

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh:

MIA AUDINA CURNIA SAFITRI

NIM. 1613206011

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

2020

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi

(S.Farm) Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

MIA AUDINA CURNIA SAFITRI

NIM. 1613206011

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

2020

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *IN VITRO***

yang diajukan oleh:

MIA AUDINA CURNIA SAFITRI

NIM. 1613206011



Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Amalia Eka Putri, M.Farm., Apt

NIP. 17.92.01.09

Pembimbing Pendamping,

Dara Pranidya Tilarso, M.Farm., Apt

NIP. 18.89.01.15

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA (*Carica papaya Linn.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 SECARA *IN VITRO*

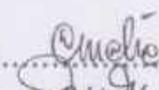
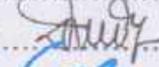
yang diajukan oleh:

MIA AUDINA CURNIA SAFITRI

NIM. 1613206011

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. Dara Pranidya T., M.Farm., Apt (..........)
2. Dr. Gunawan P.W., M.Si., Apt (..........)
3. Choirul Huda, 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 diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, 10 Juli 2020

Penulis,



Mia Audina Curnia Safitri

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *In Vitro*” ini dengan baik meskipun banyak kekurangan di dalamnya.

Proposal ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa. Penyusunan proposal ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan banyak pihak, baik secara moril maupun materiil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Amalia Eka Putri, M.Farm., Apt. selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan proposal ini.
2. Ibu Dara Pranidya Tilarso, M.Farm., Apt. selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan proposal ini.
3. Ibu Dara Pranidya Tilarso, M.Farm., Apt. selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
4. Bapak/Ibu Dosen dan civitas akademika di lingkungan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung, khususnya Dosen Jurusan Farmasi yang telah memberikan pengajaran dan pemahaman yang tulus sehingga menambah wawasan dan pengetahuan penulis.
5. Orang tua, keluarga besar, teman dan sahabat tercinta yang selalu setiap saat memberi dukungan, semangat dan do'a yang tulus serta selalu membantu baik moril maupun materiil selama penyusunan proposal berlangsung dengan penuh kesabaran dan ketulusan yang sangat berarti bagi penulis.
6. Seluruh rekan-rekan Jurusan Farmasi, khususnya rekan-rekan seangkatan yang telah memberikan dukungan, semangat serta doa tulus yang diberikan setiap saat.

Penulis menyadari sepenuhnya 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 pembaca dan menambah khazanah keilmuan bagi semua pihak. Terima kasih.

Tulugagung, 10 Juli 2020

Penulis

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI BATANG PEPAYA
(*Carica papaya* Linn.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *IN VITRO***

Mia Audina Curnia Safitri

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan mikroorganisme patogen yang menjadi penyebab terjadinya penyakit diare, infeksi saluran kemih, meningitis, dan infeksi lainnya. Pengobatan yang umum untuk penyakit infeksi adalah antibiotik, akan tetapi terjadi banyak resistensi terhadap antibiotik yang disebabkan oleh penggunaan yang tidak tepat. Kasus resistensi tersebut mengakibatkan diperlukannya terapi alternatif untuk agen antibakteri yang berasal dari tumbuhan-tumbuhan yang memiliki potensi tinggi sebagai agen antibakteri. Batang pepaya mempunyai potensi sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang merupakan bakteri patogen penyebab infeksi pada manusia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menggunakan metode difusi cakram serta untuk mengetahui fraksi batang pepaya yang memiliki zona hambat paling tinggi. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental. Sampel penelitian adalah batang pepaya yang di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak kemudian difraksinasi dengan menggunakan metode partisi cair – cair menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata*. Fraksi batang pepaya dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa yang terkandung didalamnya. Kontrol positif yang digunakan yaitu tablet eritromisin 500 mg dan kontrol negative yang digunakan yaitu masing-masing pelarut fraksi. Fraksi batang pepaya masing-masing dibuat dengan konsentrasi 1%. Analisa statistik data penelitian dilakukan dengan menggunakan metode uji *Shapiro-Wilk*, *Kruskal-Wallis*, serta *Mann-Whitney*. Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya menunjukkan hasil bahwa fraksi batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya masing-masing dengan konsentrasi 1% secara berurutan mempunyai rata-rata diameter zona hambat sebesar $12,57 \pm 0,23$ mm, $15,33 \pm 0,35$ mm, dan $18,97 \pm 0,58$ mm terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Aktivitas antibakteri diperkirakan berasal dari aktivitas senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang terkandung di dalam fraksi batang pepaya.

Kata kunci : Antibakteri, *Carica papaya* Linn., *Escherichia coli* ATCC 25922, Fraksinasi

**ANALYSIS OF ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF PAPAYA ROD
FRACTION (*Carica papaya* Linn.) ON *Escherichia coli* ATCC 25922
BACTERIA IN VITRO**

Mia Audina Curnia Safitri

Pharmacy Study Program S1

ABSTRACT

Bacteria Escherichia coli ATCC 25922 is a pathogenic microorganism that causes diarrheal disease, urinary tract infections, meningitis, and other infections. A common treatment for infectious diseases is antibiotics, but there is a lot of resistance to antibiotics caused by improper use. The case of resilience resulted in the need for alternative therapies for antibacterial agents derived from plants that have high potential as an antibacterial agent. Papaya stems have the potential as an antibacterial agent against Escherichia coli ATCC 25922 bacteria which are pathogenic bacteria that cause infections in humans. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the papaya stem fraction against Escherichia coli ATCC 25922 by using the disc diffusion method and to find out the papaya stem fraction which has the highest inhibitory zone. The research method used is the experimental method. The research sample was papaya stems extracted using maceration method with 96% ethanol solvent. The extract was then fractionated using the liquid-liquid partition method using n-hexane, dichloromethane, and aquadestillate solvents. Papaya stem fraction is subjected to phytochemical screening to determine the compounds contained therein. The positive control used was erythromycin 500 mg tablet and the negative control used was each fraction solvent. Papaya stem fractions were each made with a concentration of 1%. Statistical analysis of research data was carried out using the Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis, and Mann-Whitney test methods. The results of the testing of the antibacterial activity of the papaya stem fraction showed the results that the papaya stem fraction had antibacterial activity against Escherichia coli ATCC 25922 bacteria. Papaya stem n-hexane, dichloromethane, and aquadestillate fractions with concentrations of 1% respectively have an average inhibition zone diameter of 12.57 ± 0.23 mm, 15.33 ± 0.35 mm, and 18.97 ± 0.58 mm against Escherichia coli ATCC 25922 bacteria. Antibacterial activity is thought to originate from the activity of flavonoid compounds, tannins, and saponins contained in papaya stem fractions.

Keywords: *Antibacterial, Carica papaya Linn., Escherichia coli ATCC 25922, Fractionation*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
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	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya</i> Linn.)	5
2.1.1. Klasifikasi Tanaman	5
2.1.2. Morfologi Tanaman	6
2.1.3. Kandungan Kimia	8
2.1.4. Efek Farmakologi	9
2.2. Simplisia	10
2.2.1. Definisi Simplisia	10
2.2.2. Syarat Mutu Simplisia	10
2.2.3. Tahapan Pembuatan Simplisia	12
2.3. Serbuk dan Kadar Air Simplisia	14
2.4. Ekstraksi	15
2.4.1. Definisi Ekstraksi	15

2.4.2. Metode Ekstraksi	16
2.4.3. Metode Fraksinasi	18
2.4.4. Pelarut Ekstraksi	18
2.5. Bakteri	21
2.5.1. Definisi Bakteri	21
2.5.2. <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	22
2.5.3. Klasifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	23
2.5.4. Morfologi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	22
2.5.5. Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	24
2.6. Antibakteri	25
2.6.1. Definisi Antibakteri	25
2.6.2. Mekanisme Kerja Antibakteri	25
2.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri	26
2.7.1. Metode Difusi	26
2.7.2. Metode Dilusi	28
2.8. Eritromisin	29
2.9. Kerangka Penelitian	30
2.10. Hipotesis Penelitian	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	32
3.1 Bahan	32
3.2 Alat	32
3.3 Populasi Penelitian	32
3.4 Sampel Penelitian	32
3.5 Definisi Operasional	33
3.6 Variabel Penelitian	33
3.6.1 Variabel Bebas	33
3.6.2 Variabel Terikat	34
3.7 Prosedur Penelitian	34
3.7.1 Determinasi Tanaman	34
3.7.2 Pembuatan Simplisia	35
3.7.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia	35

3.7.4 Pembuatan Ekstrak	35
3.7.5 Fraksinasi	36
3.7.6 Skrining Fitokimia	37
3.7.7 Uji Aktivitas Antibakteri	38
3.7.8 Peremajaan Bakteri	39
3.7.9 Pembuatan Suspensi Bakteri	40
3.7.10 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (<i>Carica papaya Linn.</i>) dengan Metode Cakram	40
3.7.11 Pengukuran Zona Hambat	41
3.7.12 Analisis Hasil	41
3.7.13 Rancangan Penelitian	42
3.7.14 Diagram Skematik	44
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	45
4.1 Determinasi Tanaman	45
4.2 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	45
4.2.1 Uji Kadar Air Simplisia	45
4.2.2 Ekstraksi Batang Pepaya	46
4.3 Fraksinasi Batang Pepaya	46
4.4 Skrining Fitokimia	47
4.5 Uji Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	49
4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya(<i>Carica papaya Linn.</i>) terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	50
BAB V PENUTUP.....	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
2.1 Kategori Respon Hambatan Pada Pertumbuhan Bakteri Berdasarkan Hasil Diameter Zona Hambat	26
3.1 Komposisi Pembuatan Konsentrasi Fraksi Batang Pepaya	37
4.1 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Batang Pepaya	45
4.2 Hasil Rendemen Ekstrak Batang Pepaya	46
4.3 Fraksinasi Batang Pepaya	47
4.4 Skrining Fitokimia Ekstrak Batang Pepaya	47
4.5 Skrining Fitokimia Fraksi Batang Pepaya	48
4.6 Deskripsi Hasil Uji Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50
4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Batang Pepaya terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	52
4.8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Diklorometana Batang Pepaya terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	53
4.9 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi <i>Aquadestilata</i> Batang Pepaya terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	54
4.10 <i>Rank</i>	55
4.11 Hasil <i>Kruskal-Wallis</i>	56
4.12 Hasil Analisis <i>Post Hoc</i> Fraksi n-Heksana dengan menggunakan Uji <i>Mann-Whitney</i>	56
4.13 Hasil Analisis <i>Post Hoc</i> Fraksi Diklorometana dengan menggunakan Uji <i>Mann-Whitney</i>	57
4.14 Hasil Analisis <i>Post Hoc</i> Fraksi <i>Aquadestilata</i> dengan menggunakan Uji <i>Mann-Whitney</i>	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1 Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya</i> Linn.)	6
2.2 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	22
3.1 Rancangan Penelitian	43
3.2 Diagram Skematik yang Menunjukkan Kinerja Pengujian Sensitivitas Antibiotik (Metode Difusi Cakram)	44
4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Batang Pepaya	48
4.2 Skrining Fitokimia Fraksi Batang Pepaya	48
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	51
4.4 Grafik Diameter Zona Hambat Fraksi n-Heksana	52
4.5 Grafik Diameter Zona Hambat Fraksi Diklorometana	53
4.6 Grafik Diameter Zona Hambat Fraksi <i>Aquadestilata</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Batang Pepaya (<i>Carica papaya</i> Linn.)	69
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian	70
Lampiran 3. Kerangka Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram	76
Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri.....	77
Lampiran 5. Perhitungan Hasil	78
Lampiran 6. Hasil Orientasi Dosis Kontrol Positif	79
Lampiran 7. Hasil Orientasi Ekstrak Batang Pepaya.....	80
Lampiran 8. Hasil Analisis Data	81
Lampiran 9. Alur Prosedur Kerja	87
Lampiran 10. Jadwal Penelitian	95

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Masalah yang umum dalam bidang kesehatan yaitu penyakit infeksi yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Penyakit infeksi ini banyak diderita oleh masyarakat yang hidup di negara berkembang, seperti di Indonesia. Penyakit infeksi dapat menular dari satu individu ke individu lain, yaitu dapat ditularkan dari manusia ke manusia maupun dari hewan ke manusia. Infeksi merupakan suatu penyakit yang dapat disebabkan oleh kelompok bakteri, jamur, virus, maupun parasit lain (Jawetz *et al.*, 2005).

Pengobatan yang umum untuk penyakit infeksi dilakukan dengan pemberian obat-obatan antibiotik. Obat-obatan antibiotik yang pada awalnya sensitif terhadap adanya mikroorganisme ini dapat menjadi tidak sensitif, keadaan ini disebut dengan resistensi antibiotik. Terjadinya resistensi obat-obatan antibiotik ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor pemicu seperti penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Timbulnya banyak kasus resistensi terhadap obat-obatan antibiotik ini menyebabkan kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain menjadi meningkat, termasuk obat antibiotik dari tumbuh-tumbuhan berkhasiat obat (Tessy *et al.*, 2004).

Sejak zaman dahulu, pengenalan dan pemakaian tumbuhan berkhasiat obat oleh masyarakat Indonesia sering dilakukan sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi permasalahan kesehatan yang sedang dihadapi. Masalah dan kesulitan yang timbul bagi para masyarakat peminat obat-obatan tradisional sampai sekarang ini yaitu masih kurangnya informasi serta pengetahuan yang memadai bagi masyarakat mencakup berbagai jenis tanaman atau tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan dasar obat-obatan tradisional, manfaat yang diberikan terhadap penyakit tertentu, serta cara pembuatan obat tradisional yang baik (Thomas, 1989).

Pepaya (*Carica papaya* Linn.) merupakan satu-satunya jenis dalam genus *Carica*. Hampir semua susunan tumbuhan ini mempunyai daya dan hasil guna yang baik bagi kehidupan manusia. Batang tanaman pepaya merupakan salah satu contoh dari bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri. (Rukmana, 1995). Ekstrak etanol batang pepaya pada konsentrasi 20% dan 25% mempunyai aktivitas sebagai antibakteri secara *in vitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu sebesar 10,33 mm dan 10,83 mm yang termasuk dalam kategori sedang (Simbolon, 2018). Batang pepaya mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder golongan saponin, tanin, dan flavonoid. Adanya golongan saponin menyebabkan ekstrak batang pepaya berpotensi digunakan sebagai antibakteri (Simbolon, 2018).

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan mikroorganisme patogen yang sering menginfeksi manusia. Bakteri ini merupakan salah satu yang menjadi penyebab terjadinya penyakit diare, infeksi saluran kemih, meningitis, pneumonia, dan infeksi lainnya. Penyebaran bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat melalui kegiatan tangan ke mulut atau dengan cara pemindahan pasif melalui perantara makanan maupun minuman. Kasus resistensi *Escherichia coli* ATCC 25922 menurut Lestari (2012) terhadap antibiotik ampisilin (43,2%), gentamisin (6,2%), sefotaksim (3,9%), trimethoprim sulfametoksazol (35%), kloramfenikol (21,4%), dan siprofloksasin (7,8%) (Lestari, 2012).

Proses ekstraksi dilakukan untuk menarik senyawa aktif dalam batang pepaya. Ekstraksi maserasi mempunyai keuntungan yaitu metode dan peralatan yang digunakan sederhana serta senyawa aktif tidak terurai karena proses ekstraksi dilakukan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al.*, 2017). Hasil maserat merupakan campuran beberapa metabolit sekunder sehingga memerlukan fraksinasi untuk memisahkan golongan metabolit utama dengan golongan lainnya. Proses fraksinasi pada prinsipnya dapat mengoptimalkan potensi dan memperluas spektrum aktivitasnya (Nwodo *et al.*, 2011). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram yaitu menggunakan media padat *Nutrient Agar*. Metode difusi cakram sering digunakan karena prosesnya yang

tidak sulit, ekonomis, dan dapat digunakan pada bakteri Gram positif dan negatif (Nurhasnawati *et al.*, 2017).

Uraian latar belakang masalah dalam penelitian ini membuat peneliti terdorong untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata*, diklorometana (DCM), dan n-heksana dari ekstrak batang pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang merupakan bakteri Gram negatif. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi padat cakram dengan berbagai konsentrasi fraksi untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.2. Rumusan Masalah

- 1.2.1. Apakah fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*?
- 1.2.2. Fraksi manakah yang mempunyai zona hambat paling mendekati kontrol positif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*?

1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.
- 1.3.2. Mengetahui fraksi batang pepaya yang mempunyai zona hambat paling mendekati kontrol positif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.

1.4. Manfaat Penelitian

- 1.4.1. Bagi Masyarakat
Memberikan informasi kesehatan terhadap masyarakat bahwa batang pepaya dapat dimanfaatkan sebagai alternatif obat antibakteri.

1.4.2. 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.

1.4.3. Bagi Instansi Pendidikan

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

1.4.4. Bagi Peneliti

Digunakan untuk memenuhi tugas akhir sebagai suatu persyaratan untuk kelulusan S1 Farmasi dan untuk menambah pengetahuan tentang manfaat bahan alam sebagai obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Pepaya (*Carica papaya* Linn.)

Pepaya (*Carica papaya* Linn.) merupakan sebuah tanaman herba yang berasal dari family Caricaceae yang berasal dari negara Amerika Tengah dan Hindia Barat, bahkan juga dari kawasan sekitar Mexico dan Costa Rica. Tanaman pepaya mempunyai bentuk dan susunan tubuh bagian luar yang termasuk kedalam tumbuhan perdu. Berdasarkan umur sampai tanaman berbunga, tanaman pepaya dikelompokkan sebagai tanaman buah-buahan semusim, namun tanaman pepaya tetap dapat tumbuh setahun atau lebih. Tanaman pepaya mempunyai sistem perakaran dengan akar tunggang dan akar-akar cabang yang tumbuh secara mendatar ke semua arah pada kedalaman sekitar 1 meter atau lebih serta menyebar dengan luas sekitar 60-150 cm atau lebih dari pusat batang tanaman pepaya (Rukmana, 1995).

Buah pepaya merupakan salah satu buah tropika unggulan yang sangat berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia. Pengembangan dari buah pepaya memerlukan ketersediaan benih pepaya yang berkesinambungan. Hal ini karena peremajaan tanaman selalu diperlukan agar mendapatkan hasil produksi yang baik. Tanaman pepaya diperbanyak dengan menggunakan biji pepaya. Umumnya biji yang digunakan yaitu biji yang berwarna hitam, sedangkan biji yang berwarna putih akan dibuang karena mempunyai sifat abortus. Sifat abortus yaitu tidak mempunyai embrio dan mati sejak buah pentil sehingga dalam menghasilkan tanaman pepaya yang baik maka digunakan biji buah pepaya yang matang dari pohon (Sunarjono, 2000).

2.1.1. Klasifikasi tanaman

Tanaman pepaya merupakan tanaman yang berasal dari suku *Caricaceae* dengan genus *Carica*. Genus ini mempunyai sekitar 40 spesies, namun spesies yang dapat dikonsumsi hanya tujuh spesies, termasuk *Carica papaya* Linn.

Tanaman pepaya mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Stenis, 1992) :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisio : Spermatophyta
Divisio : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dilenidae
Ordo : Violales
Familia : Caricaceae
Genus : *Carica*
Spesies : *Carica papaya Linn.*



Gambar 2.1 Tanaman pepaya (*Carica papaya Linn.*)

(Agustina, 2017)

2.1.2. Morfologi tanaman

2.1.2.1. Daun (folium)

Daun atau folium adalah salah satu bagian dari tumbuhan yang penting dan umumnya daun terdapat dalam jumlah besar. Daun tanaman pepaya merupakan jenis daun tunggal, memiliki ukuran besar, berbentuk menjari, bergerigi, dan mempunyai bagian-bagian tangkai daun serta helaian daun (lamina). Daun dari tanaman pepaya mempunyai bentuk bangun bulat atau

bundar, ujung dari daunnya lancip, tangkai daun panjang dan memiliki rongga. Permukaan dari daun pepaya licin dan sedikit mengkilat. Daun pepaya jika dilihat dari susunan tulang daunnya termasuk kedalam daun-daun yang bertulang menjari. Daun-daun pepaya berkumpul di bagian pucuk batang pepaya (Tyas, 2008).

2.1.2.2. Batang (caulis)

Batang atau caulis merupakan suatu bagian dari tanaman pepaya yang penting sebagai tempat tumbuhnya tangkai daun dan tangkai buah. Bentuk dari batang tanaman pepaya ini yaitu berbentuk bulat dengan permukaan batang yang mempunyai bekas-bekas tangkai daun pepaya. Arah tumbuh dari batang tanaman pepaya yaitu tegak lurus dengan arah keatas. Permukaan batang pepaya memiliki tekstur licin, batang berongga, umumnya tidak memiliki cabang atau bercabang sedikit dan tumbuh dengan tinggi sekitar 5-10 meter (Tyas, 2008).

2.1.2.3. Akar (radix)

Akar atau radix dari tanaman pepaya ini merupakan jenis akar dengan sistem perakaran tunggang (radix primaria) karena akar lembaga dari tanaman ini tumbuh terus menjadi akar pokok yang bercabang-cabang menjadi akar-akar dengan ukuran yang lebih kecil. Bentuk dari akar tanaman pepaya yaitu bulat dan mempunyai warna putih kekuningan (Tyas, 2008).

2.1.2.4. Bunga (flos)

Bunga atau flos dari tanaman pepaya ini termasuk kedalam golongan tumbuhan poligam karena pada tumbuhan pepaya terdapat bunga jantan, bunga betina, dan juga bunga sempurna. Pada umumnya poligam dimaksudkan untuk menunjukkan sifat dari tumbuhan yang berlainan dengan sifat bunga yang menunjukkan suatu kombinasi bukan berumah satu dan juga bukan berumah dua. Bunga pada tanaman pepaya termasuk kedalam jenis bunga majemuk yang tersusun pada sebuah tangkai bunga (Warisno, 2003).

2.1.3. Kandungan kimia

Batang dari tanaman pepaya mempunyai kandungan kimia antara lain saponin, alkaloid, tanin, dan flavonoid. Kandungan saponin, tanin, dan flavonoid dalam batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif (Simbolon, 2018).

2.1.3.1. Saponin

Kemampuan busa dari senyawa kimia saponin disebabkan oleh kombinasi antara saponin yang memiliki sifat hidrofobik (larut dalam lemak) dan bagian rantai gula yang memiliki sifat hidrofilik (larut dalam air) (Naoumkina *et al*, 2010). Saponin mempunyai sifat mudah larut dalam air dan tidak dapat larut dalam eter. Saponin mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat mengakibatkan kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Hartono, 2009). Aktivitas saponin sebagai antibakteri lebih sensitif dalam menghambat bakteri gram negatif daripada gram positif disebabkan perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif memiliki ketebalan dinding sel 15-80 nm dengan kandungan peptidoglikan lebih dari 50% berat kering, sedangkan pada gram negatif memiliki ketebalan dinding sel 10-15 nm dengan kandungan peptidoglikan sekitar 10%. Ketebalan dinding sel dari bakteri gram positif menyebabkan saponin kurang sensitif terhadap bakteri jenis ini serta kandungan peptidoglikan yang besar mengakibatkan dinding sel menjadi kaku dan sulit dirusak (Pelczar *et al.*, 1988).

2.1.3.2. Tanin

Tanin secara alami mempunyai sifat larut dalam air dan dapat memberikan warna pada air. Senyawa tanin dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengerutkan dinding sel bakteri atau membran sel dari bakteri sehingga dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas dari sel bakteri. Permeabilitas dari sel bakteri yang terganggu ini dapat menyebabkan sel bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga mengakibatkan pertumbuhannya menjadi terhambat (Naoumkina *et al*, 2010).

2.1.3.3. Flavonoid

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai bakteriostatik dengan mekanisme kerja menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri. Kerusakan pada membran sitoplasma bakteri dapat mengakibatkan kebocoran metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim pada bakteri. Kerusakan membran sitoplasma menyebabkan nukleotida dan asam amino dapat merembes keluar dan mencegah bahan aktif masuk ke dalam sel, sehingga dalam keadaan tersebut dapat menimbulkan kematian bakteri. Flavonoid dalam bentuk glikosidanya dapat larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik (Prajitno, 2007).

2.1.4. Efek farmakologi

Menurut Krishna *et al.*, (2008) batang tanaman pepaya mempunyai beberapa kandungan dan khasiat yaitu saponin, alkaloid, tannin, dan flavonoid. Getah yang terdapat pada batang tanaman pepaya mempunyai kandungan asam amino dan alkaloid yang biasa digunakan dalam pengobatan demam, keracunan, bengkak, dan penyakit kurap. Selain itu, efek farmakologi yang didapatkan yaitu saponin, tanin, dan flavonoid dalam batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif (Simbolon, 2018).

Menurut penelitian Simbolon (2018), adanya golongan saponin menyebabkan ekstrak batang pepaya berpotensi digunakan sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Ekstrak etanol batang pepaya pada konsentrasi 20% dan 25% mempunyai aktivitas sebagai antibakteri secara *in vitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu sebesar 10,33 mm dan 10,83 mm yang termasuk dalam kategori sedang (Simbolon, 2018).

2.2. Simplisia

2.2.1. Definisi simplisia

Simplisia merupakan suatu bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan dengan tujuan untuk pengobatan dan belum mengalami proses pengolahan, kecuali dinyatakan lain. Suhu pengeringan dari simplisia tidak boleh lebih dari 60°C. Pengetahuan tentang tanaman-tanaman yang memiliki khasiat obat ini sudah lama dimiliki oleh nenek moyang dan telah terbukti secara empiris mampu mengobati berbagai macam penyakit (Agoes, 2007).

Simplisia dapat digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu sebagai berikut (Agoes, 2007) :

2.2.1.1. Simplisia nabati

Simplisia nabati yaitu simplisia yang berasal dari tumbuhan utuh, bagian dari tumbuhan, maupun eksudat dari tanaman. Eksudat tumbuhan adalah isi sel tumbuhan yang secara spontan keluar maupun dengan cara tertentu dikeluarkan dari sel atau zat nabati lain yang dipisahkan dengan cara-cara tertentu dari tumbuhan asalnya.

2.2.1.2. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah salah satu jenis simplisia dalam bentuk hewan utuh, bagian dari hewan, maupun berupa zat-zat berguna yang dihasilkan oleh suatu hewan dan belum berbentuk zat kimia murni.

2.2.1.3. Simplisia mineral (pelikan)

Simplisia mineral atau pelikan yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum mengalami pengolahan dengan cara sederhana dan belum dalam bentuk zat kimia murni.

2.2.2. Syarat mutu simplisia

Suatu simplisia yang aman dan mempunyai khasiat merupakan simplisia dengan tidak ada kandungan bahaya kimia, mikrobiologis, dan bahaya fisik, serta mempunyai kandungan zat aktif yang berkhasiat. Simplisia yang baik mempunyai ciri-ciri diantaranya dalam kondisi kering menjadi bentuk serpihan, simplisia bunga apabila dilakukan peremasan akan bergemerisik dan berubah menjadi

bentuk serpihan atau mudah untuk dipatahkan. Selain itu, simplisia yang baik adalah simplisia yang tidak berjamur dan mempunyai bau khas menyerupai bahan segarnya (Herawati *et al.*, 2012).

Dalam pembuatan simplisia yang digunakan sebagai bahan baku dan produk yang siap untuk dikonsumsi langsung, maka dapat dipertimbangkan 3 konsep yang digunakan untuk menyusun parameter standar umum (Depkes RI, 2000) :

1. Simplisia sebagai bahan dalam kefarmasian seharusnya memenuhi 3 parameter mutu umum untuk suatu bahan (material), yaitu kebenaran jenis (identifikasi), kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis), serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan, dan transportasi).
2. Simplisia sebagai bahan dan produk konsumsi manusia sebagai obat, tetap diupayakan untuk memenuhi 3 paradigma produk kefarmasian, yaitu Quality-Safety-Efficacy (mutu-aman-manfaat).
3. Simplisia dengan bahan kandungan kimia yang bertanggung jawab terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar) senyawa kandungan.

Standarisasi simplisia merupakan pemenuhan terhadap suatu persyaratan sebagai bahan dan penetapan nilai berbagai parameter dari suatu produk seperti yang telah ditetapkan sebelumnya. Standarisasi simplisia mempunyai artian bahwa suatu simplisia yang akan digunakan yang telah tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan (Materia Medika Indonesia). Sedangkan sebagai suatu produk yang dapat langsung dikonsumsi (serbuk jamu) masih harus memenuhi persyaratan produk kefarmasian sesuai dengan peraturan-peraturan yang berlaku (Depkes RI, 2000).

2.2.3. Tahapan pembuatan simplisia

Pada umumnya, tahapan pembuatan simplisia sebagai berikut (Depkes RI, 2000) :

2.2.3.1. Pengumpulan bahan baku

Suatu simplisia mempunyai kadar senyawa aktif yang berbeda-beda, antara lain tergantung pada :

- a. Bagian tanaman yang digunakan
- b. Umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen
- c. Waktu panen
- d. Lingkungan tempat tumbuh

Waktu pemanenan tanaman sangat mempengaruhi pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu yang tepat untuk pemanenan yaitu pada saat bagian tanaman tersebut telah mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang banyak. Senyawa aktif akan terbentuk secara maksimal pada bagian tertentu tanaman atau pada umur tertentu dari tanaman. Pemanenan batang pepaya dilakukan pada tanaman yang sudah cukup umur yaitu sekitar 9-12 bulan. Saat panen yang baik yaitu pada permulaan musim kemarau karena pada saat musim tersebut proses pengangkutan zat hara dari tanah ke seluruh tubuh tumbuhan berkurang, sehingga zat-zat aktif yang dibutuhkan tumbuhan menumpuk pada kulit batang (Depkes RI, 2000).

2.2.3.2. Sortasi basah

Sortasi basah merupakan proses yang dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan baku simplisia. Misalnya pada bahan baku simplisia yang berasal dari akar suatu tanaman obat terdapat bahan-bahan asing atau kotoran seperti tanah maupun pengotor lainnya yang harus dibuang. Tanah mempunyai kandungan bermacam-macam jenis mikroba dalam jumlah yang tinggi sehingga harus dilakukan pembersihan bahan baku simplisia dari tanah yang menempel pada bahan baku agar jumlah mikroba awal dapat berkurang (Depkes RI, 2000).

2.2.3.3. Pencucian

Proses pencucian dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang menempel atau melekat pada bahan baku simplisia. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih, misalnya air yang berasal dari sumber mata air atau air sumur dari PAM. Bahan baku simplisia yang banyak mengandung zat-zat yang mudah larut dalam air yang mengalir dicuci dengan waktu yang sesingkat mungkin untuk menghindari hilangnya zat-zat berkhasiat. Proses pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, satu kali pencucian dapat menghilangkan sebanyak 25% dari jumlah mikroba, apabila pencucian dilakukan sebanyak tiga kali maka jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Depkes RI, 2000).

2.2.3.4. Perajangan

Beberapa jenis bahan baku untuk pembuatan simplisia memerlukan proses perajangan. Perajangan dilakukan dengan tujuan untuk memperkecil ukuran atau menipiskan bahan baku. Semakin tipis bahan yang akan digunakan sebagai simplisia maka proses pengeringan akan semakin cepat karena penguapan air terjadi lebih cepat, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk proses pengeringan menjadi lebih singkat. Perajangan tidak boleh terlalu tipis karena dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mempunyai sifat mudah menguap, sehingga dapat mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan (Depkes RI, 2000).

2.2.3.5. Pengeringan

Pengeringan pada simplisia memiliki tujuan untuk membuat simplisia tidak mudah rusak, sehingga dapat dilakukan penyimpanan dalam jangka waktu yang lebih lama. Kadar air dalam simplisia yang berkurang dan reaksi enzimatik yang dihentikan akan mencegah penurunan mutu atau perusakan pada simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan bagi kapang dan jasad renik lainnya. Proses pengeringan harus sampai mencapai kadar air kurang dari 10% agar dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel. Suhu terbaik yang digunakan dalam proses pengeringan yaitu tidak melebihi 60°C. Proses pengeringan mempunyai dua cara yaitu

pengeringan alamiah (dengan menggunakan sinar matahari langsung atau dengan cara diangin-anginkan) dan pengeringan buatan (menggunakan instrument) (Depkes RI, 2000).

2.2.3.6. Sortasi kering

Sortasi kering dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan benda-benda asing yang mungkin masih terdapat pada simplisia, seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor yang mungkin masih tertinggal pada simplisia kering (Depkes RI, 2000).

2.2.3.7. Penyimpanan

Simplisia yang sudah kering dan telah melalui proses sortasi kering maka selanjutnya simplisia ditempatkan pada wadah yang sesuai dengan tujuan agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan simplisia yang lainnya. Wadah-wadah yang telah berisi simplisia selanjutnya akan ditempatkan pada rak yang terdapat dalam ruang penyimpanan. Persyaratan wadah yang digunakan sebagai pembungkus simplisia yaitu harus iner (tidak mudah bereaksi dengan bahan lain), tidak mengandung racun, mampu melindungi bahan simplisia dari berbagai cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan kandungan zat aktif, serta dari pengaruh cahaya, oksigen, dan uap air (Depkes RI, 2000).

2.3. Serbuk dan Kadar Air Simplisia

Serbuk simplisia nabati merupakan bentuk serbuk dari suatu simplisia nabati dengan ukuran derajat kehalusan tertentu. Simplisia dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, dan sangat halus. Suatu serbuk simplisia nabati tidak diperbolehkan memiliki kandungan fragmen jaringan dan benda asing yang bukan termasuk dalam komponen asli dari simplisia yang bersangkutan, antara lain yaitu telur nematode, bagian dari serangga, hama, serta sisa-sisa tanah (Agoes, 2007).

Pada proses ekstraksi, perlu memperhatikan derajat kehalusan dari suatu simplisia. Derajat kehalusan dari suatu simplisia penting untuk digunakan dalam mengupayakan proses penarikan zat berkhasiat dapat berlangsung secara

maksimal. Derajat kehalusan menyangkut luas permukaan simplisia yang akan berkontak dengan pelarut untuk ekstraksi (Agoes, 2007).

Pada umumnya proses ekstraksi akan menjadi lebih baik apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas. Semakin halus ukuran serbuk simplisia maka seharusnya semakin baik proses ekstraksinya sehingga banyak zat aktif yang larut dalam cairan penyari (Agoes, 2007).

Berdasarkan dari hasil penelitian Sapri *et al.*, (2012) dapat diketahui bahwa pada rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang dihasilkan dengan perbedaan ukuran serbuk 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh didapatkan hasil semakin besar ukuran nomor mesh yang digunakan dalam proses pengayakan simplisia akan menghasilkan rendemen yang semakin besar pula. Ukuran serbuk dari simplisia dapat berpengaruh terhadap hasil rendemen ekstrak yang akan diperoleh, dimana semakin kecil ukuran dari serbuk simplisia maka akan semakin besar pula hasil rendemen yang didapatkan.

Suatu serbuk simplisia harus mempunyai kadar air kurang dari 10%, karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam suatu simplisia kurang dari 10%. Proses pengeringan simplisia dapat menyebabkan reaksi enzimatik dalam sel berhenti apabila kadar air yang terkandung sudah mencapai kurang dari 10% (Prasetyo & Entang, 2013).

2.4. Ekstraksi

2.4.1. Definisi ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari suatu tanaman tertentu dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi pada suhu tinggi dapat lebih cepat, tetapi dalam keadaan ini dapat menyebabkan komponen-komponen yang terkandung mengalami kerusakan akibat suhu yang tinggi (Depkes RI, 2006).

2.4.2. Metode ekstraksi

2.4.2.1. Ekstraksi cara dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan suatu proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan cairan penyari dengan beberapa kali penggojokan pada suhu ruang. Prosedur dari maserasi yaitu dengan merendam simplisia yang akan diambil ekstraknya kedalam suatu cairan penyari yang sesuai dalam wadah tertutup rapat. Penggojokan dalam metode maserasi dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan kecepatan ekstraksi (Depkes RI, 2006).

Prinsip dari metode ekstraksi maserasi yaitu pengikatan atau pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutan dari zat aktif dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Metode ekstraksi maserasi pada umumnya menggunakan jenis pelarut non air atau pelarut non polar. Cairan penyari yang merendam simplisia akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan cairan penyari menyebabkan terjadinya proses pelarutan zat aktif kedalam cairan penyari. Akibat adanya perbedaan konsentrasi antara cairan di dalam dan di luar sel maka akan terjadi gaya difusi sehingga larutan yang terpekat akan didesak keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel. Proses ini akan berhenti ketika telah tercapai keseimbangan konsentrasi (Depkes RI, 2006).

Metode ekstraksi ini mempunyai kelebihan yaitu alat-alat yang digunakan sederhana, biaya operasional relatif rendah, prosesnya relatif hemat penyari, dan dapat digunakan untuk menyari zat aktif yang tidak tahan terhadap proses pemanasan. Metode maserasi mempunyai kelemahan yaitu proses maserasi membutuhkan waktu yang cukup lama dibandingkan dengan metode ekstraksi yang lain (Depkes RI, 2006).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses ekstraksi senyawa terlarut dari suatu jaringan selular simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu dalam keadaan baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruang.

Metode perkolasi cukup sesuai untuk digunakan dalam ekstraksi pendahuluan maupun ekstraksi dalam jumlah yang besar (Depkes RI, 2006).

2.4.2.2. Ekstraksi cara panas

a. Refluks

Metode ekstraksi secara refluks pada dasarnya merupakan metode ekstraksi secara berkesinambungan. Siplisia yang akan dilakukan ekstraksi direndam dengan menggunakan cairan penyari dalam labu alas bulat yang sudah dilengkapi dengan kondensor atau alat pendingin tegak, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari pada labu alas bulat akan menguap, uap dari cairan penyari akan diembunkan oleh kondensor atau pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif simplisia dalam labu alas bulat. Ekstraksi refluks umumnya dilakukan sebanyak 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Depkes RI, 2006).

b. Infusa

Metode ekstraksi infusa merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup kedalam penangas air yang mendidih), dengan suhu terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2006).

c. Digesti

Metode ekstraksi digesti merupakan suatu maserasi kinetik (maserasi dengan pengadukan secara kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu umumnya dilakukan pada suhu sekitar 40-50°C (Depkes RI, 2006).

d. Dekok

Metode ekstraksi dekok merupakan suatu ekstraksi infus yang dilakukan pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai mencapai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C dengan waktu selama 30 menit (Depkes RI, 2006).

e. Soxhletasi

Ekstraksi simplisia dengan metode soxhletasi merupakan ekstraksi yang menggunakan prinsip pemanasan dan perendaman sampel simplisia. Proses tersebut mengakibatkan terjadinya proses pemecahan dinding dan membran sel

tumbuhan yang disebabkan karena timbulnya perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel tumbuhan (Depkes RI, 2006).

2.4.3. Metode fraksinasi

Metode fraksinasi pada ekstrak tanaman merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa tersebut dalam dua jenis pelarut dengan sifat tidak saling bercampur, umumnya antara pelarut air dan pelarut organik (Soebagio, 2005). Teknik pemisahan dengan cara ekstraksi cair-cair ini umumnya dilakukan dengan menggunakan corong pisah (*separatory funnel*). Kedua pelarut yang saling tidak bercampur tersebut dimasukkan pada alat fraksinasi yaitu corong pisah, kemudian digojok, dan didiamkan. Solut (senyawa organik) akan terdistribusi kedalam fasenya masing-masing sesuai dengan sifat kelarutannya terhadap fase tersebut. Larutan membentuk dua lapisan yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang kemudian dapat dipisahkan dengan membuka kunci pipa pada corong pisah (Odugbemi, 2008).

Ekstrak yang di dapat dipartisi dengan menggunakan peningkatan polaritas pelarut seperti petroleum eter, n-heksana, kloroform, dietil eter, etil asetat, dan etanol. Jenis pelarut yang dipilih untuk proses ekstraksi umumnya bergantung pada sifat analit, dimana pelarut dan analit harus mempunyai sifat yang sama. Aglikon yang umumnya terekstraksi pada fraksi non polar seperti terpenoid dan steroid, sedangkan untuk flavonoid, glikosida, saponin, dan gula ester ditemukan pada fraksi yang lebih polar dan fraksi air (Dey, 2012).

2.4.4. Pelarut ekstraksi

Pelarut atau cairan penyari merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam suatu proses ekstraksi, sehingga dalam memilih pelarut ada banyak faktor yang harus diperhatikan (Guenther, 2006). Dua pertimbangan utama dalam melakukan pemilihan jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi, dan pelarut yang digunakan tidak berbahaya serta tidak beracun. Pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi harus mempunyai

kemampuan untuk hanya melarutkan ekstrak yang diinginkan (spesifik), mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan atau pengaruh secara kimia terhadap komponen ekstrak, dan nilai titik didih antar bahan tidak boleh terlalu dekat (Guenther, 2006). Sifat dari pelarut yang baik digunakan untuk proses ekstraksi yaitu pelarut mempunyai toksisitas yang rendah, mempunyai kemampuan mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, mampu untuk mengawetkan, dan tidak menyebabkan terjadinya disosiasi pada ekstrak (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemilihan pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi juga tergantung pada senyawa ditargetkan atau yang diinginkan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi dalam pemilihan pelarut yaitu jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam melakukan penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses bioassay, dan potensial bahaya kesehatan dari pelarut yang digunakan dalam ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.4.1. Aquadestilata

Aquadestilata berasal dari istilah latin yaitu *aquadestilata* yang mempunyai arti air suling. Air suling atau *aquadestilata* adalah air yang didapatkan melalui proses pengembunan dari uap air yang terjadi akibat proses penguapan atau pendidihan air (Ham, 2006). Ikatan hidrogen dalam air pada tekanan atmosfer bersifat mengalir (*flow*) pada suhu 100°C dan densitasnya sebesar 1 g/ml (Winarno, 2002).

2.4.4.2. Etanol

Etanol atau yang biasa disebut etil alkohol, hidroksietan atau alkohol, diproduksi dengan cara melalui fermentasi gula, karbohidrat dan pati, yang biasa digunakan sebagai pelarut dalam suatu ekstraksi, antiseptik, obat penenang, industri parfum dan juga obat-obatan. Etanol merupakan suatu pelarut organik.

Sifat-sifat etanol sebagai berikut (Rama, 2008) :

Nama lain	: Etanol, hidroksi ethan, metil karbinol, ansol
Rumus bangun	: C_2H_5OH
Sifat	: Mudah menguap berbau khas, tidak beresidu
Berat molekul	: 46,7
Titik leleh	: $-117,3 - 112^{\circ}C$
Berat jenis	: 0,789 g/ml
Kelarutan	: Dalam air, eter, kloroform, dan metil alkohol

Etanol merupakan suatu senyawa alkohol yang mempunyai formula C_2H_5OH yang berbentuk cair, tidak berwarna, larut dalam air, eter, kloroform, dan aseton. Etanol dihasilkan dari peragian kanji, hidrolisis bromoetana dengan kalium hidroksida (Rama, 2008). Berdasarkan hasil penelitian dari Fathurrachman (2014), konsentrasi dari etanol dapat mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan hasil dari uji fitokimia senyawa dalam tanaman sirsak. Ekstrak etanol 70% dapat menghasilkan % rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 96%. Perbedaan polaritas antara etanol 70% dengan etanol 96% menjadi penyebab terjadinya perbedaan % rendemen yang dihasilkan dari suatu ekstraksi.

Etanol banyak digunakan dalam dunia kimia, farmasi, dan kedokteran diantaranya sebagai bahan pelarut. Etanol termasuk jenis pelarut polar yang banyak digunakan pada proses ekstraksi senyawa polar dalam suatu bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal. Senyawa polar hasil ekstraksi suatu bahan alam dalam ekstrak etanol dapat diambil dengan menggunakan teknik ekstraksi melalui proses pemisahan (Rama, 2008).

2.4.4.3. Diklorometana (DCM)

Diklorometana (DCM) atau dengan nama lain metilen klorida merupakan suatu senyawa organik yang memiliki rumus kimia CH_2Cl_2 . Diklorometana merupakan senyawa yang tidak berwarna dan mempunyai aroma manis yang banyak digunakan sebagai pelarut. Diklorometana tidak dapat larut sempurna dalam air, namun dapat larut dengan pelarut organik lainnya (New Jersey Department Health, 2008).

2.4.4.4. Kloroform

Kloroform atau triklorometana merupakan salah satu senyawa haloform yang mempunyai sifat mudah menguap, sukar terbakar (tetapi uapnya mudah untuk terbakar), tidak dapat larut dalam air tetapi dapat larut dalam alkohol dan eter, uap kloroform mempunyai sifat membius dan apabila terkena udara dan cahaya dapat membentuk suatu gas fosgen yang bersifat racun. Kloroform umumnya digunakan dalam proses pembuatan senyawa fluorokarbon, sebagai pelarut (cat), dan sebagai anestetik. Kelarutan kloroform dalam air pada suhu 25°C (Ham, 2006).

2.4.4.5. Petroleum eter

Petroleum eter merupakan suatu cairan campuran hidrokarbon yang mempunyai sifat mudah sekali terbakar. Petroleum eter biasanya digunakan sebagai pelarut non polar. Petroleum eter terutama terdiri dari pentana yang pada suhu 20°C petroleum eter mempunyai densitas sebesar 0,64 g/ml (Ham, 2006).

2.4.4.6. Heksana

Heksana merupakan suatu cairan yang mempunyai karakteristik sangat tidak polar dan volatile. Heksana memiliki bau yang khas yang dapat menyebabkan pingsan apabila menghirupnya. Titik didih dari heksana pada tekanan 760 mmHg adalah sebesar 66-71° C (Schefan dan Morris, 1983). N-heksana termasuk kedalam pelarut dengan jenis non polar, sehingga n-heksana ini berkemampuan dalam melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).

2.5. Bakteri

2.5.1. Definisi bakteri

Istilah bakteri ini berasal dari bahasa Yunani, yaitu “*bacterion*” yang mempunyai arti batang atau tongkat. Sekarang istilah tersebut digunakan untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu, tubuhnya mempunyai sifat prokariotik, yaitu tubuh terdiri dari sel yang tidak mempunyai pembungkus inti. Bakteri dapat berkembangbiak dengan cara membelah diri. Ukuran bakteri sangat kecil, sehingga untuk melihatnya dapat menggunakan bantuan mikroskop. Bakteri

termasuk kedalam jenis mikroorganisme bersel satu, namun memiliki beberapa organel didalamnya yang dapat digunakan untuk melaksanakan beberapa fungsi hidupnya (Waluyo, 2004).

2.5.2. *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan organisme yang bersel tunggal dengan kemampuan hidup di banyak lingkungan berbeda. *Escherichia coli* ATCC 25922 termasuk dalam flora normal yang terletak pada saluran intestinal manusia dan hewan berdarah panas. Keberadaan bakteri ini secara umum tidak menimbulkan kerugian pada kesehatan manusia. Hubungan komensalisme antara bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan usus manusia yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922 mendapatkan makanan dan keuntungan lainnya dari manusia dengan tanpa menimbulkan penyakit atau kerusakan pada tubuh manusia. Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 terbagi menjadi banyak serotipe yang pada masing-masing serotipe dapat menyebabkan penyakit pada manusia dengan mekanisme dan tingkat keparahan yang berbeda-beda, dari yang bersifat komensal sampai bersifat parasit (WHO, 2006).

2.5.3. Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu (Jawetz *et al.*, 2012) :

Kingdom	: <i>Prokaryota</i>
Divisi	: <i>Gracilicutes</i>
Kelas	: <i>Scotobacteria</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>
Keluarga	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Marga	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2.2 *Escherichia coli* ATCC 25922 (Engelkirk *et al.*, 2004)

2.5.4. Morfologi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Escherichia coli ATCC 25922 merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek, membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata. Pertumbuhan bakteri ini optimum pada suhu 37°C. *Escherichia coli* ATCC 25922 mempunyai beberapa antigen diantaranya yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), dan antigen H (flagella). *Escherichia coli* ATCC 25922 termasuk dalam kelompok bakteri heterotrof yang mendapatkan makanan dalam bentuk zat organik dari lingkungan sekitarnya karena bakteri jenis ini tidak mampu menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya (Jawetz *et al.*, 2012).

2.5.5. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

2.5.5.1. Pewarnaan Gram

Pengecatan Gram merupakan salah satu cara pewarnaan yang umum digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram. Pewarnaan Gram mempunyai tujuan untuk mengamati morfologi dari *Escherichia coli* ATCC 25922 dan untuk mengetahui kemurnian dari sel bakteri. Preparat apus untuk bakteri dibuat dengan cara mengambil koloni dari media Endo Agar dengan ose kemudian diratakan pada kaca obyek setipis mungkin, dikeringkan, dan difiksasi dengan menggunakan lampu spiritus. Preparat apus ditetesi dengan menggunakan pewarna karbol gentian violet selama 2 menit, warna dibuang, ditetesi dengan lugol selama 1 menit, dan kemudian preparat apus dilunturkan dengan menggunakan alkohol 95% selama 1 menit. Preparat dicuci dengan menggunakan *aquadestilata* dan diberi dengan pewarna *safranin* selama 45-60 detik kemudian dibilas dengan *aquadestilata*. Preparat selanjutnya dikeringkan dengan tisu dan diamati morfologi sel serta warnanya dengan menggunakan mikroskop. Bakteri dapat dikelompokkan sebagai bakteri Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan termasuk kelompok Gram negatif apabila selnya terwarnai merah (Waluyo, 2008).

2.5.5.2. Uji *Simmon's Citrate Agar* (SCA)

Uji SCA dilakukan dengan tujuan untuk mendeteksi adanya penggunaan karbon sebagai sumber energi. Uji SCA dilakukan dengan mengambil koloni dari media dengan menggunakan ose kemudian menggoreskan pada media SCA untuk inokulasi bakteri. Selanjutnya melalui proses inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya koloni bakteri yang tumbuh pada media serta terjadinya perubahan warna dari hijau menjadi biru (Waluyo, 2008).

2.5.5.3. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Uji dengan media TSIA bertujuan untuk mengetahui terjadinya fermentasi gula-gula menjadi asam dengan atau tanpa gas. Prosedur pemeriksaan dengan media TSIA yaitu mengambil koloni dari media kemudian diinokulasikan pada media TSIA dengan cara menusuk sampai sepertiga dasar tabung. Selanjutnya diangkat dan digoreskan secara zig-zag pada media agar miring dan diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya perubahan warna pada dasar tabung dan lereng tabung, terdapat ruang kosong, ataupun udara pada media (Waluyo, 2008).

2.6 Antibakteri

2.6.1. Definisi antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat yang fungsinya dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan dapat mematikan bakteri dengan cara kerjanya yang mengganggu metabolisme dari mikroba yang mempunyai sifat merugikan. Pertumbuhan dari suatu mikroorganisme perlu dikendalikan dengan tujuan untuk melakukan pencegahan penyebaran suatu penyakit dan infeksi, memusnahkan mikroorganisme yang terdapat pada inang yang terinfeksi, dan mencegah proses pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Jawetz *et al.*, 2005).

2.6.2. Mekanisme kerja antibakteri

Menurut Jawetz dan Adelbergs (2005), antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu :

2.6.2.1. Menghambat pembentukan dinding sel

Cara kerja dari antibakteri dengan melakukan penghambatan pembentukan dinding sel ditujukan untuk dinding sel bakteri dengan kandungan peptidoglikan yang merupakan suatu senyawa kompleks primer mukopeptida (glikopeptida). Penyerangan oleh antibakteri tersebut mengakibatkan tekanan osmotik di dalam sel lebih tinggi daripada tekanan osmotik di luar sel, sehingga dapat mengakibatkan terjadinya lisis atau kebocoran dari sel bakteri. Contoh antibakteri yang mempunyai mekanisme seperti ini yaitu penicillin.

2.6.2.2. Mengubah permeabilitas membran sel

Membrane sel mempunyai peran yang sangat penting dalam mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar. Mekanisme kerja dari suatu antibakteri dalam melakukan perubahan permeabilitas dari membran sel bakteri yaitu dengan cara merusak membran sel dari bakteri sehingga fungsi

permeabilitas membran akan mengalami kerusakan yang dapat mengakibatkan kematian sel. Contoh antibakteri yang mempunyai mekanisme seperti ini yaitu polimiksin, nistatin, kolistin, dan lain-lain.

2.6.2.3. Menghambat sintesis protein

Sintesis protein adalah suatu hasil akhir dari dua proses utama yaitu proses transkripsi dan translasi pada bakteri. Antibakteri mempunyai mekanisme kerja dengan cara mengganggu proses transkripsi maupun translasi sehingga dapat menghambat sintesis protein dari suatu bakteri. Contoh antibakteri dengan mekanisme seperti ini yaitu streptomisin, kloramfenikol, tetrasiklin, dan lain-lain.

2.6.2.4. Menghambat sintesis asam nukleat

Antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan cara membentuk suatu kompleks dengan DNA dari bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya penghambatan proses replikasi DNA. Contoh antibakteri yang bekerja dengan mekanisme seperti ini yaitu asam nalidiksat.

2.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan dari dilakukannya uji aktivitas antibakteri yaitu untuk mengetahui aktivitas dari suatu bakteri terhadap zat antibakteri yang dilakukan secara *in vitro*. Uji aktivitas antibakteri ini dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu metode penyebaran (*Diffusion method*) dengan menggunakan kertas cakram dan metode pengenceran (*Dillution method*) (Kristanti, 2008).

2.7.1. Metode difusi

2.7.1.1. Metode *disc diffusion*

Metode *disc diffusion* digunakan untuk melakukan penentuan aktivitas agen antimikroba. Lempengan yang telah mengandung agen antimikroba diletakkan pada permukaan suatu media agar yang telah ditanami bakteri yang selanjutnya akan berdifusi kedalam media agar tersebut. Zona atau daerah yang jernih dikeliling kertas cakram (paper disk) menunjukkan bahwa terdapat hambatan pertumbuhan dari mikroorganisme sebagai akibat dari adanya agen antimikroba pada permukaan media agar. Setelah dilakukan inkubasi, dilakukan

pengukuran zona hambat yang muncul disekeliling kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong dengan tujuan untuk mengetahui kekuatan inhibisi (penghambatan) obat dalam melawan mikroorganisme uji. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi metode ini termasuk faktor fisika dan kimia, selain itu terdapat faktor antara obat dengan organisme yaitu seperti sifat medium dan difusi, ukuran molekular, dan stabilitas obat (Jawetz *et al.*, 2005).

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

2.7.1.2. Metode *E-Test*

Metode *E-Test* digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau kadar hambat minimum (KHM), yaitu suatu konsentrasi minimal dari suatu agen antibakteri yang dapat memberikan fungsi untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri. Metode ini menggunakan alat strip plastik yang mengandung suatu agen antibakteri dari kadar yang terendah sampai kadar yang tertinggi. Strip kemudian diletakkan pada permukaan suatu media agar yang telah ditanami bakteri. Pengamatan dilakukan pada daerah jernih yang timbul, daerah tersebut menunjukkan kadar agen antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada media agar tersebut (Pratiwi, 2009).

2.7.1.3. *Ditch-plate technique*

Sampel yang akan di uji pada metode ini merupakan suatu agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan memotong media agar yang terletak dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur. Bakteri uji maksimum 6 macam, digoreskan ke arah parit yang telah dibuat yang berisi agen antibakteri (Pratiwi, 2009).

2.7.1.4. Cup-plate technique

Metode *cup-plate technique* ini hampir sama dengan metode *disc diffusion*. Pada metode ini dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan bakteri. Agen antibakteri yang akan diujikan diberikan pada sumur (Pratiwi, 2009).

2.7.1.5. Gradient-plate technique

Konsentrasi agen antibakteri yang terkandung dalam media agar secara teoritis bervariasi mulai dari 0 sampai maksimal. Media agar terlebih dahulu dicairkan dan ditambahkan larutan uji. Campuran tersebut kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua kemudian dituangkan di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam dengan tujuan agar agen antibakteri dapat berdifusi secara maksimal. Bakteri uji maksimal 6 macam, digoreskan pada media agar dengan arah mulai dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. Hasil yang didapat dihitung sebagai panjang total pertumbuhan bakteri maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil penggoresan (Pratiwi, 2009).

2.7.2. Metode dilusi

2.7.2.1. Metode dilusi cair / *broth dilution test* (serial dilution)

Prinsip dari metode dilusi atau pengenceran yaitu senyawa antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa macam konsentrasi. Masing-masing konsentrasi yang telah dibuat, ditambahkan dengan suatu suspensi bakteri uji dalam media cair dan diinkubasi serta dilakukan pengamatan terhadap keberadaan pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan munculnya kekeruhan pada suspensi. Larutan uji senyawa antibakteri dengan kadar terendah yang menghasilkan larutan jernih tanpa adanya tanda-tanda pertumbuhan bakteri uji, dapat ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (KHM) atau *minimum inhibitory concentration* (MIC). Larutan KHM yang telah ditetapkan tersebut selanjutnya masuk proses kultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, kemudian melalui proses inkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang setelah diinkubasi tetap menunjukkan hasil jernih maka dapat ditetapkan sebagai kadar

bunuh minimum (KBM) atau *minimum bactericidal concentration* (MBC) (Pratiwi, 2009). Konsentrasi minimal (paling rendah) yang dibutuhkan untuk dapat membunuh 99,9% bakteri disebut sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Forbes *et al.*, 2007).

2.7.2.2. Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

Metode ini secara garis besar serupa dengan metode dilusi cair. Pada metode dilusi padat menggunakan media padat (solid). Keuntungan dari metode dilusi padat yaitu untuk menguji beberapa mikroba uji hanya diperlukan satu konsentrasi agen antibakteri (Pratiwi, 2008).

2.8. Eritromisin

Eritromisin merupakan salah satu jenis antibiotik pilihan utama bagi pasien yang sensitif serta telah resisten terhadap antibiotik turunan penisilin. Eritromisin diproduksi melalui proses fermentasi dengan menggunakan bakteri *Streptomyces sp.* Proses produksi dari antibiotik ini umumnya menggunakan sistem kultur pertumbuhan biakan atau sel bakteri (Katzung *et al.*, 2014).

Antibiotik eritromisin mempunyai aktivitas bakteriostatik ataupun bakterisida tergantung pada jenis mikroba patogen dan konsentrasi dari eritromisin. Mekanisme kerja dari eritromisin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat proses sintesis protein bakteri melalui ikatan secara *reversible* dengan ribosom subunit 50 S. Obat antibiotik ini mempunyai spectrum luas terhadap bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, maupun mikoplasma namun tidak mempunyai aktivitas terhadap virus dan jamur (Katzung *et al.*, 2014).

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1995), karakteristik dari eritromisin adalah sebagai berikut :

Nama obat	: Eritromisin
Nama lain	: Erythromycin
Rumus molekul	: $C_{37}H_{67}NO_{13}$
Berat molekul	: 733,9 g/mol
Kelarutan	: Larut dalam 1:1000 bagian air, 1:5 bagian etanol 95%, 1:6 bagian kloroform, dan 1:5 bagian eter.
Kemurnian	: Eritromisin mengandung tidak kurang dari 850 mcg $C_{37}H_{67}NO_{13}$ per mg, dihitung terhadap zat anhidrat.
Pemerian	: Berwarna putih atau agak kuning, tidak berbau, hampir tidak berbau, berbentuk kristal atau serbuk agak higroskopis, dan berasa pahit.
pH	: 8,0 – 10,5 (dalam 40 mg/ml dalam 19 bagian air)
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat
Kegunaan	: Antibakteri pembanding

2.9. Kerangka Penelitian

Penyakit infeksi banyak diderita oleh masyarakat yang hidup di negara berkembang, seperti di Indonesia. Secara umum, pengobatan untuk penyakit infeksi dilakukan dengan pemberian obat-obatan antibiotik. Obat-obatan antibiotik yang pada awalnya sensitif terhadap adanya mikroorganisme ini dapat menjadi tidak sensitif, keadaan ini disebut dengan resistensi antibiotik (Jawetz *et al.*, 2005).

Bakteri-bakteri seperti *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan suatu patogen utama pada manusia. Ekstrak etanol batang pepaya pada konsentrasi 20% dan 25% mempunyai aktivitas sebagai antibakteri secara *in vitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu sebesar 10,33 mm dan 10,83 mm yang termasuk dalam kategori sedang (Simbolon, 2018).

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan ekstraksi maserasi yang selanjutnya difraksinasi. Fraksi n-heksana, etil asetat, dan *aquadestilata* dilakukan pengujian antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menggunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian dilakukan proses analisis data dengan menggunakan SPSS 16.

2.10. Hipotesis Penelitian

Hipotesis adalah jawaban sementara yang diambil dari suatu penelitian, patokan, dugaan, atau dalil sementara yang akan dibuktikan kebenarannya dalam penelitian tersebut. Pembuktian dapat dilakukan melalui hasil penelitian sehingga dapat disimpulkan hipotesis benar atau salah, dapat diterima atau ditolak (Notoatmojo, 2005). Berdasarkan pada masalah dan kerangka konsep yang ada, maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

- 2.10.1. Fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.
- 2.10.2. Fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro* yaitu fraksi *aquadestilata* dengan konsentrasi 40%.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang pepaya (*Carica papaya Linn.*) dalam kondisi segar sebanyak 5 kg, etanol 96% sebanyak 5 L, asam asetat glasial, asam sulfat (H_2SO_4) pekat, magnesium (Mg), asam klorida (HCl), asam asetat anhidrat, larutan ferri klorida ($FeCl_3$) 1%, n-heksan, diklorometana (DCM), *aquadestilata*, *Nutrient agar*, *Nutrient broth*, *Escherichia coli* ATCC 25922, hydrogen peroksida, NaCl fisiologis, dan tablet eritromisin 500 mg.

3.2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pisau, blender, loyang, oven, ayakan mesh 80, neraca analitik, wadah *stainless steel*, botol maserasi, gelas ukur 50 mL, gelas ukur 500 mL, corong, kertas saring, oven, gelas beker 100 mL, gelas beker 250 mL, kaca arloji, sendok tanduk, botol timbang, cawan porselen, pipet tetes, pipet ukur 1 mL, pipet ukur 5 mL, kapas, stopwatch, corong pisah, batang pengaduk, cawan petri, kertas cakram, autoklaf (GEA YX2808), Erlenmeyer 250 mL, bunsen, tali, aluminium foil, mikropipet, jangka sorong, lampu spiritus, rak tabung reaksi, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), dan ose.

3.3. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah batang pepaya (*Carica papaya Linn.*) yang terdapat di kabupaten Blitar, Jawa Timur.

3.4. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pepaya (*Carica papaya Linn.*) berumur 9-12 bulan yang diperoleh dari pekarangan Bapak Kholiq

Nurhadi, Dusun Plosokembang, RT/RW:04/01, Desa Pikatan, Kecamatan Wonodadi, Kabupaten Blitar, Jawa Timur.

3.5. Definisi Operasional

Batang pepaya (*Carica papaya Linn.*) merupakan batang dari tumbuhan pepaya (*Carica papaya Linn.*) yang diambil dari Desa Pikatan, Kecamatan Wonodadi, Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang digunakan dalam penelitian ini merupakan suatu bakteri Gram negatif yang diperoleh dari Laboratorium UESBE, Solo. Metode ekstraksi batang pepaya menggunakan metode maserasi, yaitu suatu proses yang digunakan untuk mengambil ekstrak dari batang pepaya dengan menggunakan etanol 96%.

Fraksinasi merupakan proses yang digunakan untuk pemurnian ekstrak batang pepaya yang dilakukan menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata*. Metode uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram, yaitu metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi batang pepaya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

3.6. Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan segala sesuatu yang ditetapkan oleh peneliti dalam bentuk apapun sebagai suatu hal yang digunakan untuk dipelajari sehingga dapat diperoleh suatu informasi tentang hal-hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Penelitian ini menggunakan dua variabel yang meliputi variabel bebas dan variabel terikat.

3.6.1. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat menjadi suatu penyebab atau yang dapat mempengaruhi perubahan atau munculnya variabel dependen (variabel terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu variasi fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya (*Carica papaya Linn.*) yang akan dilakukan uji aktivitas terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

3.6.2. Variabel terikat

Variabel terikat merupakan jenis variabel yang menjadi akibat atau yang terpengaruh oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daya hambat fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Determinasi tanaman

Sampel batang tanaman pepaya dideterminasi di UPT Materia Medica Batu Malang, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi tanaman ini yaitu untuk mengetahui tentang kebenaran jenis dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian (Insanu *et al.*, 2011).

3.7.2. Pembuatan simplisia

Tahap pembuatan simplisia batang pepaya yaitu dengan melakukan pengumpulan batang tanaman pepaya yang masih segar dan bebas dari kerusakan dengan cara menebang tanaman pepaya. Proses selanjutnya memotong batang pepaya menjadi beberapa bagian dan melakukan sortasi basah yang bertujuan untuk membersihkan batang pepaya dari benda-benda asing atau pengotor. Batang pepaya masuk proses pencucian dengan menggunakan air bersih yang mengalir dari sumur untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang menempel pada batang tanaman pepaya yang akan dijadikan simplisia. Proses pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, 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).

Batang pepaya selanjutnya melewati proses perajangan dengan ukuran 2-5 cm (Simbolon, 2018). Perajangan dilakukan untuk memperkecil ukuran sampel

batang tanaman pepaya. Tujuan dari perajangan yaitu untuk mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan dari simplisia batang pepaya menggunakan alat yaitu oven pada suhu 40-50° C. Sortasi kering dilakukan pada simplisia batang pepaya untuk memisahkan simplisia dari benda asing atau pengotor lainnya yang mungkin masih terdapat pada simplisia (Depkes RI, 2008).

Batang pepaya yang sudah kering dan selesai sortasi selanjutnya akan masuk proses penghalusan dengan cara menggunakan *blender* sampai simplisia batang pepaya menjadi serbuk halus. Serbuk halus batang pepaya kemudian dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan nomor 80 *mesh*. Tujuan dari pengayakan yaitu untuk mempermudah proses ekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang dapat bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas. Serbuk halus batang pepaya kemudian di uji kadar airnya. Simplisia batang pepaya yang sudah jadi kemudian disimpan pada wadah yang sesuai (Depkes RI, 2008).

3.7.3. Uji kadar air serbuk simplisia

Uji kadar air dari serbuk simplisia batang pepaya dilakukan dengan cara memasukkan kurang lebih sebanyak 10 g simplisia dan menimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Proses selanjutnya yaitu mengeringkan simplisia pada keadaan suhu 105° C selama 5 jam dan menimbang simplisia kembali. Proses pengeringan dilanjutkan dan menimbang simplisia kembali pada jarak waktu 1 jam sampai perbedaan bobot antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \quad (\text{Depkes RI, 2000})$$

Suatu serbuk simplisia harus mempunyai kadar air kurang dari 10%, karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam suatu simplisia kurang dari 10%. Proses pengeringan dapat menghentikan reaksi enzimatik dalam sel apabila kadar airnya sudah mencapai kurang dari 10% (BPOM RI, 2014).

3.7.4. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak dengan metode maserasi harus menggunakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam

serbuk simplisia, kecuali dinyatakan lain dalam monografi digunakan etanol 70% LP (larutan pereaksi). Maserasi dilakukan dengan memasukkan sebanyak 1 bagian serbuk kering simplisia kedalam maserator, kemudian menambahkan 10 bagian pelarut etanol 70% (Depkes RI, 2011).

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menimbang simplisia serbuk batang pepaya sebanyak 500 g, selanjutnya memasukkan simplisia kedalam bejana maserasi dan menambah etanol 96% sebanyak 5000 mL sampai serbuk simplisia terendam kemudian mengaduk serbuk simplisia sampai semua serbuk simplisia terbasahi oleh etanol 96%. Ekstrak etanol 96% dapat menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan pelarut polar lainnya (Senja *et al.*, 2014). Selanjutnya menutup bejana dan kemudian menyimpan rendaman simplisia dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari. Selama proses perendaman dilakukan penggojokan atau pengadukan setiap hari selama 15 menit. Setelah dilakukan perendaman selama 5 hari, kemudian menyaring ekstrak dengan menggunakan kain *flannel* dengan tujuan untuk memisahkan ekstrak dari ampas serbuk simplisia. Proses selanjutnya yaitu menguapkan ekstrak dengan menggunakan oven pada temperatur 40-50° C sehingga diperoleh ekstrak kental (maserat) batang pepaya (Depkes RI, 2000). Komponen bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin tidak tahan terhadap suhu tinggi diatas 50° C sehingga dapat mengalami perubahan struktur (Handayani *et al.*, 2016).

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\% \quad (\text{Depkes RI, 2000})$$

3.7.5. Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak etanol batang pepaya dilakukan dengan menggunakan metode partisi cair-cair. Metode ini didasarkan pada tingkat kepolaran dari pelarut yang digunakan. Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan setiap 5 g ekstrak etanol batang pepaya dalam *aquadestilata* sebanyak 25 mL, kemudian menambahkan dengan 25 mL n-heksan, dikocok dan selanjutnya memisahkan antara fraksi *aquadestilata* dengan fraksi n-heksan. Proses berikutnya memasukkan fraksi *aquadestilata* yang telah disari kedalam corong pisah, kemudian menambahkan sebanyak 25 mL diklorometana, dikocok dan memisahkan kembali fraksi

aquadestilata dengan fraksi diklorometana. Penyarian dilakukan sebanyak 3 kali pada masing-masing fraksi dengan penambahan jumlah pelarut yang sama dengan tujuan agar pemisahan senyawa maksimal dan hasil setiap fraksi menjadi murni sesuai sifat kepolarannya (Dey, 2012). Filtrat yang didapatkan dari hasil penyarian diuapkan dengan menggunakan oven pada suhu 40-50° C (Huda *et al.*, 2019). Komponen bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin tidak tahan terhadap suhu tinggi diatas 50° C sehingga dapat mengalami perubahan struktur (Handayani *et al.*, 2016).

3.7.6. Skrining Fitokimia

3.7.6.1. Flavonoid

Sampel fraksi batang pepaya sebanyak kurang lebih 1 mL dicampurkan dengan sebanyak 3 mL etanol 96%, dikocok dan kemudian memanaskan larutan tersebut. Hasil disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang didapatkan kemudian ditambah dengan Mg sebanyak 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Harborne, 2006). Warna merah, orange, dan hijau dapat terbentuk karena flavonoid tereduksi oleh Mg dan HCl (Baud *et al.*, 2014).

3.7.6.2. Tanin

Sampel sebanyak 2 g ditambah dengan etanol 96% sampai sampel terendam semuanya. Sebanyak 1 mL larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006). Terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau disebabkan karena tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺ (Effendy, 2007).

3.7.6.3. Saponin

Sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 mL, kemudian mendidihkan dengan 10 mL *aquadestilata* dalam penangas air. Filtrat kemudian dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Hasil positif mengandung saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) (Harborne, 2006). Terbentuknya busa stabil terjadi karena adanya glikosida yang mempunyai

kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Kristianti *et al.*, 2008).

3.7.7. Uji aktivitas antibakteri

3.7.7.1. Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi alat merupakan suatu proses yang dilakukan untuk menghilangkan semua jenis organisme hidup, seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dalam penelitian dilakukan dengan menggunakan autoklaf (sterilisasi basah) pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dengan menggunakan wadah yang sesuai seperti Erlenmeyer dengan mulut ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan menggunakan aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.7.7.2. Pembuatan larutan uji

Fraksi batang pepaya masing-masing dibuat konsentrasi 1% dengan cara melarutkan masing-masing 1 g fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* dengan menggunakan pelarut sesuai jenis fraksi sebanyak 100 mL. Pelarut dalam pembuatan larutan uji menggunakan pelarut organik sesuai fraksi dengan tujuan agar fraksi dapat larut sempurna dan homogen. Komposisi konsentrasi fraksi batang pepaya dalam penelitian ini dijelaskan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Komposisi Pembuatan Konsentrasi Fraksi Batang Pepaya

Larutan	Konsentrasi
Fraksi n-Heksana Batang Pepaya	1%
Fraksi Diklorometana Batang Pepaya	1%
Fraksi <i>Aquadestilata</i> Batang Pepaya	1%
Kontrol positif (Eritromisin)	0,01%

3.7.7.3. Pembuatan larutan kontrol

a. Kontrol positif yang digunakan adalah Tablet Eritromisin 500 mg 0,01%

Kontrol positif dibuat dari sediaan tablet eritromisin 500 mg. Pembuatan dimulai dengan menimbang 1 tablet eritromisin dan kemudian melarutkan sebanyak 0,01% dari bobot total tablet kedalam larutan etanol 96% sebanyak 100 mL untuk membuat larutan eritromisin 0,01%.

b. Kontrol negatif yang digunakan adalah n-heksana, diklorometana, dan aquadestilata

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masing-masing pelarut fraksi yaitu n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* karena setiap fraksi akan dapat larut sempurna dalam pelarut masing-masing fraksi sesuai prinsip *like dissolve like* sehingga hasil larutan dapat homogen (Tiwari *et al.*, 2011).

3.7.7.4. Pembuatan media Nutrient Agar (NA)

Serbuk *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 2,7 g dilarutkan dalam *aquadestilata* sebanyak 135 mL, kemudian memanaskan NA sampai mendidih sehingga semua larut. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit pada tekanan 1 atm (Atlas, 2010). Media kemudian dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 10 mL dan dibiarkan mengeras (Simbolon, 2018). Cawan petri yang digunakan yaitu dengan ukuran diameter 9 cm yang mampu menampung sekitar 10 mL larutan (Yunilas *et al.*, 2017).

3.7.7.5. Pembuatan media Nutrient Broth (NB)

Pembuatan dilakukan dengan melarutkan serbuk *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 0,08 g dalam *aquadestilata* sebanyak 10 mL, kemudian memanaskan sampai mendidih sampai semuanya larut dan homogen. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Media kemudian dituangkan kedalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.7.8. Peremajaan bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan tujuan untuk melakukan perawatan terhadap bakteri agar tetap dalam kondisi yang baik. Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara menggunakan media agar miring NA, menanam bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada masing-masing media dengan cara

menggoreskan menggunakan ose jarum. Media yang telah ditanami bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37-38° C selama 24 jam (Yusriana *et al.*, 2014). Selanjutnya membandingkan kekeruhan biakan bakteri dengan menggunakan *Mc. Farland* (biakan cair dengan kekeruhan setara 0,5 *Mc. Farland* mempunyai jumlah populasi sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Forbes *et al.*, 2007).

3.7.9. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan dilakukan dengan mensuspensikan sebanyak satu ose biakan dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 kedalam tabung reaksi yang berisi 5 mL media *Nutrient Broth* (NB) dan menginkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Selanjutnya mengencerkan suspensi bakteri tersebut dengan penambahan larutan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standart 0,5 *Mc. Farland* (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 *Mc. Farland* mempunyai jumlah populasi sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Forbes *et al.*, 2007).

3.7.10. Uji aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya (*Carica papaya* Linn.) dengan metode cakram

Uji aktivitas antibakteri dari fraksi (*Carica papaya* Linn.) dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Proses ini dilakukan dengan menyiapkan terlebih dahulu media yang telah diinokulasikan dengan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Selanjutnya menambahkan masing-masing fraksi batang pepaya dengan konsentrasi 1% sebanyak 10 µL pada masing-masing cakram steril dengan diameter 6 mm (Simbolon, 2018). Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan fraksi batang pepaya ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan menekan kertas cakram dengan lembut kebawah untuk memastikan terjadinya kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eritromisin, sedangkan sebagai kontrol negatif digunakan pelarut masing-masing fraksi. Cawan petri selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Setelah diinkubasi, diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk (Huda *et al.*, 2019).

3.7.11. Pengukuran zona hambat

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan mistar berskala atau jangka sorong. Hasil yang diperoleh dari pengukuran zona hambat yaitu berupa diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk diameter dari kertas cakram. Hasil yang akurat didapatkan dengan cara melakukan pengukuran sebanyak 3 kali pada tiap daerah hambatan dari arah yang berbeda (Yusriana *et al.*, 2014).

3.7.12. Analisis hasil

Data hasil dari penelitian aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dianalisis dengan menggunakan program SPSS 16 dengan tujuan untuk melihat kemampuan fraksi n-heksana, dikorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengolahan data dapat dilakukan menggunakan tahapan berikut :

3.7.12.1. Uji normalitas data

Uji normalitas data merupakan uji yang digunakan untuk mengukur apakah data yang digunakan mempunyai distribusi yang normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik (Muhid, 2010). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H_0 : Data berdistribusi normal.

H_1 : Data berdistribusi tidak normal.

Pengambilan keputusan :

- a. Jika $p > 0,05$: maka H_0 diterima
- b. Jika $p \leq 0,05$: maka H_1 diterima

3.7.12.2. Uji *Kruskal-Wallis*

Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan dengan tujuan untuk menentukan adanya perbedaan yang signifikan antara dua atau lebih kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 (Muhid, 2010).

Perumusan hipotesis :

H_0 : Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

H_1 : Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Pengambilan keputusan :

- a. Jika $p > 0,05$: maka H_0 diterima
- b. Jika $p \leq 0,05$: maka H_1 diterima

3.7.12.3. Uji *Mann-Whitney*

Uji *Mann-Whitney* merupakan uji statistik non-parametrik yang digunakan untuk membandingkan nilai dari dua kelompok yang berbeda (Muhid, 2010).

Perumusan hipotesis :

H_0 : Rata-rata kedua kelompok perlakuan sama.

H_1 : Rata-rata kedua kelompok perlakuan berbeda.

Pengambilan keputusan :

- a. Jika $p > 0,05$: maka H_0 diterima
- b. Jika $p \leq 0,05$: maka H_1 diterima

3.7.13. Rancangan penelitian

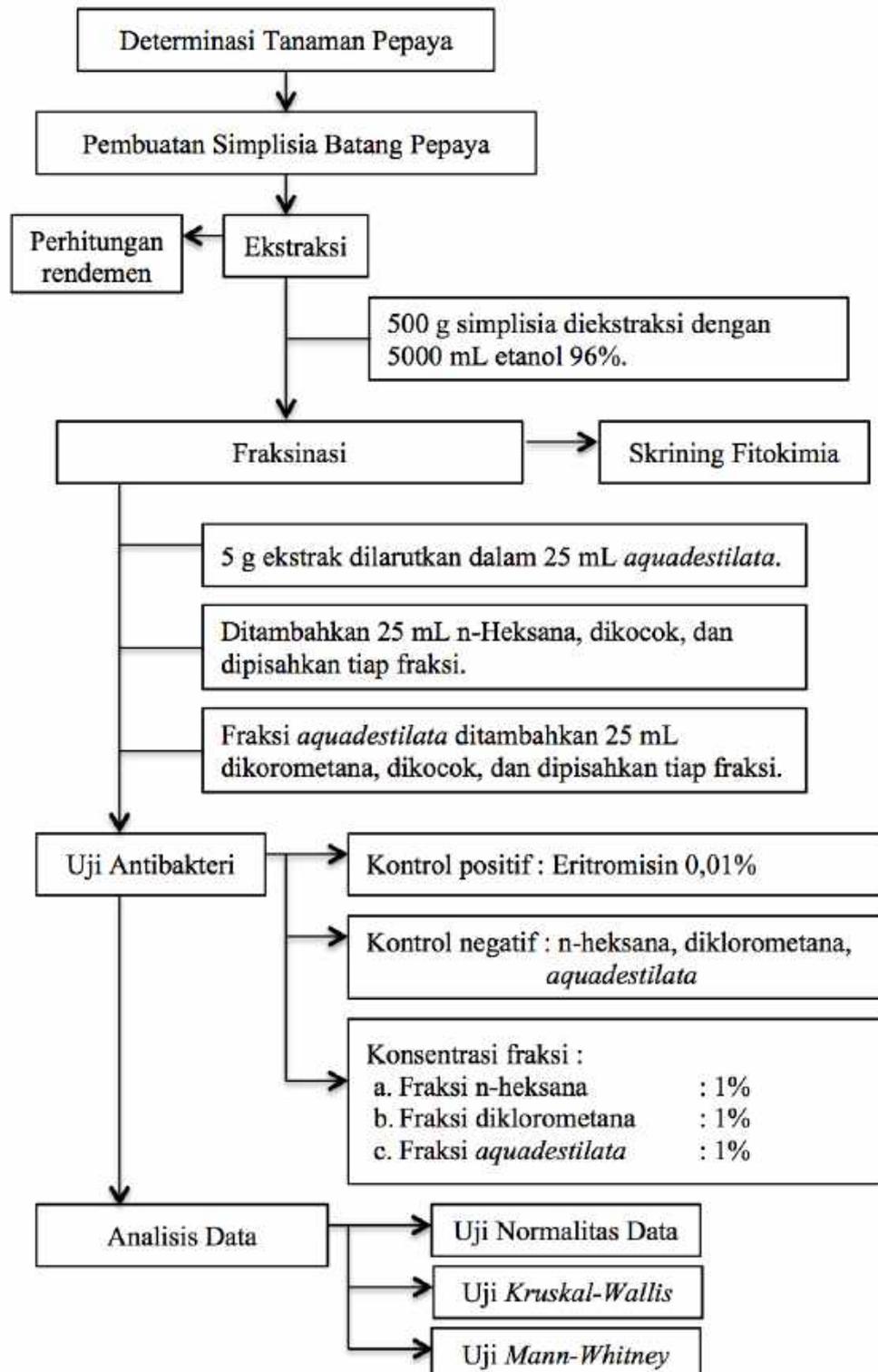
Kelompok I : Kontrol negatif, yaitu n-heksana, diklorometana, *aquadestilata*

Kelompok II : Kontrol positif, yaitu tablet eritromisin 0,01%

Kelompok III : Kelompok uji fraksi n-heksana batang pepaya 1%

Kelompok IV : Kelompok uji fraksi diklorometana batang pepaya 1%

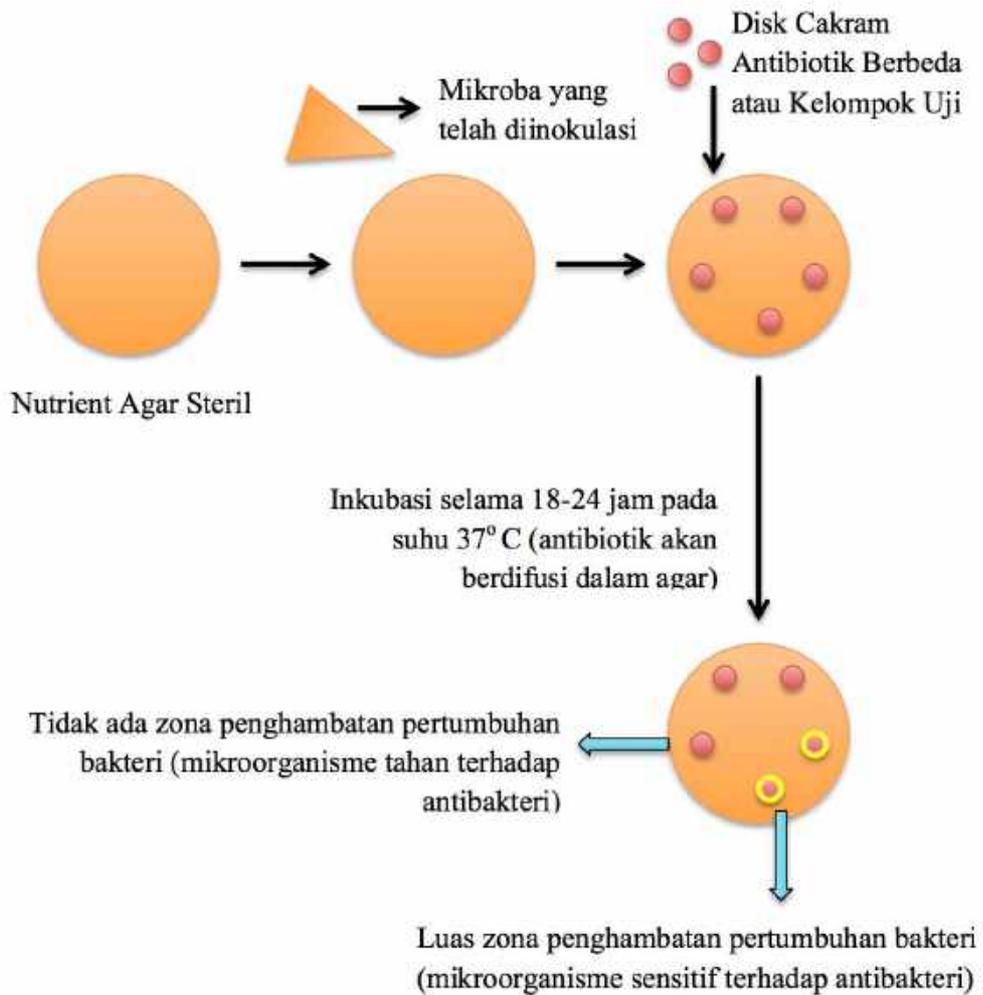
Kelompok V : Kelompok uji fraksi *aquadestilata* batang pepaya 1%



Gambar 3.1. Rancangan Penelitian

3.7.14. Diagram Skematik

Diagram skematik dalam penelitian ini menunjukkan gambaran kinerja dari pengujian sensitivitas antibiotik dengan menggunakan metode difusi cakram.



Gambar 3.2. Diagram Skematik yang Menunjukkan Kinerja Pengujian Sensitivitas Antibiotik (Metode Difusi Cakram)

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman pepaya (*Carica papaya Linn.*) dilakukan di Materia Medika, Batu. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman pepaya (*Carica papaya Linn.*) dengan kunci determinasi yaitu 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-12b-13b-14a-15a-109b-120b-121b-124b-125a-126a-1. Hasil determinasi tanaman pepaya dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.2. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

4.2.1. Uji kadar air simplisia

Uji kadar air simplisia batang pepaya bertujuan untuk menetapkan jumlah dari semua jenis bahan yang bersifat mudah menguap selama kondisi tertentu atau selama terjadi proses pemanasan (Depkes RI, 2008). Uji kadar air pada simplisia batang pepaya dapat digunakan sebagai salah satu parameter dalam melihat kualitas dari simplisia batang pepaya yang digunakan dalam penelitian ini. Metode uji kadar air simplisia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode gravimetri menggunakan oven udara. Metode ini didasarkan pada nilai berat yang hilang (Prasetyo *et al.*, 2013).

Suatu serbuk simplisia batang pepaya harus mempunyai kadar air kurang dari 10%, karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam simplisia batang pepaya kurang dari 10% sehingga simplisia dapat tahan lama dan zat aktif yang terkandung didalamnya tidak berubah (Depkes RI, 2008). Hasil dari uji kadar air serbuk simplisia batang pepaya dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Batang Pepaya

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Batang pepaya (<i>Carica papaya</i> <i>Linn.</i>)	10 g	9,13 g	8,7%

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot Awal} - \text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% \quad (\text{Depkes RI, 2000})$$

Keterangan :

Bobot awal : Bobot simplisia sebelum di oven

Bobot akhir : Bobot simplisia sesudah di oven

Uji kadar air serbuk simplisia batang pepaya memperoleh hasil kadar air sebesar 8,8% yang berarti <10%. Hasil ini menunjukkan bahwa simplisia batang pepaya yang digunakan dalam penelitian ini telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

4.2.2. Ekstraksi batang pepaya

Proses ekstraksi dari serbuk simplisia batang pepaya dilakukan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1:10, yaitu sebanyak 1 bagian serbuk kering simplisia direndam kedalam 10 bagian pelarut etanol 96% (Depkes RI, 2011). Hasil rendemen ekstrak batang pepaya dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Rendemen Ekstrak Batang Pepaya

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	% Rendemen
Batang pepaya (<i>Carica papaya</i> <i>Linn.</i>)	500 g	28,82 g	5,76%

Nilai rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan dari bobot ekstrak yang didapatkan dengan bobot simplisia yang diekstraksi dikalikan 100%. Hasil nilai rendemen yang tinggi dapat menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak suatu tanaman juga cukup besar. Menurut Romawati *et al.* (2010), rendemen ekstrak etanol batang pepaya sebesar 23,12%. Hasil dari rendemen ekstrak batang pepaya dalam penelitian ini yaitu sebesar 5,76%. Nilai rendemen ekstrak yang kecil dipengaruhi oleh jenis simplisia, ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah dari pelarut yang digunakan (Maslukhah *et al.*, 2016).

4.3. Fraksinasi Batang Pepaya

Proses fraksinasi batang pepaya dilakukan dengan metode partisi cair – cair dengan pelarut, n-Heksana, diklorometana, dan *aquadestilata*. Ketiga pelarut

ini digunakan karena mempunyai sifat yang berbeda, yaitu n-heksana bersifat non polar, diklorometana bersifat semi polar, dan *aquadestilata* bersifat polar sehingga jika pada sampel terdapat senyawa non polar maka akan tertarik atau terlarut oleh pelarut n-heksana, jika terdapat senyawa dengan sifat semi polar maka akan tertarik atau terlarut dalam diklorometana, dan jika terdapat senyawa polar akan ditarik oleh pelarut *aquadestilata* secara maksimal. Selain itu, pelarut fraksi ini dipilih karena mempunyai perbedaan bobot jenis yang nyata sehingga mempermudah dalam proses pemisahan (Edawati, 2012). Proses fraksinasi direplikasi sebanyak 3 kali. Hasil proses fraksinasi batang pepaya dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Fraksinasi Batang Pepaya

Fraksi	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	% Rendemen
n-Heksana	25 g	7,3 g	29,2%
Diklorometana		3,95 g	15,8%
<i>Aquadestilata</i>		11,25 g	45%

4.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada ekstrak dan fraksi batang pepaya dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui atau memastikan keberadaan dari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak dan fraksi tersebut. Menurut penelitian Simbolon *et al.* (2018), batang dari tanaman pepaya mempunyai kandungan kimia antara lain saponin, alkaloid, tanin, dan flavonoid. Hasil dari skrining fitokimia ekstrak dan fraksi batang pepaya dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Tabel 4.5.

Tabel 4.4 Skrining Fitokimia Ekstrak Batang Pepaya

Uji Senyawa	Sampel	Pereaksi	Perubahan	Hasil
Flavonoid	Ekstrak	Mg + H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	+
Tanin	Batang	FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Saponin	Pepaya	<i>Aquadestilata</i>	Terbentuk busa stabil	+

Keterangan : (+) Terdapat senyawa dan (-) Tidak terdapat senyawa



Uji Flavonoid

Uji Tanin

Uji Saponin

Gambar 4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Batang Pepaya**Tabel 4.5** Skrining Fitokimia Fraksi Batang Pepaya

Uji Senyawa	Sampel Fraksi	Pereaksi	Perubahan	Hasil
Flavonoid	n-Heksana	Mg+H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	+
Tanin		FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Saponin		<i>Aquadestilata</i>	Terbentuk busa stabil	+
Flavonoid	Diklorometana	Mg+H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	+
Tanin		FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Saponin		<i>Aquadestilata</i>	Terbentuk busa stabil	+
Flavonoid	<i>Aquadestilata</i>	Mg+H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	+
Tanin		FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Saponin		<i>Aquadestilata</i>	Terbentuk busa stabil	+

Keterangan : (+) Terdapat senyawa dan (-) Tidak terdapat senyawa



Uji Flavonoid

Uji Tanin

Uji Saponin

Gambar 4.2 Skrining Fitokimia Fraksi Batang Pepaya

4.4.1. Uji flavonoid

Adanya senyawa flavonoid dalam sampel ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Harborne, 2006). Hasil uji flavonoid pada ekstrak dan fraksi batang pepaya menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan. Warna merah kecoklatan dapat terbentuk karena flavonoid tereduksi oleh Mg dan HCl (Baud *et al.*, 2014).

4.4.2. Uji tanin

Adanya senyawa tanin dalam sampel ditandai dengan perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006). Hasil uji tanin pada ekstrak dan fraksi batang pepaya menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna hitam kebiruan. Warna hitam kebiruan dihasilkan dari terbentuknya kompleks antara tanin dengan Fe^{3+} (Ergina *et al.*, 2014).

Uji tanin dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk mengetahui kandungan gugus fenol dalam sampel ekstrak. Adanya gugus fenol dalam sampel ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua setelah penambahan FeCl_3 . Jika hasil uji ini positif, maka dimungkinkan dalam sampel terdapat kandungan senyawa fenol, salah satunya yaitu tanin yang merupakan senyawa polifenol (Ergina *et al.*, 2014).

4.4.3. Uji saponin

Adanya senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama). Hasil uji saponin ekstrak dan fraksi batang pepaya menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya busa stabil. Busa tersebut terbentuk karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan kemudian terhidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya (Ningsih *et al.*, 2016).

4.5. Uji Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Pengujian bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jenis bakteri yang digunakan adalah benar *Escherichia coli*

ATCC 25922. Pengujian bakteri ini dilakukan di Laboratorium UESBE, Solo. Hasil dari uji bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Deskripsi Hasil Uji Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Sampel	Parameter	Metode	Syarat Mutu	Hasil Uji	Satuan
Stock Strain UESBE Lab	<i>Escherichia coli</i>	Biakan dan Identifikasi	-	Strain <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Tabung

4.6. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

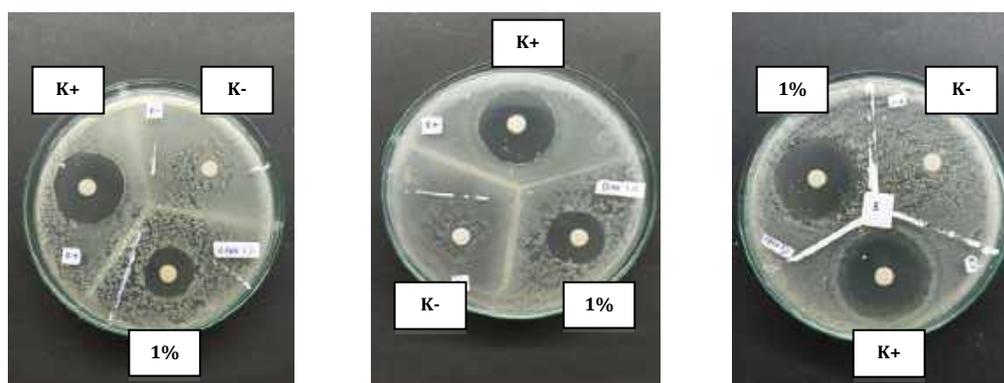
Uji antibakteri fraksi batang pepaya dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui daya antibakteri dari fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang dapat dilihat berdasarkan luas diameter zona hambat yang terbentuk pada kertas cakram. Pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat berdasarkan zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram (Kurniawati, 2015).

Pengujian antibakteri fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram digunakan karena pada metode ini proses pengerjaan mudah untuk dilakukan serta peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan peralatan khusus (Rahmadani, 2015). Prinsip dari metode difusi cakram yaitu fraksi dari batang pepaya yang terdapat pada kertas cakram akan berdifusi kedalam media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922, sehingga fraksi dari batang pepaya akan menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tablet eritromisin 500 mg dengan konsentrasi 0,01% yang memiliki mekanisme kerja menghambat proses sintesis protein bakteri melalui ikatan secara *reversible* dengan ribosom subunit 50 S. Obat antibiotik ini mempunyai spectrum luas terhadap bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, maupun mikoplasma namun tidak mempunyai aktivitas terhadap virus dan jamur (Katzung *et al.*, 2014). Kontrol negatif yang

digunakan yaitu pelarut masing-masing fraksi untuk melihat pelarut yang digunakan memiliki aktivitas sebagai antibakteri atau tidak sehingga tidak menyebabkan bias pada hasil penelitian. Fraksi batang pepaya yang akan di uji masing-masing dibuat dengan konsentrasi 1% yang dilarutkan dengan menggunakan pelarut masing-masing fraksi.

Hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi batang pepaya menunjukkan bahwa fraksi batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa daerah bening disekitar kertas cakram. Kategori respon hambatan pada pertumbuhan bakteri berdasarkan hasil diameter zona hambat dapat dikategorikan menjadi kategori lemah (<5 mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat (>21 mm) (Pratiwi, 2009). Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Fraksi n-Heksana 1%

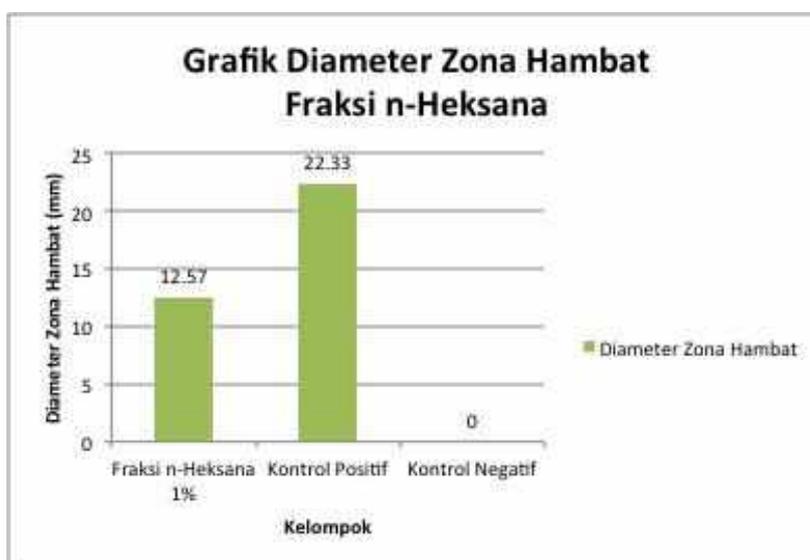
Fraksi Diklorometana 1%

Fraksi *Aquadestilata* 1%

Gambar 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Batang Pepaya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
1.	Fraksi n-Heksana 1%	12,7	12,3	12,7	12,57 ± 0,23
2.	Kontrol positif	22,7	22	22,3	22,33 ± 0,35
3.	Kontrol negatif	0	0	0	0,00 ± 0,00



Gambar 4.4 Grafik Diameter Zona Hambat Fraksi n-Heksana

Berdasarkan data pada Tabel 4.7, dapat dilihat bahwa kontrol positif mempunyai diameter zona hambat rata-rata sebesar $22,33 \pm 0,35$ mm. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tablet eritromisin 500 mg dengan konsentrasi 0,01%. Obat antibiotik ini mempunyai spectrum luas terhadap bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, maupun mikoplasma namun tidak mempunyai aktivitas terhadap virus dan jamur (Katzung *et al.*, 2014).

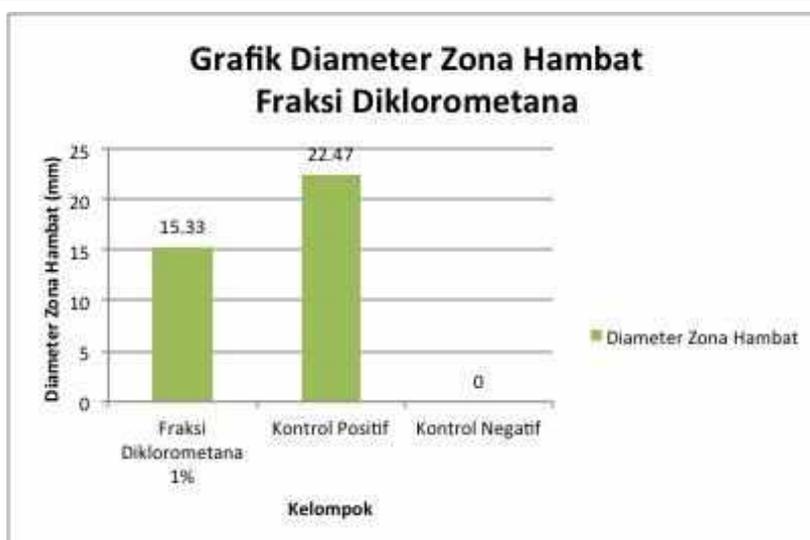
Kontrol negatif yang digunakan yaitu n-heksana dengan hasil diameter zona hambat $0,00 \pm 0,00$ mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 serta tidak memberikan pengaruh terhadap hasil uji antibakteri dari fraksi batang pepaya.

Hasil diameter zona hambat untuk fraksi n-heksana dengan konsentrasi 1% mempunyai diameter zona hambat rata-rata sebesar $12,57 \pm 0,23$ mm. Hasil

tersebut menunjukkan bahwa fraksi n-heksana 1% termasuk kedalam kategori kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabel 4.8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Diklorometana Batang Pepaya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
1.	Fraksi Diklorometana 1%	15,7	15	15,3	15,33 ± 0,35
2.	Kontrol positif	22	22,7	22,7	22,47 ± 0,40
3.	Kontrol negatif	0	0	0	0,00 ± 0,00

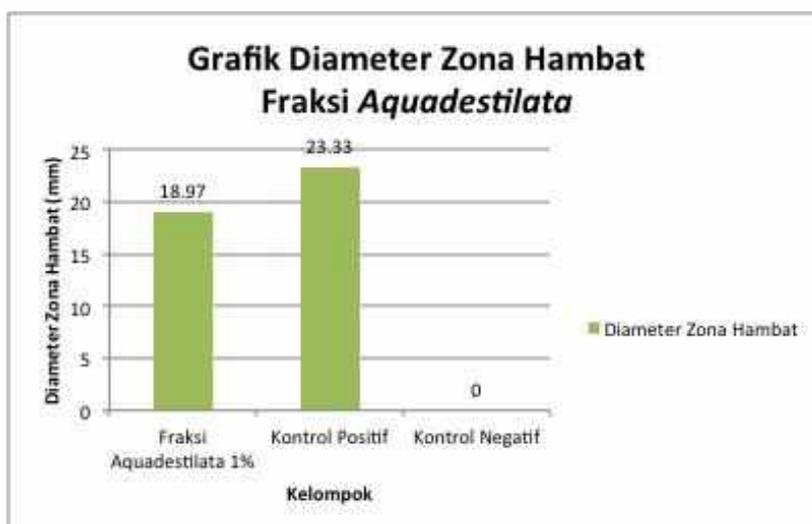


Gambar 4.5 Grafik Diameter Zona Hambat Fraksi Diklorometana

Berdasarkan data pada Tabel 4.8, kontrol positif tablet eritromisin 500 mg dengan konsentrasi 0,01% mempunyai diameter zona hambat rata-rata sebesar $22,47 \pm 0,40$ mm. Kontrol negatif yang digunakan yaitu diklorometana dengan hasil diameter zona hambat $0,00 \pm 0,00$ mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempunyai aktivitas sebagai agen antibakteri. Hasil diameter zona hambat untuk fraksi diklorometana dengan konsentrasi 1% mempunyai diameter zona hambat rata-rata sebesar $15,33 \pm 0,35$ mm yang termasuk kedalam kategori kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabel 4.9 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *Aquadestilata* Batang Pepaya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
1.	Fraksi <i>Aquadestilata</i> 1%	18,3	19,3	19,3	18,97 ± 0,58
2.	Kontrol positif	24	23,7	22,3	23,33 ± 0,91
3.	Kontrol negatif	0	0	0	0,00 ± 0,00



Gambar 4.6 Grafik Diameter Zona Hambat Fraksi *Aquadestilata*

Berdasarkan data pada Tabel 4.9, dapat dilihat bahwa kontrol positif yaitu Tablet eritromisin 500 mg dengan konsentrasi 0,01% mempunyai diameter zona hambat rata-rata sebesar $23,33 \pm 0,91$ mm. Hasil tersebut termasuk kedalam kategori sangat kuat. Kontrol negatif yang digunakan yaitu *aquadestilata* dengan hasil diameter zona hambat $0,00 \pm 0,00$ mm yang menunjukkan bahwa *aquadestilata* tidak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Hasil diameter zona hambat untuk fraksi *aquadestilata* dengan konsentrasi 1% mempunyai diameter zona hambat rata-rata sebesar $18,97 \pm 0,58$ mm yang termasuk kedalam kategori kuat. Data hasil uji antibakteri tersebut menunjukkan bahwa fraksi polar yaitu fraksi *aquadestilata* dengan konsentrasi 1% mempunyai diameter zona hambat paling mendekati dengan kontrol positif yaitu eritromisin 500 mg. Hasil tersebut dapat terjadi karena sebagian besar senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*

ATCC 25922 seperti flavonoid, tanin, dan saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar.

Kontrol positif tablet eritromisin 500 mg dengan konsentrasi 0,01% mempunyai diameter zona hambat rata-rata yang lebih besar daripada diameter zona hambat rata-rata dari fraksi batang pepaya dengan konsentrasi 1%. Hasil tersebut dapat terjadi karena antibiotik tablet eritromisin 500 mg merupakan senyawa murni, sedangkan pada fraksi batang pepaya masih terkandung senyawa-senyawa metabolit sekunder lainnya yang belum diketahui aktivitas dan khasiatnya sehingga aktivitas sebagai antibakteri yang dihasilkan belum dapat maksimal seperti tablet eritromisin.

Analisis statistik pada uji antibakteri fraksi batang pepaya diawali dengan uji normalitas data menggunakan metode uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($\text{sig} > 0,05$) yang berarti data tidak terdistribusi normal. Data selanjutnya diuji statistik non parametrik dengan menggunakan metode uji *Kruskal-Wallis* dengan taraf kepercayaan sebesar 95% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil uji statistik dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan Tabel 4.11.

Tabel 4.10 Rank

	Kelompok	N	Mean Rank
Zona Hambat	Kontrol Positif n-Heksana	3	21.67
	Kontrol Positif Diklorometana	3	22.50
	Kontrol Positif <i>Aquadestilata</i>	3	24.83
	Kontrol Negatif n-Heksana	3	5.00
	Kontrol Negatif Diklorometana	3	5.00
	Kontrol Negatif <i>Aquadestilata</i>	3	5.00
	Fraksi n-Heksana	3	11.00
	Fraksi Diklorometana	3	14.00
	Fraksi <i>Aquadestilata</i>	3	17.00
	Total	27	

Berdasarkan data tersebut, nilai *mean rank* menunjukkan peringkat rata-rata dari masing-masing perlakuan. Fraksi n-heksana 1%, fraksi diklorometana 1%, dan fraksi *aquadestilata* 1% yang diujikan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 belum menghasilkan zona hambat yang setara dengan zona hambat yang dihasilkan oleh tablet eritromisin 500 mg. Hasil tersebut ditunjukkan dengan

nilai *mean rank* fraksi batang pepaya tidak ada yang setara dengan kontrol positif yaitu tablet eritromisin 500 mg. Hal ini dapat terjadi karena untuk mencapai hasil zona hambat yang setara dengan tablet eritromisin 500 mg diperlukan fraksi batang pepaya dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Tablet eritromisin merupakan suatu senyawa sintetis yang pada konsentrasi rendah sudah dapat menghasilkan zona hambat yang besar, sedangkan fraksi batang pepaya masih mempunyai beberapa kandungan senyawa lain yang dapat mempengaruhi kemampuannya sebagai agen antibakteri.

Tabel 4.11 Hasil Uji *Kruskal-Wallis*

	Zona Hambat
Chi-Square	25.243
df	8
Asymp. Sig.	.001

Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan signifikansi sebesar 0,001 ($\text{sig} < 0,05$). Hasil tersebut berarti ada perbedaan efek antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Uji dilanjutkan dengan metode *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbandingan nilai rata-rata dari dua kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann-Whitney* ditunjukkan pada Tabel 4.12, Tabel 4.13, dan Tabel 4.14.

Tabel 4.12 Hasil Analisis *Post Hoc* Fraksi n-Heksana dengan menggunakan Uji *Mann-Whitney*

Perlakuan	Analisis Multikomparasi dengan Uji <i>Mann-Whitney</i>		
	Kontrol Positif (n-Heksana)	Kontrol Negatif (n-Heksana)	Fraksi n-Heksana
Kontrol Positif (n-Heksana)		0.037*	0.046*
Kontrol Negatif (n-Heksana)			0.034*
Fraksi n-Heksana			

Keterangan : * $p < 0.05$

Berdasarkan Tabel 4.16, dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai rata-rata antara fraksi n-Heksana 1% dengan kelompok kontrol. Hasil tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi dibawah 0,05.

Tabel 4.13 Hasil Analisis *Post Hoc* Fraksi Diklorometana dengan menggunakan Uji *Mann-Whitney*

Perlakuan	Analisis Multikomparasi dengan Uji <i>Mann-Whitney</i>		
	Kontrol Positif (Diklorometana)	Kontrol Negatif (Diklorometana)	Fraksi Diklorometana
Kontrol Positif (Diklorometana)		0.034*	0.046*
Kontrol Negatif (Diklorometana)			0.037*
Fraksi Diklorometana			

Keterangan : * $p < 0.05$

Berdasarkan Tabel 4.16, dapat dilihat bahwa nilai rata-rata antara fraksi diklorometana 1% dengan kelompok kontrol berbeda secara signifikan. Hasil tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi dibawah 0,05.

Tabel 4.14 Hasil Analisis *Post Hoc* Fraksi *Aquadestilata* dengan menggunakan Uji *Mann-Whitney*

Perlakuan	Analisis Multikomparasi dengan Uji <i>Mann-Whitney</i>		
	Kontrol Positif (<i>Aquadestilata</i>)	Kontrol Negatif (<i>Aquadestilata</i>)	Fraksi <i>Aquadestilata</i>
Kontrol Positif (<i>Aquadestilata</i>)		0.037*	0.046*
Kontrol Negatif (<i>Aquadestilata</i>)			0.034*
Fraksi <i>Aquadestilata</i>			

Keterangan : * $p < 0.05$

Berdasarkan Tabel 4.16, dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata yang signifikan antara fraksi *aquadestilata* 1% dengan kelompok kontrol. Hasil tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi dibawah 0,05.

Aktivitas antibakteri dari fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat timbul dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa aktif di dalam fraksi batang pepaya seperti senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang mempunyai kemampuan sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri. (Prajitno, 2007). Senyawa tanin bekerja sebagai antibakteri dengan cara

mengerutkan dinding sel atau membran sel dari bakteri sehingga dapat mengakibatkan terganggunya permeabilitas dari sel bakteri tersebut (Naoumkina *et al.*, 2010). Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat mengakibatkan kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Hartono, 2009).

Hasil uji antibakteri pada fraksi batang pepaya ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Simbolon *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa pada ekstrak etanol batang pepaya dengan konsentrasi 20% dan 25% mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan diameter zona hambat sebesar 10,33 mm dan 10,83 mm yang termasuk kedalam kategori sedang. Selain itu, Harborne (2006) menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan saponin merupakan senyawa yang mempunyai sifat polar yang menyebabkan senyawa polar tersebut mempunyai kemampuan menembus barrier dari membran sel bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan mudah. Hasil dari uji antibakteri fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 ini menunjukkan bahwa fraksi *aquadestilata* 1% mempunyai kemampuan sebagai antibakteri yang paling mendekati dengan kontrol positif yaitu eritromisin 500 mg.

BAB V

PENUTUP

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian serta pembahasan dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.
2. Fraksi batang pepaya yang memiliki zona hambat paling mendekati kontrol positif yaitu fraksi *aquadestilata* 1% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar $18,97 \pm 0,58$ mm terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

1. Dapat digunakan *magnetic stirrer* dalam proses pengadukan maserasi.
2. Pemisahan fraksi batang pepaya sebaiknya dilakukan secara teliti untuk mendapatkan fraksi yang lebih akurat.
3. Perlu dilakukan peremajaan bakteri secara berkala agar uji antibakteri mendapatkan hasil yang akurat.
4. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terkait senyawa-senyawa aktif yang terkandung didalam fraksi batang pepaya.
5. Dapat dilakukan isolasi senyawa batang pepaya untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal.
6. Dapat dilakukan uji korelasi untuk mengetahui hubungan kemampuan zona hambat dari masing-masing fraksi.
7. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas fraksi batang pepaya dalam bentuk sediaan sebagai agen antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina. 2017. Kajian Karakterisasi Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) di Kota Madya Bandar Lampung, *Skripsi*, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB. Hal : 21, 26-27.
- Anas, Y., Fithria, F.R., Purnamasari, A.Y., Ningsih, A.K., Noviantoro, G.A., dan Suhardjono. 2000. Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba petandra* L. Gaern.) Pada Mencit Jantan Galur Balb/C. *Traditional Medicine Journal*. 15(3): 16-22.
- Arsyad, M., Natsir. 2001. *Kamus Kimia Arti dan Penjelasan Istilah*. Jakarta : Gramedia. Hal : 32-41.
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W., dan Sigit, S. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Marine and Coastal Science*, Vol. 1(2), Hal. 113-124.
- Atlas, R.M. 2010. *Handbook of Microbiological Media 4th ed*. Washington, D.C.: CRC Press. Hal : 1469.
- Baud, G.S., Sangi, M.S., dan Koleangan, H.S.J. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Ilmiah Sains*. Vol. 14(2). Hal. 106-112.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vitro*. Jakarta : BPOM RI
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2015. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 5*

Tahun 2015 Tentang Pedoman Cara Ritel Pangan yang Baik di Pasar Tradisional. Jakarta : BPOM RI

Coker and T.O. Odugbemi. 2008. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *syzigium aromaticum* (clove). *African J. of Microbiology Research.* 2 : 162-166.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Vol.2.* Jakarta : Departemen Kesehatan RI.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I.* Jakarta : Departemen Kesehatan RI. Hal. 110.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I.* Jakarta : Departemen Kesehatan RI. Hal. 110-111.

Dewi, Amalia K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. Yogyakarta : UGM, ISSN : 0126-0421

Dey, P.M. 2012. *Methods in Plant Biochemistry.* Volume I. USA : Academic Press. Halaman 81-82.

Ditjen POM. 1995. *Materia Medika Indonesia.* Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Ditjen POM. 2014. *Farmakope Indonesia.* Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 57-59.

Effendi. 2007. *Kimia Koordinasi Jilid I.* Malang : Bayumedia.

- Edawati, Z. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol *Ascidia Didemnum* sp. dari Kepulauan Seribu dengan Metode 1,1-Difenil-2-45 Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. Jakarta: FMIPA UI.
- Ergina, Nuryanti, S. dan Puspitasari, I.D. 2014. Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, Vol. 3, 165-72.
- Fathurrachman, D. N. 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. 2007. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology (12th ed.)*. Mosby : St Louis.
- Glazer, A.N, dan Nikaido, H. 2007. *Microbial biotechnology: fundamentals of applied microbiology, second edition*. USA : Cambridge.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri Jilid I*. Diterjemahkan oleh S. Ketaren. UI Press.
- Hahlbrock, K. dan Grisebach, H. 1975. Dalam '*The Flavonoids*' (J. B. Harborne, T. J. Mabry dan H. Mabry, pny.). London : Chapman and Hall.
- Ham, Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta : Bumi Aksara.
- Handayani, Hana., Feronika H.S., dan Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 4(1). Hal. 262-272.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi Kedua*. Bandung : ITB.
- Hartono, Teguh. <http://www.farmasi.asa/saponin>. 6 Juni 2019.

- Herawati, D., Nuraida, L., Sumarto. 2012. *Cara Produksi Simplisia yang Baik*, 10-11. Bogor : Seafast Center IPB.
- Hernani dan Rahardjo. 2004. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Seri Agrisehat. Hal. 74-75.
- Hidayat, A.A. 2003. *Riset Keperawatan dan Teknik Penulisan Ilmiah Ed.1*. Jakarta : Salemba Medika.
- Huda, Choirul., Amalia Eka Putri., dan Devri Windi Sari. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat *Zibethinus folium* Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*, Vol.3, Hal.7-14.
- Insanu, M., Ruslan, K., Fidrianny, I. & Wijaya, S. 2011. Isolasi Flavonoid dari daun Durian (*Durio Zibethinus Murr., Bombacaceae*) *Acta Pharmaceutical Indonesia*, Vol.34, 6-10.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta : Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran. Jawetz, Melnick, & Adelberg's. Ed.23. Translation of Jawetz, Melnick, & Adelberg's. Medical Microbiology. 23rd Ed. Alih Bahasa oleh Hartanto, H., et al.* Jakarta : EGC
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC

- Katzung, B.G., Masters, S.B., dan Trevor, A.J. 2014. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Volume 2. Edisi 12. Jakarta : EGC
- Kemenkes RI. 2011. *Pedoman Pelayanan Kefarmasian untuk Terapi Antibiotik*. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Krishna KL, Paridhavi M, and Patel JA, 2008. Review on Nutritional, Medicinal and Pharmacological Properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.). *Natural Product Radiance*, 7(4): 364-373.
- Kristanti, A. N., N.S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik*. Surabaya : FMIPA Universitas Airlangga. Hal. 23-47.
- Kurniawati M. 2015. Kajian Ekstrak Tanaman Johar (*Cassia siamea* L) sebagai Bioindikator Asam Basa.(Skripsi). Palu : Jurusan Kimia FMIPA UNTAD.
- Lestari, L. 2012. Sensitivitas Bakteri *Escherichia coli* Hasil Isolat Urin Penderita ISK di Puskesmas Kecamatan Bobotsari Kabupaten Purbalingga. *Skripsi*. Purwokerto : Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Martin, Maria, N. 2012. Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. Tesis. Denpasar : Program Pascasarjana, Universitas Udayana.
- Maslukhah, Yulina Lailatul., Tri Dewanti Widyaningsih., Elok Waziroh., Novita Wijayanti., Feronika Heppy Sriherfyna. 2016. Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona palustris* B.) Skala Pilot Plant: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 4 (1), Hal. 245-252.
- Maulida, D. dan Zulkarnaen, N. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran n-Heksana, Aseton, dan Etanol. Skripsi. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Muharni, M., Fitriya, Y., dan Sofa, F. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol.7(2). Hal. 127-135.

- Muhid, Abdul. 2010. *Analysis Statistic SPSS for Windows: Cara Praktis Melakukan Analisis Statistik*. Surabaya: CV Duta Aksara.
- Mutschler, E. 2006. *Dinamika Obat*. Edisi 5. Bandung : Institut Teknik Bandung Press.
- Naoumkina, M., M. Molodo, L.V., Huhman, D.V. 2010. Genomic and Coexpression Analyses Predict Multiple Gene Involved Triterpene Saponin Biosynthesis. *Medicago Truncatula Plant Cell*. Vol.22(3):850-866.
- New Jersey Department Health. 2008. *Dichloromethane*. Hazardous Substances Fact Sheet.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta
- Ningsih. D.R., Zufahair, Dwi Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul*. Vol.11,101-111
- Nuraini, Dini Nuris. 2007. *Daun Bekhasiat Obat*. Yogyakarta : Gava Medica.
- Nurhasnawati, Henny., Sukarmi, dan Fitri Handayani. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol.3(1), Hal. 91-95.
- Nwodo, U.U., Christian U.I., Augustine A.N., Vincent, N.C. dan Anthony I.O. 2011. Effect of Fractination and Combinatorial Evaluation of *Tamarindus indica* Fractions for Antibacterial Activity. *Molecules*. Vol.16. Hal. 4818-4827.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.

- Prajitno, A. 2007. Uji Sensitivitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Protein*. Vol.2
- Prasetyo & Entang, 2013, *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)*, Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB, Bengkulu.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta : Erlangga.
- Pratiwi, Sylvia T. 2009. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Radji, M. 2013. Antimicrobial activity of green tea extract against isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol.8, Hal. 663-667.
- Rahmawati, D., Sukmawati, A., dan Indrayudha, P. 2010. Formulasi Krim Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* val & zipp): Uji Sifat Fisik dan Daya Antijamur terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Majalah Obat Tradisional*, 15(2), 56 – 63.
- Rahmadani F. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. Jakarta: Jurusan Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah
- Rama, P. 2008. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Jakarta : Penerbit Agro Media.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Keempat. Bandung : Penerbit ITB.
- Rukmana, Rahmat. 1995. *Pepaya Budidaya dan Pasca Panen*. Yogyakarta : Kanisius.

- Sapri, Fitriani, A., Narulita, R. 2012. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi. Akademi Farmasi Samarinda. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 HKI-Kaltim*. ISBN : 978-602-19421-0-9.
- Senja dan Yulia Rima. 2014. Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L. Var. *Capitata* F. *Rubra*). *Journal of Faculty of Pharmacy Universitas Gadjah Mada*. Vol. 19 (1). Hal. 43-48.
- Sharp, S.E. and Cidy, S. 2006. Comparison of Mannitol Salt Agar and Blood Agar Plates for Identification and Susceptibility Testing of *Staphylococcus aureus* in Specimens from Cystic Fibrosis Patients. *J. Clin. Microbiol.* Vol.44(12):4545-4546.
- Simbolon, M., Yelmira Z., dan Faizal H. 2018. Pembuatan Sabun Transparan dengan Penambahan Ekstrak Batang Pepaya Sebagai Antibakteri. *Chempublish Journal*, Vol.3, Hal. 57-68.
- Soebagio. 2005. *Kimia Analitik II*. Malang : UM Press
- Sugiyono. 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung : Alfabeta.
- Suparni, Ibunda dan Wulandari. 2012. *Herbal Nusantara : 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*. Yogyakarta : Rapha Publishing.
- Tessy, Agus dan Ardayo, Suwanto. 2004. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II*. Jakarta : Balai Penerbit FK UI, 369-376.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G. & Kaur H. 2011. Phytochemical Screening And Extraction : A Review. *International Pharmaceutica Scientia*. 1 (1), 98-106.
- Todar, K., 2008. *Staphylococcus aureus and Staphylococcal Disease*. USA : Wisconsin, Madison.

- Tyas, W.S. 2008. Evaluasi Keragaan Pepaya (*Carica papaya* L.) di Enam Lokasi di Boyolali. *Skripsi*. Jurusan Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 42 hal.
- Yusriana, C.S., Chrisnawan, S.B., dan Trisna. 2014. Uji Daya Hambat Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia*, Vol.5(2), Hal. 1-7.
- Waluyo, L. 2004. Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi. Malang : UMM Press.
- Warisno. 2003. Budidaya Pepaya. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarno, FG. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia. Jakarta.
- Wong, E. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plants Pigments* (T. W. Goodwin pny.) London : Academic Press.
- World Health Organization. 2006. Implementing The New Recommendation on The Clinical Management of Diarrhea. Geneva : WHO Press. Hal. 123.
- Wulandari, V., Dirayah, R.H., Sartini, dan Nur, H.. 2012. Pengujian Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Daun Beluntas *Pluchea Indica Less.* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah*. Makassar : Universitas Hasanuddin.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Batang Pepaya (*Carica papaya Linn.*)



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

Nomor : 074/ 167A/ 102.7/ 2020
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MIA AUDINA CURNIA SAFITRI
NIM : 1613206011
Fakultas : PROGRAM STUDI SI 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	: <i>Carica papaya</i> L.
Nama Umum	: Papaya (Inggris), Pepaya (Indonesia), Betik, Kates, (Jawa), Rente (Aceh), Pertek (Gayo), Pastela (Batak), Embelik (Karo), Botik (Batak Toba), Bala (Nias), Sikalo (Mentawai), Kates (Palembang), Kalikih (Minangkabau), Gedang (Lampung), Gedang (Sunda), Kates (Jawa Tengah), Kates (Madura), Gedang (Bali), Kustela (Banjar), Bua medung (Dayak Busang), Buah Dong (Dayak Kenya).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a-1.

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

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

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

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


Fitriah Rahmawati, S.Farm., Apt.
NIP.19900430 201403 2 002

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

1. *Carica papaya Linn.*



Tanaman Pepaya (*Carica papaya Linn.*)



Batang Tanaman Pepaya (*Carica papaya Linn.*)

2. Pembuatan Simplisia Batang Pepaya



Potongan Batang Pepaya



Perajangan dan Pengeringan



Serbuk Simplisia Batang Pepaya



Proses Maserasi



Penyaringan Ekstrak



Ekstrak Kering

3. Fraksinasi Batang Pepaya

Fraksi *Aquadestilata* (bawah) dan Fraksi *n*-Heksana (atas)Fraksi *Aquadestilata* (atas) dan Fraksi Diklorometana (bawah)

4. Skrining Fitokimia

Skrining Ekstrak Batang Pepaya



Flavonoid



Tanin



Saponin

Skrining Fraksi Batang Pepaya



Flavonoid



Tanin



Saponin

5. Pembuatan Suspensi Bakteri



Peremajaan Bakteri *Escherichia coli*



Suspensi Bakteri *Escherichia coli*

6. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*



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-SL/III/2020
Alamat	Stikes Karya Putra Bangsa Jl. Raya tulungagung-Blitar Tulungagung	Nama Sampel	Stock Strain UESBE Lab
		Jenis Sampel	Padat
		Tgl. Penerimaan	11 Maret 2020
No. Telepon	0856 0858 8594	Tgl. Selesai Uji	16 Maret 2020
No. Fax		Keterangan	
Nama PIC			
No. Telepon			

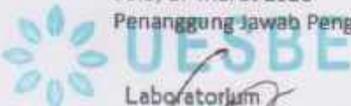
II. DESKRIPSI HASIL UJI

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:

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

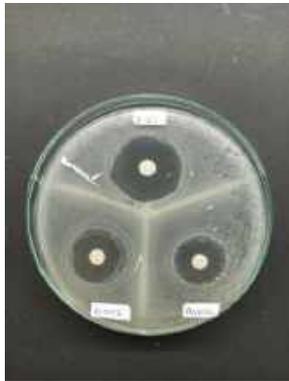
Solo, 17 Maret 2020
Penanggung Jawab Pengujian



UESBE
Laboratorium

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

7. Orientasi Dosis Kontrol Positif



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

8. Orientasi Dosis Ekstrak Batang Pepaya



Replikasi I



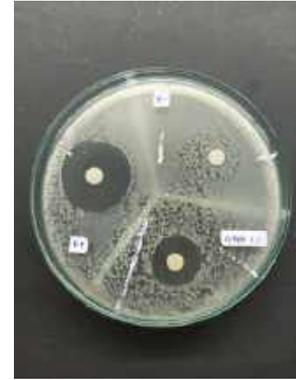
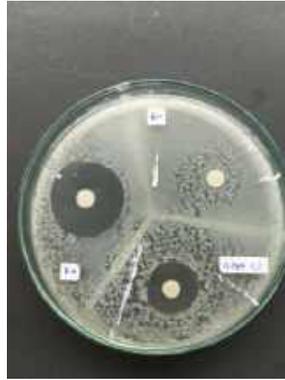
Replikasi II



Replikasi III

9. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya

Fraksi n-Heksana



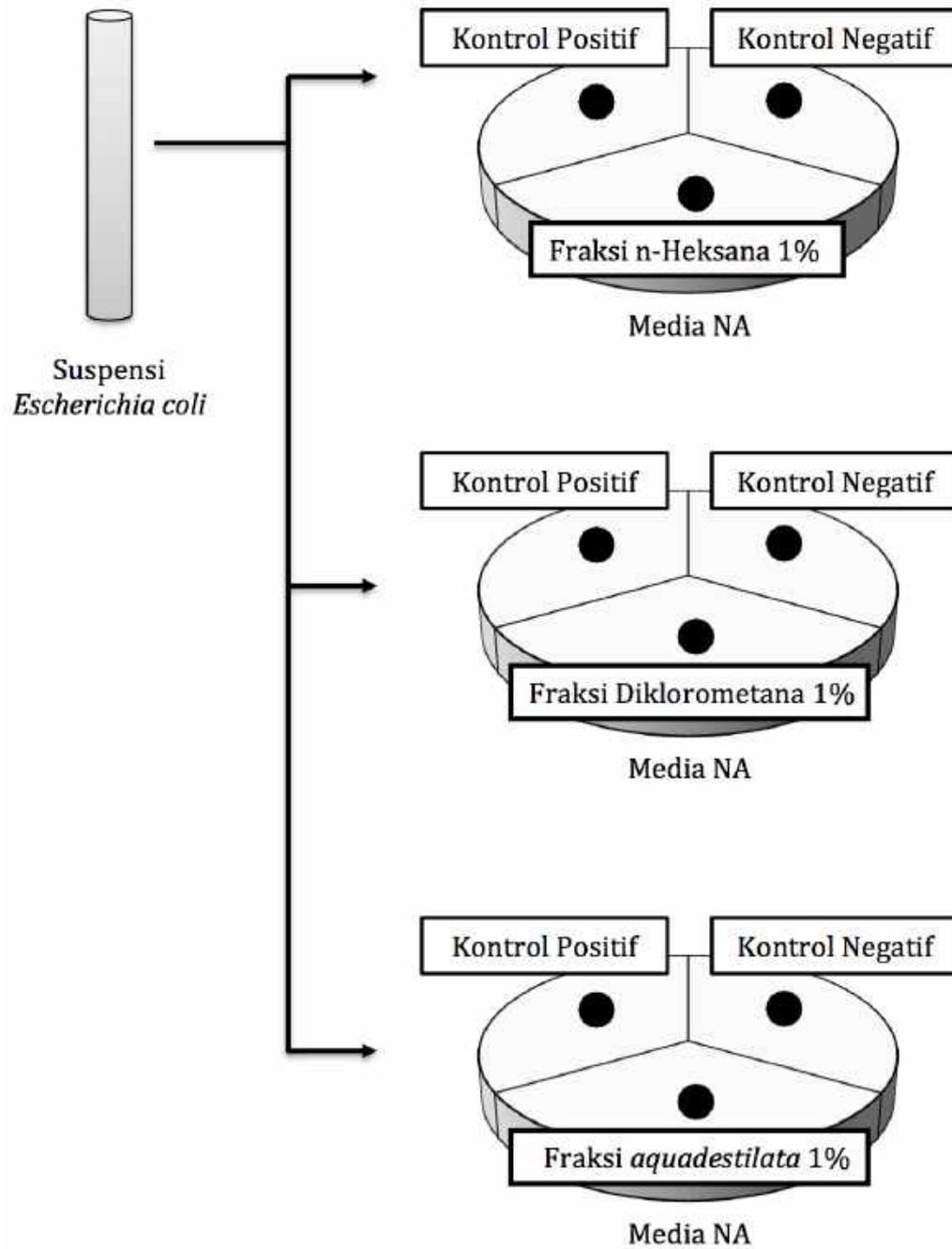
Fraksi Diklorometana



Fraksi Aquadestilata



Lampiran 3. Kerangka Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram



Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan Media *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 Media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Hasil

1. Penetapan Kadar Air Simplisia Batang *Carica papaya* Linn.

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Batang pepaya (<i>Carica papaya</i> Linn.)	10 g	9,13 g	8,7%

$$\begin{aligned} \text{Kadar air (\%)} &= \frac{\text{Bobot Awal} - \text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% \\ &= \frac{10 \text{ g} - 9,13 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 8,7\% \end{aligned}$$

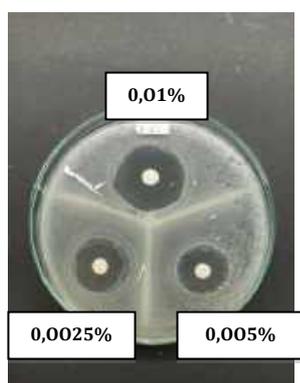
2. Rendemen Ekstrak Batang *Carica papaya* Linn.

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	% Rendemen
Batang pepaya (<i>Carica papaya</i> Linn.)	500 g	28,82 g	5,76%

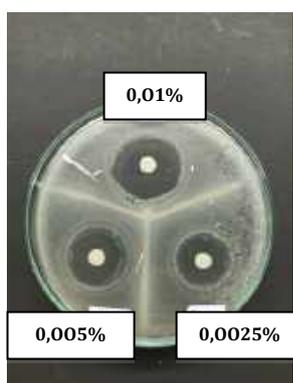
$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{28,82 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5,76\% \end{aligned}$$

Lampiran 6. Hasil Orientasi Dosis Kontrol Positif

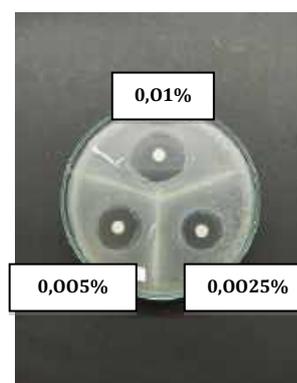
No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) \pm SD
		I	II	III	
1.	Eritromisin 0,01%	22,7	22,3	21,3	22,1 \pm 0,72
2.	Eritromisin 0,005%	18,3	18,7	18,3	18,4 \pm 0,23
3.	Eritromisin 0,0025%	15,3	15,3	15,7	15,4 \pm 0,23



Replikasi I



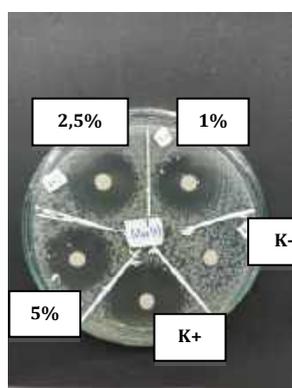
Replikasi II



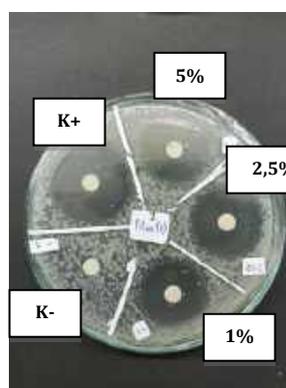
Replikasi III

Lampiran 7. Hasil Orientasi Ekstrak Batang Pepaya

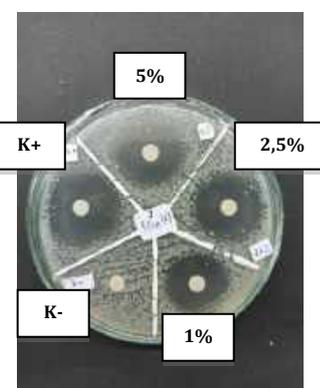
No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
1.	Ekstrak batang pepaya 1%	16,7	16,3	15,3	16,1 ± 0,72
2.	Ekstrak batang pepaya 2,5%	17,7	17	16,7	17,1 ± 0,51
3.	Ekstrak batang pepaya 5%	18	17,3	17,7	17,7 ± 0,35
4.	Kontrol positif	22,7	21,3	21,7	21,9 ± 0,72
5.	Kontrol negatif	0	0	0	0,00



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Lampiran 8. Hasil Analisis Data

1. Tabel Input Data Aktivitas Antibakteri

	Kelompok	Zona	var							
1	1	23								
2	1	22								
3	1	22								
4	2	24								
5	2	24								
6	2	22								
7	3	24								
8	3	24								
9	3	22								
10	4	0								
11	4	0								
12	4	0								
13	5	0								
14	5	0								
15	5	0								
16	6	0								
17	6	0								
18	6	0								
19	7	13								
20	7	12								
21	7	13								
22	8	16								
23	8	15								
24	8	15								
25	9	18								
26	9	19								

2. Uji Normalitas

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
Zona Hambat	Mean	12.87	1.906	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8.96	
		Upper Bound	16.79	
	5% Trimmed Mean	12.97		
	Median	15.30		
	Variance	98.109		
	Std. Deviation	9.905		
	Minimum	0		
	Maximum	24		
	Range	24		
	Interquartile Range	22		
	Skewness	-.383	.448	
	Kurtosis	-1.619	.872	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona Hambat	.236	27	.000	.803	27	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Analisis :

- a. Jika $p > 0,05$: Data berdistribusi normal
- b. Jika $p \leq 0,05$: Data berdistribusi tidak normal

Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil signifikansi 0,000 sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi tidak normal.

3. Uji *Kruskal-Wallis*

Kruskal-Wallis Test

	Kelompok	N	Mean Rank
Zona Hambat	Kontrol Positif n-Heksana	3	21.67
	Kontrol Positif Dichlorometane	3	22.50
	Kontrol Positif Aquadest	3	24.83
	Kontrol Negatif n-Heksana	3	5.00
	Kontrol Negatif Dichlorometane	3	5.00
	Kontrol Negatif Aquadest	3	5.00
	Fraksi n-Heksana	3	11.00
	Fraksi Dichlorometane	3	14.00
	Fraksi Aquadest	3	17.00
	Total	27	

Test Statistics^{a,b}

	Zona Hambat
Chi-Square	25.243
df	8
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok

Analisis :

- b. Jika $p > 0,05$: Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

- c. Jika $p \leq 0,05$: Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,001 sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

4. Uji *Mann-Whitney*

a. Fraksi n-Heksana

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Negatif n-Heksana	3	2.00	6.00
	Fraksi n-Heksana	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Positif n-Heksana	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif n-Heksana	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Positif n-Heksana	3	5.00	15.00
	Fraksi n-Heksana	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

b. Fraksi Diklorometana

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Positif Dichlorometane	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif Dichlorometane	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Negatif Dichlorometane	3	2.00	6.00
	Fraksi Dichlorometane	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Positif Dichlorometane	3	5.00	15.00
	Fraksi Dichlorometane	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

c. Fraksi *Aquadestilata*

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Positif Aquadest	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif Aquadest	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Positif Aquadest	3	5.00	15.00
	Fraksi Aquadest	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Negatif Aquadest	3	2.00	6.00
	Fraksi Aquadest	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

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

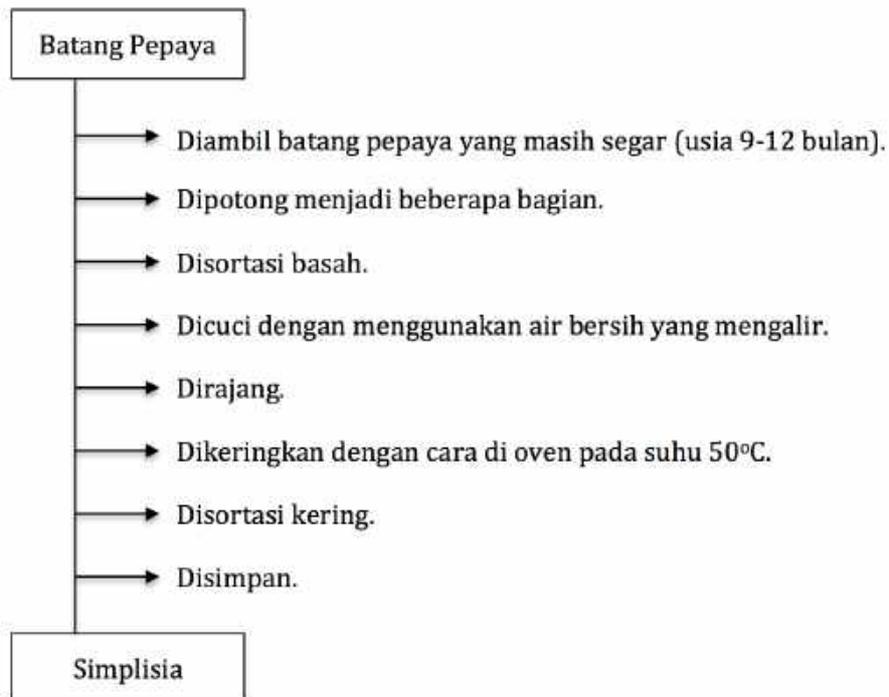
Analisis :

- a. Jika $p > 0,05$: Rata-rata kedua kelompok perlakuan sama.
- b. Jika $p \leq 0,05$: Rata-rata kedua kelompok perlakuan berbeda.

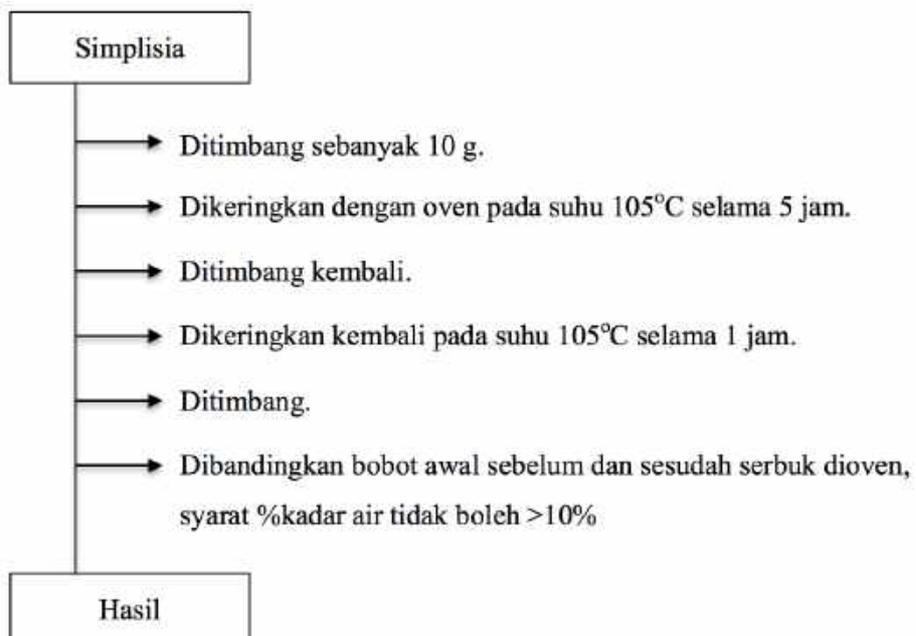
Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* didapatkan hasil $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan rata-rata yang bermakna antar kelompok perlakuan.

Lampiran 9. Alur Prosedur Kerja

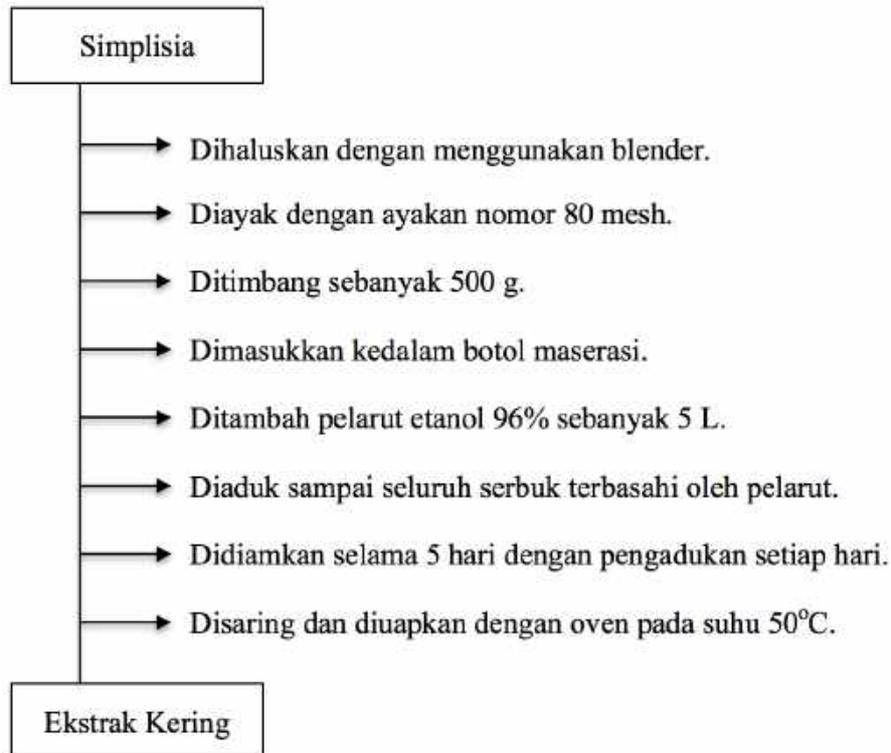
1. Pembuatan Simplisia



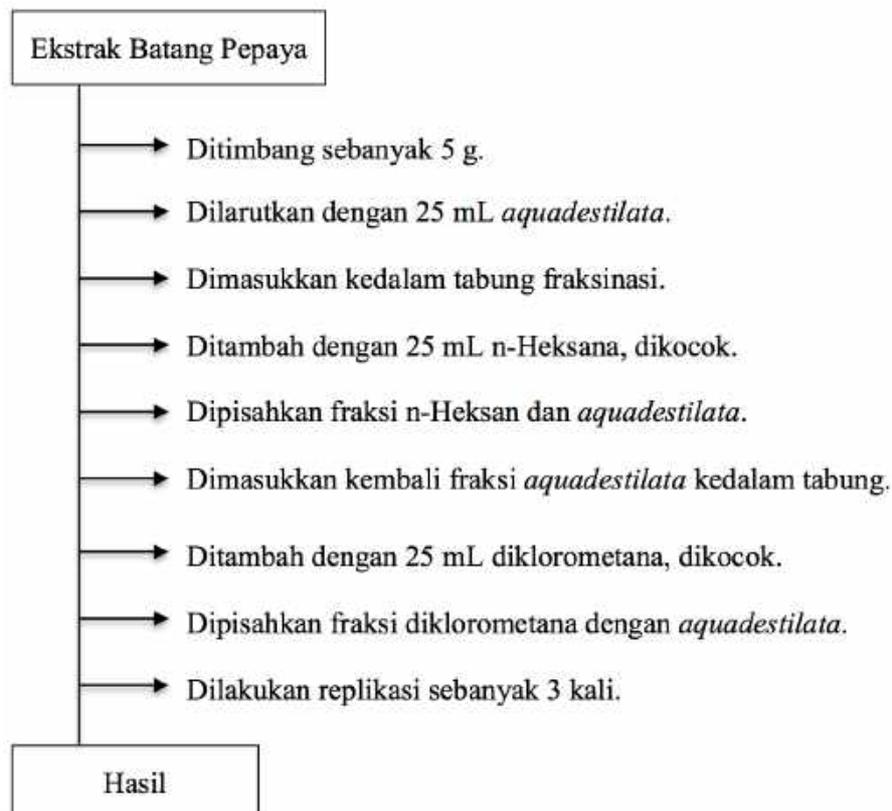
2. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia



3. Pembuatan Ekstrak dengan Metode Maserasi

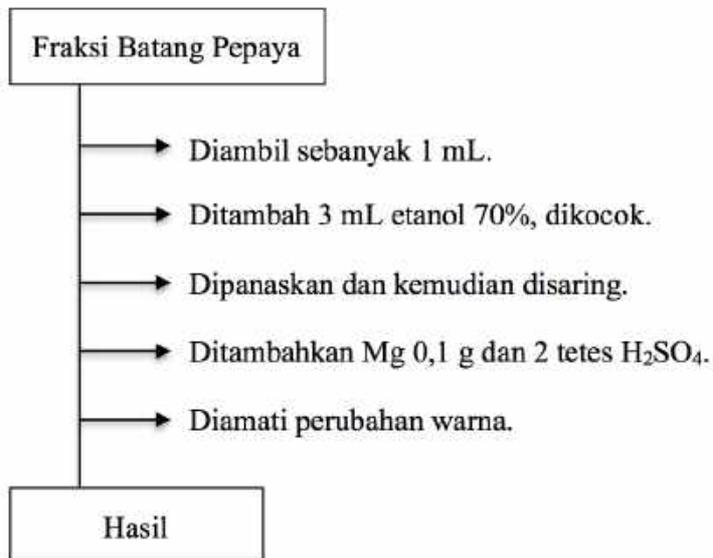


4. Fraksinasi Batang Pepaya

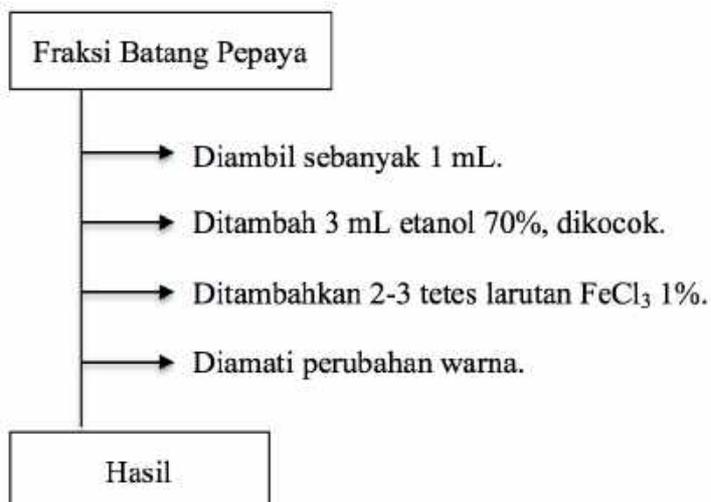


5. Skrining Fitokimia

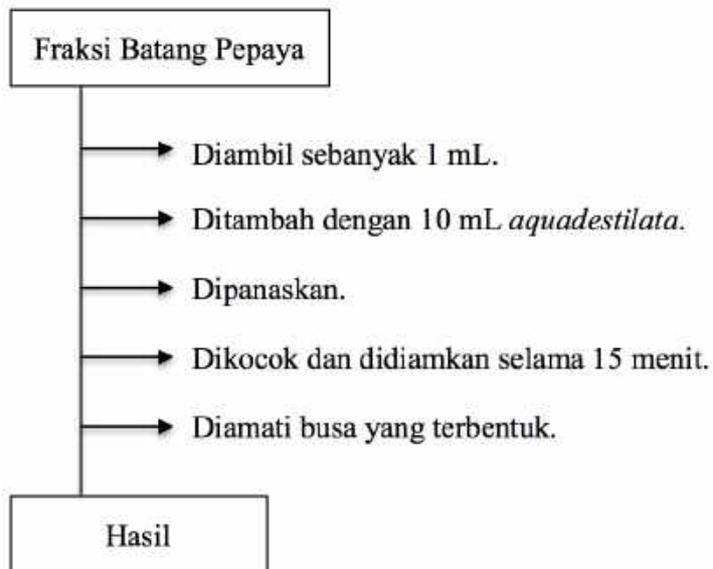
a. Flavonoid



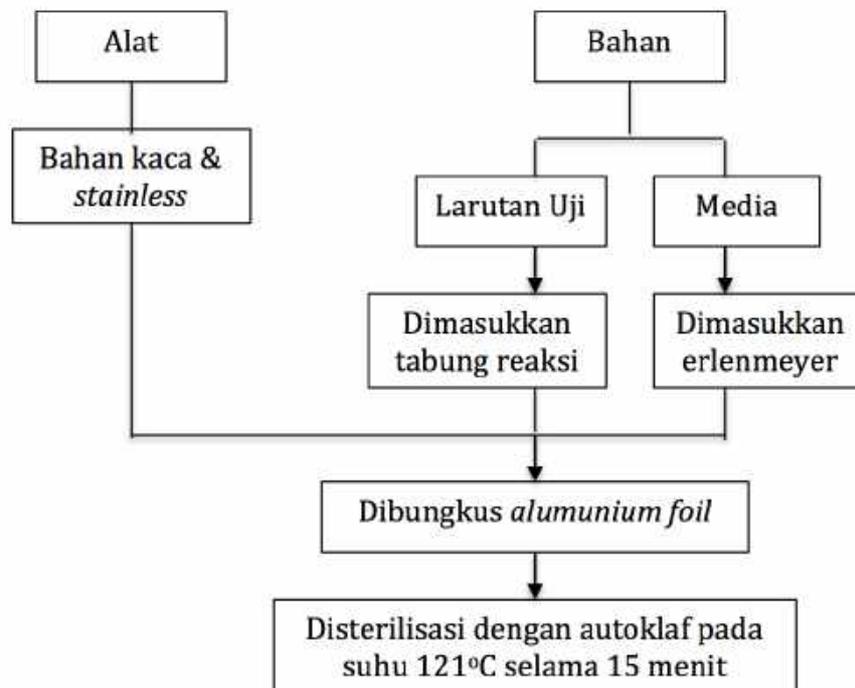
b. Tanin



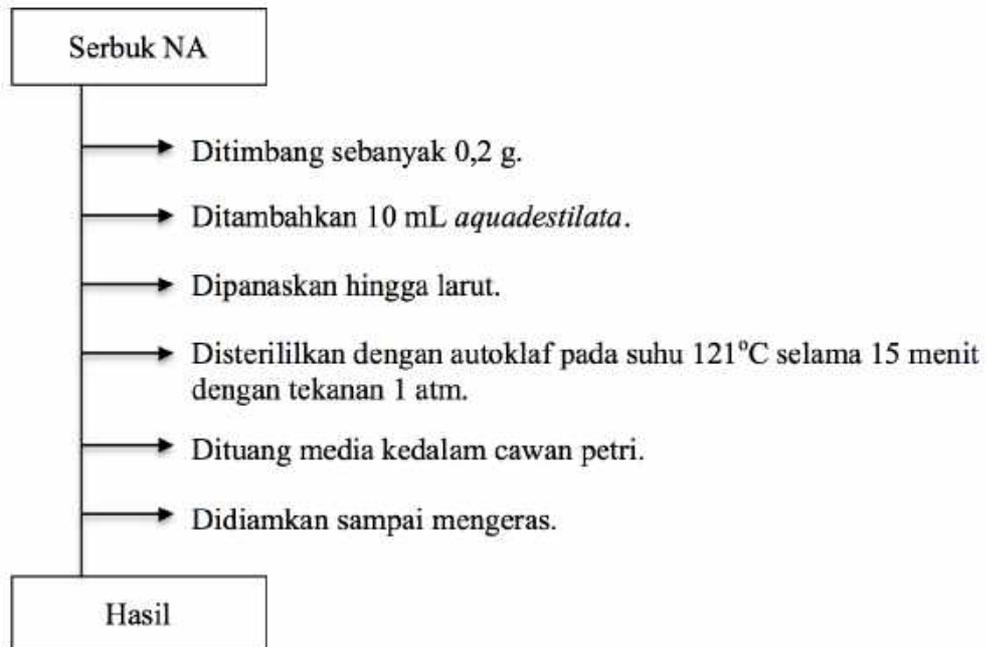
c. Saponin



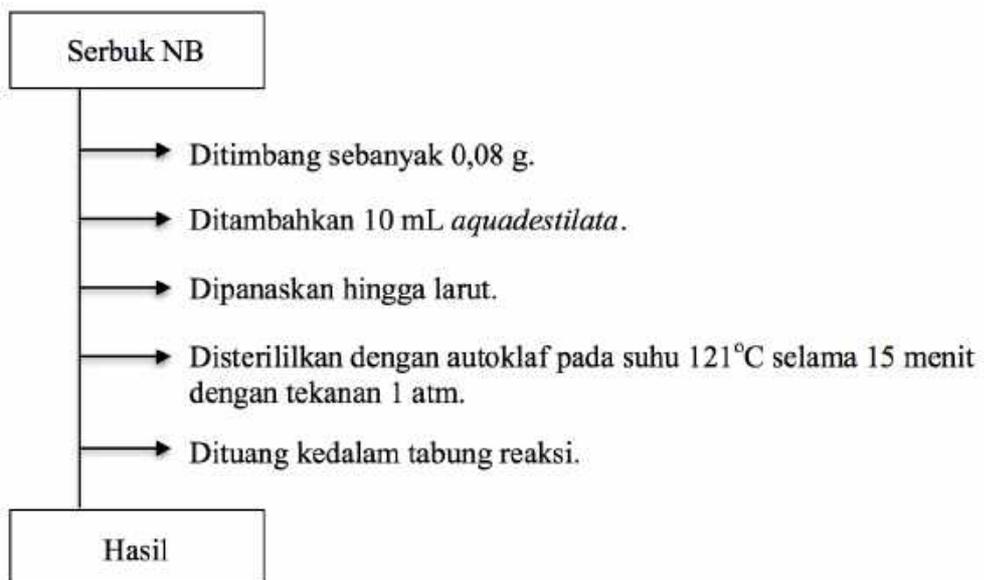
6. Sterilisasi Alat dan Bahan



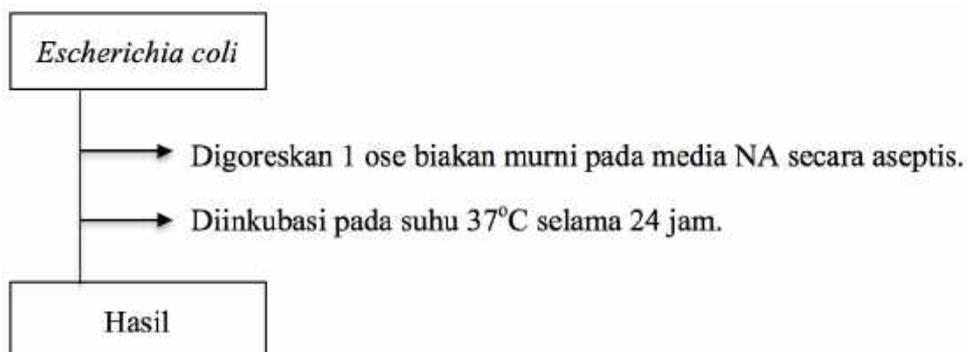
7. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri (NA)



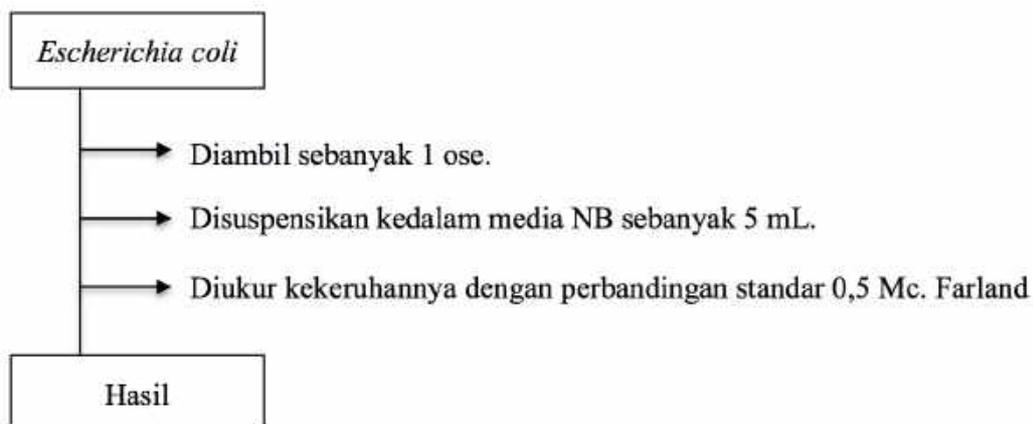
8. Pembuatan Media NB



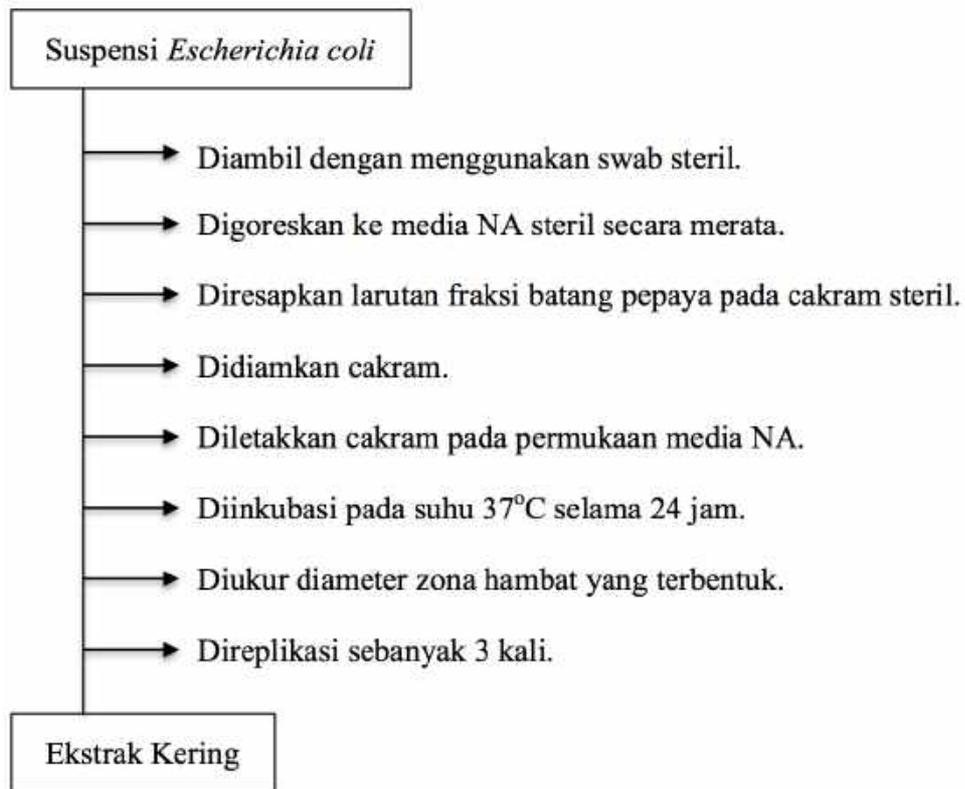
9. Peremajaan Bakteri Uji



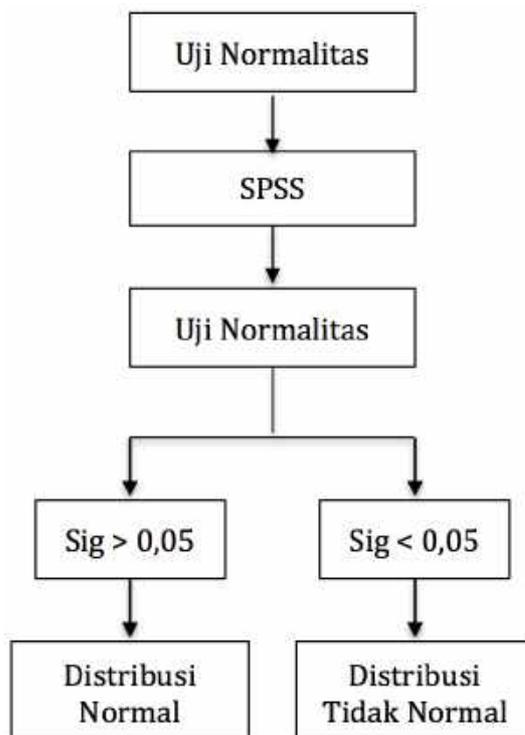
10. Pembuatan Suspensi Bakteri

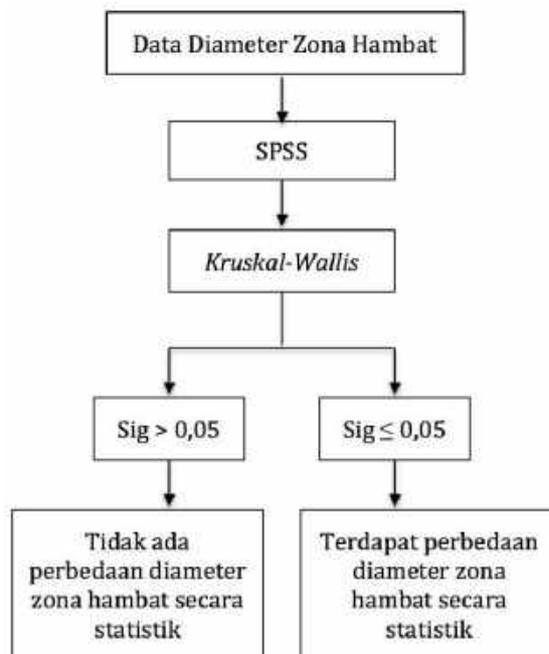
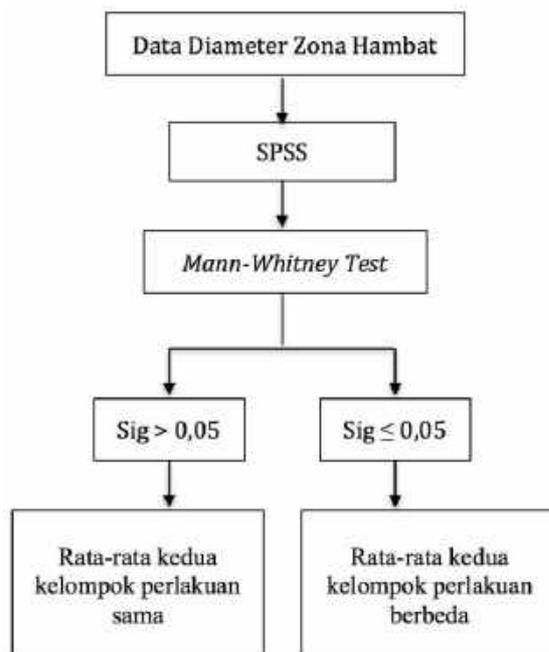


11. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya



12. Uji Normalitas



13. Uji *Kruskal-Wallis*14. Uji *Mann-Whitney*

Lampiran 10. Jadwal Penelitian

JADWAL KEGIATAN		Bulan ke-								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Tahap Persiapan									
	a.	Persiapan Bahan	■							
	b.	Persiapan Alat	■							
2.	Tahap Penelitian									
	a.	Determinasi Tanaman		■						
	b.	Pembuatan Ekstrak		■						
	c.	Penentuan Dosis				■				
	d.	Fraksinasi Batang Pepaya				■				
	e.	Pengujian pada <i>Escherichia coli</i>				■				
3.	Tahap Penyelesaian									
	a.	Analisis dan Pengolahan Data				■				
	b.	Penyusunan Laporan Akhir				■	■			
	c.	Pengumpulan Laporan Akhir						■		