

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica Papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
Aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI



Oleh:

KRISTINA HANDAYANI

1613206009

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

2019

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica Papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
Aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

KRISTINA HANDAYANI

NIM. 1613206009

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

2019

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica Papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
Aureus* ATCC 25923**

Yang diajukan oleh:

KRISTINA HANDAYANI
NIM. 1613206009



Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Handwritten signature of Amalia Eka Putri in black ink.

Amalia Eka Putri, M.Farm., Apt.
NIP. 017.92.02.09

Pembimbing Pendamping,

Handwritten signature of Rahma Dyan M. in black ink.

An. Amalia eka Putri
Rahma Dyan M., S.Si., M.Sc.
NIDN. 071 002 9101

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica Papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus*
Aureus ATCC 25923





Oleh:

KRISTINA HANDAYANI

NIM. 1613206009

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal: 22 Juli 2020

Ketua Penguji	: Amalia Eka Putri, M.Farm., Apt.	(..... )
Anggota Penguji	: 1. Rahma Diyana M., S.Si., M.Sc.	(..... )
	: 2. Dr. Gunawan Parnuji W.M.Si., Apt.	(..... )
	: 3. Drs. Ary Kristijono M.Farm., Apt.	(..... )

Mengetahui,
Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Juni 2020

Penulis,



KRISTINA HANDAYANI

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena dengan rahmat, karunia, serta taufik dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923“, ini dengan baik meskipun banyak kekurangan didalamnya.

Proposal ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, motivasi dan doa sehingga proposal penelitian ini dapat selesai. Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada:

1. Ibu Dara Pranindya Tilarso, M.Farm., Apt. selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
2. Ibu Amalia Eka Putri, M.Farm., Apt. selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan proposal ini.
3. Ibu Rahma Diyan M., S.Si., M.Sc. selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan proposal ini.
4. Orang tua, keluarga besar, dan sahabat tercinta yang selalu setiap saat memberi dukungan, semangat dan do'a yang tulus serta selalu membantu baik moril maupun materil yang sangat berarti bagi penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam proposal ini masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk perbaikan proposal ini sangat diharapkan. Penulis berharap semoga proposal ini dapat memberi manfaat bagi penulis dan pembaca.

Tulugagung, 4 Juni 2020

Penulis

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica Papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
Aureus* ATCC 25923**

KRISTINA HANDAYANI

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang penting, khususnya di negara berkembang seperti Indonesia. Penyakit infeksi dapat disebabkan dari mikroorganisme patogen seperti, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Infeksi kulit akibat *S.aureus* ATCC 25923 telah ditemukan sebanyak 179 kasus di Jakarta. Penyakit infeksi dapat diobati dengan pemberian antibiotik, akan tetapi antibiotik sekarang mengalami resistensi karena faktor penggunaan antibiotik yang kurang tepat. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain seperti batang pepaya yang dapat di manfaatkan sebagai antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923, mengetahui fraksi teraktif batang pepaya, mengetahui kandungan senyawa dalam fraksi teraktif batang pepaya dan mengetahui nilai KHM dalam fraksi teraktif fraksi batang pepaya. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Sampel batang pepaya diekstraksi menggunakan metode soxhletasi dengan etanol 96% dilanjutkan fraksinasi menggunakan tiga pelarut yaitu *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan. Kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin dan kontrol negatif adalah pelarut yang sesuai. Fraksi teraktif dilakukan pengujian untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menggunakan pengamatan secara visual dan spektrofotometer Uv-Vis. Analisa statistik dilakukan dengan *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923. Hasil zona hambat pada fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan berturut-turut adalah $20,63 \pm 0,28$ mm, $17,86 \pm 0,18$ mm dan $15,33 \pm 0,47$ mm. Fraksi batang pepaya yang memiliki zona hambat paling aktif adalah pada fraksi *aquadestilata*. Aktivitas antibakteri diduga berasal dari aktivitas senyawa flavonoid, tanin dan saponin dalam fraksi batang pepaya. Nilai Konsentasi Hambat Minimum fraksi *aquadestilata* adalah 0,312%.

Kata kunci: Antibakteri, *Carica papaya L.*, Konsentrasi Hambat Minimum, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PAPAYA ROD FRACTION (*Carica
Papaya* Linn.) ON BACTERIA *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923**

KRISTINA HANDAYANI

Pharmacy S1 Study Program

ABSTRACT

*Infectious disease is an important disease, especially in developing countries like Indonesia. Infectious diseases can be caused by pathogenic microorganisms such as the bacterium *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Skin infections due to *S.aureus* ATCC 25923 has been found 179 cases in Jakarta. Infectious diseases can be treated with antibiotics, but antibiotics now experience resistance due to the inappropriate use of antibiotics. Therefore, other alternatives such as are needed papaya stem which can be used as an antibacterial against *S.aureus* ATCC 25923. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity against *S.aureus* ATCC 25923, knowing the most active fraction of papaya stem, knowing the content of compounds in the most active fraction of papaya stem and knowing the MIC value in the most active fraction of papaya stem fraction. The research method used is experimental. Papaya stem sample extracted using a method soxhletation with 96% ethanol followed by fractionation using three solvents namely aquadestilate, dichloromethane, and n-hexane. The positive control used is clindamycin and the negative control is the solvent appropriate. The most active fraction is tested to determine the Minimum Inhibition Concentration (MIC) using a visual and observation Uv-Vis spectrophotometer. Statistical analysis is done with Kruskal Wallis and Mann Whitney. The results of testing the antibacterial activity of papaya stem fractions showed the presence of antibacterial activity against *S.aureus* ATCC 25923. The inhibitory zone results in aquadestilate, dichloromethane, and n-hexane fractions were 20.63 ± 0.28 mm, 17.86 ± 0.18 mm, and 15.33 ± 0.47 mm, respectively. The papaya stem fraction which has the most active inhibition zone is the aquadestillate fraction. The antibacterial activity is thought to originate from a flavonoid, tannin, and saponin compounds activity in papaya stem fraction. The Minimum Inhibitory Concentration value of the aquadestillate fraction is 0.312%.*

*Keywords: Antibacterial, *Carica papaya* L., Minimum Inhibitory Concentration, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Pepaya	5
2.2 Kandungan Senyawa Tanaman Pepaya	7
2.2.1 Flavonoid	7
2.2.2 Tanin	8

2.2.3 Saponin	9
2.3 Simplisia	9
2.3.1 Definisi Simplisia	9
2.3.2 Syarat Simplisia	10
2.3.3 Penyiapan Simplisia	10
2.4 Serbuk dan Kadar Air Simplisia	13
2.5 Ekstraksi	14
2.5.1 Ekstraksi Cara Dingin	14
2.5.2 Ekstraksi Cara Panas	15
2.6 Pelarut	17
2.6.1 <i>Aquadestilata</i>	17
2.6.2 Etanol	18
2.6.3 Etil asetat	18
2.6.4 n-Heksan	18
2.6.5 Kloroform	18
2.6.6 Eter	19
2.6.7 Aseton	19
2.6.7 Diklorometana	19
2.7 Fraksinasi	19
2.8 Bakteri Uji	20
2.8.1 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20
2.8.2 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	22

2.9 Antibakteri Uji.....	24
2.9.1 Klindamisin	25
2.9.2 Mekanisme Kerja Antibakteri	26
2.10 Uji Metode Antibakteri	29
2.10.1 Metode Difusi.....	29
2.10.2 Metode Dilusi.....	31
2.11 Kerangka Penelitian	32
2.12 Hipotesis	32
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	33
3.1 Bahan	33
3.2 Alat	33
3.3 Populasi Penelitian	33
3.4 Sampel Penelitian	33
3.5 Definisi Operasional	34
3.6 Variabel Penelitian	34
3.7 Metode Penelitian	34
3.7.1 Determinasi Tanaman	34
3.7.2 Pembuatan Simplisia	35
3.7.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia	36
3.7.4 Pembuatan Ekstrak	36
3.7.5 Fraksinasi	37
3.7.6 Skrining Fitokimia	37

3.7.7 Uji Aktivitas Antibakteri	38
3.7.8 Pembuatan Media	39
3.7.9 Peremajaan Bakteri	40
3.7.10 Pembuatan Suspensi Bakteri	40
3.7.11 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram	40
3.7.12 Pengukuran Zona Hambat	40
3.8 Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum	40
3.9 Jalur Penelitian	42
3.10 Analisis Hasil	43
3.11 Kerangka Penelitian	44
3.12 Diagram Skematik	45
3.13 Jadwal Penelitian	46
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	47
4.1 Determinasi Tanaman	47
4.2 Uji Kadar air Simplisia	47
4.3 Uji Rendemen dan Fraksi	48
4.4 Skrining Fitokimia.....	49
4.5 Uji Identifikasi Bakteri	50
4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya	51
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	58
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
2.1 Kategori Respon Hambatan Pada Pertumbuhan Bakteri Berdasarkan Hasil Diameter Zona Hambat	30
3.1 Jadwal Kegiatan Penelitian	46
4.1 Uji Kadar Air Serbuk <i>Carica Papaya Linn.</i>	47
4.2 Uji Rendemen Ekstrak Batang Pepaya	48
4.3 Uji Rendemen Fraksi Batang Pepaya	48
4.4 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Batang Pepaya	49
4.5 Dimeter Zona Hambat Uji Difusi.....	52
4.6 Uji Hasil <i>Mann Whitney</i>	54
4.7 Uji <i>Mann Whitney</i> Ekstrak dan Fraksi Yang Mendekati Kontrol Positif.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1a Tanaman Pepaya.....	5
2.1b Batang Pepaya.....	5
2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	20
3.1 Kerangka Penelitian	44
3.2 Diagram Skematik yang Menunjukkan Kinerja Pengujian Sensitivitas Antibiotik (Metode Difusi Cakram)	45
4.1 Uji Skrining	49
4.2 Uji Identifikasi Bakteri.....	51
4.3 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya	52
4.4. Rata- rata Diameter Zona Hambat	53
4.5. Hasil Uji Dilusi	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Hasil Determinasi <i>Carica Papaya L.</i>	69
2. Dokumentasi Penelitian	69
3. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri	73
4. Perhitungan Hasil	74
5. Hasil Orientasi.....	76
6. Hasil Uji Dilusi	76
7. Hasil Analisis	77
8. Alur Prosedur Kerja	84

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah kesehatan masyarakat yang penting, khususnya di negara berkembang seperti Indonesia (MenKes, 2011). Penyakit infeksi dapat disebabkan dari mikroorganisme patogen seperti, bakteri, virus, parasite dan jamur (WHO, 2015). Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi seperti pneumonia, jerawat, pioderma dan impetigo (Martina, 2012). *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri kedua terbesar penyebab peradangan rongga mulut setelah bakteri *Streptococcus alpha* (Najlah, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Iqbal *et al*, (2014) juga menemukan sebanyak 179 kasus infeksi kulit yang disebabkan oleh *S.aureus* ATCC 25923 di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo pada Januari 2009 - April 2013.

Menurut Rahmadani, (2015) penyakit infeksi dapat diobati dengan pemberian antibiotik. Antibiotik merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk membunuh dan melukai bakteri yang menyerang tanpa merugikan sel inang. Obat antibiotik efektif dalam pengobatan infeksi karena toksisitasnya selektif (Whalen, 2015).

Antibiotik pada awalnya memiliki kemampuan baik dalam proses penghambatan pertumbuhan mikroorganisme, namun sekarang obat antibiotik bisa dikatakan sudah tidak sensitif kembali, keadaan ini disebut dengan resistensi antibiotik. Penyebab terjadinya resistensi pada obat-obat antibiotik yaitu karena faktor penggunaan antibiotik yang kurang tepat. Timbulnya banyak kasus resistensi terhadap obat-obatan antibiotik mengakibatkan kebutuhan alternatif antibiotik lain menjadi meningkat. Penggunaan obat antibiotik dari tumbuhan berkasiat obat dapat dijadikan sebagai alternatif lain (Tessy *et al*, 2004).

Obat tradisional merupakan obat yang berasal dari bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan hewan, bahan tumbuhan, bahan mineral sediaan sari atau campuran yang secara turun temurun sudah digunakan sebagai pengobatan (BPOM, 2014). Tujuan penggunaan obat tradisional selama ini yaitu sebagai pengobatan dan pemeliharaan kesehatan yang bebas dari efek samping. Pengobatan tradisional telah digunakan sebanyak 80% di dunia terutama untuk perawatan kesehatan primer (Sivannthan & Elamaran, 2013). Salah satu tanaman yang bisa digunakan sebagai obat tradisional yaitu tanaman pepaya (Primadiamanti *et al.*, 2018).

Manfaat tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) antara lain sebagai antioksidan, antibakteri serta antiinflamasi (Primadiamanti *et al.*, 2018). Batang pepaya merupakan salah satu bagian dari tanaman pepaya yang dapat di manfaatkan sebagai antibakteri. Batang pepaya mengandung senyawa metabolit sekunder golongan saponin, tanin, dan flavonoid yang digunakan sebagai antibakteri (Simbolon *et al.*, 2018). Menurut Rahman *et al.*, (2011) ekstrak batang pepaya pada konsentrasi 1% memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter zona hambat sebesar 12 mm termasuk dalam kategori kuat.

Pembuatan ekstrak dari batang pepaya dengan metode soxhletasi sebagai antibakteri sejauh ini belum banyak dilaporkan. Kelebihan dari metode soxhlet yaitu pelarut yang digunakan lebih hemat dan waktu yang ekstraksi yang digunakan lebih cepat (Ramoko, H. *et al.*, 2018). Sampel selalu bersentuhan dengan pelarut segar sehingga dapat meningkatkan perpindahan senyawa target dari matriks, dapat mempertahankan suhu ekstraksi yang relatif tinggi yang berasal dari labu ekstraksi, tahapan metode mudah untuk dilakukan dan biayanya murah (Sukri, 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh Rahman *et al.*, (2011) belum dilakukan fraksinasi, sehingga perlu dilakukan fraksinasi untuk mengetahui kandungan senyawa kimia pada ekstrak batang pepaya. Fraksinasi merupakan proses penarikan senyawa menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Fraksinasi dilakukan untuk mengetahui sifat kepolaran dari

senyawa yang akan dipisahkan (Mutiasari, 2012). Fraksinasi mampu mengoptimalkan potensi dan memperluas spektrum aktivitas maserat tumbuhan (Huda *et al.*, 2019). Keuntungan penggunaan metode difusi cakram yaitu sederhana, murah, mampu menguji mikroorganisme dan agen antibakteri dalam jumlah yang besar serta mudah dalam menginterpretasikan hasil (Balouiri, *et al.*, 2016). Keuntungan metode difusi cair yaitu dapat mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Pratiwi, 2008).

Berdasarkan uraian-uraian diatas, peneliti terdorong untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji uji aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode soxhletasi. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu etanol 96% yang kemudian difraksinasi dengan pelarut n-heksan, diklorometana, dan *aquadestilata*. Hasil fraksi yang teraktif dilanjutkan uji dilusi untuk mengetahui nilai KHMnya. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan terhadap masyarakat luas tentang obat-obatan tradisional yang saat ini masih berdasarkan pengalaman empiris.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan batang pepaya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- 1.2.2 Fraksi apa yang memiliki zona hambat paling aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- 1.2.3 Kandungan kimia apa yang masih aktif dalam fraksi batang pepaya dan berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) fraksi batang pepaya sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan batang pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- 1.3.2 Mengetahui fraksi batang pepaya yang memiliki zona hambat paling aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- 1.3.3 Mengetahui kadungan kimia yang masih aktif dalam fraksi batang pepaya dan mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) fraksi batang pepaya sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kesehatan ilmiah terhadap masyarakat bahwa batang pepaya dapat dimanfaatkan sebagai alternatif obat antibakteri.

1.4.2 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan tentang uji aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya (*Carica Papaya* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.4.3 Bagi Instansi Kesehatan

- a. Dapat menjadi bahan referensi untuk melakukan pengembangan obat-obatan yang berasal dari bahan alam.
- b. Dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa yang dapat memberikan efek sebagai antibakteri.

1.4.4 Bagi Instansi Pendidikan

Dapat digunakan menjadi suatu bahan informasi dan pengembangan lebih lanjut untuk penelitian-penelitian berikutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya (Gambar 2.1a) merupakan tanaman dari suku *Caricaceae* dengan marga *Carica*. Marga ini memiliki kurang lebih 40 spesies, tetapi dari 40 spesies yang dapat dikonsumsi hanya tujuh spesies termasuk *Carica Papaya L.* (Agustina, 2017).

Klasifikasi tanaman pepaya menurut Agustina (2017):

Kerajaan : *Plantae*
Devisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Bangsa : *Brassicales*
Suku : *Caricaceae*
Marga : *Carica*
Jenis : *Carica papaya L.*



Gambar 2.1a Tanaman Pepaya
(Kharisma *et al.*, 2017)



Gambar 2.1b Batang Pepaya
(Agustina, 2017)

Pepaya (*Carica papaya L.*) merupakan tanaman buah berupa herba dari *family* *Caricaceae*. Pepaya merupakan tanaman asli Amerika tropis yang berasal dari persilangan alami *Carica peltata* Hook. & Arn dan sekarang tersebar luas di seluruh daerah tropik dan subtropik di seluruh dunia. Indonesia yang merupakan salah satu daerah tropika, hampir di seluruh daerahnya terdapat tanaman pepaya.

Pepaya tergolong tanaman tidak bermusim, sehingga buahnya tersedia setiap saat, harganya juga relatif murah dan terjangkau (Febjislami *et al*, 2018).

Pohon pepaya umumnya tidak bercabang atau bercabang sedikit, tumbuh hingga setinggi 5-10 m dengan daun-daunnya yang bentuk susunannya berupa spiral pada batang pohon bagian atas. Daunnya menyirip lima dengan tangkai yang panjang dan berlubang dibagian tengah. Bentuk buah bulat hingga memanjang, dengan ujung biasanya meruncing. Warna buah ketika muda hijau gelap, dan setelah masak hijau muda hingga kuning. Daging buah berasal dari carpel yang menebal, berwarna kuning hingga merah jingga. Bagian tengah buah berongga. Biji-biji berwarna hitam atau kehitaman dan terbungkus semacam lapisan berlendir (*pulp*) untuk mencegahnya dari kekeringan (Rukmana, 2003).

Daun atau *folium* dari tanaman papaya merupakan daun tunggal, berukuran besar, menjari, bergerigi dan juga mempunyai bagian-bagian tangkai daun dan helaian daun (*lamina*). Daun papaya mempunyai bangun bulat atau bundar, ujung daun yang lancip, tangkai daun panjang dan berongga. Permukaan daun licin, sedikit mengkilat. Dilihat dari susunan tulang daunnya daun papaya termasuk daun-daun yang bertulang menjari. Daunnya berkumpul dipuncak batang (Tyas, 2008).

Batang atau *caulis* dari tanaman papaya (Gambar 2.1b) berbentuk bulat, dengan permukaan batang yang memperlihatkan berkas-berkas tangkai daun. Arah tumbuh batang yaitu tegak lurus ke atas. Permukaan batang bercabang atau bercabang sedikit dan tingginya dapat mencapai 5-10 m (Tyas, 2008).

Akar atau *radix* dari tanaman pepaya merupakan akar dengan sistem akar tunggang (*radix primaria*), karena akar lembaga tumbuh terus menjadi akar pokok yang bercabang-cabang menjadi akar-akar yang lebih kecil. Bentuk akar bulat dan berwarna putih kekuningan (Tyas, 2008).

Bunga atau *flos* pada tanaman pepaya termasuk golongan tumbuhan poligami, karena pada tumbuhan tersebut terdapat bunga jantan, bunga betina dan bunga sempurna. Biasanya poligami dimaksud untuk menunjukkan sifat tumbuhan berlainan dengan sifat bunga tadi yang memperlihatkan suatu kombinasi bukan

berumah satu dan juga bukan berumah dua. Bunga pepaya termasuk bunga majemuk yang tersusun pada sebuah tangkai (Warisno, 2003).

2.2. Kandungan Senyawa Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya mengandung senyawa yang dapat bermanfaat baik itu pada bagian daun, buah, biji, getah dan batang. Daun pepaya memiliki kandungan senyawa berupa enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo-karpaina, glikosid, karposit dan saponin, sakarosa, dekstrosa dan levulosa. Buah pepaya memiliki kandungan senyawa berupa β -karotena, pectin, d-galaktosa, l-arabinosa, papain, papayotimin papain serta fitokinase. Biji pepaya mengandung senyawa glukosida kakarin dan karpin. Khasiat dari glukosida kakarin sebagai obat cacain, peluruh kentut (*karminatif*) dan peluruh haid. Getah pepaya mengandung senyawa papain, kemokapin, lisosim, lipase, glutamin, dan siklotransferase (Dalimartha, 2003).

Batang pepaya memiliki kandungan senyawa berupa flavonoid, tanin dan saponin yang dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif (Simbolon et al., 2018).

2.2.1. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonoid dihasilkan hampir 2% dari hasil fotosintesis karbon. Keberadaan flavonoid dalam daun dipengaruhi oleh fotosintesis sehingga daun muda belum banyak mengandung flavonoid (Murtiwi, 2014). Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat non polar, namun juga memiliki gugus gula yang menyebabkan mudah larut dalam pelarut polar ataupun semipolar (Firdiyani *et al.*, 2015). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil sehingga larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, methanol, butanol, aseton, dimetilfulfoksida, dan dimetilformamida (Murtiwi, 2014). Flavonoid yang dapat mendenaturasi dan mengkoagulasi protein serta merusak membrane dinding sel, sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri (Muharni *et al.*, 2017).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk ikatan kompleks dinding sel bakteri dan mengikat adesin (Tiwari *et al.*, 2011). Membran sitoplasma mengalami kerusakan sehingga ion H^+ dari senyawa flavonoid akan menyerang gugus polar (gugus fosat) sehingga molekul fosfolipida

akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan hingga menyebabkan kematian (Retnowati *et al.*, 2011). Flavonoid tidak tahan pemanasan apabila suhu melebihi 60°C sehingga menyebabkan perubahan struktur senyawa (Handayani *et al.*, 2016).

2.2.2. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh dan dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Secara kimia terdapat dua jenis tanin yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi terdapat pada tanaman paku-pakuan dan tersebar luas dalam angiospermae sedangkan tanin terhidrolisis penyebarannya terdapat pada tumbuhan berkeping dua (Harbone, 2006).

Tanin tidak tahan pemanasan apabila suhu melebihi 60°C sehingga menyebabkan perubahan struktur senyawa (Handayani *et al.*, 2016). Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu bertindak sebagai antibakteri dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma bakteri sehingga terbentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri (Poeloengan *et al.*, 2010). Senyawa tanin merupakan senyawa makromolekul dari polifenol yang bersifat polar (Romadanu *et al.*, 2014)

Mekanisme kerja dari tanin yaitu mengikat adhesin, menghambat enzim, mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel, membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel dan ion logam sehingga menyebabkan toksisitas pada bakteri (Tiwari *et al.*, 2011). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Selain itu, kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menyebabkan toksisitas.

2.2.3. Saponin

Saponin merupakan senyawa golongan terpenoid dari glikosida terpen dan sterol yang terdapat dalam tumbuhan. Senyawa aktif permukaan dari saponin bersifat seperti sabun, dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Murtiwi, 2014). Saponin merupakan senyawa yang bersifat polar (Firdiyani *et al.*, 2015). Saponin tidak tahan pemanasan apabila suhu melebihi 60°C sehingga menyebabkan perubahan struktur senyawa (Handayani *et al.*, 2016). Saponin mempunyai rasa pahit dan tajam. Mekanisme kerja dari saponin sebagai antibakteri yaitu mengubah permeabilitas dinding sel bakteri dan menyebarkan toksisitas pada jaringan bakteri sehingga morfologi sel menjadi berubah dan sel mengalami pelisisan (Godstime *et al.*, 2014). Terjadinya kebocoran protein dan enzim – enzim dari sel bakteri karena rusaknya struktur dinding sel dan permeabilitas sel bakteri maka mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Muharni *et al.*, 2017).

2.3. Simplisia

2.3.1. Definisi simplisia

Simplisia merupakan suatu bahan alam yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan atau hanya mengalami pengeringan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak melebihi 60°C (BPOM, 2014). Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berasal dari tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Depkes RI, 2000). Simplisia hewani merupakan simplisia yang berasal dari hewan sedangkan pada simplisia mineral merupakan simplisia yang berasal dari mineral yang belum diolah (Prastyo & Inorih, 2013).

2.3.2. Syarat simplisia

Standarisasi suatu simplisia harus memenuhi persyaratan sebagai bahan dan penetapan nilai berbagai parameter sesuai yang sudah ditetapkan sebelumnya. Standarisasi simplisia yang digunakan harus tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan (Materia Media Indonesia), sedangkan produk yang langsung dikonsumsi (serbuk jamu) masih harus memenuhi persyaratan produk kefarmasian sesuai peraturan yang berlaku (Depkes RI, 2000).

Syarat simplisia yaitu tidak mengandung organisme patogen, bebas cemaran mikroorganisme, serangga, binatang lain atau kotoran hewan. Simplisia tidak boleh mengandung lendir, menyimpang dari bau dan warna bahan awal. Sebelum dilakukan penyerbukan simplisia nabati harus bebas dari pasir, debu atau pengotor yang berasal dari tanah atau zat organik asing (Hanny, 2014).

Simplisia yang berkhasiat dan aman merupakan simplisia yang mengandung zat aktif berkhasiat, tidak mengandung bahan kimia, mikrobiologis serta bahan berbahaya fisik lainnya. Ciri simplisia yang baik merupakan simplisia yang berbau khas menyerupai bahan segarnya dan tidak berjamur. Simplisia yang baik dalam kondisi yang kering dengan kadar air kurang dari 10%, simplisia daun dan bunga bila diremas bergemerisik berubah menjadi serpihan atau mudah dipatahkan, simplisia buah dan rimpang (irisasi) bila diremas mudah dipatahkan (Herawati *et al.*, 2012).

2.3.3. Penyiapan simplisia

Tahapan penyiapan simplisia sangat penting untuk menjamin kualitas simplisia maka dilakukan kegiatan seperti pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan (Depkes RI, 2000).

2.3.3.1. Pengumpulan bahan baku

Pengumpulan bahan baku berpengaruh terhadap kualitas bahan baku. Faktor yang paling berperan adalah masa panen (Hanny, 2014). Umur pemanenan merupakan aspek yang erat hubungannya dengan fase pertumbuhan tanaman yang mencerminkan tingkat kematangan fisiologis tanaman dan memiliki relevansi yang kuat dengan produksi dan kandungan yang ada dalam tanaman (Hariyani *et*

al., 2015). Tanaman obat non rimpang jenis kulit atau kayu dapat dipanen ketika cukup umur (Kementrian Pertanian, 2013). Pembuatan simplisia batang papaya dilakukan dengan mengumpulkan batang papaya dengan umur 1 tahun 3 bulan (Simbolon *et al.*, 2018).

2.3.3.2. Sortasi basah

Sortasi basah merupakan pemilihan hasil panen saat tanaman masih dalam keadaan segar (Hanny, 2014). Sortasi basah dapat dilakukan dengan memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya seperti tanah, kerikil, rumput dan bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan serta bagian yang rusak. Dalam tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi maka pembersihan simplisia dari tanah dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Prasetyo & Inorih, 2013).

2.3.3.3. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Air yang digunakan untuk pencucian merupakan air bersih dari mata air, sumur, atau air PAM (Perusahaan Air Minum). Penggunaan air kotor akan mempengaruhi jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dan airnya akan mempercepat pertumbuhan mikroba. Bakteri yang umum terdapat dalam air yaitu *Pseudomonas*, *Proteus*, *Mirococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Escherichia*. (Prasetyo & Inorih, 2013). Simplisia yang mengandung jumlah zat yang mudah larut dalam air dilakukan pencucian dengan waktu singkat. Satu kali pencucian dapat menghilangkan 25% dari jumlah awal mikroba sedangkan pencucian sebanyak tiga kali meninggalkan 42% dari jumlah mikroba awal. Pada simplisia batang, akar atau buah dapat dilakukan pengelupasan kulit luarnya dengan tujuan untuk mengurangi jumlah mikroba awal. (Prasetyo & Inorih, 2013). Pencucian dilakukan sampai air bekas cucian jernih (Inartiyah *et al.*, 2011).

2.3.3.4. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu dilakukan perajangan, tujuannya untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Perajangan dilakukan pada simplisia yang sudah dikeringkan. Biasanya dilakukan

dengan irisan yang tipis atau sesuai yang dikendaki. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, waktu yang dibutuhkan semakin singkat karena proses penguapan berjalan dengan cepat namun jika irisan terlalu tipis akan menyebabkan hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap. Bahan simplisia seperti temulawak, temu giring, jahe, kencur, dan bahan sejenis lainnya harus menghindari proses perajangan yang terlalu tipis untuk mencegah hilangnya minyak atsiri (Prasetyo & Inorih, 2013). Pemotongan batang papaya dilakukan dengan tebal 2-5 cm (Simbolon *et al.*, 2018).

2.3.3.5. Pengerinan

Proses pengerinan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga dapat mencegah penurunan mutu dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Keberadaan air sisa dalam simplisia pada takaran tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Kadar air dalam simplisia harus kurang dari 10% agar reaksi enzimatik tidak dapat terjadi (Prasetyo & Inorih, 2013).

Pengerinan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau alat pengering misalnya oven dengan menggunakan suhu 40-50°C (Prasetyo & Inorih, 2013). Pengerinan menggunakan sinar matahari dan oven suhu 50°C dengan ketebalan 3-4 cm membutuhkan waktu pengerinan selama 8 jam. Pengerinan yang dilakukan dengan diangin-anginkan membutuhkan waktu 4 hari (Inartiyah *et al.*, 2011). Selama proses pengerinan terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu suhu pengerinan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengerinan dan luas permukaan bahan sehingga dapat diperoleh simplisia yang tidak mudah rusak selama waktu penyimpanan (Prasetyo & Inorih, 2013).

2.3.3.6. Sortasi kering

Sortasi kering merupakan proses memilah bahan yang telah mengalami proses pengerinan seperti pemisahan benda-benda asing, bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lainnya yang masih tertinggal pada simplisia kering (Prasetyo & Inorih, 2013). Bahan-bahan yang gosong dan rusak akibat pengerinan dilakukan pemilahan (Hanny, 2014)

2.3.3.7. Penggilingan

Tujuan penggilingan yaitu untuk mendapatkan produk dalam bentuk serbuk dengan derajat kehalusan tertentu. Alat yang digunakan untuk penggilingan yaitu mesin yang terbuat dari *stainlees stell*. Derajat kehalusan serbuk disesuaikan dengan kebutuhan. Serbuk pada produk teh kehalusannya 30-40 mesh, produk untuk ekstraksi 40-60 mesh dan untuk pembuatan kapsul 80-100 mesh (Inartiyah *et al.*, 2011). Kayu dan akar merupakan jenis organ tanaman dengan kategori keras. Bahan yang keras memerlukan proses pembuatan serbuk yang lebih lama dan memerlukan derajat halus lebih kecil agar lebih efektif terpenetrasi oleh cairan penyari (Hertiani, 2012). Serbuk batang papaya diayak dengan ayakan no 80 (Depkes RI, 2000). Ayakan no 80 mesh merupakan ayakan yang menghasilkan serbuk yang sangat halus (Depkes RI, 2008).

2.3.3.8. Penyimpanan

Simplisia yang sudah jadi disimpan dalam wadah tersendiri yang memenuhi persyaratan. Syarat wadah simplisia harus dapat melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, mencegah terjadinya penguapan kandungan zat aktif, terlindung dari cahaya, oksigen maupun uap air, tidak beracun, dan tidak mudah berinteraksi dengan bahan lain (Hanny, 2014). Tempat penyimpanan harus bersih dan tidak lebih dari 30°C. Produk simplisia juga harus dipisahkan dari bahan lain yang menyebabkan kontaminasi (Inartiyah *et al.*, 2011). Faktor yang dapat mempengaruhi penyimpanan pada simplisia merupakan cahaya, oksigen, reaksi kimia antara zat aktif dengan wadah yang digunakan, pengotor atau pencemaran akibat serangga dan kapang (Depkes RI, 2000).

2.4. Serbuk dan Kadar Air Simplisia

Serbuk simplisia merupakan bentuk serbuk dari bahan nabati yang memiliki ukuran derajat kehalusan tertentu. Simplisia nabati dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar halus dan sangat halus. Benda asing atau fregmen jaringan yang bukan merupakan komponen dari simplisia seperti sisa tanah, serangga dan hama harus dihilangkan dari serbuk simplisia nabati (Ditjen POM, 1995).

2.5. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut (Depkes RI, 2000). Terdapat dua cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu dengan cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Tujuan ekstraksi cara dingin yaitu agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak (Hamdani, 2009). Sedangkan cara panas yaitu refluks, destilasi uap, soxhlet, digesti, infus dan dekok (Depkes RI, 2000). Tujuan ekstraksi cara panas yaitu untuk mempercepat proses ekstraksi dibandingkan cara dingin (Tiwari *et al.*, 2011).

2.5.1. Ekstraksi cara dingin

2.5.1.1. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara menyimpan serbuk halus atau serbuk kasar dalam wadah tertutup dengan pelarut pada suhu ruangan dengan menggunakan agitasi sesering mungkin sampai bahan terlarut. Metode ini sesuai untuk senyawa yang bersifat termolabil (Tiwari *et al.*, 2011).

Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Pelarut dipisahkan dari sampel setelah proses ekstraksi dilakukan. Kemudian dilakukan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Keuntungan dari metode maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan senyawa aktif tidak akan terurai karena dilakukan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al.*, 2017). Kekurangan dari metode ini adalah perajangan yang membutuhkan waktu lama, penyaringan kurang sempurna (Depkes RI, 2000). Pelarut yang digunakan cukup banyak dan besar kemungkinan senyawa hilang.

2.5.1.2. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustiva extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Mekanisme kerja dari perkolasi yaitu dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori (Depkes RI, 2000). Serbuk dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Mukhriani, 2014).

Keuntungan metode perkolasi merupakan sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya merupakan jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

2.5.2. Ekstraksi cara panas

2.5.2.1. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya kondensor. Proses ekstraksi akan berjalan sempurna apabila dilakukan pengulangan residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2.5.2.2. Destilasi Uap

Destilasi Uap merupakan metode yang hampir sama dengan metode refluks. Biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial atau campuran sebagai senyawa menguap. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat terpisah sebagai dua bagian yang tidak saling tercampur. Destilat ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini merupakan senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

2.5.2.3. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi maserasi kinetik atau dengan pengadukan kontinyu pada temperature suhu kamar (Depkes RI, 2000). Suhu pemanasan sekitar 40-50°C. Hal tersebut dilakukan apabila suhu tidak sesuai dan untuk meningkatkan efisiensi pelarut (Tiwari *et al.*, 2011).

2.5.2.4. Infusa

Infus merupakan sediaan sari yang dibuat dengan cara menyari zat kandungan zat aktif menggunakan pelarut air dengan suhu 90°C selama 15 menit. Sarian yang dihasilkan tidak stabil dan mudah tercemar kuman dan kupang sehingga tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Murtiwi, 2014). Metode ini digunakan untuk senyawa yang mudah larut dalam air dan stabil dalam pemanasan. Metode ini dilakukan dengan merebus bahan mentah dalam air selama 15 menit (Tiwari *et al.*, 2011). Dilakukan pada suhu terukur 96-98°C selama waktu 15-20 menit (Depkes RI, 2000).

2.5.2.5. Dekok

Dekok merupakan infus dimana dalam metode ini menggunakan waktu yang lebih lama dari pada infusa dengan suhu sampai titik didih air yaitu pada suhu 90-100°C selama 30 menit (Depkes RI, 2000).

2.5.2.6. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan pemanasan dan perendaman sampel. Hal tersebut menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Metabolit sekunder yang ada didalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Larutan ini kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Depkes RI, 2006).

Perbandingan bahan pelarut pada metode soxhletasi yaitu 1:10 (Malinda *et al.*, 2013). Keuntungan dari metode soxhletasi yaitu simplisia tidak dilalui oleh uap panas tetapi dibasahi dengan pelarut hangat melalui pipa samping (Tiwari *et al.*, 2011). Sistem soxhlet memiliki pasokan gas inert untuk menghindari terjadinya oksidasi selama ekstraksi. Sampel selalu bersentuhan dengan pelarut

segar sehingga dapat meningkatkan perpindahan senyawa target dari matriks, tidak diperlukan penyaringan ekstrak karena bagian yang tidak larut tidak bercampur dengan hasil ekstraksi, dapat mempertahankan suhu ekstraksi yang relatif tinggi yang berasal dari labu ekstraksi, tahapan metode mudah untuk dilakukan dan biayanya murah (Sukri, 2012).

Keuntungan dari metode ini merupakan proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014). Kerugian dari metode soxhlet merupakan tidak dapat digunakan untuk senyawa yang bersifat termolabil, karena pemanasan yang lama dapat menyebabkan degradasi senyawa aktif dalam tumbuhan (Tiwari *et al.*, 2011). Pemanasan harus dilakukan pada suhu 50°C sampai 60°C untuk menjaga zat aktif agar tidak rusak (Murtiwi, 2014).

2.6. Pelarut

Pelarut merupakan suatu zat yang untuk melarutkan zat lain. Jenis pelarut sangat mempengaruhi keberhasilan determinasi senyawa aktif dalam proses ekstraksi. Sifat pelarut yang baik yaitu memiliki toksisitas yang rendah, memiliki efek pengawetan, mudah menguap, penyerapan cepat dari ekstrak, tidak menyebabkan ekstrak menjadi kompleks atau terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung dengan senyawa yang diambil. Faktor yang mempengaruhi dalam pemilihan pelarut yaitu jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, potensial bahaya kesehatan dari pelarut, dan keragaman senyawa yang akan diekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.1. Aquadestilata

Aquadestilata berasal dari istilah latin *aquadestilata* yang berarti air suling. Air suling merupakan air yang diperoleh dari pengembunan uap air akibat penguapan atau pendidihan air (Ham, 2006). Ikatan hidrogen air pada tekanan atmosfer bersifat mengalir (*flow*) pada suhu 100°C dan densitasnya 1 g/mL (Winarno, 2002).

2.6.2. Etanol

Etanol biasa disebut dengan etil alcohol, diproduksi melalui fermentasi gula, karbohidrat dan pati, biasa digunakan sebagai pelarut, aseptik, obat penenang, industri parfum dan obat-obatan. Etanol merupakan pelarut organik (Lewis, 1993). Etanol merupakan senyawa alcohol dengan formula C_2H_5OH yang berbentuk cair, tidak berwarna, larut dalam air, eter, kloroform dan aseton. Dihasilkan dari peragi kanji, hidrolisis bromoetana dengan kalium hidroksida (Basri, 1996). Berdasarkan penelitian Fathurrachman (2014), konsentrasi etanol mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan juga hasil uji fitokimia.

2.6.3. Etil asetat

Etil asetat atau disebut juga dengan etiletanoat merupakan suatu zat cair tak berwarna dengan bau buah yang semerbak bertitik didih $77^\circ C$ dan $d = 0,9 \text{ g/mL}$ (Arsyad, 2001). Dalam penelitian gandapura, pelarut yang digunakan merupakan methanol, etil asetat, dan heksana ternyata hasil ekstraksi masing-masing etanol bersifat polar, diikuti oleh etil asetat dan heksana (Hernani, 2004).

2.6.4. n-Heksan

n-Heksan merupakan suatu campuran rangkaian hidrokarbon dari hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatile, mudah terbakar, bau kas, tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam dalam alcohol, benzene, kloroform, eter (Tiwari *et al*, 2011). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut n-heksan yaitu seperti lemak, asam lemak tinggi, steroid, terpenoid, triterpenoid dan korotenoid yang merupakan senyawa bersifat non polar (Depkes RI, 1987).

2.6.5. Kloroform

Kloroform merupakan suatu pelarut yang berasal dari salah satu haloform. Kloroform mempunyai sifat mudah menguap, sukar terbakar tetapi uapnya mudah terbakar dan bersifat membius. Bila tekanan udara dan cahaya dapat membentuk gas fosgen yang beracun. Kloroform tidak larut dalam air tetapi dapat larut dalam alcohol dan eter. Kelarutan kloroform dalam air pada suhu $25^\circ C$. Kloroform dapat digunakan dalam pembuatan senyawa fluorocarbon sebagai pelarut cat dan sebagai anestetik (Ham, 2006).

2.6.6. Eter

Eter merupakan pelarut yang digunakan secara selektif untuk ekstraksi senyawa kumarin dan asam lemak. Pelarut dapat mempengaruhi hasil ekstraksi karena produk akhir akan mengandung sisa pelarut. Pemilihan pelarut harus tidak beracun dan tidak boleh mengganggu senyawa pada ekstrak (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.7. Aseton

Aseton merupakan pelarut yang dapat melarutkan komponen hidrofilik dan lipofilik dari tanaman, mudah larut dalam air, mudah menguap dan memiliki toksisitas rendah. Tanin, saponin dan senyawa fenol yang memiliki aktivitas antibakteri dapat diekstraksi menggunakan pelarut aseton (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.8. Diklorometana

Diklorometana atau metilena klorida merupakan senyawa organik yang cair, tidak berwarna, mudah menguap dan beraroma manis. Diklorometana tidak larut dalam sempurna dengan air, tapi dapat larut dengan pelarut organik. Diklorometana biasanya digunakan untuk pelarut dan juga bahan pembuatan obat-obatan pada industri farmasi (Husain, 2016).

2.7. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu metode memisahkan golongan utama kandungan senyawa yang satu dari golongan utama lainnya dalam bentuk fraksi yang berbeda (Harbone, 2006). Proses fraksinasi dapat digunakan untuk menduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan (Relani, 2016). Fraksinasi dari maserat tumbuhan atau pemurnian zat aktif pada prinsipnya mampu mengoptimalkan potensi dan memperluas spektrum aktivitasnya (Huda *et al.*, 2019). Prinsip fraksinasi merupakan menarik senyawa dari ekstrak menggunakan pelarut yang tidak saling tercampur. Pelarut yang biasa digunakan untuk fraksinasi merupakan n-heksan, diklorometana. Pelarut n-heksan memiliki sifat non polar yang dapat menarik senyawa non-polar, lemak, lilin, dan minyak volatile (Relai, 2016). Jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan volume air yang ditambahkan kedalam ekstrak yaitu dengan perbandingan 1:1 (Nuria *et al.*, 2012).

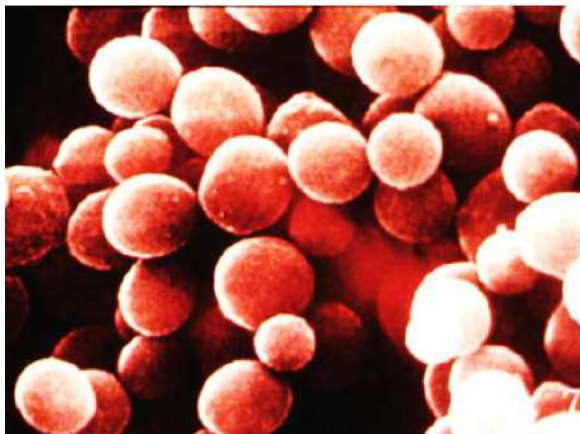
2.8. Bakteri Uji

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang sederhana karena tidak memiliki materi genetik yang diselubungi oleh selaput inti. Secara umum, sel bakteri memiliki beberapa bentuk yaitu bulat, spiral, batang atau basil. Ukuran bakteri sangat beragam, sebagian besar memiliki panjang 2-8 μm dan diameter 0,2-2 μm . Pada dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yang merupakan kompleks karbohidrat dan protein. Bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena merupakan bakteri yang sering muncul pada kulit dan selaput manusia (Martina, 2012). Senyawa saponin lebih sensitif terhadap bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Simbolon *et al.*, 2018).

2.8.1. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2.8.1.1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menurut Agus Herdiana, (2015) adalah sebagai berikut:



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Todar, 2012)

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Firmicutes*
Classis : *Cocci*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gambar 2.2) merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat yang sering muncul pada kulit dan selaput manusia. Hidup didalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan seperti pada mulut, hidung, tenggorokan dan dapat dikeluarkan saat batuk dan bersin. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi seperti pneumonia, meningitis, empyema, endokartitis, jerawat, pioderma, atau impetigo. Kemampuan dari bakteri *S.aureus* ATCC 25923 ini dapat mensintesis lipase yang mengubah sebum trigliserid menjadi asam lemak bebas sehingga merangsang inflamasi (Martina, 2012). Setiap jaringan atau alat tubuh yang terinfeksi oleh *S.aureus* ATCC 25923 memiliki tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. *S.aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri kedua terbesar penyebab peradangan rongga mulut setelah bakteri *Streptococcus alpha*. Peradangan rongga mulut yang terjadi seperti *parotitis*, *cellulitis*, *angular cheilitis*, dan *abses periodontal Djais* (Najlah, 2010).

2.8.1.2. Morfologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Staphylococcus aureus ATCC 25923 merupakan bakteri patogen utama pada manusia. Termasuk famili staphylococcae, berukuran 0,5-1,5 μm dan membentuk pigmen kuning keemasan. Bentuk sel kokus tunggal, berpasangan, tread, bakteri fakultatif anaerob dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair (Agus Herdiana, 2015). *S.aureus* ATCC 25923 bergerombol menyerupai untaian anggur, tidak membentuk spora, bakteri Gram positif, dapat tumbuh dalam media dengan konsentrasi NaCl hingga 15% dan hemolisis pada blood agar (Tyasningsih *et al.*, 2010). *S.aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri anaerob fakultatif sehingga dapat tumbuh pada kondisi aerobik dan anaerobik (Brooks *et al.*, 2013).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 tumbuh pada suhu 6,5-46°C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Pada media manitol Salt Agar (MSA) pertumbuhan koloni *S.aureus* ATCC 25923 akan terlihat berwarna kuning (Krishna, 2013). *S.aureus* ATCC 25923 termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Pada agar miring dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Dalam

keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah dapat tetap hidup selama 6- 14 minggu (Shyahrurahman *et al.*, 2010). *S.aureus* ATCC 25923 telah diketahui resisten terhadap antibiotik *methicillin* (golongan *penisilin*) sehingga disebut *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Rante *et al.*, 207).

2.8.2. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Staphylococcus aureus ATCC 25923 memiliki karakter yang menjadi penanda dalam identifikasi kolonisasi yaitu dari pigmen koloni, clumping, nuclease yang termotabil, dan produksi asam dari fermentasi manitol. *S.aureus* ATCC 25923 memiliki kemampuan untuk memfermentasi manitol sehingga akan muncul koloni yang dikelilingi oleh halo yang berwarna kuning disekitarnya. Identifikasi *S.aureus* ATCC 25923 dapat dilakukan dengan media MSA, pewarnaan Gram, tes katalase dan dilanjutkan tes koagulase (Krishna, 2013).

2.8.2.1. Pewarnaan gram

Pewarnaan Gram merupakan suatu metode yang bertujuan untuk mengamati morfologi sel dari bakteri *Staphylococcus* dan mengetahui kemurnian sel bakterinya. Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram. Preparat apus bakteri dibuat dengan cara, mencampurkan satu *use* biak bakteri dari PAD dengan NaCl fisiologis yang telah ditetaskan pada gelas obyek, kemudian dibuat apus setipis mungkin, dikeringkan, dan difiksasi di atas lampu spiritus. Preparat apus ditetesi pewarna pertama dengan karbol gentian violet selama 2 menit, warna dibuang, ditetesi lugol selama 1 menit, kemudian preparat apus dilunturkan dengan alkohol 95% selama 1 menit. Selanjutnya alkohol dibuang, preparat dicuci dengan *aquadestilata* dan diberi pewarna kedua dengan larutan *fuschine* selama 2 menit. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan dengan akuades, dikeringkan dan diamati morfologi sel, serta warnanya di bawah mikroskop. Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah (Krishna, 2013).

Warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama yaitu gentian violet. Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel yaitu bakteri Gram positif memiliki kandungan peptidoglikan tebal

sehingga menjadi berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki kandungan lipid yang tebal pada dinding selnya sehingga ketika diwarnai dengan kristal violet lalu dibilas dengan alkohol, lipid akan larut dan ikut terbilas sehingga bakteri Gram negatif akan menyerap pewarnaan kedua yaitu merah (Krishna, 2013).

2.8.2.2. Manitol Salt Agar

Mannitol salt agar (MSA) merupakan media selektif dan media diferensial. Penanaman dilakukan dengan cara satu *use* biakan diambil dari media pepton, dan diusapkan pada media MSA, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam (Krishna, 2013). Hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning (Neliyani *et al.*, 2014). Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna media MSA dari warna merah menjadi kuning, perubahan ini terjadi karena fermentasi manitol menjadi asam. Produk yang dihasilkan bakteri ini adalah asam organik yang mengubah indikator pH di MSA, merubah warna merah menjadi kuning cerah (Tambayong, 2009).

2.8.2.3. Uji katalase

Katalase merupakan salah satu uji yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena bakteri ini menghasilkan enzim katalase. Uji Katalase bertujuan untuk membedakan antara *Staphylococcus* dan *Streptococcus*, dimana kelompok *Staphylococcus* bersifat katalase positif. Semua galur *Staphylococcus* adalah katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂ (Suhartanti *et al.*, 2010). Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada gelas obyek yang bersih. Biakan dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida dengan *use*. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan *use*, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Krishna, 2013). Gelembung-gelembung O₂ akan muncul pada sel *S.aureus* ATCC 25923 timbul setelah 5 detik. Gelembung gas O₂ dihasilkan dari aktifitas katalase yang menguraikan hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂ (Suhartanti *et al.*, 2010).

2.8.2.4. Uji koagulase

Uji koagulase dilakukan dengan 2 metode, yaitu uji slide dan uji tabung. Uji slide atau *clumping factor* digunakan untuk mengetahui adanya ikatan koagulase. Uji slide dikerjakan dengan cara setetes *aquadestilata* atau NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian satu *use* biakan yang diuji, disuspensikan. Setetes plasma diletakkan di dekat suspensi biakan tersebut, keduanya dicampur dengan menggunakan *use* dan kemudian digoyangkan. Reaksi positif terjadi apabila dalam waktu 2-3 menit terbentuk presipitat. Uji tabung digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 µl plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3-4 koloni biakan *Staphylococcus sp.* yang diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur hati-hati. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18-24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk *clot* atau *jelly* dan ketika tabung dimiringkan *jelly* tetap berada di dasar tabung (Krishna, 2013).

2.9. Antibakteri Uji

Antibakteri merupakan suatu zat atau obat yang diperoleh dari sintesis atau berasal dari senyawa non organik yang berfungsi untuk membasmi jasad renik. Antibakteri yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut bakteriostatik sedangkan antibakteri yang dapat membunuh mikroorganisme disebut bakterisidal (Rahmadani, 2015). Antibakteri merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk membunuh dan melukai bakteri yang menyerang tanpa merugikan sel inang. Obat antibakteri efektif dalam pengobatan infeksi karena toksisitasnya selektif (Whalen, 2015). Kategori daya hambat pada antibakteri yaitu diameter zona hambat lebih dari 20 mm daya hambatnya sangat kuat, diameter zona hambat antara 10-20 mm daya hambatnya sedang, diameter zona hambat 5 mm daya hambatnya lemah (Simbolon *et al.*, 2018).

Antibakteri uji yang digunakan yaitu klindamisin karena klindamisin merupakan antibiotik yang dapat menghambat bakteri coccus gram positif anaerob (Kemenkes, 2011). Klindamisin bekerja sebagai antibakterial dengan

menghambat sintesis protein bakteri sama seperti mekanisme kerja dari saponin dan tanin (Muchtarmah, 2016). Klindamisin yang digunakan yaitu kapsul klindamisin dosis 150 mg (Wahdaningsih *et al.*, 2014).

2.9.1. Klindamisin

Antibiotik klindamisin merupakan antibiotik yang dapat menghambat sebagian besar coccus Gram positif dan sebagian besar dari bakteri anaerob, akan tetapi klindamisin tidak dapat menghambat bakteri Gram negatif aerob seperti *Haemophilus*, *Mycoplasma* dan *Chlamydia* (Kemenkes, 2011). Klindamisin banyak digunakan topikal pada acne untuk menghambat *Propionibacterium acnes* (Dessy, 2016).

Karakteristik klindamisin menurut Farmakope Indonesia edisi IV merupakan (Depkes RI, 1995):

Nama Obat	: Klindamisin hidroklorida
Nama lain	: Clindamycin Hydrochloridum
BM	: $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$
RM	: 461, 44 g/mol
Kemurnian	: Klindamisin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 800 µg per mg.
Pemerian	: Serbuk hablur, putih atau praktis putih, tidak berbau atau bau lemah seperti merkaptan. Stabil diudara dan cahaya. Larutan bersifat asam dan memutar bidang polarisasi ke kanan
Kelarutan	: Mudah larut dalam air, dalam dimetilformamida dan methanol. Larut dalam etanol. Praktis tidak larut dalam aseton
pH	: 3,0-5,5
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat

Mekanisme kerja dari klindamisin yaitu memiliki mekanisme kerja yang sama dengan antibiotik eritromisin. Klindamisin bekerja sebagai antibakterial dengan menghambat sintesis protein bakteri yaitu dengan memotong elongasi rantai peptide, memblok *site A* pada ribosom, kesalahan membaca pada kode

genetic atau mencegah penempelan rantai oligosakarida pada glikoprotein (Muchtaramah, 2016). Dosis klindamisin untuk infeksi serius karena bakteri yaitu 150-450 mg per oral 1 kali setiap 6-8 jam. Dosis untuk anak dengan infeksi kurang dari 1 bulan 8-20 mg 1x sehari per oral (Medscape, 2018).

2.9.2. Mekanisme kerja antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme antibakteri dapat digolongkan sebagai berikut: (Radji, 2011)

- 2.9.2.1.** Antibakteri yang dapat menghambat sintesis dinding sel. Dinding sel bakteri merupakan bagian yang sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Zat antibakteri dapat melisiskan dinding sel sehingga mempengaruhi bentuk dan struktur sel yang akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut.
- 2.9.2.2.** Antibakteri yang dapat mengganggu biosintesis asam nukleat. Proses replikasi DNA didalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri.
- 2.9.2.3.** Antibakteri yang dapat menghambat sintesis protein. Sintesis protein merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi yaitu DNA ditranskripsi menjadi mRNA dan proses translasi yaitu mRNA ditranslasi menjadi protein. Antibakteri dapat menghambat proses-proses tersebut sehingga akan menghambat sintesis protein.
- 2.9.2.4.** Antibakteri yang dapat mengganggu atau merusak membrane sel. Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Membrane sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membrane sel sehingga dapat mempengaruhi hidup sel bakteri

2.9.3. Faktor yang mempengaruhi efektivitas antibakteri

Beberapa faktor atau keadaan yang dapat mempengaruhi efektivitas antibakteri perlu diperhatikan karena akan mempengaruhi hasil akhir pada pengujian. Hal yang dapat mempengaruhi efektivitas antibakteri menurut Irianto (2007):

2.9.3.1. pH lingkungan

pH dapat berpengaruh terhadap efektivitas antibakteri karena beberapa macam obat lebih aktif pada pH yang asam seperti nitrofurantonin, sedangkan beberapa obat lain lebih aktif pada pH basa seperti streptomisin dan sulfonamide. Mikroorganisme yang hidup pada pH asam akan lebih mudah dibasmi ada suhu rendah dan dalam waktu yang singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang hidup pada pH basa.

2.9.3.2. Komponen-komponen medium

Komponen medium dalam bentuk garam akan dapat menghambat beberapa mekanisme kerja obat seperti pada streptomisin. Komponen medium berupa PABA (Para Aminobenzoic Acid) dalam ekstrak jaringan dapat menghambat kerja sulfonamide. Protein serum akan mengikat penisilin dalam jumlah yang berbeda-beda 40% untuk metisilin dan 96% untuk eksasilin.

2.9.3.3. Stabilitas obat

Suhu dapat meningkatkan efektifitas suatu senyawa antibakteri karena zat kimia merusak mikroorganisme melalui reaksi kimia. Reaksi kimia dapat dipercepat dengan peningkatan suhu, namun pada suhu incubator tertentu beberapa antibakteri mengalami kehilangan aktivitasnya. Pada klortetrasiklin cepat menjadi nonaktif dan penisilin menjadi lambat sedangkan streptomisin, kloramfenikol dan polimiksin B stabil untuk waktu yang lama.

2.9.3.4. Tekanan inoculum

Takanan inoculum apabila semakin besar maka akan semakin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya. Besarnya inoculum juga dapat menyebabkan daerah hambat semakin kecil, sehingga densitas dari inoculum harus disesuaikan sedemikian rupa maka pertumbuhan koloni tampak bersatu dan tidak menjadi filum yang berkesinambungan. Pengujian cara difusi jumlah dan

kondisi lingkungan bakteri berbeda dan susah dibekukan. Perlu adanya perbandingan dengan kontrol yang menggunakan bakteri yang telah diketahui sensitivitasnya.

2.9.3.5. Waktu inkubasi

Waktu kontak yang pendek akan menyebabkan beberapa bakteri tidak terbunuh melainkan hanya terhambat aktivitasnya. Waktu yang terlalu lama kemungkinan besar akan menyebabkan mutan resisten atau anggota populasi bermultiplikasi senyawa antibakteri tersebut terurai.

2.9.3.6. Aktivitas metabolisme mikroorganisme

Bakteri yang sedang aktif atau sedang tumbuh lebih sensitive terhadap senyawa antibakteri daripada yang sedang dalam fase istirahat. Mikroorganisme yang sedang mempertahankan diri untuk hidup dari segi metabolisme merupakan nonaktif dan dapat bertahan dalam waktu yang lama saat kontak dengan senyawa antibakteri meskipun pada awalnya bakteri tersebut sangat sensitive terhadap senyawa antibakteri tersebut.

Mekanisme kerja ekstrak batang pepaya yaitu senyawa aktif ekstrak batang pepaya yang berfungsi sebagai agen antibakteri yaitu senyawa saponin dan antrakuonin. Mekanisme kerja saponin sebagai agen antibakteri merupakan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma, mengganggu dan mengurangi kestabilannya sehingga menyebabkan sitoplasma bocor dan keluar dari sel (Simbolon *et al.*, 2018).

Menurut Simbolon *et al.* (2018) penambahan ekstrak batang pepaya terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923 memiliki kategori sedang dengan daya hambat berkisar 6,17 mm – 10,83 mm. Penelitian yang dilakukan oleh Rahman *et al.* (2011) menyatakan bahwa ekstrak batang pepaya pada konsentrasi 1% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923. Menurut Permata *et al.* (2018) semakin kecil konsentrasi hambat minimum ekstrak menandakan semakin potensial ekstrak tersebut sebagai antibakteri, karena dengan konsentrasi kecil ekstrak sudah dapat menghambat dan membunuh bakteri.

2.10. Uji Metode Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari suatu bakteri terhadap antibakteri secara *in vitro*. Ada dua metode dalam melakukan pengujian ini. Metode yang pertama yaitu metode penyebaran (*Diffusion method*) dengan menggunakan cakram kertas dan metode yang kedua menggunakan metode pengenceran (*Dillution method*) (Kristanti, 2008).

2.10.1. Metode difusi

Metode difusi merupakan suatu metode perpindahan dari molekul secara acak dari suatu posisi ke posisi lainnya. Ada beberapa macam metode difusi yang digunakan untuk penetapan potensi (Djide, 2008). Metode difusi merupakan metode yang umum dan praktis, cepat dalam pembacaan hasil, mudah dan murah, sehingga cocok untuk digunakan dalam penelitian (Fatimah *et al.*, 2016).

2.10.1.1. Metode *Disc diffusion*

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Lempengan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media *Agar* yang telah disebari dengan bakteri yang akan berdifusi pada media *Agar* tersebut. Daerah sekeliling *paper disk* atau kertas cakram berwarna jernih maka mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media *Agar* (Pratiwi, 2012). Setelah dilakukan inkubasi, diameter zona hambat yang jernih disekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji (Pratama, 2015).

2.10.1.2. Metode *e-test*

Metode ini digunakan untuk mengestimasi KHM (Kadar Hambat Minimum) atau MIC (*Minimum inhibitory concentration*) yang merupakan konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2012). Konsentrasi hambat minimum dari zat bioaktif terhadap mikroba digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari mikroba terhadap zat bioaktif. Nilai KHM berlawanan dengan sensitifitas mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai KHM dari sebuah zat aktif maka sensitivitas bakteri akan semakin besar (Muharni *et al.*, 2017). Strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari kadar terendah sampai terlalu tinggi diletakkan pada permukaan media *Agar* yang

telah ditanam bakteri. Kadar agen antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri apabila terdapat area jernih pada media *Agar* (Pratiwi, 2012).

2.10.1.3. *Disk-plate technique*

Agen antibakteri merupakan sampel uji pada metode ini. Metode ini dapat dilakukan dengan membuat parit dengan memotong media *Agar* dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur. Sampel diletakkan pada parit yang dibuat dan bakteri uji digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri, maksimum 6 macam bakteri (Pratiwi, 2012).

2.10.1.4. *Cup-plate technique*

Metode ini dilakukan dengan membuat sumur pada media *Agar* yang ditanami dengan bakteri dan diberikan agen antibakteri yang akan diujikan. Metode ini hampir sama dengan metode *disc diffusion* (Pratiwi, 2012).

2.10.1.5. *Gradient-plate technique*

Secara terotitis konsentrasi agen antibakteri pada media *Agar* bervariasi mulai dari 0 hingga maksimal. Media *Agar* dicairkan dalam larutan uji, kemudian dituang ke dalam cawan petri dan dicetak dalam posisi miring. Selanjutnya nutrisi kedua dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antibakteri berdifusi. bakteri uji maksimal 6 macam digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil dituang sebagai panjang total pertumbuhan bakteri maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan bakteri berdasarkan hasil goresan (Pratiwi, 2012).

Tabel 2.1 Kategori respon hambatan pada pertumbuhan bakteri berdasarkan hasil diameter zona hambat (Pratiwi, 2009)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 21 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
6-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

2.10.2. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang digunakan untuk menentukan nilai dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi, 2008). Tujuan akhir dari metode dilusi adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang akan diuji. Keuntungan metode dilusi adalah memungkinkan adanya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme (Nuraina, 2015). Terdapat dua macam dalam metode dilusi yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Kedua metode ini memiliki prinsip yang sama hanya yang membedakan merupakan media yang digunakan (Pratiwi, 2008).

2.10.2.1. Metode dilusi cair (*borth dilution test*)

Metode dilusi cair (*borth dilution test*) merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode ini dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008). Prinsip dari metode ini yaitu sejumlah antimikroba dibuat dengan beberapa seri kadar dan di teteskan pada media cair yang telah diinokulasikan standart mikroba uji. Larutan pada kadar terendah yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Larutan uji ditetapkan sebagai KHM tersebut dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji maupun agen antimikroba dan diinokulasi selama 8-24 jam. Media yang tetap jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi, 2008).

2.10.2.2. Metode dilusi padat (*solit dilution test*)

Metode dilusi padat (*solit dilution test*) merupakan suatu metode yang hampir serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*Solid*). Keuntungan metode ini merupakan satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat dihunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

2.11. Kerangka Penelitian

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah kesehatan masyarakat yang penting, khususnya di negara berkembang seperti Indonesia (MenKes, 2011). Penyakit infeksi dapat diobati dengan pemberian antibiotik. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri patogen utama pada manusia (Brooks *et al.*, 2013).

Timbulnya banyak kasus resistensi terhadap obat-obatan antibiotik mengakibatkan kebutuhan alternatif antibiotik lain (Tessy *et al.*, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Rahman *et al.*, (2011) mengatakan bahwa ekstrak batang pepaya pada konsentrasi 1% memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *S.aureus* ATCC 25923 dengan diameter zona hambat sebesar 12 mm termasuk dalam kategori kuat.

Penelitian ini dilakukan menggunakan ekstraksi soxhletasi dan selanjutnya dilakukan fraksinasi 3 pelarut yaitu n-heksan, diklorometana dan *aquadestilata*. Semua fraksi dilakukan pengujian antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dengan metode difusi cakram, dan ditentukan nilai KHM menggunakan metode dilusi cair. Hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS 16.

2.13. HIPOTESIS

Berdasarkan tujuan penelitian, maka hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 2.13.1. Fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n- heksan batang pepaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- 2.13.2. Fraksi *aquadestilata* batang pepaya memiliki zona hambat paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- 2.13.3. Kadungan kimia yang masih aktif dalam fraksi teraktif batang pepaya yaitu saponin, flavonoid dan tanin sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan nilai KHMnya adalah 0,312%

BAB III

METODOLOGI

3.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan batang papaya segar, etanol 70%, etanol 96%, n-heksan, diklorometana, *aquadestilata*, magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, larutan feri klorida (FeCl₃) 1%, *Nutrient agar* (NA), *Nutrient broth* (NB), NaCl fisiologis, Mc Farland, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan klindamisin.

3.2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pisau, blender, ayakan mesh 80, neraca analitik, wadah *stainlees steel*, oven, seperangkat alat soxhletasi, kertas saring, waterbatt, statif dan klem, lampu spiritus, thermometer, gelas beker, neraca analitik, sendok tanduk, tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, cawan porsen, kapas steril, gelas ukur, corong pisah, corong kaca, kertas saring, autoklaf (GEA YX2808), hot plate, lemari pendingin, cawan petri, pinset, kertas cakram, erlenmeyer, aluminium foil, *Use*, mikropipet, rak tabung reaksi, kapas lidi steril, bunsen, penggaris, tali, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), spektrofotometer Uv-Vis N4S.

3.3. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini merupakan batang papaya (*Carica Papaya Linn.*) yang terdapat di Kabupaten Blitar, Jawa Timur.

3.4. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan batang papaya (*Carica Papaya Linn.*) yang berumur 1 tahun 3 bulan diperoleh dari pekarangan Bapak Kholiq Nurhadi, Dusun Plosokembang, RT/RW : 01/01, Desa Pikatan, Kecamatan Wonodadi, Kabupaten Blitar, Jawa Timur.

3.5. Definisi Operasional

3.5.1 Batang pepaya (*Carica Papaya Linn.*) merupakan batang dari tumbuhan pepaya (*Carica Papaya Linn.*) yang diambil dari salah satu pekarangan warga Desa Pikatan, Kecamatan Wonodadi, Kabupaten Blitar, Jawa Timur.

3.5.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri Gram positif yang diperoleh dari UESBE Laboratorium Iso Universitas Setia Budi Surakarta

3.6. Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulan (Sugiyono, 2013). Pada penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat.

3.6.1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen atau terikat (Sugiyono, 2013). Variabel bebas dalam penelitian ini merupakan fraksi batang pepaya dengan seri konsentrasi 5%, 10%, 15%.

3.6.2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat dalam penelitian ini merupakan adanya hambatan fraksi batang pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3.7. Metode Penelitian

3.7.1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman. Sampel tanaman batang pepaya di determinasi di UPT Materia Medica, Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi merupakan untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman (Insanu *et al.*, 2011).

3.7.2. Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia batang pepaya yaitu dengan melakukan pengumpulan batang pepaya dengan umur yaitu 1 tahun 3 bulan (Simbolon *et al.*, 2018). Mengambil batang pepaya bagian selanjutnya melakukan sortasi basah untuk membersihkan batang dari kotoran dan benda asing. Selanjutnya melakukan pencucian sebanyak tiga kali dengan air mengalir. Proses satu kali pencucian dapat menghilangkan sebanyak 25% dari jumlah mikroba, bila proses pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya sekitar 42% dari jumlah total mikroba awal (Depkes RI, 2008). Proses berikutnya melakukan pemotongan batang pepaya dengan tebal 2-5 cm (Simbolon *et all*, 2018). Proses selanjutnya melakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C karena pada suhu 50°C mengasilkan kadar air paling rendah dibandingkan pengeringan dengan matahari langsung dan kering angin (Winarsih *et all.*, 2013). Batas suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. (Depkes RI, 2008). Senyawa flavonoid, tanin dan saponin tidak tahan pemanasan apabila suhu lebih dari 60°C sehingga menyebabkan perubahan struktur pada senyawa (Handayani *et al.*, 2016). Pengeringan dilakukan sampai simplisia mudah dipatahkan dan menimbulkan gemerisik apabila diremas, kemudian dilakukan sortasi kering.

Selanjutnya menghaluskan simplisia menggunakan mesin penggiling untuk menghasilkan serbuk simplisia dan mengayaknya dengan ayakan no 80 (Depkes RI, 2000). Kayu dan akar merupakan jenis organ tanaman dengan kategori keras. Bahan yang keras memerlukan proses pembuatan serbuk yang lebih lama dan memerlukan derajat halus lebih kecil agar lebih efektif terpenetrasi oleh cairan penyari (Hertiani, 2012). Serbuk halus kemudian dilakukan penimbangan bobot tertentu. Apabila dalam pengujian disebutkan “menggunakan zat yang sebelumnya telah dikeringkan dan tidak mengandung minyak menguap” dan tidak ada penjelasan mengenai cara pengeringan, maka digunakan cara seperti tertera pada penetapan susut pengeringan atau penetapan kadar air metode gravimetri. Jika dalam pengujian disebutkan “menggunakan zat yang sebelumnya telah dikeringkan dan mengandung minyak menguap” dan tidak ada penjelasan

mengenai cara pengeringan, maka digunakan cara seperti tertera pada penetapan kadar air metode destilasi. (Depkes RI, 2008) dilanjutkan proses ekstraksi.

3.7.3. Uji kadar air serbuk simplisia

Uji kadar air simplisia dilakukan secara gravimetri tujuannya yaitu untuk mengetahui besarnya kandungan air pada simplisia, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Depkes RI, 2000). Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g serbuk dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% . Kadar air pada simplisia merupakan tidak lebih dari 10% (Huda *et al.*, 2019). Kadar air yang melebihi 10% dapat mengakibatkan mudah ditumbuhi jamur (Ratnani *et al.*, 2015).

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000).}$$

3.7.4. Pembuatan ekstrak

Mengambil serbuk batang papaya sebanyak 20 g, kemudian membungkus dengan kertas saring yang telah dibentuk dan diukur sesuai timbel dan memasukkan dalam timbel. Perbandingan bahan dan pelarut pada metode soxhletasi yaitu 1:20 (Malinda *et al.*, 2013). Pelarut etanol 96% yang digunakan sebanyak 400 mL dimasukkan dalam labu alas bulat. Dilakukan proses kontinyu hingga tercapai ekstraksi dengan ditandai berupa cairan pelarut yang menetes diatas timbel menjadi jernih. Ekstrak dapat dipekatkan menggunakan waterbath dengan suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Ditjen POM, 2000). Hasil rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa kimia yang dapat tersari dalam ekstrak juga cukup besar (Kartikasari *et al.*, 2011). Semakin tinggi rendemen yang dihasilkan menunjukkan semakin banyaknya komponen bioaktif yang terkandung didalamnya dan begitu pula sebaliknya (Febria *et al.*, 2017).

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

3.7.5. Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak batang pepaya dilakukan dengan menggunakan metode partisi cair-cair dengan didasarkan tingkat kepolaran dari pelarut. Melarutkan ekstrak batang pepaya sebanyak 5 g dalam *aquadestilata* sebanyak 25 mL. Menambahkan 25 mL n-heksan dikocok dan dipisahkan fraksi *aquadestilata* dengan fraksi n-heksan. Memasukkan fraksi *aquadestilata* yang telah disari kedalam corong pisah, menambahkan 25 mL diklorometana, dikocok dan dipisahkan fraksi *aquadestilata* dengan fraksi diklorometana. Dilakukan 3 kali penyarian pada masing-masing fraksi dengan penambahan jumlah pelarut yang sama (Harborne, 2006 Ekstrak dapat dipekatkan menggunakan waterbatt dengan suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Ditjen POM, 2000). Jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan volume air yang ditambahkan kedalam ekstrak yaitu dengan perbandingan 1:1 (Nuria *et al.*, 2012).

3.6.7. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia fraksi batang pepaya bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam batang pepaya (Huda *et al.*, 2019).

3.6.7.1. Flavonoid

Mengambil fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan sebanyak 1 mL kemudian mencampurkan dengan 3 mL etanol 70%, kemudian dikocok, memanaskan dan mengkocok kembali kemudian menyaringnya. Filtrate yang diperoleh, kemudian menambahkan Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna merah, orange, atau hijau pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid (Huda *et al.*, 2019). Terjadinya reduksi dengan Mg dan HCL pekat sehingga membentuk senyawa kompleks yang berwarna merah (Latifah, 2016).

3.6.7.2. Saponin

Mengambil fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan sebanyak 1 mL kemudian mencampur dan mendidihkan dengan 10 mL *aquadestilata* dalam penangas air. Mengocok filtrat dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil menunjukkan positif terdapat saponin (Huda *et al.*, 2019). Busa

yang ditimbulkan karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusun saponin yaitu sapogenin non polar dan rantai polar yang larut dalam air (Latifah, 2016). Adanya glikosia dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Annisar, 2018).

3.6.7.3. Tanin

Mengambil fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan sebanyak 2 g kemudian menambahkan etanol sampai terendam semuanya. Memindahkan sebanyak 1 mL larutan ke kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Huda *et al.*, 2019). Terbentuknya senyawa hijau kehitaman dikarenakan tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Latifah, 2016).

3.6.7. Uji aktivitas antibakteri

3.6.7.1. Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi merupakan suatu proses menghilangkan segala jenis organisme hidup atau mikroorganisme baik protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma, dan virus yang terdapat pada suatu benda (Raudah *et al.*, 2017). Sterilisasi alat bahan dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf bertekanan 1 atm dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam Erlenmeyer yang ditutup dengan kapas steril dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.6.7.2. Pembuatan larutan uji

Fraksi *aquadestilata*, fraksi diklorometana dan fraksi n-heksan dibuat seri konsentrasi 5%, 10%, 15% dengan cara menimbang fraksi pekat masing-masing 5 g, 10 g, dan 15 g. Masing-masing fraksi kemudian dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Fraksi *aquadestilata* dilarutkan dalam *aquadestilata* add 100 mL. Fraksi diklorometana di larutkan dalam diklorometana add 100 mL dan fraksi n-heksan dilarutkan dalam n-heksan add 100 mL.

3.6.7.3. Pembuatan larutan kontrol

1. Kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan yaitu kapsul klindamisin dengan membuka sebanyak 1 kapsul klindamisin (± 300 mg) dan menimbang serbuk sebanyak 0,01% dari bobot kapsul yaitu 0,003 g dan melarutkan dalam *aquadestilata* add 100 mL.

2. Kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan yaitu *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan. Masing-masing pelarut di pipet sebanyak 20 μ L pada cakram steril dengan diameter 6 mm.

3.6.8. Pembuatan media

3.7.8.1. Pembuatan media *nutrient broth* (Nb)

Serbuk Nb 0.08 g dilarutkan dalam 10 mL *aquadestilata*, 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).

3.7.8.2. Pembuatan media *nutrient agar* (Na)

Serbuk NA ditimbang sebanyak 4,2 g dilarutkan dalam 210 mL *aquadestilata*, 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). Media kemudian dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 15 mL dan dibiarkan mengeras (Simbolon *et al*, 2018). Cawan petri dengan diameter 10 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 mL. Sedangkan diameter 9 cm kira-kira cukup diisi media sebanyak 10 mL (Indra, 2008).

3.7.9. Peremajaan bakteri

Proses ini bertujuan untuk merawat bakteri agar tetap baik dengan cara menggunakan media agar miring NA. Masing-masing ditumbuhi *Staphylococcus aureus* dengan digores menggunakan kapas lidi steril. Bakteri diinkubasi selama 37-38°C selama 24 jam (Yusriana *et al.*, 2014). Mc Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5). Mc Farland mempunyai populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Forbes *et al.*, 2007).

3.7.10. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dengan cara mensuspensikan biakan dari bakteri *Saureus* kedalam tabung yang berisi media NB sebanyak 5 mL, selanjutnya menginkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan suspensi bakteri diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standart 0,5 Mc (Krishna, 2013). Mc Farland mempunyai populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Forbes *et al.*, 2007).

3.7.11. Uji aktivitas antibakteri dengan metode cakram

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Menyiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri *S.aureus* ATCC 25923. Menambahkan fraksi batang pepaya dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% sebanyak 20µL pada masing-masing cakram steril dengan diameter 6 mm (Simbolon *et al.*, 2018). Kertas cakram steril yang telah ditetesi fraksi batang pepaya ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan menekan dengan lembut kebawah agar terjadi kontak antara kertas cakram dan permukaan media. Kontrol negatif digunakan pelarut yang sesuai dan kontrol positif digunakan klindamisin. Setelah itu menginkubasi cawan petri selama 24 jam pada suhu 37°C. Mengamati dan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk (Huda *et al.*, 2019).

3.7.12. Pengukuran zona hambat

Zona hambat dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong atau mistar berskala. Kemudian diperoleh diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk diameter kertas cakram. Dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang akurat (Yusriana *et al.*, 2014).

3.8. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi suatu antibiotik terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan organisme tertentu. Tujuannya digunakan untuk menentukan konsentrasi antibiotik yang masih efektif untuk mencegah pertumbuhan patogen dan mengindikasikan dosis antibiotik yang paling efektif untuk infeksi pasien (Harmita dan Radji, 2008).

Aktifitas antibakteri terbesar ditunjukkan oleh luas diameter zona bening terbesar yang terbentuk dari konsentrasi sampel. Konsentrasi terkecil dari sampel yang mampu menghambat bakteri yang diinokulasi dengan terbentuknya zona bening merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari sampel (Mulyadi *et all*, 2017).

Metode dilusi cair (*borth dilution test*) merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Pratiwi, 2008). Metode dilusi dilakukan dengan 12 tabung steril. Kontrol positif adalah suspensi bakteri dan kontrol negatif adalah fraksi *aquadestilata*. Konsentrasi larutan stok yang dibuat adalah 5%. Larutan stok dibuat secara aseptis dengan deret konsentrasi yaitu kontrol (-); 5%; 2,5; 1,25%; 0,625%; 0,312%; 0,156; 0,078%; 0,039%; 0,019%; 0,009% dan kontrol (+). Media NB dimasukkan 0,5 mL pada tiap tabung kecuali tabung 1. Larutan stok sebanyak 1mL dimasukkan secara aseptis pada tabung 1, kemudian pada tabung 2 dimasukkan 0,5 ml larutan stok, kemudian dari tabung 2 dipipet 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung 3 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Suspensi bakteri ditambahkan sebanyak 0,5 mL dari tabung 2 sampai tabung 12. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya (Oktaviana, 2018).

Konsentrasi hambat minimum dapat diukur dengan secara visual, dengan cara setelah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam, semua tabung tersebut dilihat kekeruhannya secara visual. Bila kekeruhan masing-masing tabung masih setara atau lebih keruh dari tabung K(+) yang berisi suspensi bakteri *S.aureus* ATCC 25923 sesuai standar kekeruhan 0,5 McFarland berarti bakteri masih dapat bertumbuh, tetapi ketika larutan dalam tabung terlihat mulai lebih jernih daripada tabung K(+) berarti pertumbuhan bakteri mulai terhambat (Lolongan *et al.*,2016). Konsentrasi hambat minimum juga dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 343 nm (Warokka *et al.*, 2016). Pengukuran dilakukan dengan cara media yang telah diinkubasi diukur nilai absorbannya spektrofotometer sebagai nilai absorbansi akhir. Jika nilai absorbansi akhir (sesudah inkubasi) masing-masing tabung lebih

besar dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi), maka disimpulkan bahwa masih terjadi pertumbuhan bakteri, namun jika tidak terdapat perubahan nilai absorbansi antara nilai absorbansi akhir dengan absorbansi awal, atau nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal, maka disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri dihambat. KHM ditentukan dengan konsentrasi fraksi terkecil pada tabung perlakuan yang sudah mulai menghambat pertumbuhan bakteri (Lolongan *et al.*, 2016).

3.9. Jalur Penelitian

- Kelompok I : kontrol negatif, yaitu *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan
- Kelompok II : kontrol positif, yaitu kapsul klindamisin
- Kelompok III : kontrol uji, yaitu fraksi batang pepaya 5%
- Kelompok IV : kontrol uji, yaitu fraksi batang pepaya 10%
- Kelompok V : kontrol uji, yaitu fraksi batang pepaya 15%

Penelitian dimulai dengan melakukan determinasi tanaman pepaya yang dilakukan di Materia Medika Batu Malang selanjutnya dilakukan pembuatan serbuk simplisia batang pepaya segar. Serbuk simplisia batang pepaya yang sudah jadi dilakukan uji kadar air dan dilakukan ekstraksi dengan berat sebanyak 220 g diekstraksi menggunakan metode soxhletasi. Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak yaitu etanol 96% sebanyak 4.400 mL dan diperoleh ekstrak batang pepaya. Ektrak batang pepaya kemudian dilakukan fraksinasi yaitu *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan. Fraksi yang diperoleh skrining fitokimia meliputi flavonoid, saponin dan tanin. Kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% menggunakan metode difusi dan diperoleh daya nilai hambat terbaik. Daya hambat tersebut dilakukan uji dilusi untuk mengetahui nilai KHMnya. Proses akhir analisis hasil dengan menggunakan aplikasi SPSS 16.

3.10. Analisis Statistika

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dilakukan analisis menggunakan program SPSS 16 untuk melihat apakah fraksi batang pepaya mampu menghambat bakteri *S.aureus* ATCC 25923. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut:

3.11.1. Uji normalitas data

Uji normalitas data merupakan uji untuk dihasilkan mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik *parametik*. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro wilk* sebagai uji normalitas data. Apabila data tidak normal, pengujian dilanjutkan menggunakan *Kruskal Wallis*.

Perumusan hipotesis:

H₀: Data berdistribusi normal

H₁: Data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan:

- 1) Jika $p > 0,05$: maka H₀ diterima
- 2) jika $p \leq 0,05$: maka H₁ diterima

3.11.2. Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* ini memiliki tujuan untuk membandingkan tiga atau lebih kelompok data sampel. Uji ini digunakan ketika asumsi normalitas tidak terpenuhi atau nilai varians tidak sama (Vania, 2013).

Perumusan hipotesis:

H₀: Data tidak berbeda bermakna

H₁: Data berbeda bermakna

Pengambilan keputusan:

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima

3.11.3. Uji Mann Whitney

Uji *Mann Whitney* memiliki tujuan untuk menguji signifikansi hipotesis komparatif dua sampel. Dikatakan terdapat perbedaan bermakna jika nilai signifikansi $p \leq 0,05$ dan sebaliknya apabila nilai signifikansi $p > 0,05$ data tidak terdapat perbedaan bermakna.

Perumusan hipotesis:

H_0 : Tidak adanya perbedaan bermakna

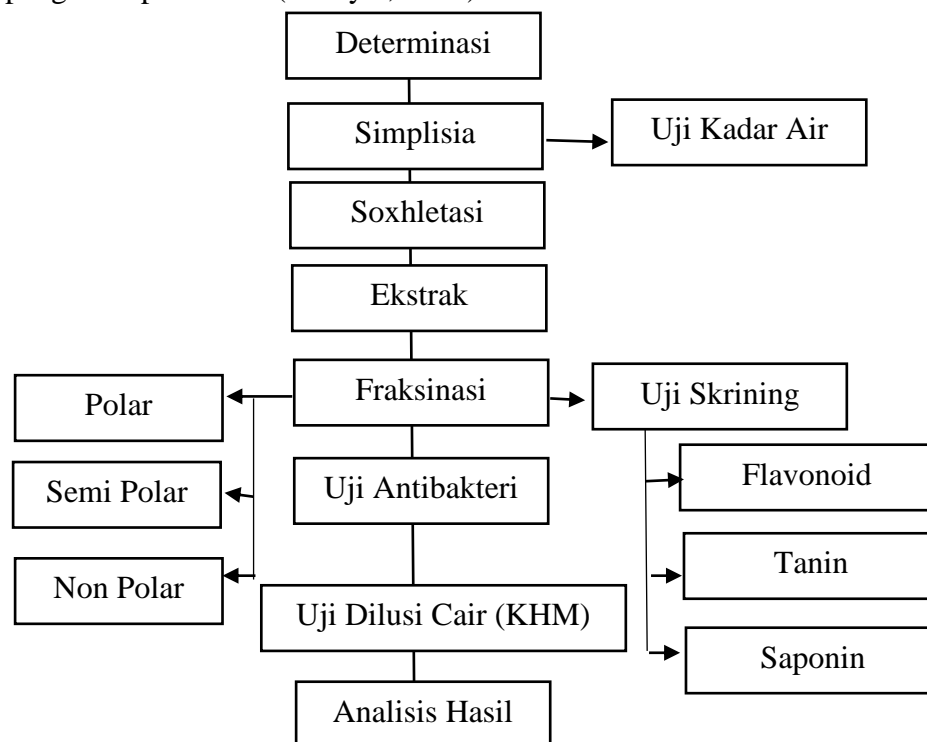
H_1 : Adanya perbedaan bermakna

Pengambilan keputusan:

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.11. Kerangka Penelitian

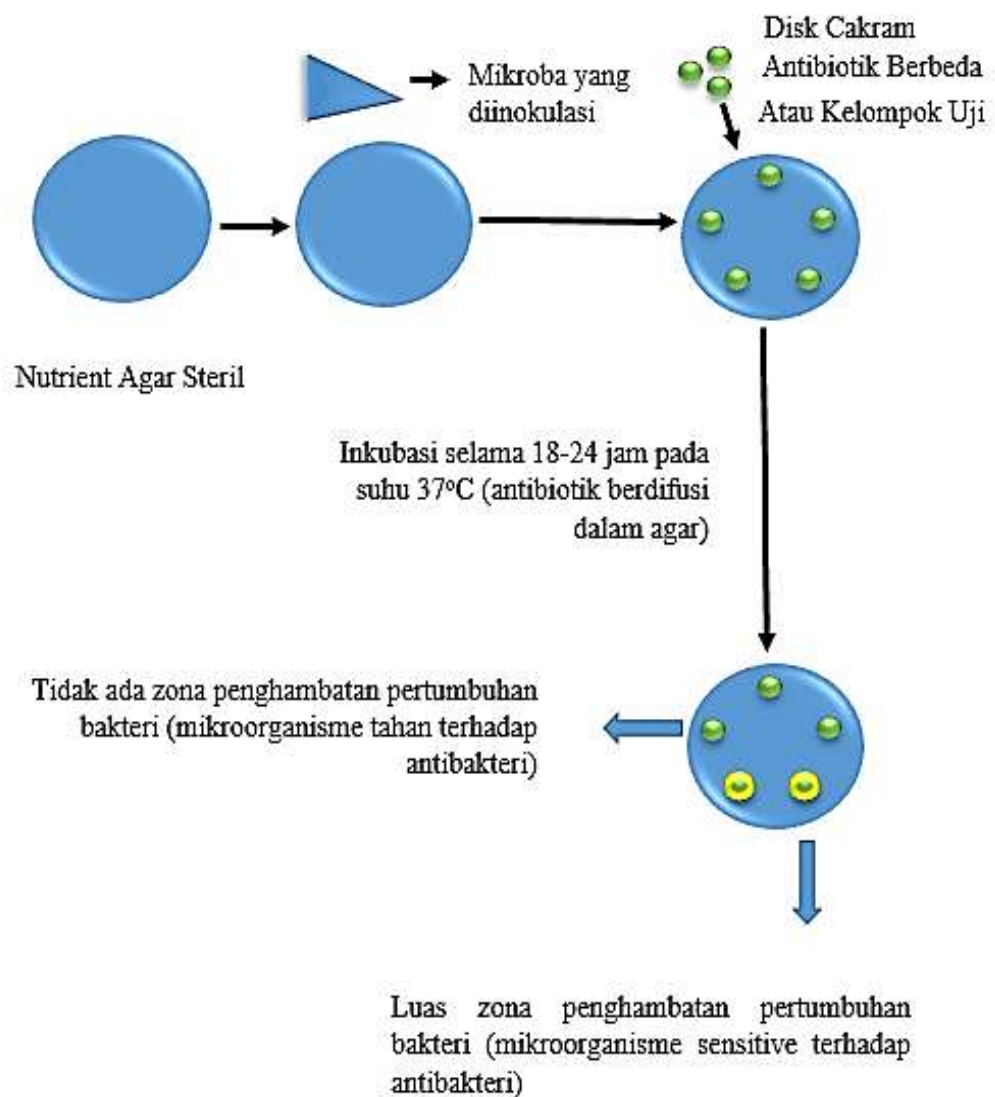
Kerangka penelitian digunakan untuk merancang kegiatan penelitian yang akan dilakukan meliputi subjek, variabel yang diteliti dan variabel yang mempengaruhi penelitian (Hidayat, 2003).



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

3.12. Diagram Skematik

Diagram skematik digunakan untuk melihat gambaran kinerja pengujian sensitivitas antibiotik dengan metode difusi cakram



Gambar 3.2 Diagram Skematik yang Menunjukkan Kinerja Pengujian Sensitivitas Antibiotik (metode Difusi Disk Cakram)

3.13. Jadwal Penelitian

Tabel 3.1 Jadwal Kegiatan Penelitian

No.	JADWAL KEGIATAN	Tahun										TEMPAT
		Tahun 2019			Tahun 2020							
		8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	
1.	Pengajuan judul	√										STIKes Karya Putra Bangsa
2.	Studi literatur		√	√								STIKes Karya Putra Bangsa
3.	Persiapan Penelitian											Laboratorium Botani KPB
	a. Determinasi tanaman				√							UPT Materia Medika Batu Malang, Jawa Timur
	b. Pembuatan simplisia				√							Laboratorium Botani KPB
	c. Pembuatan ekstrak						√					Laboratorium Botani KPB
	d. Pembuatan Fraksi							√				Laboratorium Botani KPB
4.	Penelitian Laboratorium											
	a. Evaluasi simplisia						√					Laboratorium Botani KPB
	b. Evaluasi Ekstrak						√					Laboratorium Botani KPB
	c. Skrining fitokimia							√				Laboratorium Botani KPB
	d. Uji aktivitas antibakteri							√	√			Laboratorium Mikrobiologi KPB
5.	Tahap Penyelesaian											
	a. Pengolahan Data&Analisis Data									√		
	b. Penyusunan laporan Akhir										√	STIKes Karya Putra Bangsa
	c. Pengumpulan laporan Akhir										√	STIKes Karya Putra Bangsa

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman pepaya dilakukan di Materia Medika, Batu. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman pepaya (*Carica Papaya Lin.*) dengan kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a-1. Determinasi tanaman dapat dilihat di Lampiran 1.

4.2. Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air simplisia dilakukan tujuannya untuk mengetahui besarnya kandungan air pada simplisia, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Depkes RI, 2000). Kadar air pada simplisia tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2008). Kadar air yang melebihi 10% dapat mengakibatkan mudah ditumbuhi mikroorganisme dan kadar air yang kurang dari 10% menyebabkan sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif sehingga bakteri dan jamur tidak tumbuh (Dyah, 2018).

Tabel 4.1. Uji kadar air serbuk *Carica Papaya Linn.*

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Batang Pepaya (<i>Carica Papaya</i> <i>Linn.</i>)	10,01 g	9,23 g	7,79%

Keterangan: A= bobot awal simplisia sebelum dioven

B= bobot akhir simplisia setelah dioven

Rumus Uji Kadar air (%) = $\frac{A-B}{A} \times 100\%$ (Depkes RI, 2000).

Hasil uji kadar air (Tabel 4.1.) memenuhi persyaratan yaitu 7,79%. Kadar air yang sesuai dengan syarat dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme sehingga simplisia batang pepaya dapat bertahan lama dalam penyimpanan. Perhitungan kadar air serbuk batang pepaya dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.3. Uji Rendemen Ekstrak dan Fraksi

Proses soxhletasi dilakukan menggunakan etanol 96% dengan sirkulasi sebanyak 4 kali dan hasil ekstrak kentalnya dilakukan uji rendemen. Uji rendemen ekstrak bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan bioaktif pada tanaman. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan antara berat akhir ekstrak dengan berat awal ekstrak dikalikan 100% (Febria *et al.*, 2017). Proses dilanjutkan dengan fraksinasi yang bertujuan untuk mengetahui sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan (Relani, 2016).

Tabel 4.2. Uji Rendemen Ekstrak Batang Pepaya

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Batang Pepaya (<i>Carica Papaya Linn.</i>)	220 g	11,87 g	5,39%

Hasil rendemen yang dihasilkan (Tabel 4.2.) yaitu sebesar 5,39%. Menurut Cahyadi *et al.*, (2018) kualitas ekstrak berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen semakin rendah mutu yang didapatkan sehingga ekstrak batang pepaya yang dihasilkan sudah memenuhi persyaratan. Perhitungan rendemen ekstrak batang pepaya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 4.3. Uji Rendemen Fraksi Batang Pepaya

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Hasil
Fraksi <i>Aquadestilata</i>	5 g	3,26 g	65,32%
Fraksi DCM	5 g	0,11 g	2,32%
Fraksi n-heksan	5 g	0,30 g	6,06%

Hasil rendemen dari ketiga fraksi berbeda. Menurut Febria *et al.* (2017) semakin besar rendemen yang dihasilkan semakin banyak komponen bioaktif yang terkandung didalamnya. Hasil rendemen fraksi (Tabel 4.3.) yang paling baik yaitu pada fraksi *aquadestilata* sebesar 65,32% sehingga dapat dikatakan bahwa hasil tersebut memenuhi persyaratan. Pelarut yang berbeda dapat melarutkan senyawa yang berbeda sehingga jumlah fraksi yang dihasilkan juga berbeda (Oeiyoano *et al.*, 2019). Hal ini dikarenakan kekuatan kepolaran antar pelarut berbeda, diketahui *aquadestilata* lebih polar dibandingkan pelarut lainnya sehingga senyawa yang polar akan cenderung larut didalam fraksi *aquadestilata*

dan senyawa yang kurang polar akan laut dalam pelarut lainnya (Obenu, 2019). Perhitungan rendemen fraksi batang pepaya dapat dilihat pada Lampiran 4.

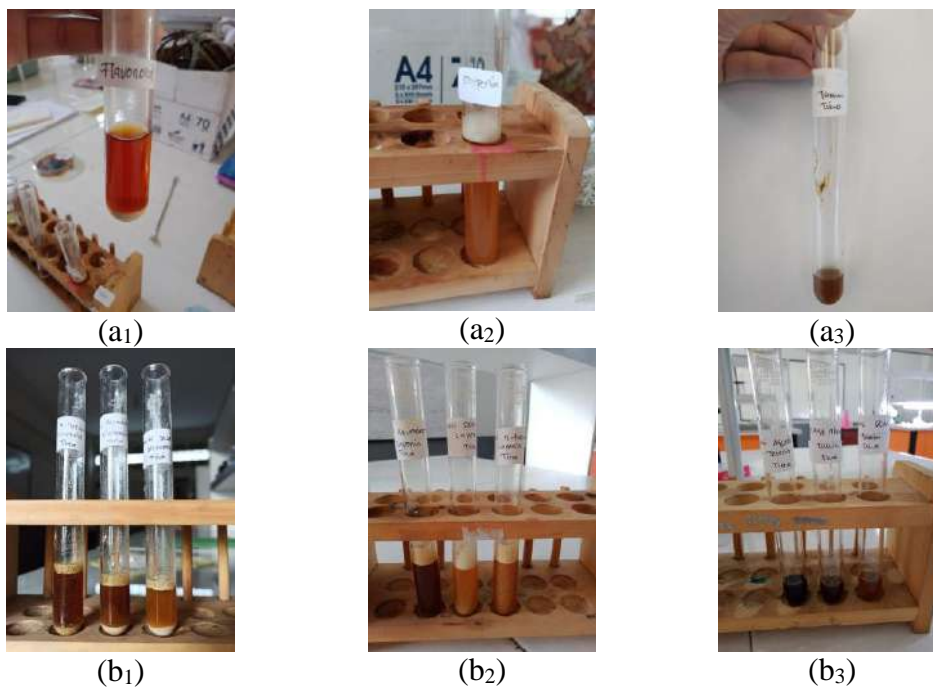
4.4. Skining Fitokimia

Skining fitokimia pada ekstrak dan fraksi batang pepaya bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam batang pepaya (Huda *et al.*, 2019). Senyawa yang diuji yaitu flavonoid, saponin dan tanin.

Tabel 4.4. Uji Skining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Batang Pepaya

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Mg + HCl Pekat	Jingga Orange	+
Saponin	Fraksi+Aquadest	Busa	+
Tanin	Etanol 70%+FeCl ₃ 1%	Hijau Kehitaman	+

Keterangan: (+) = terdapat senyawa, (-) = tidak terdapat senyawa



Gambar 4.1. Uji Skining

Keterangan: a₁= Uji Ekstrak Flavonoid
a₂= Uji Ekstrak Saponin
a₃= Uji Ekstrak Tanin

b₁= Uji Fraksi Flavonoid
b₂= Uji Fraksi Saponin
b₃= Uji Fraksi Tanin

4.4.1. Uji Flavonoid

Hasil dari uji flavonoid pada ekstrak dan fraksi (Gambar 4.1.) yaitu (+) mengandung flavonoid dengan ditunjukkan adanya perubahan warna menjadi jingga orange. Menurut Huda *et al.* (2019) terbentuknya warna merah, orange, atau hijau pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid. Warna jingga orange pada lapisan etanol terjadi akibat reduksi dengan Mg dan HCL pekat sehingga membentuk senyawa kompleks yang berwarna merah (Oktaviana, 2018).

4.4.2. Uji Saponin

Hasil dari uji saponin (Gambar 4.1.) yaitu (+) mengandung saponin dengan ditunjukkan adanya busa yang stabil. Terbentuknya busa yang stabil menunjukkan positif terdapat saponin (Alamsyah *et al.*, 2014). Busa yang ditimbulkan pada ekstrak dan fraksi batang pepaya karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusun saponin yaitu sapogenin non polar dan rantai polar yang larut dalam air sehingga membentuk busa (Latifah, 2016).

4.4.3. Uji Tanin

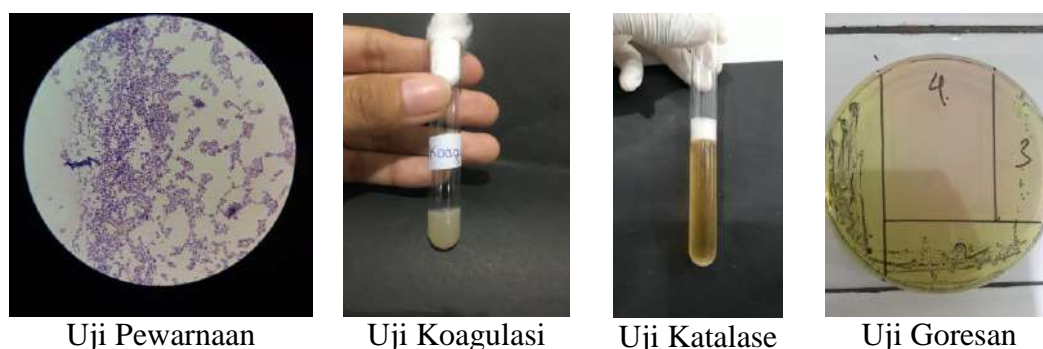
Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Huda *et al.*, 2019). Hasil dari uji tanin (Gambar 4.1.) yaitu (+) mengandung tanin dengan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Terbentuknya senyawa hijau kehitaman pada ekstrak dan fraksi batang pepaya dikarenakan tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Harborne, 2006).

4.5. Uji Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang berasal dari UESBE Laboratorium Iso Universitas Setia Budi yang sudah bersertifikat dengan menggunakan metode pewarnaan, koagulasi, katalase dan goresan. Sertifikat bakteri dapat dilihat pada Lampiran 2.

Uji Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengelompokkan bakteri menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Hasil uji pewarnaan bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop (Anggraini, 2018). Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *S.aureus* ATCC 25923. Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dinyatakan positif apabila terdapat gumpalan plasma atau *clot* pada dasar tabung (Krishna, 2013).



Gambar 4.2. Uji Identifikasi Bakteri

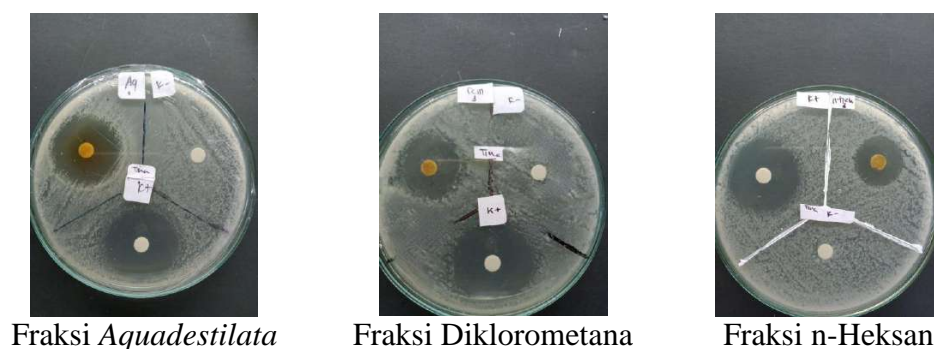
Uji Katalase bertujuan untuk membedakan antara *staphylococcus* dan *streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Semua galur *staphylococcus* adalah katalase positif. Hasil uji katalase dapat dinyatakan positif apabila terdapat gelembung udara (Suhartanti *et al.*, 2010). Hasil goresan bertujuan untuk pengamatan morfologi bakteri *S.aureus* ATCC 25923 menggunakan *Vogel Johnson Agar* (VJA). Hasil goresan positif ditunjukkan dengan adanya koloni dengan warna hitam dan medium di sekitar koloni berwarna kuning. Koloni warna hitam karena bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit dan medium di sekitar koloni berubah menjadi kuning karena bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi asam sehingga warna merah berubah menjadi kuning (Jawetz *et al.*, 2012).

4.6. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya

Uji aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya dilakukan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode yang digunakan yaitu metode difusi dan dilusi.

4.6.1. Uji Difusi

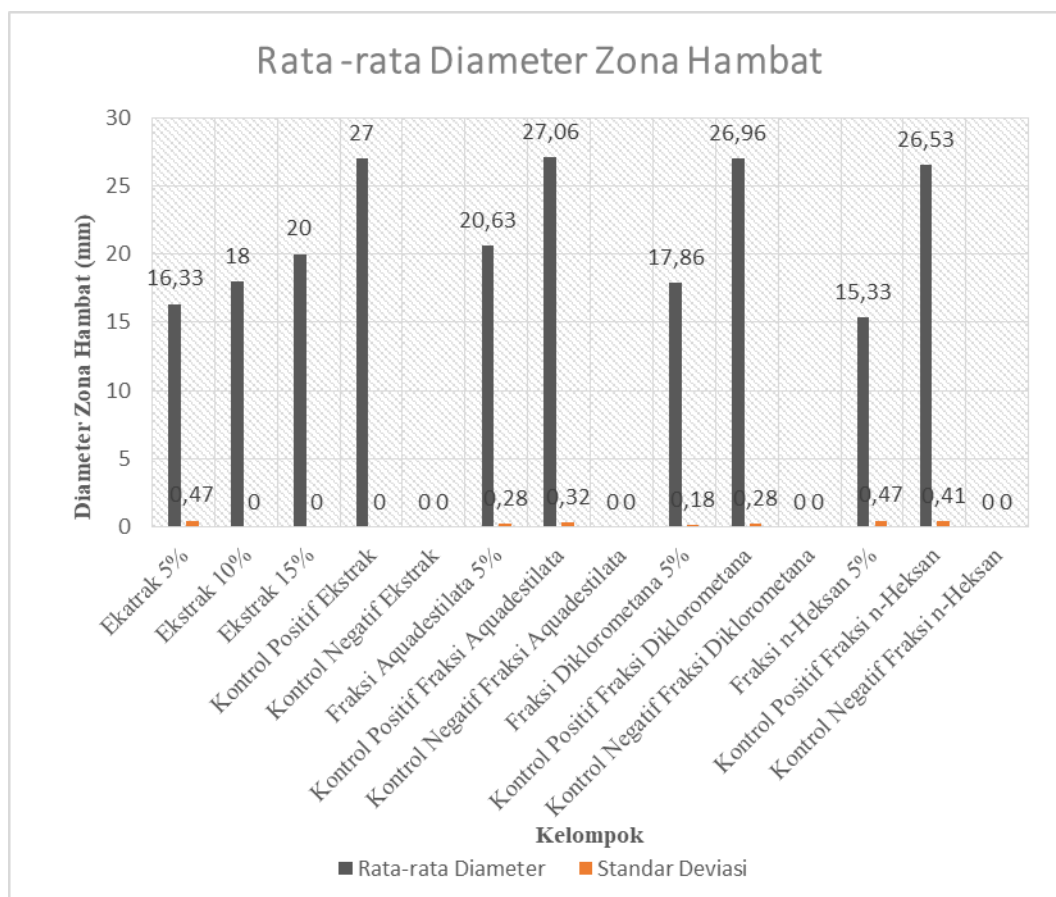
Uji difusi bertujuan untuk melihat ada daya hambat dalam fraksi batang pepaya, dengan ditandai terbentuknya daerah jernih di sekitar cakram (Anggraini, 2018). Kontrol positif yang digunakan adalah kapsul klindamisin 0,01% sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut yang sesuai dengan masing-masing fraksi.



Gambar 4.3. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya

Tabel 4.5. Diameter Zona Hambat Uji Difusi

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	Replikasi			
	1	2	3	
Ekstrak 5%	16	17	16	16,33 ± 0,47
Ekstrak 10%	18	18	18	18,00 ± 0,00
Ekstrak 15%	20	20	20	20,00 ± 0,00
Kontrol Positif Ekstrak	27	27	27	27,00 ± 0,00
Kontrol Negatif Ekstrak	0	0	0	0 ± 0,00
Fraksi <i>Aquadestilata</i> 5%	20,3	20,6	21	20,63 ± 0,28
Kontrol Positif <i>Aquadestilata</i>	26,6	27,3	27,3	27,06 ± 0,32
Kontrol Negatif Fraksi <i>Aquadestilata</i>	0	0	0	0 ± 0,00
Fraksi Diklorometana 5%	18	18	17,6	17,86 ± 0,18
Kontrol Positif Fraksi Diklorometana	27	26,6	27,3	26,96 ± 0,28
Kontrol Negatif Fraksi Diklorometana	0	0	0	0 ± 0,00
Fraksi n-Heksan 5%	15	15	16	15,33 ± 0,47
Kontrol Positif Fraksi n-Heksan	26,6	26	27	26,53 ± 0,41
Kontrol Negatif Fraksi n-Heksan	0	0	0	0 ± 0,00



Gambar 4.4. Rata-rata Diameter Zona Hambat

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri (Tabel 4.5.) ekstrak dan fraksi batang papaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditunjukkan dengan adanya daerah jernih disekitar kertas cakram. Hasil zona hambat semua kontrol negatif memiliki rata-rata sebesar $0 \pm 0,00$ mm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan berasal dari aktivitas fraksi batang papaya. Hasil dari klindamisin 0,01% yang digunakan sebagai kontrol positif, semua memiliki zona hambat yang masuk dalam kategori sangat kuat. Klindamisin bekerja sebagai antibakterial dengan menghambat sintesis protein bakteri (Mughtaromah, 2016).

Hasil zona hambat pada fraksi *aquadestilata* (Gambar 4.4.) memiliki rata-rata $20,63 \pm 0,28$ mm masuk dalam kategori sangat kuat, fraksi diklorometana memiliki zona hambat rata-rata $17,86 \pm 0,18$ mm masuk dalam kategori kuat dan fraksi n-heksan memiliki zona hambat rata-rata $15,33 \pm 0,47$ mm masuk dalam kategori kuat. Hasil dari masing-masing sampel menunjukkan data yang berbeda-

beda sehingga dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui apakah data tersebut berdistribusi normal. Nilai uji normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk* didapatkan hasil nilai $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$) yang berarti data tidak berdistribusi normal. Ketidaknormalan data tersebut dikarenakan perbedaan variansi data yang jauh. Pengujian dilanjutkan pada uji nonparametrik *Kruskal Wallis*. Hasil uji normalitas data dapat dilihat pada Lampiran 7. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan bermakna pada diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari kelompok perlakuan ekstrak dan fraksi batang pepaya. Hasil *Kruskal Wallis* dapat dilihat pada Lampiran 7.

Tabel 4.6. Hasil Uji Mann Whitney

Kelompok Perlakuan	Analisis dengan Uji <i>Mann Whitney</i>			
	Fraksi <i>Aquadestilata</i>	Fraksi Diklorometana	Fraksi n-Heksan	Ekstrak 5%
Fraksi <i>Aquadestilata</i>		0,046*	0,046*	0,046*
Fraksi Diklorometana	0,046*		0,043*	0,043*
Fraksi n-Heksan	0,046*	0,043*		0,099
Ekstrak 5%	0,046*	0,043*	0,099	

Keterangan: * $p \leq 0,05$

Pengujian dilanjutkan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antara dua kelompok perlakuan. Uji aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya yang memiliki zona hambat paling aktif adalah pada fraksi *aquadestilata* (Gambar 4.3.) yang ditandai dengan diameter zona hambat paling besar. Fraksi *aquadestilata* memiliki zona hambat paling besar dibandingkan dengan fraksi diklorometana dan fraksi n-heksan. Berdasarkan uji *Mann Whitney* nilai Asymp.Sig fraksi *aquadestilata* sebesar $p = 0,046$ yang berarti fraksi *aquadestilata* berbeda bermakna dengan kedua fraksi lainnya. Hal ini karena fraksi *aquadestilata* diduga mampu menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar seperti flavonoid, saponin dan tanin (Gazali et al., 2019). Menurut Tiwari et al. (2011) mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk ikatan kompleks dinding sel bakteri dan mengikat adhesin dan mekanisme kerja tanin yaitu mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel bakteri sehingga

menyebabkan kematian pada bakteri. Menurut Godstime *et al.* (2014) mekanisme kerja dari saponin sebagai antibakteri yaitu mengubah permeabilitas dinding sel bakteri dan menyebarkan toksisitas pada jaringan bakteri sehingga morfologi sel menjadi berubah dan sel mengalami pelisisan. Komponen bioaktif seperti flavonoid, tannin dan saponin rusak pada suhu diatas 60°C (Wayan, 2017).

Fraksi diklorometana memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan fraksi n-heksan dan berdasarkan uji *Mann Whitney* nilai Asymp.Sig fraksi diklorometana yaitu $p = 0,043$ yang berarti fraksi diklorometana berbeda bermakna dengan fraksi n-heksan. Hal ini diduga karena fraksi diklorometana mampu menarik senyawa-senyawa bersifat lebih semipolar dalam batang pepaya, akan tetapi jika dibandingkan dengan fraksi *aquadestilata*, fraksi diklorometana memiliki zona hambat yang lebih kecil. Hal ini terjadi karena diklorometana bersifat mudah menguap sehingga tidak mampu bekerja secara optimum. Menurut Aziz *et al.* (2016) mengatakan bahwa proses penguapan dapat berpengaruh terhadap pelarut diklorometana. Fraksi n-heksan memiliki zona hambat yang paling kecil dibandingkan dengan fraksi lainnya hal ini dikarenakan fraksi n-heksan bersifat nonpolar sehingga diduga hanya menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar dalam fraksi batang papaya (Romandanu *et al.*, 2014).

Tabel 4.7. Uji Mann Whitney Ekstrak & Fraksi Yang Mendekati Kontrol Positif

Kelompok	Rata-rata	Asymp.Sig.
Ekstrak 5%	16,33	0,034*
Fraksi <i>Aquadestilata</i>	20,63	0,046*
Fraksi Diklorometana	17,86	0,046*
Fraksi n-Heksan	15,33	0,046*

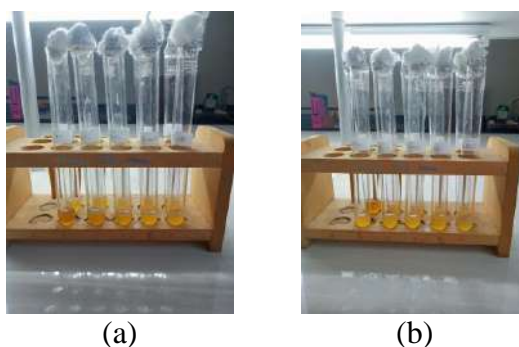
Keterangan:* $p \leq 0,05$

Analisis statistik juga dilanjutkan untuk mengetahui perbedaan antara ekstrak dan fraksi dengan klindamisin 0,01%. Hasil uji *Mann Whitney* (Tabel 4.7.) menunjukkan bahwa kontrol positif klindamisin 0,01% berbeda bermakna dengan ekstrak 5% dan semua fraksi. Hal ini dibuktikan dengan tidak satupun nilai Asymp.Sig yang $p > 0,05$ (semua nilai $p \leq 0,05$) hal ini dikarenakan klindamisin merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau

menghambat pertumbuhan bakteri sehingga untuk menyetarakan zona hambat fraksi dengan antibiotik klindamisin dibutuhkan konsentrasi fraksi batang papaya lebih tinggi. Hasil uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.6.2. Uji Dilusi

Hasil uji difusi fraksi teraktif dilanjutkan uji dilusi cair. Uji dilusi cair merupakan suatu metode yang bertujuan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi *aquadestilata* batang papaya (Pratiwi, 2008). Uji dilusi ini dilakukan dengan menggunakan metode visual dan spektrofotometer Uv-Vis.



Gambar 4.5. Hasil Uji Dilusi

Keterangan: (a) = Konsentrasi 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,312%
(b) = Konsentrasi 0,156%; 0,078%; 0,039%; 0,019%; 0,009%

Hasil pengamatan (Gambar 4.5.) nilai KHM secara visual dari fraksi *aquadestilata* yaitu pada konsentrasi 1,25%. Pada pengamatan ini memiliki kekurangan karena mata manusia tidak dapat membedakan sel bakteri mati dan sel bakteri yang hidup sehingga dapat bersifat subjektif. Pengujian dilanjutkan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 343 nm (Lolongan *et al.*,2016). Pada konsentrasi 5% dan diikuti konsentrasi 1,25% sampai 0,312% terjadi penurunan nilai absorbansi. Pada konsentrasi 0,156% sampai akhir terjadi kenaikan nilai absorbansi sehingga hasil nilai KHM dapat ditetapkan pada konsentrasi 0,312% ditandai dengan penurunan nilai absorbansi yang paling akhir. Pada konsentrasi 2,5% terjadi kenaikan nilai absorbansi. Konsentrasi 2,5% merupakan konsentrasi yang lebih tinggi dari pada konsentrasi 1,25% yang seharusnya dapat menghambat bakteri. Kenaikan nilai absorbansi tidak sepenuhnya terjadi karena pertumbuhan bakteri, tetapi dapat dipengaruhi

oleh kepekatan konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga dapat memengaruhi penyerapan cahaya oleh sel bakteri yang mati. Kekurangan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu cahaya yang diserap tidak dapat membedakan antara sel-sel bakteri mati dan yang hidup (Warokka *et al.*, 2016). Tabel pengamatan secara visual dan spektrofotometer Uv-Vis dapat dilihat pada Lampiran 6.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n- heksan batang papaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditandai dengan adanya zona hambat pada media
2. Fraksi *aquadestilata* batang pepaya memiliki zona hambat paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter zona hambat sebesar 20 mm karena fraksi *aquadestilata* mampu menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar
3. Kadungan kimia yang masih aktif dalam fraksi batang papaya yaitu saponin, flavonoid dan tanin sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan nilai KHM fraksi *aquadestilata* yaitu 0,312%

5.2. Saran

1. Perlu dilakukann penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa dalam fraksi teraktif batang papaya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang senyawa yang masih aktif dalam fraksi teraktif batang papaya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas menggunakan metode Konsentrasi Bunuh Minimum

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina. 2017. *Kajian Karakterisasi Tanaman Pepaya (Carica papaya L.) di Kota Madya Bandar Lampung*. Skripsi. Lampung: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Agustina, Wulan, Nurhamidah dan Dewi Handayani. 2017. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus Communis L.*). *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. Vol. 1(2), pp.117-122.
- Alamsyah, Heru Kurniawan, Ita Wido Wati dan Agus Sabdono. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut Sargassum cinereum (J.G.Agardh) Dari Perairan Pulau Panjang Jepara Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus Epidermidis*. *Journal Of Marine Research*. Vol. 3(2), pp.69-78.
- Anggriani Triliani Lona. 2018. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Dari Ekstrak Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (Syzygium Myrtifolium Walp.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus ATCC 25923*. Skripsi. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Annisar, Andi Dzati Iffah. 2018. *Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Sirip Ekor Hiu Carcharhinus Melanopterus Dan Uji Aktivitas Sebagai Antibakteri Terhadap Vibrio Parahaemolyticus*. Skripsi. Makassar: Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan Universitas Hasanuddin.
- Arsyad, M., Natsir. 2001. *Kamus Kimia Arti dan Penjelasan Istilah*. Jakarta: Gramedia
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W. & Sigit, S., 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Marine and Coastal Science*. Vol 1(2), pp.113-24.
- Atlas, R.M. 2010. *Handbook of Microbiological Media 4th ed.* Washington: CRC Press.
- Aziz, Abdul Darwis, Proyoga Suryadarma, dan Ely Rosita. 2016. Pengaruh Lama Penguapan Pelarut (Diklorometana) dan Konsentrasi Umpan Terhadap Filtrasi Sari buah Apel Pada Membran Selulosa Asetat Mikrobial. *J. Tek. Ind. Pert.* Vol. 14(1), pp.24-29.
- Balouiri, Mounyryn, Moulay Sadiki, Saad Koraichi Ibsouda 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Vol.6, pp.71-79.

- BPOM.2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta: BPOM RI. Page 3-25.
- BPOM.2015. *Obat tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat*. Jakarta: Badan Pengawas Obat Makanan Republik Indonesia.
- Brooks, G.F., J.S. Butel dan S.A. Morse .2013. *Jawetz, Melnick, &Adelberg's Medical Microbiology Twenty-Sixth Edition*. United States: McGraw-Hill Companies, Inc. Page 295-296.
- Cahyadi, Jimmy, Gloria Ika Setiani, Ery Gusman, Encik Weliyadi, Sabri.2018.Skrining Fitokimia Buah Mangrove (*Sonneratia alba*) Sebagai Bioenrichment Pakan alami *Artemia Salina*.*Jurnal Borneo Saintek*. Vol. 1(3), pp.33-39.
- Dalimartha, S.2003.*Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 3*. Jakarta: Puspa Swara Departemen kesehatan RI. 1985. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Depkes RI. Page 102-104.
- Departemen Kesehatan RI.1987.*Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standard Umum ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Depkes RI.
- Desy Ratnasari.2016. *Preparasi Sediaan Nanopartikel Klindamisin HCl-Kitosan dan Uji Aktivitas terhadap Bakteri*. Skripsi. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Djide, M dan Sartini.2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Makasar: Lepas.
- Dyah, Oktaviana Oentari.2018.*Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air dari Biji Pepaya (Carica Papaya L.) Terhadap bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923*. Skripsi. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Fathurracham, D.N. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Sirsak (Annona muricata Linn.) dengan*

Metode Perendaman Radikal Bebas DPPH. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

- Fatimah, Siti, Fitri Nadifah, Islamiati Burhanudin. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea var. capitata f. alba*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In vitro. *Biogenesis* 103. Vol. 4(2), pp. 102-106.
- Febjislami S., Ketty Suketi, dan Rahmi Yuniarti. 2018. Karakterisasi Morfologi Bunga, Buah, dan Kualitas Buah Tiga Genotipe Pepaya Hibrida Morphological Characterization of flowers, fruit and fruit quality three genotypes of hybrid papaya. *Bul. Agrohorti*. Vol. 6(1), pp. 112 – 119.
- Febria, Febria Dewatisari, Leni Rumiyantri dan Ismi Rakhmawati. 2017. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* Vol. 17(3), pp. 197-202.
- Firdiyani, Agustini & Ma/ruf. 2015. Extraktion of Bioactive Compounds as Natural Antioxidants from Fresh *Spirulina plantesis* using Different Solvents. *JPHPI*. Vol. 18(1), pp. 28-37.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. 2007. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* (12th ed.). Mosby: St Louis.
- Gazali, Mohammad, Hayatun Hufus, Nurjanah, Zuriat. 2019. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun nipah (*Nypa fruiticans* Wurmb) Asal Pesisir Aceh Barat Sebagai Antioksidan. *JPHPI*. Vol. 22(1), pp. 155-163.
- Godstime, enwa, F., Agustina & Christopher, 2014. Mechanisme of Antimicrobial Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens. *A Review. Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*. Vol. 2(2), pp. 77-85.
- Ham, Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Handayani, Hana, Feronika Heppy Srihefyana, Yuanita. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak metode Uji Ultrasonic Bath (Kajian rasio bahan: pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. Vol. 4.
- Hanny Narulita. 2014. *Studi Praformulasi ekstrak etanol 50% Kulit Buah Manggis*. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah.
- Harbone, 2006. *Metode fitokimia penuntun Cara Moderen Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua*. Bandung: ITB. Page 7-8, 102, 149.
- Hariyani, Eko Widaryanto dan Ninuk Herlina. 2015. Pengaruh Umur Panen Terhadap Rendemen Dan Kualitas Minyak Atsiri Tanaman Nilam

- (*Pogostemon Cablin* Benth.). *Jurnal Produksi Tanaman*, Vol. 3(3), pp. 205 -211.
- Harmita, M.Radji.2008.Analisis Hayati Buku Ajar Program Studi Farmasi. Universitas Indonesia, Jakarta: ECG.
- Herawati, D, Nuraida, L., Sumarto.2012. *Cara Produksi Simplisia yang Baik*. Bogor: Seafast Center IPB. Page 10-11.
- Hernani.2004.Gandapura: pengolahan, fitokimia, minyak atsiri dan daya herbisida.*Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. Vol. 15(2), pp.32-40.
- Hertiani, Triana.2012.*Galenika Penetrasi cairan Penyair*. Yogyakarta: fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Page.16-19.
- Hidayat, Amirul, 2003.*Riset Keperawatan dan Teknik Penulisan Ilmiah Edisi I*. Jakarta: Salemba Medika.
- Huda, Choirul, Amalia Eka Putri, Devri Windi Sari.2019. Uji Aktivitas Antibakteri fraksi dari Maserat *Zibethinus Folium* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*. Vol. 3(1), pp.7-14.
- Husain, Muhammad Nafis.2016.*Degradasi Diklorometana Dalam Air Dengan Metode Advance Oxidation Treatment (AOT)*.Skripsi.Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- Ilham, Nora Suryaku.2017.*Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air dari Ekstrak Etanolik Daun Ungu (*graptophyllum pictum* (L.)Griff) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923*.Skripsi. Surakarta: Fakultas farmas Universitas Setia Budi.
- Inartiyah, Fajar Anggraieni, Yanuardi.2011.*Pedoman Teknologi Penanganan Pascapanen Tanaman Obat*. Jakarta: Direktorat Budidaya dan Pascapanen Sayuran dan Tanaman Obat. Page.30-40, 42, 46.
- Insanu, Ruslan, K, fidrianny, I & Wijaya, S., 2011.Isolasi Flavonoid dari Etanol Daun (*Durian Durio Zibethinus* Murr., Bombacaceae). *Acta Pharmaceutica Indonesia*.Vol. 34(1&2), pp.6-10.
- Iqbal, Mochamad Hassarief Putra, Suhendro Suwanto, Tonny Loho, Murdani Abdullah.2014. Faktor Resiko Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* pada Pasien Infeksi Kulit dan Jaringan Lunak Di Ruang Rawat Inap.*Jurnal Penyakit Dalam*. Vol. 1(1), pp.3-14.
- Irianto, K.2007.*Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganisme*. Bandung: Cv Yrama Widya.

- Jawetz, E., Melnick.,J.L., Adelberg, E.A. 2012. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Diterjemahkan Oleh Bonang G., Edisi XXVI, ECG. Jakarta. Penerbit Universitas Indonesia.Jawetz, E., Melnick.,J.L.,E.A.. 2012. *Medical Microbiologi*. 26rd. Ed. Elferia Nr. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Kartikasari, Dian, Nurkhasanah, Suwijyo Pramono.2011. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Bertoni (*Stevia rebaudiana*) Dari Tiga Empat Tumbuh.Pasca Sarjana Prodi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.pp.145-151.
- Kementrian Pertanian.2013. *Pedoman Panen, Pascapanen, Dan Pengelolaan Bangsal Pascapanen Hortikultura Yang Baik*.Jakarta: Menteri Pertanian Republik Indonesia.Page.5-50.
- Kharisma Yuktiana, Agustiani Devi, Romadhona Nurul.2017.Efek Antibakteri Ekstrak Air Buah Pepaya (*Carica Papaya Linn.*) Muda terhadap *Lactobacillus acidophilus*.*Bandung Meeting on Global Medicine & Health (BaMGMH)*.Vol. 1(1).
- Krishna, Amalia Dewi. 2013. 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*. Vol. 31(2), pp.138-150.
- Kistanti, Alfrida Novi.2008.*Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Latifah.2016.*Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galangal L.* Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil- 2-Pikrilhidrazil)*.Skripsi.Malang: Fakultas Sain dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Lolongan Raymond A, Olivia Waworunt, Christy N. Mintjelungan.2016. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. Vol. 4(2), pp.242-247.
- Lynda, Brigita Rakasiwi dan C.J.Soegohardjo.2014.Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daging Buah Buni (*Antidesma bunius (L.) Spreng*) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 dan *Escherchia coli* ATCC 25923.*Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Vol.11(1).
- Malinda, Fatmawati & Yudistira.2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Paku Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides L.Presl*) Terhadap

Peroksidadi Lipid Hati Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CC14. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 2(2), pp.72-75.

Martina, Maria, N.2012. *Ekstrak Etanol Daun Beluntas (Pluchea indica L.) Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans*. Tesis. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana.

Medscape, 2018. *Dosage & Indications of Clindamycin*. Medscape Reference: Aplikasi Medscape. Diakses 15 Desember 2019.

MenKes RI, 2011. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011 Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.

Muchtaromah, Bayyinatul.2016. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Allium Sativum Linn., Curcuma Mangga Val., Dan Acorus Calamus L. Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim.

Muharni, Fitriya, Sofa Farida. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. pp.2-8.

Mukhriani.2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 7, pp.1-7.

Mulyadi, Moh, Muryanti, Purbowatiningrum Ria Sarjono.2017. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. Vol.3, pp.130-135.

Murtiwi, 2014. *Aktivitas Antibakteri Estrak Etanol Daun Mucaranga tanarius (L.) Mull.ARG. terhadap Streptococcus pyrogene ATCC 19615*. Skripsi. I Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.

Mutiasari, Irna Rini.2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur Pleurotus Ostreatus Dengan Metode Dpph Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif*. Depok: Universitas Indonesia. Page.20-89.

Najlah, F.L. 2010. *Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih (psidium guajava Linn) Pada Konentrasi 5%, 10% dan 15% Terhadap Zona Radikal Bakteri Staphylococcus aureus*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah.

Neliyani, Novianti Toelle dan Viktor Lenda.2014. Identifikasi dan Karakteristik Staphylococcus Sp. dan Streptococcus Sp. dari Infeksi Ovarium Pada

Ayam Petelur Komersial (Identification and Characteristics of Staphylococcus Sp. and Streptococcus Sp. Infec tion of Ovary in Commercial Layers). *Jurnal Ilmu Ternak*.Vol. 1(7), pp.32 – 37.

Nuraina.2015.*Uji kativitas Antimikroba Ekstrak Daun Garcinia benthami pierre Dengan Metode Dilusi*.Skripsi.Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

Nurhasnawati, H., Sukarmi & Handayani, F.2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syxygium malaccense L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol. 3(1), pp.91-95.

Nuria, Maulita Cut, Zumrotul Chabibah, Syahar Banu dan Risha Fillah Fithria.2012. Penelusuran Potensi Fraksi N-Heksan Dan Etil Asetat Dari Ekstrak Metanol Daun Gugur Ketapang (*Terminalia Catappa L.*) Sebagai Antidiare .*Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang*.pp.163-173.

Obenu M Noviana.2019.Ekstraksi dan Identifikasi Kandungan Metabolit Fraksi Diklorometana dan Aquadest Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona Muricata Linn*).*Jurnal Saintek Lahan kering*.Vol. 2(1), pp.17-19.

Octaviana Dyah Oentari.2018. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi Air Dari Biji Pepaya (Carica Papaya, L) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Atcc 25923*.Skripsi. Surakarta: Universitas Setia Budi

Oeiitano,Walen E, Herny E. Simbala, Henky Rotinsulu.2019.Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Spons *Liosina panadoxa* dari Perairan Desa Tumbak Minahasa Tenggara Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. *Pharmacon-Jurnal Ilmia Farmasi*. Vol. 8(3), pp.215-224.

Permenkes RI No.007, 2012. *Regristrasi Obat Tradisional*. Jakarta: Depkes RI.

Permata, Putri, Retno Kawuri, dan A.A. Ketut Darmadi. 2018. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Gracinia Mangostana L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Simbiosis*. Vol 1 (1), pp.7-11.

Poeloengan, M., Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garnicia mangostana Linn.*). *Media Litbang Kesehatan*. Vol. 20(2), pp 65-69.

Prastyo & Inorlah, 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia*. Bengkulu: Badan Penerrbit Fakultas Pertanian UNIB.

- Pratama, D. R. Yuliani dan G. Trimulyono. 2015. Efektivitas Ekstrak Daun dan Biji jarak Pagar (*Jatropha curcus*) sebagai Antibakteri *Xanthomonas campestris* Penyebab Penyakit Busuk Hitam pada Tanaman Kubis. *Lentera Bio*. Vol. 4(1), pp 113-115.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Pratiwi, Sylvia T. 2009. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Pratiwi, Sylvia T. 20012. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Primadhamanti, A., Diah Astika Winahyu, Anjar Jaulin. 2018. Uji Efektivitas Sediaan Salep Batang Pepaya (*Carica Papaya L.*) Sebagai Penyembuh Luka. *Jurnal Farmasi Malahayati*. Vol 1(2), pp.69-79.
- Puji, Tri Lestari Sudarwati. 2018. Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (*Carica Papaya*) Menggunakan Pelarut Etanol Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* *Journal of Pharmacy and Science* Vol. 3(2).
- Radji, Maksum. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahayu S., Tjitraresmi A. 2016. *Review Artikel: Tanaman Pepaya (Carica papaya L.) dan Manfaatnya dalam Pengobatan*. *Farmaka*. Vol. 14(1).
- Rahmadani, 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (Lannea coromandelica) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Helicobakter pylori, Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan Program Studi Farmasi UIN. Page 1-72.
- Rahman, S., Imran, M., Muhammad, N., Hassan, N., Chisthi, A. K., Khan, A. F. 2011. Antibacterial screening of leaves and stem of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 5(20), pp. 5167-5171.
- Rais, 2014. Ekstraksi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm f) Ness Menggunakan Ekstraktor soxhlet. *Jurnal Pharmacia Uneversitas Ahmad Dahlan*, Vol 4.
- Ramoko, Hendrian, Zelika Mega Ramadhania. 2018. Review Pengembangan Metode Ekstraksi Senyawa Azadiraktin dan Analisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Jurnal Farmaka*. Vol. 16(2).
- Rante, Bayu K., Youla A. Assad an Paulina N. Gunawan. 2017. Uji daya hambat getah kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-GiGi*. Vol. 5(2).

- Ratnani, Rita Dwi, Indah Hartati, Yance Anas, Devi Endah P. dan Dita Desti D. Khilyati.2015. Standardisasi Spesifik Dan Non Spesifik Ekstraksi Hidrotropi Andrographolid Dari Sambiloto (*Andrographis Paniculata*). *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*. pp 147-155.
- Raudah dkk.2017 Efektivitas Sterilisasi Metode Panas Kering Pada Alat Medis Ruang Perawatan Luka Rumasakit Dr.H. Soemamo Sastroatmojo Kuala Kapuas.*Jurnal Kesehatan Lingkungan*. Vol. 14(1), pp.425-430.
- Relani.2016. *Uji aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Pepaya (Carica Papaya L.) Beserta Fraksinya dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)*.Skripsi. Purwokerto: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Retnowati, Y., Nurhayati Bialangi, Nona Wingti Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*). *Jurnal Saintek*. Vol. 6(2), pp.4-9
- Risnasari, I. 2002. *Tanin. [Karya Tulis]*. Medan: Departemen Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Riyani. A dan R. Adawiah.2015. Ekstraksi Flavonoid metode Soxhletasi dari batang pohon pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) dengan berbagai jenis pelarut. *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains*. pp, 625-628.
- Romadanu, Siti Hanggita Rachmawati dan Shanti Dwita Lestari. 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo Nucifera*).*Fishtech*.Vol. 3(1), pp.1-7.
- Rukmana, R.2003. *Budidaya dan Pasca Panen Pepaya*.Yogyakarta: Kanisius.
- Setiawan, W. 2009. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang pepaya (*carica papaya* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik. *SKRIPSI*. Surakarta: Universitas Surakarta.
- Simbolon, Marita TM, Yelmira Zalfiatri, dan Faizah Hamzah.2018. Pembuatan Sabun Transparan Dengan Penambahan Ekstrak Batang Pepaya Sebagai Antibakteri. *Chempublish Journal*. Vol 3(2), pp.57-68.
- Sivannthan & Elamaran, 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial activity and chloroform Extract *Andrographis Paniculata* leaves and Roots, *Durio Zibethinus* Wood Bark and *Psidium Guajava* Leaves Againt Selected

Bacterial Strains. *International Journal of Biomolecules and Biomedicine*. Vol. 3, pp.12-19.

- Sugiono.2013. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitaitaif dan R&D*. Bandung: Alfabeta.CV.
- Suhartanti, Mahreta, Purbowatiningrum Ria Sarjono dan Agustina L. N. Aminin.2010. Studi Filogeni dan Uji Potensi Enzim Ekstraseluler (amilase, β -galaktosidase, protease, katalase) Isolat *Alicyclobacillus sp.* Gedong Songo. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. Vol. 13 (3), pp.80 – 87.
- Sujarweni, V.W.& Endrayanto, P.2012. *Statistika Untuk Penelitian*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Syahrurahman, A. *et al.*2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta: Binarupa Aksara Publiser.
- Tambayong, J. 2009. *Mikrobiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: Widya Medika.
- Tessy, Agus., dkk. 2004. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II*. Jakarta: Balai Penerbit FK UI, 369-376.
- Tiwari, P. *et al.*, 2011. Phychochemical Screening and Ekstraktion: a Review. *Internationale Pharmaceutica Scienca*. Vol. 1(1), pp. 8-106.
- Todar, K.2012. *Staphylococcus aureus*. Online.
<http://textbookofbacterology.net/staph.html> diakses 26 November 2019.
- Tyas, W.S. 2008. *Evaluasi Keragaan Pepaya (Carica papaya L.) di Enam Lokasi di Boyolali*. Skripsi. Bogor: Jurusan Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Page 42.
- Tyasningsih, W., Ratih R., Erni, R.S.I., Suryanie, Hastuji, E.N., Sri C., dan Didik H. 2010. *Buku Ajar Penyakit Infeksius I*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Vania Jennie, Yuanita Kuntardjo.2013. Analisa Perbedaan Persepsi Konsumen Terhadap Lingkungan Fisik Di Restoran Platimnum Grill Surabaya. *Jurnal Hospitally and Management*. pp. 254-267.
- Wahdaningsih Sri, Eka Kartika Untari dan Yunita Fauziah.2014. Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit *Hylocereus polyrhizus* terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Pharm Sci*. Vol. 1(3).
- Warisno.2003. *Budidaya Pepaya*. Yogyakarta: Kanisius.

- Warokka, Klaudya E, jane Wuisan, Juliatri.2016.Uji Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia Steenis*) Sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi*. Vol.4(2), pp.155-159.
- Wayan, Ayuk Yuliantari.2017. *Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas antioksidan Daun Sirsak (Annoa muricata L.) Menggunakan Ultrasonik*.Skripsi. Bukit Jimbaran: Universitas Udayana
- Whalen, P.D.,B.,2015. *Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology Sixth Edition* Philadelphia: Wolters Kluwer. Page 471, 483, 499.
- WHO. 2015. *World Health Statistics*.Genewa. Page 55-86.
- Wijaya, Heri, Novitasari, Siti Jubaidah.2018.Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut.*Jurnal Ilmiah Muruntung*. Vol. 4(1), pp.79-83.
- Winarno, F.G.2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia. Jakarta.
- Winarsih, Erma Prihastanti, Sarjana Parman.2013.Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum L.*).*Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. 21(1), pp.19-25.
- Yulia Rima Senja, Elisa Issusilaningtyas, Akhmad Kharis Nugroho dan Erna Prawita Setyowati.2014. Perbandingan Metode Ekstraksi Dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica Oleracea L. Var. Capitata F. Rubra*).*Tradisional Medicine Journal*.Vol. 19(1), pp.42-48.
- Yusriana, C.S., Chrisnawan, S.B., dan Trisna, D.2014. Uji Daya Hambat Daun Nangka (*Artocarpus Heterophtllus*) Terhadap pertumbuhan Bakteri *Sthaphylococcuc aureus*. *Jurnal Permata Indonesi*. Vol. 5(2), pp.1-7.

Lampiran 1. Hasil Determinasi *Carica papaya L.*

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

Nomor : 074/165A/102.7/2020
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : KRISTINA HANDAYANI
 NIM : 1613206009
 Fakultas : PROGRAM STUDI S1 FARMASI 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 : *Carica papaya L.*
 Nama Umum : Pepaya (Inggris), Pepaya (Indonesia), Betik, Kates, (Jawa), Rente (Aceh), Perlek (Gayo), Pastela (Batak), Embeik (Karo), Boik (Batak Tobal), Bala (Nias), Sikulu (Mentawai), Kates (Palembang), Kalik (Minangkabau), Gedang (Lampung), Gedang (Sunda), Kates Jawa Tengah), Kates (Madura), Gedang (Bal), Kustelo (Banjar), Bea medung (Dayak Basang), Buah Dong (Dayak Kenyah).

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 malis, kelopak kecil, kepala sari berangkai pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompel, tepi bertiga 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, berdagang, masih muda hijau setelah tua jingga. Biji: Bulat atau bulat panjang; kecil, bagian luar dibungkus selaput yang berisi caira, masih muda putih setelah tua hitam. Akar: Tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan.

3. Bagian yang digunakan : Batang.
 4. Penggunaan : Penelitian.
 5. Daftar Pustaka :
 • Van Steenis, CGGJ, 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batik, 12 Februari 2020
 Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu
 Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal,

 S. Farm. Apt.
 19000430-201403-2-002

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak dan Fraksi



Pengambilan Batang pepaya



Pengecilan Ukuran Partikel



Pengayakan Simplisia



Proses Soxhletasi



Proses Pengentalan



Ekstrak Kental Batang Pepaya



Fraksinasi Batang Pepaya



Fraksi Kental Batang Pepaya

2. Skrining Fitokimia



Sebelum perlakuan Uji Flavonoid



Sesudah perlakuan Uji Flavonoid



Sebelum perlakuan Uji Saponin



Sesudah perlakuan Uji Saponin



Sebelum Perlakuan Uji Tanin




Sesudah perlakuan Uji Tanin

3. Pembuatan Suspensi Bakteri



0,5 Mc Farland

4. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



UESBE
Laboratorium

SERTIFIKAT HASIL UJI
No. 439/SHU/ULAB/III/2020

I. DESKRIPSI PELANGGAN DAN SAMPEL

DATA PELANGGAN		DATA SAMPEL	
Nama Pelanggan	Kristina Handayani	No. FPP	439/FPP/ULAB-SI/III/2020
Alamat	Stikes Karya Putra Bangsa Jl. Raya Tulungagung-Bitar Tulungagung	Nama Sampel	Stock Strain UESBE Lab
No. Telepon	0856 0858 8594	Jenis Sampel	Padat
No. Fax		Tgl. Penerimaan	11 Maret 2020
Nama PIC		Tgl. Selesai Uji	16 Maret 2020
No. Telepon		Keterangan	


II. DESKRIPSI HASIL UJI

NO	SAMPEL	PARAMETER	METODE	SYARAT MUTU	HASIL UJI	SATUAN
1.	Stock Strain UESBE Lab	<i>Staphylococcus aureus</i>	Biakan dan Identifikasi	-	Strain <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	tabung
2.	Stock Strain UESBE Lab	<i>Escherichia coli</i>	Biakan dan Identifikasi	-	Strain <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	tabung

Keterangan:

- Sertifikat Hasil Uji hanya berlaku untuk sampel yang di uji
- Sertifikat Hasil Uji hanya terbit satu kali, dan tidak dapat digandakan.
- Pengaduan pelanggan atas hasil uji dilayani selama 1 minggu setelah penerbitan Sertifikat Hasil Uji.

Solo, 17 Maret 2020
Penanggung Jawab Pengujian

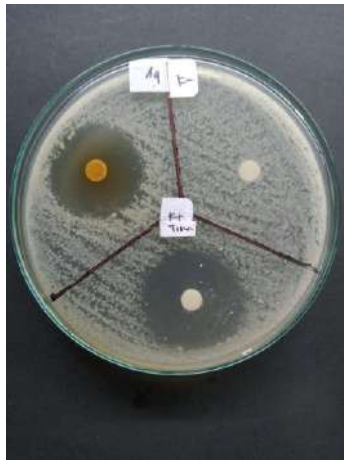
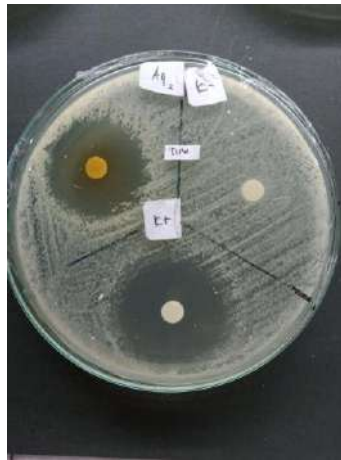
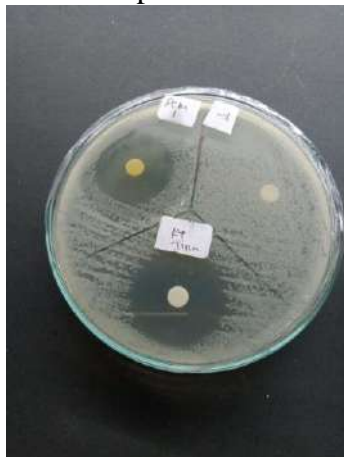
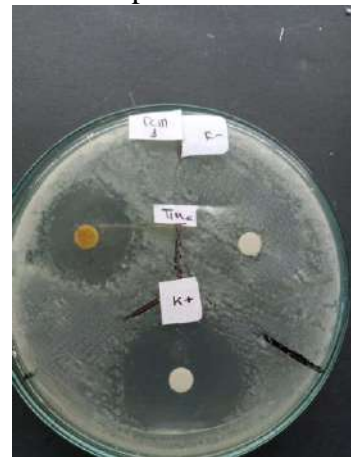
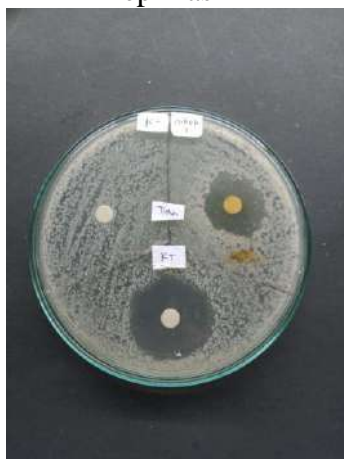
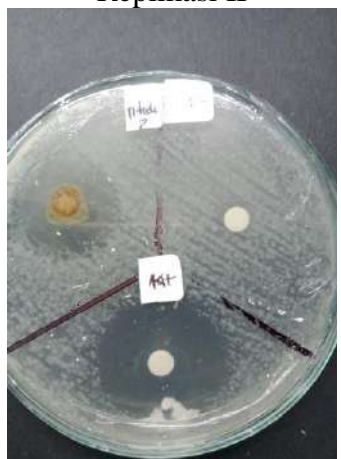


UESBE
Laboratorium

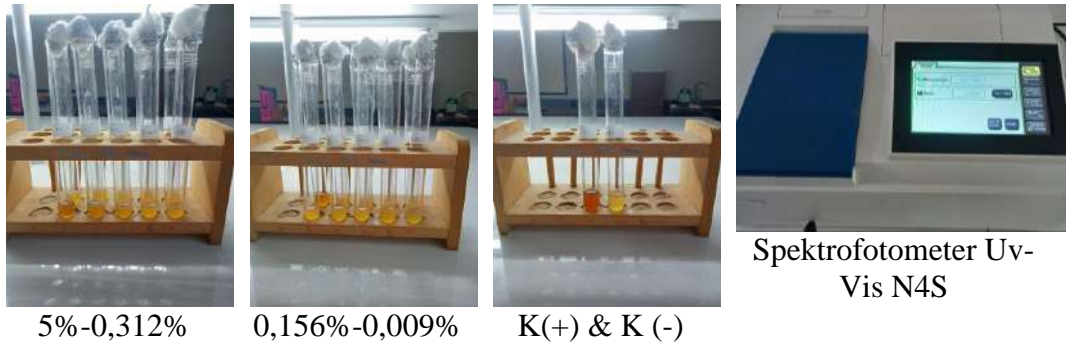
Dr. Geminah Pamudji, M.Si., Apt.
Manajer Puncak

Jl. Lelindung, Setyo Mojoringgo – Solo 57127, Telp 0271-852518 ext. 154 Fax. 0271-853275

5. Uji Aktivitas Fraksi Batang Pepaya

Fraksi *Aquadestilata*
Replikasi IFraksi *Aquadestilata*
Replikasi IIFraksi *Aquadestilata*
Replikasi IIIFraksi *Diklorometana*
Replikasi IFraksi *Diklorometana*
Replikasi IIFraksi *Diklorometana*
Replikasi IIIFraksi *n-Heksan*
Replikasi IFraksi *n-Heksan*
Replikasi IIFraksi *n-Heksan*
Replikasi III

6. Uji KHM Menggunakan Metode Dilusi



5%-0,312%

0,156%-0,009%

K(+) & K (-)

Spektrofotometer Uv-Vis N4S

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned} \text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,08 \text{ g} \end{aligned}$$

2. Pembuatan *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned} \text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times \text{Volume} \\ &= 0,2 \text{ g} \end{aligned}$$

3. Perhitungan Larutan Stok Dilusi

$$\text{Konsentrasi } 5\% = 5 \text{ g}/100 \text{ mL}$$

$$\text{Konsentrasi } 5\% = 0,5 \text{ g}/10 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 2,5\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (50\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 2,5\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 1,25\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (25\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 1,25\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,625\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (0,625\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,625\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,312\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (0,625\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,312\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,156\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (0,312\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,156\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,078\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (0,156\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,078\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,039\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (0,078\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,039\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,019\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (0,039\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,019\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,009\% &= V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &= 0,5 \times (0,019\%) = 1 \times C_2 \end{aligned}$$

$$C_2 = 0,009\%$$

Lampiran 4. Perhitungan Hasil

1. Penetapan Kadar Air Simplisia

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Batang Pepaya (<i>Carica Papaya Lin.</i>)	10,01 g	9,23 g	7,79%

$$\text{Rumus \% Kadar Air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{10,01 \text{ g} - 9,23 \text{ g}}{10,01 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 7,79\%$$

2. Rendemen Batang Pepaya

- Rendemen Ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Batang Pepaya (<i>Carica Papaya</i> <i>Lin.</i>)	220 g	11,87 g	5,39%

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{11,87 \text{ g}}{220 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 5,39\%$$

- Rendemen Fraksi

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Hasil
Fraksi <i>Aquadest</i>	5 g	3,26 g	65,32%
Batang Pepaya Fraksi DCM	5 g	0,11 g	2,32%
Batang Pepaya Fraksi n- heksan Batang Pepaya	5 g	0,30 g	6,06%

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen Fraksi Aquadestilata} = \frac{3,26 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 65,32\%$$

$$\text{Rendemen Fraksi Diklorometana} = \frac{0,11 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 2,32\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen Fraksi n-Heksan} &= \frac{0,30 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,06\% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Hasil Orientasi Klindamisin

Sampel	Zona Hambat (mm)
Konsentrasi 0,0025%	26
Konsentrasi 0,005%	18
Konsentrasi 0,01%	13

Lampiran 6. Hasil Uji Dilusi

1. Hasil Pengamatan Secara Visual

Nomor Tabung	Konsentrasi Fraksi Batang pepaya	Hasil		
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
1	K(-)	-	-	-
2	5%	-	-	-
3	2,5%	-	-	-
4	1,25%	-	-	-
5	0,625%	+	+	+
6	0,312%	+	+	+
7	0,156%	+	+	+
8	0,078%	+	+	+
9	0,039%	+	+	+
10	0,019%	+	+	+
11	0,009%	+	+	+
12	K(+)	+	+	+

2. Hasil pengujian Menggunakan metode Spektrofotometer Uv-Vis

Fraksi (%)	Hasil Absorbansi (nm)								Ket.
	Replikasi I		Replikasi II		Replikasi III		Rata-rata		
	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	
5%	0,505	0,216	0,612	0,051	0,560	0,065	0,553	0,332	Turun
2,5%	0,101	4,000	0,278	0,233	0,405	0,325	0,261	1,159	Naik
1,25 %	0,456	0,253	0,489	0,103	0,370	0,385	0,438	0,247	Turun
0,625 %	0,325	0,238	0,270	0,208	0,118	0,090	0,237	0,178	Turun
0,312 %	0,231	0,148	0,350	0,385	0,284	0,172	0,288	0,235	Turun
0,156 %	0,347	0,533	0,388	0,507	0,296	0,512	0,343	0,517	Naik
0,078 %	0,291	0,389	0,472	0,434	0,496	0,501	0,419	0,441	Naik
0,039 %	0,191	0,215	0,267	0,275	0,322	0,455	0,260	0,315	Naik
0,019 %	0,214	0,475	0,210	0,366	0,259	0,382	0,227	0,407	Naik
0,009 %	0,550	0,769	0,132	0,294	0,870	0,567	0,517	0,543	Naik
K(+)	1,021	4,000	1,256	1,343	1,289	1,463	1,188	2,268	Naik
K(-)	1,430	1,395	1,433	1,405	1,416	1,387	1,426	1,395	Turun

Keterangan: (a) : Perlakuan sebelum inkubasi
(b) : Perlakuan sesudah inkubasi

Lampiran 7. Hasil Analisis

1. Tabel Input Uji Aktivitas Antibakteri

Kelompok	Zona Hambat	VSP	VSP	VSP	VSP	VSP	VSP
1	1,00	25,00					
2	1,00	27,30					
3	1,00	27,30					
4	2,00	27,00					
5	2,00	25,00					
6	2,00	27,30					
7	3,00	25,00					
8	3,00	25,00					
9	3,00	27,00					
10	4,00	27,00					
11	4,00	27,00					
12	4,00	27,00					
13	5,00	0,00					
14	5,00	0,00					
15	5,00	0,00					
16	6,00	0,00					
17	6,00	0,00					
18	6,00	0,00					
19	7,00	0,00					
20	7,00	0,00					
21	7,00	0,00					
22	8,00	0,00					
23	8,00	0,00					
24	8,00	0,00					
25	0,00	30,30					

2. Uji Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ZonaHambat	.237	36	.000	.795	36	.000

a. Lilliefors Significance Correction

3. Uji *Kruskal Wallis*

	ZonaHambat
Chi-Square	34.026
df	11
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

4. Uji *Mann Whitney*

- a. Kontrol Positif Fraksi *Aquadestilata* dan Kontrol Negatif Fraksi *Aquadestilata*

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat	Kontrol Positif Fraksi <i>Aquadestilata</i>	3	5.00	15.00
	kontrol Negatif Fraksi <i>Aquadestilata</i>	3	2.00	6.00
	Total	6		

	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

b. Kontrol Positif Fraksi *Aquadestilata* dan Fraksi *Aquadestilata*

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat			
Kontrol Positif Fraksi <u>Aquadestilata</u>	3	5.00	15.00
Fraksi <u>Aquadestilata</u>	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

c. Kontrol Negatif Fraksi *Aquadestilata* dan Fraksi *Aquadestilata*

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat			
Kontrol Negatif Fraksi <u>Aquadestilata</u>	3	2.00	6.00
Fraksi <u>Aquadestilata</u>	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

d. Kontrol Positif Fraksi Diklorometana dan Kontrol Negatif Fraksi Diklorometana

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat			
Kontrol Positif Fraksi <u>Diklorometana</u>	3	5.00	15.00
Kontrol Negatif Fraksi <u>Diklorometana</u>	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

e. Kontrol Positif Fraksi Diklorometana dan Fraksi Diklorometana

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat Kontrol Positif Fraksi Diklorometana	3	5.00	15.00
Fraksi Diklorometana	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

f. Kontrol Negatif Fraksi Diklorometana dan Fraksi Diklorometana

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat Kontrol Negatif Fraksi Diklorometana	3	2.00	6.00
Fraksi Diklorometana	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

g. Kontrol Positif Fraksi n-heksan dan Kontrol Negatif Fraksi n-heksan

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat Kontrol Positif Fraksi n-Heksan	3	5.00	15.00
Kontrol Negatif Fraksi n-Heksan	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

h. Kontrol Positif Fraksi n-heksan dan Fraksi n-heksan

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat	Kontrol Positif Fraksi n-Heksan	3	5.00	15.00
	Fraksi n-Heksan	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

i. Kontrol Negatif Fraksi n-heksan dan Fraksi n-heksan

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat	Kontrol Negatif Fraksi n-Heksan	3	2.00	6.00
	Fraksi n-Heksan	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

j. Kontrol Positif Ekstrak 5% dan Kontrol Negatif Ekstrak 5%

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat	Kontrol Positif Ekstrak 5%	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif Ekstrak 5%	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

k. Kontrol Positif Ekstrak 5% dan Ekstrak 5%

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat	Kontrol Positif Ekstrak 5%	3	5.00	15.00
	Ekstrak 5%	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

l. Kontrol Negatif Ekstrak 5% dan Ekstrak 5%

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat Kontrol Negatif Ekstrak 5%	3	2.00	6.00
Ekstrak 5%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

m. Fraksi Aquadestilata dan Fraksi Diklorometana

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat Fraksi Aquadestilata	3	5.00	15.00
Fraksi Diklorometana	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

n. Fraksi Aquadestilata dan Fraksi n-heksan

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat Fraksi Aquadestilata	3	5.00	15.00
Fraksi n-Heksan	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

o. Fraksi Aquadestilata dan Ekstrak 5%

Ranks			
Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat Fraksi Aquadestilata	3	5.00	15.00
Ekstrak 5%	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics ^b	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

p. Fraksi Diklorometana dan Fraksi n-heksan

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat	Fraksi Diklorometana	3	5.00	15.00
	Fraksi n-Heksan	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

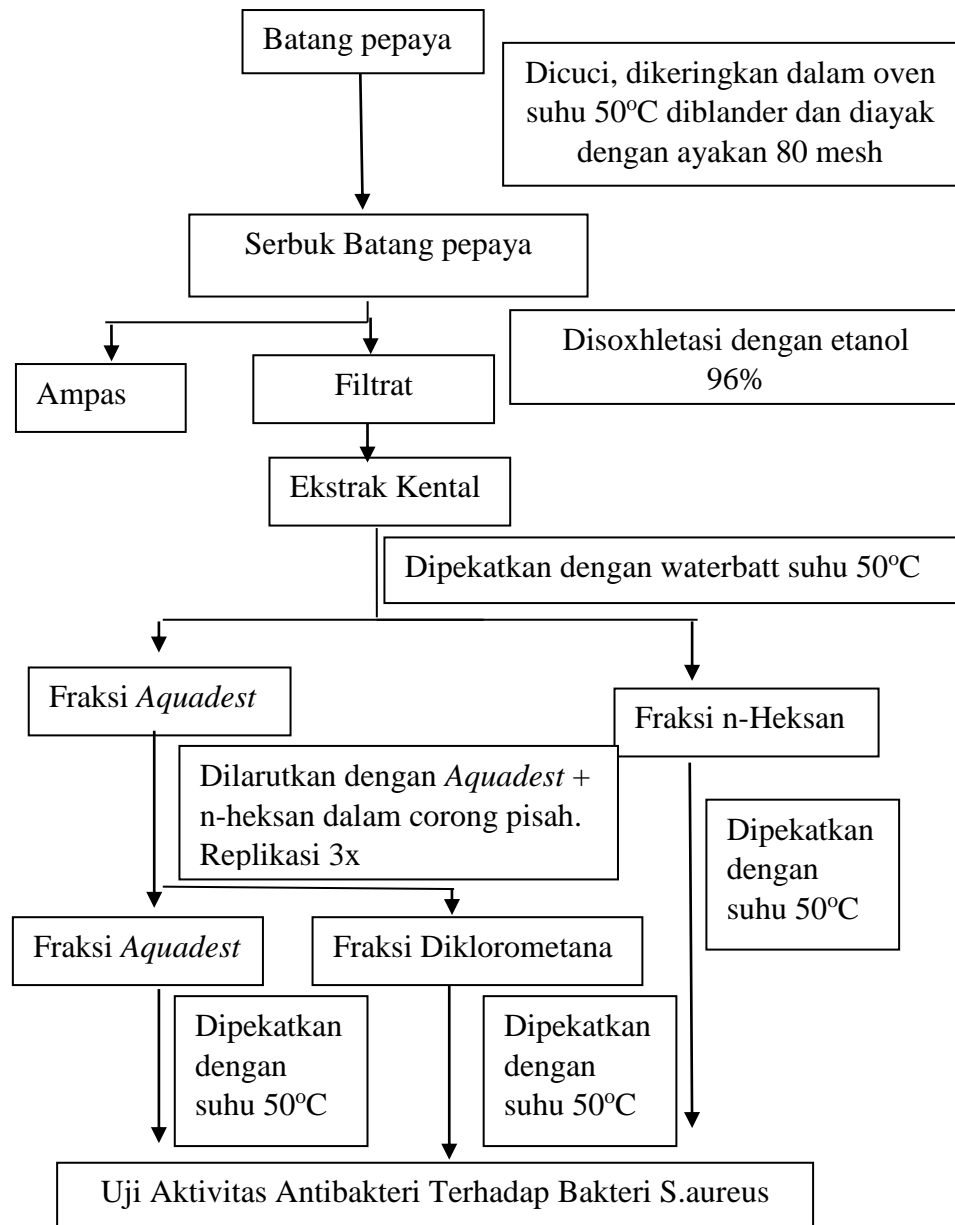
q. Fraksi n-heksan dan Ekstrak 5%

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZonaHambat	Fraksi n-Heksan	3	2.33	7.00
	Ekstrak 5%	3	4.67	14.00
	Total	6		

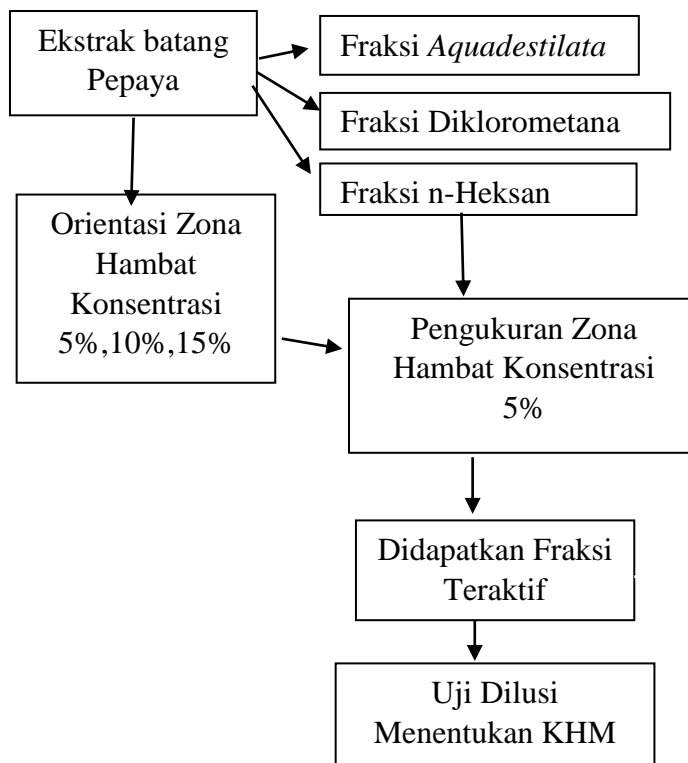
Test Statistics ^a	
	ZonaHambat
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.650
Asymp. Sig. (2-tailed)	.099
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

Lampiran 8. Alur Prosedur Kerja

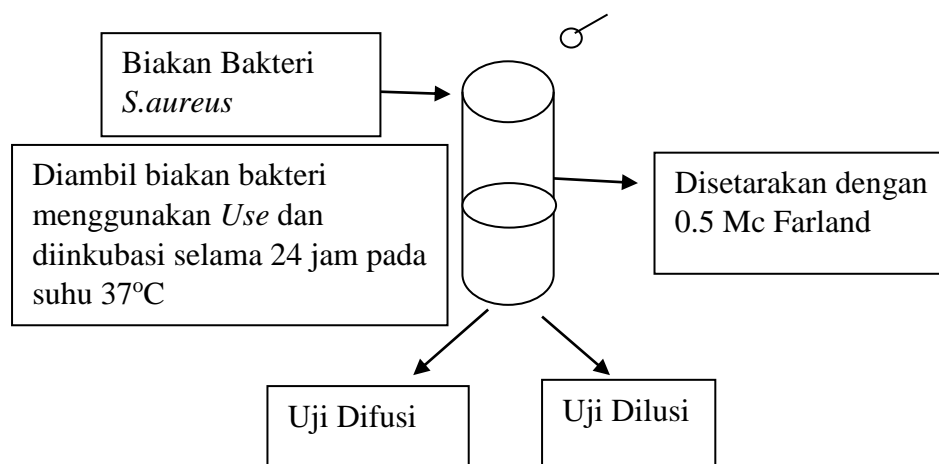
1. Pembuatan Fraksi Batang Pepaya



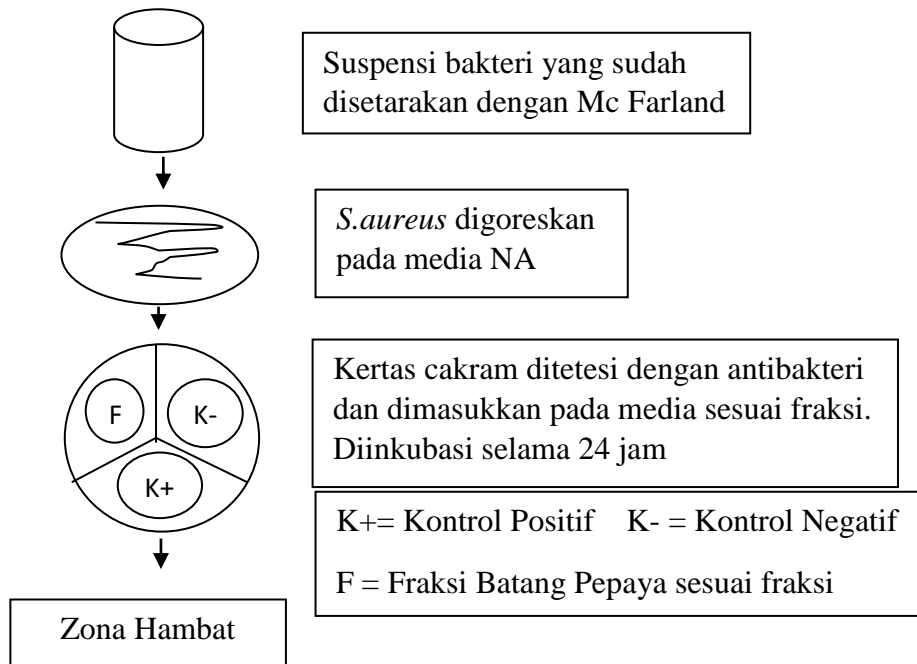
2. Pengujian Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



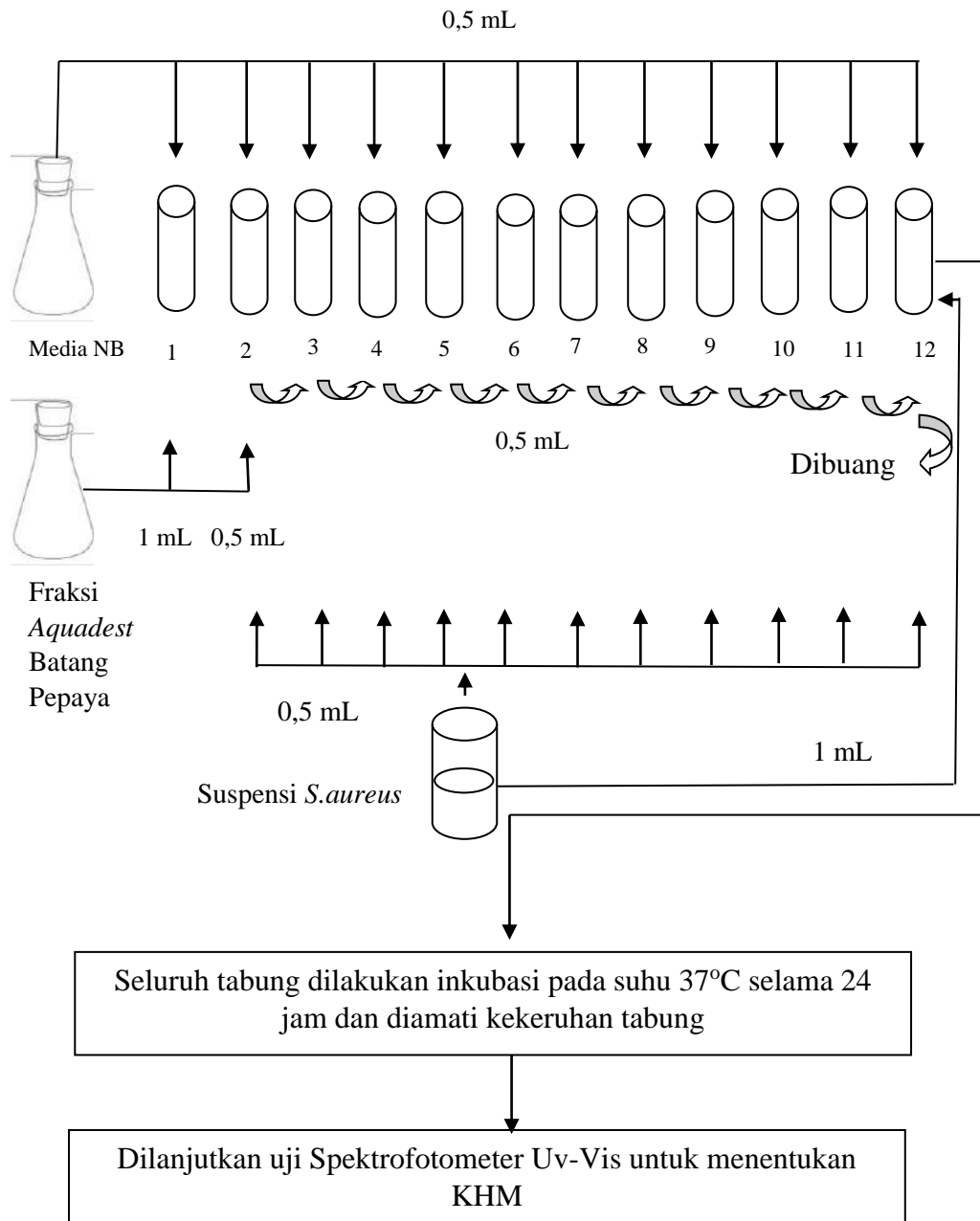
3. Pembuatan Suspensi Bakteri



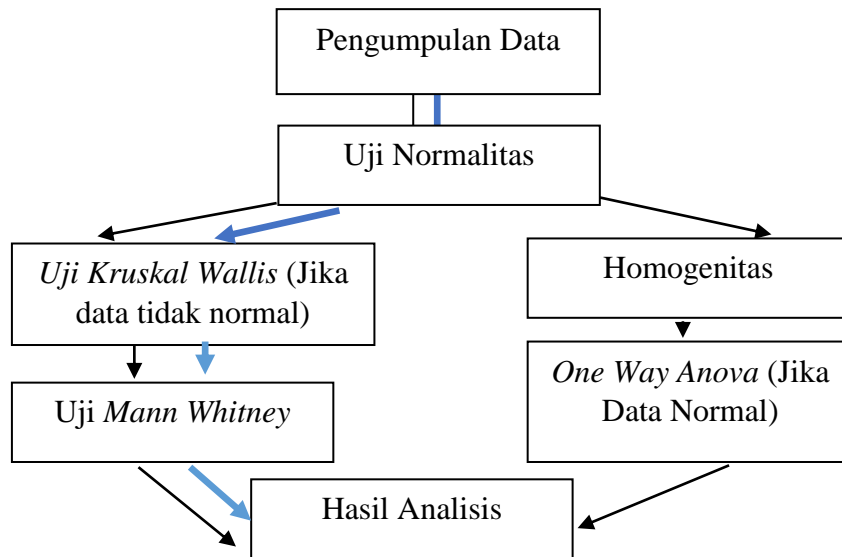
4. Pengujian Fraksi Batang Pepaya



5. Penentuan nilai KHM



6. Proses Analisis Data



Keterangan: → = Alur analisis data secara umum

→ = Alur analisis data yang digunakan dalam penelitian ini