Uji Terpenoid	Uji Bebas Etanol
	

Media Nutrient Agar	Media Nutrient Broth	Suspensi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>
		

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>		
		

Evaluasi Sediaan Krim			
Perlakuan/ Waktu	Hari Ke 0	Hari Ke 14	Hari Ke 28
Uji pH			
Uji Homogenitas			

<p>Uji Proteksi</p>			
<p>Uji Daya Sebar</p>			
<p>Uji Organoleptis</p>			



Lampiran 5. Perhitungan

1. Simplisia

Berat basah biji pepaya : 1.9 kg

Berat kering biji pepaya : 950 gram

Perhitungan susut pengeringan

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Susut pengeringan} &= \frac{\text{Bobot Kering}}{\text{Bobot Basah}} \times 100\% \\
 &= \frac{950}{1.900} \times 100\% \\
 &= 50 \%
 \end{aligned}$$

2. Ekstraksi shoklet

Shoklet I : 6 shoklet setiap shoklet 30 g dalam 300 ml etanol 70 %

Shoklet II : 5 shoklet setiap shoklet 30 g dalam 300 ml etanol 70 %

Shoklet III : 3 shoklet setiap shoklet 30 g dalam 300 ml etanol 70 %

3. Perhitungan Pengujian Mikrobiologi

$$25 \% = \frac{25}{100} \times 1 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

$$55 \% = \frac{55}{100} \times 1 \text{ ml} = 0,55 \text{ ml}$$

$$85 \% = \frac{85}{100} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml}$$

4. Perhitungan pembuatan Sediaan Krim

$$\text{Asam stearat} = \frac{12}{100} \times 20 \text{ g} = 2,4 \text{ g}$$

$$\text{Setil alkohol} = \frac{2}{100} \times 20 \text{ g} = 0,4 \text{ g}$$

$$\text{TEA} = \frac{3}{100} \times 20 \text{ g} = 0,6 \text{ g}$$

$$\text{Gliserin} = \frac{8}{100} \times 20 = 1,6$$

$$\text{Metil paraben} = \frac{0,2}{100} \times 20 = 0,04 \text{ g}$$

Aquades

$$= 20 - (2,4+0,4+0,6+1,6+0,04)$$

$$= 14,96 \text{ ml}$$

$$\text{Ekstrak} = \frac{0,5}{100} \times 20 = 0,1 \text{ ml} = 100 \mu$$

Lampiran 6. Pengujian Statistisk

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
variasi kosentrasi ekstrak	9	2,00	,866	1	3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		variasi kosentrasi ekstrak
N		9
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	2,00
	Std. Deviation	,866
Most Extreme Differences	Absolute	,209
	Positive	,209
	Negative	-,209
Test Statistic		,209
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c, d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

Descriptives

diameter zona hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak konsentrasi 25%	3	21,0000	1,80278	1,04083	16,5217	25,4783	19,00	22,50
ekstrak konsentrasi 55%	3	24,6667	,76376	,44096	22,7694	26,5640	24,00	25,50
ekstrak konsentrasi 85%	3	16,6667	2,08167	1,20185	11,4955	21,8378	15,00	19,00
Total	9	20,7778	3,75093	1,25031	17,8946	23,6610	15,00	25,50

Test of Homogeneity of Variances

diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,763	2	6	,250

ANOVA

diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	96,222	2	48,111	17,673	,003
Within Groups	16,333	6	2,722		
Total	112,556	8			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat

LSD

(I) variasi konsentrasi ekstrak	(J) variasi konsentrasi ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak konsentrasi 25%	ekstrak konsentrasi 55%	-3,66667*	1,34715	,035	-6,9630	-,3703
	ekstrak konsentrasi 85%	4,33333*	1,34715	,018	1,0370	7,6297
ekstrak konsentrasi 55%	ekstrak konsentrasi 25%	3,66667*	1,34715	,035	,3703	6,9630
	ekstrak konsentrasi 85%	8,00000*	1,34715	,001	4,7036	11,2964
ekstrak konsentrasi 85%	ekstrak konsentrasi 25%	-4,33333*	1,34715	,018	-7,6297	-1,0370
	ekstrak konsentrasi 55%	-8,00000*	1,34715	,001	-11,2964	-4,7036

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.