

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI
ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI BIJI PEPAYA (*Carica papaya*, L)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



oleh:

**Octaviana Dyah Oentari
20144253 A**

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI
ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI BIJI PEPAYA (*Carica papaya*, L)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**SKRIPSI**
*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Octaviana Dyah Oentari
20144253A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI
ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI BIJI PEPAYA (*Carica papaya*, L)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh :

Octaviana Dyah Oentari
20144253A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 7 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi


Dekan,
Prof. Dr. R. A. Oentari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,



Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,



Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si.

Penguji :

1. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
2. Vivin Nopiyanti, S.Farm, M.Sc., Apt.
3. Ghani Nurfiana, M.Farm., Apt.
4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.


1.
2.
3.
4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah keadaan pada diri mereka sendiri”

“karena sesungguhnya sesudah ada kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan”

(QS. Al Insyirah 5-6)

Bismillah dengan mengucapkan syukur alhamdulillah kepada Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW

Skripsi ini ku persembahkan untuk :

Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW

Kedua orang tua Bapak Suwandi dan ibu Sri Sudarmi yang selalu memberikan doa yang tiada pernah henti dan dukungan secara moril maupun material.

Adek ku tersayang Disvita Gladis Suwandi yang selalu memberikan semangat dan dukungan

Terimakasih untuk teman-temanku Anggun, Irene, Yate, Tami, Ovi, Grace, Irvan yang selalu memberiku semangat, dukungan dan bantuan, serta teman-teman teori 4 angkatan 2014 terimakasih untuk persaudaraan ini.

Terimakasih kepada almamater ku yang ku banggakan, Universitas Setia Budi Surakarta

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak dapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang penulis ditulis dan diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya tulis ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 20 April 2018

Penyusun


Octaviana Dyah Oentari

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas semua rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR BIJI PEPAYA (*Carica papaya*, L) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”** yang digunakan dalam memenuhi prasyarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Universitas Setia Budi Surakarta.

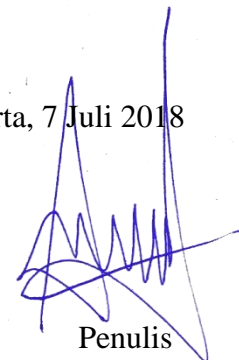
Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini penulis telah banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A Oetari, SU., MM., MSc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya guna memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi dengan penuh kesabaran.
4. Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si selaku Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktunya guna memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi dengan penuh kesabaran.
5. Gunawan Pamuji W., M.Si., Apt., Dr selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama ini.
6. Tim penguji Drs. Edy Prasetya, M.Si, Destik Wulandari, S.Pd.,M.Si, Vivin Nopiyanti, S.Farm,M.Sc.,Apt, Ghani Nurfiana, M.Farm,Apt dan Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan demi kesempurnaan skripsi ini.

7. Segenap dosen, karyawan, staff Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesainya skripsi ini.
8. Keluargaku Bapak, Ibu, Adekku terimakasih telah memberikan semangat dan dorongan baik secara materi, moril dan spiritual kepada penulis selama perkuliahaan, serta penyusunan skripsi hingga selesai studi S1 Farmasi.
9. Untuk Adek ku tersayang Desvita gladis suwandi
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini, bahkan masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 7 Juli 2018



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> , L.).....	5
1. Sistematika Tanaman	5
2. Nama daerah.....	5
3. Habitat dan Morfologi Tanaman	5
4. Khasiat dan kegunaan.....	6
5. Kandungan Kimia.....	7
B. Simplisia	7
1. Pengertian Simplisia.....	7
2. Pencucian dan pengeringan simplisia.....	8
3. Penyarian	8
C. Metode Penyarian.....	9
1. Pengertian Ekstrak.....	9
2. Metode maserasi.....	9
3. Fraksinasi.....	9
4. Pelarut.....	10
4.1 Etanol.	10
4.2 <i>n</i> -heksan.	11
4.3 Etil asetat.	11
4.4 Air.....	11
5. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	11
D. <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1. Sistematika bakteri	12
2. Karakteristik bakteri	12

3.	Patogenesis	13
E.	Media	13
F.	Sterilisasi	14
G.	Ciprofloksasin.....	14
1.	Mekanisme kerja Ciprofloksasin.....	14
2.	Efek samping ciprofloksasin	15
3.	Resistensi ciprofloksasin	15
H.	Aktivitas Antibakteri	15
1.	Definisi	15
2.	Mekanisme kerja antibakteri	15
2.1	Menghambat sintesis dinding sel bakteri	16
2.2	Menghambat sintesis protein sel bakteri	16
2.3	Mengganggu keutuhan membran sel bakteri	16
2.4	Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri	16
2.5	Menghambat metabolisme sel bakteri.....	17
I.	Uji Aktivitas Antibakteri	17
1.	Metode difusi.....	17
2.	Metode dilusi.....	18
J.	Landasan Teori	18
K.	Hipotesis.....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....		21
A.	Populasi dan Sampel.....	21
1.	Populasi	21
2.	Sampel	21
B.	Variabel Penelitian	21
1.	Identifikasi variabel utama	21
2.	Klasifikasi variabel utama	21
3.	Definisi operasional variabel utama	22
C.	Bahan dan Alat	23
1.	Bahan.....	23
2.	Alat	23
D.	Rencana Jalannya Penelitian	23
1.	Determinasi tanaman.....	23
2.	Pembuatan serbuk biji pepaya.....	23
3.	Pembuatan ekstrak etanol biji pepaya	24
4.	Uji bebas etanol	24
5.	Fraksinasi.....	24
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia	24
6.1	Uji flavonoid	24
6.2	Uji Terpenoid	25
6.3	Uji Alkaloid.....	25
7.	Identifikasi kandungan kimia dengan uji KLT.....	25
8.	Sterilisasi	26
9.	Pembuatan suspensi bakteri.....	26
10.	Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	26

10.1	Identifikasi Berdasarkan koloni	26
10.2	Identifikasi Mikroskopis Secara Morfologi.	26
11.	Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi.....	27
11.1	Pengujian antibakteri secara difusi.....	27
11.2	Pengujian antibakteri secara dilusi.	28
E.	Analisis Hasil.....	28
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		33
A.	Hasil Penelitian.....	33
1.	Determinasi tanaman biji pepaya (<i>Carica papaya</i> , L)	33
2.	Pembuatan serbuk biji pepaya	33
3.	Penetapan kadar lembab serbuk biji pepaya.....	34
4.	Pembuatan ekstrak etanol biji pepaya	34
5.	Uji bebas etanol ekstrak etanol biji pepaya	35
6.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol biji pepaya	35
7.	Hasil fraksinasi ekstrak etanol.....	36
Tabel 6.	Rendemen hasil fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air biji pepaya	36
8.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi secara KLT	37
9.	Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	38
9.1	Hasil identifikasi mikroskopis pewarnaan Gram.	38
9.2	Hasil metode goresan.	39
9.3	Hasil uji katalase.	39
9.4	Hasil uji koagulase.	39
10.	Hasil pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	40
11.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi biji pepaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	40
12.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri biji pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) secara dilusi.....	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		47
A.	Kesimpulan.....	47
B.	Saran	47
DAFTAR PUSTAKA		48
LAMPIRAN.....		52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi ekstrak Biji pepaya.....	29
Gambar 2. Skema uji aktivitas antibakteri	30
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas Biji pepaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	31

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah biji pepaya.....	33
Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab serbuk biji pepaya.....	34
Tabel 3. Rendemen ekstrak biji pepaya	34
Tabel 4. Uji bebas etanol ekstrak biji pepaya	35
Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji pepaya.....	36
Tabel 6. Rendemen hasil fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air biji pepaya	36
Tabel 7. Hasil idenfikasi ekstrak dan fraksi secara KLT	38
Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 metode difusi.....	41
Tabel 9. Hasil aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari ekstrak biji papaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 menggunakan metode dilusi.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat keterangan melakukan identifikasi tanaman	53
Lampiran 2.	Foto biji pepaya dan serbuk biji pepaya	54
Lampiran 3.	Foto alat <i>Moisture balance</i> , evaporator dan corong pisah, timbangan, oven, vortex, autoklaf, inkas, inkubator, mikroskop.	55
Lampiran 4.	Foto ekstrak biji pepaya, fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat dan air	57
Lampiran 5.	Foto hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara mikroskopis dan makroskopis	58
Lampiran 6.	Foto identifikasi senyawa serbuk biji pepaya.....	59
Lampiran 7.	Hasil KLT pada senyawa Flavonoid, Alkoloid dan Terpenoid	60
Lampiran 8.	Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air ekstrak biji pepaya secara difusi pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	63
Lampiran 9.	Hasil dilusi fraksi etil asetat biji pepaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	65
Lampiran 10.	Hasil perhitungan rendemen simplisia biji pepaya	68
Lampiran 11.	Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> - heksan, etil asetat dan air biji pepaya	68
Lampiran 12.	Hasil fraksi ekstrak etanol biji pepaya.....	69
Lampiran 13.	Pembuatan larutan stok uji difusi dan dilusi.....	70
Lampiran 14.	Komposisi dan pembuatan media.....	72
Lampiran 15.	Hasil analisis data	74

INTISARI

OENTARI, DYAH, 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI BIJI PEPAYA (*Carica papaya*, L) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pepaya (*Carica papaya*, L) adalah salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit infeksi kulit. Kandungan kimia biji pepaya adalah flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari biji pepaya (*Carica papaya*, L), ketiga fraksi teraktif, dan Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum dari fraksi teraktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ekstraksi biji pepaya menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Hasil ekstraksi dan fraksinasi dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25% 12,5 dan metode dilusi dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, dan 0,09%.

Berdasarkan dari hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat memiliki daya hambat paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu 17 mm pada konsentrasi 50%. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 6,25% dengan menggunakan metode dilusi.

Kata kunci : Biji pepaya, fraksinasi, antibakteri, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ABSTRACT

OENTARI, DYAH, 2018, THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT, N-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION AND WATER FRACTION FROM PAPAYA SEED (*Carica papaya*, L) TOWARD *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 BACTERIA

Pepaya (*Carica papaya*, L) is one of the plants used as traditional medicine to treat skin infections. The content of papaya seeds are flavonoids, alkaloids and terpenoids. This study was conducted to determine the antibacterial activity of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate and air from papaya Minimum seeds (*Carica papaya*, L), the most active light fraction, and the Minimum Inhibitory Concentration and Kill Concentration from the most active fraction against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Papaya seed extraction using maseration method with 70% ethanol solvent. Then fractionated using n-hexane, ethyl acetate and water solvents. Extraction and fractionation results were tested for antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 using diffusion method with concentration 50%, 25% 12,5 and dilution method with concentration 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3, 12%, 1.56%, 0.78%, 0.39% and 0.09% respectively.

Based on the results of the study showed ethyl acetate fraction had the most active inhibitory power against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 which was 17 mm at a concentration of 50%. Minimum Kill Concentration (MKC) ethyl acetate fraction on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was a concentration of 6.25% using the dilution method.

Key words: Papaya seed, fractionation, antibacterial, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Penyakit infeksi merupakan keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, kemudian berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Prevalensi infeksi nosokomial di rumah sakit dunia mencapai 9% atau lebih 1,4 juta pasien rawat inap di rumah sakit seluruh dunia infeksi nosokomial. Suatu penelitian dilakukan oleh WHO menunjukkan bahwa sekitar 8,7% dari 55 rumah sakit dari 14 negara yang berasal dari Eropa, Timur Tengah, Asia Tenggara, dan Pasifik menunjukkan adanya infeksi nosokomial sedangkan di Indonesia yaitu di 10 RSUD pendidikan, infeksi nosokomial cukup tinggi yaitu 6-16% dengan rata-rata 9,8% (Nugraheni *et al.* 2012). Penyakit infeksi yang banyak diderita oleh masyarakat diantaranya infeksi usus, infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Staphylococcus aureus* dan merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan infeksi dalam kehidupan sehari-hari. Bakteri ini merupakan bakteri patogen utama bagi manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai masalah seperti keracunan makanan berat atau infeksi kulit yang kecil sampai infeksi yang tidak dapat disembuhkan (Jawetz *et al.* 2012)

Penyebab infeksi yang paling sering kita jumpai adalah infeksi oleh bakteri sehingga pemberian antibiotik masih merupakan pilihan utama untuk mengatasi infeksi saat ini. Antibiotik mempunyai peranan penting untuk mengatasi infeksi karena bakteri, dengan adanya antibiotik diharapkan mampu mengeliminasi bakteri penyebab infeksi pada manusia. Dampak negatif yang paling bahaya dari penggunaan antibiotik secara tidak rasional adalah muncul dan berkembangnya kuman-kuman kebal antibiotik atau dengan kata lain terjadinya resistensi antibiotik (Kemenkes RI, 2012). Antibiotik alami pada umumnya berasal dari metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak suatu tanaman

tertentu, yang memiliki khasiat untuk obat. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat, khususnya aktivitas antimokroba adalah tanaman pepaya (*Carica papaya*, L.).

Biji pepaya diketahui mengandung berbagai senyawa seperti terpenoid, flavonoid dan alkaloid. Secara tradisional biji pepaya dapat dimanfaatkan sebagai gangguan pencernaan, diare dan penyakit kulit. Minyak biji pepaya yang berwarna kuning diketahui mengandung 71,60% asam oleat, 15,13% asam palmitat, 7,68% asam stearate, dan asam-asam lain dalam jumlah relative sedikit atau terbatas. Biji pepaya diketahui bahwa didalam biji pepaya yang berwarna putih mengandung senyawa triterpenoid aldehida yang mempunyai potensi sebagai antibakteri (Warisno, 2003)

Berdasarkan penelitian Lienny (2013) bahwa ekstrak etanol biji pepaya tua dan muda memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, pada konsentrasi 80% mampu menghasilkan zona sebesar 22.66 mm. Penelitian Rahmah (2017) dengan ekstrak etanol biji pepaya mampu menghambat bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami kekebalan terhadap antibiotik jenis metisilin. MRSA mengalami resistensi karena perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan terapi antibiotik yang tidak rasional. Pada konsentrasi 100% zona hambat yang terbentuk rata-rata sebesar 24 mm (Rahmah 2017).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik melakukan penelitian untuk menguji potensi fraksi-fraksi dari ekstrak biji pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini perlu dilakukan untuk menguji aktivitas fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa dan menarik senyawa kimia yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sesuai sifat kepolaran pelarut yang digunakan.

Metode yang digunakan untuk mengetahui daya hambat dan konsentrasi hambat dari bakteri *Staphylococcus aureus* salah satunya menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat

yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa. Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme (Bonang & Koeswardono 1982).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan pada uraian dalam latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian ini, yakni :

Pertama, apakah ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol Biji Pepaya (*Carica papaya*, L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

Kedua, manakah antara ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi air dan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol biji Pepaya (*Carica papaya*, L.) tersebut yang teraktif dalam menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya*, L.) sebagai bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui :

Pertama, untuk mengetahui ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol biji Pepaya (*Carica papaya*, L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui fraksi yang paling aktif terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ekstrak biji pepaya (*Carica papaya*, L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa biji pepaya (*Carica papaya*,L.) dapat berkhasiat sebagai antibakteri penghambat atau membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Juga sebagai pengobatan alternatif yang berasal dari bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Biji Pepaya (*Carica papaya*, L.)

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi pepaya menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2011) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembulu)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliosida (Berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Famili	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L

2. Nama daerah

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) mempunyai nama daerah yang berbeda-beda, yaitu Jawa: kates, telo gantung, gandul, gedang, setik. Sumatra : peute, pertek, pastela, embilik, botik, bala, sekario, mates, kalikih. Sulawesi : kapolaye, papaya, sumoyori, unti jawa. Kalimantan : kurtela, bau mendung, buah dong, pisang, mantelar, gadang, badas, kalici, kaiki nikare. Nusa Tenggara : kates, hampaya, muku, hango, hasi. Maluku ; papahi, papaya, papeae, palaki, tapaya. Irian : seberian, ihwarwerah, asana, tapaya, sampain.

3. Habitat dan Morfologi Tanaman

Tanaman pepaya banyak ditanam orang, baik di daerah tropis maupun sub tropis, di daerah basah dan kering atau di dataran rendah dan pegunungan (sampai 1000 mdpl). Tanaman ini juga dibudidayakan di kebun-kebun luas karena buahnya yang segar dan bergizi. Akar tanaman pepaya berupa akar tunggang (Radik primaria), karena akar tembaga tumbuh terus menjadi akar popok bercabang menjadi akar yang lebih kecil berbentuk bulat dan berwarna putih

kekuningan. Sedangkan, batang tanaman pepaya berbentuk bulat, dengan permukaan batang berkas-berkas daun yang menyerupai spiral. Batang pada pepaya tumbuh tegak dan lurus serta memiliki rongga-rongga yang diakibatkan oleh pemutusan pada tangkai batang daun. Daun pada tanaman pepaya merupakan daun tunggal, berukuran besar. Daun pada tanaman ini adalah daun berjari, bergigi dan juga mempunyai tangkai daun yang panjang dan berwarna putih kekuningan. Daun ini juga dikatakan berbentuk bulat, bundar, ujung runcing, dan memiliki rongga pada daun. Bunga pada tanaman pepaya memiliki 3 jenis (poligam) berupa bunga jantan, bunga betina dan bunga sempurna. Dengan memiliki ketiga ini akan menghasilkan bunga yang bagus atau sempurna. Bunga pepaya berwarna putih kekuningan, dan memiliki tangkai kecil, bagian atas runcing serta memiliki bagian tengah berkelopak. Buah pada tanaman pepaya adalah buah tunggal atau sejati, buah pada tanaman ini bersisi biji yang banyak. Buah ini muncul pada ketiak tangkai daun berwarna hijau muda, kekuningan dan kuning ketika matang. Buah ini memiliki daging kemerahan dan dagingnya sangat tebal. Biji tanaman pepaya terdapat di dalam buah, biji dalam buah ini sangat banyak dan memiliki bentuk bulat atau bundar serta lonjong tergantung variatesnya. Biji pepaya memiliki warna kecoklatan dan kehitaman, selain itu biji ini bisa langsung di tanam ke dalam media tanam (Rukmana, 2008).

4. Khasiat dan kegunaan

Menurut Erindyah *et al.* (2002), senyawa minyak atsiri pada biji papaya yang memiliki efek antibakteri adalah senyawa terpenoid. Menurut Cowan (1999), senyawa terpenoid dapat bereaksi dengan porin yang merupakan protein transmembran pada membrane luar dinding sel bakteri membuat ikatan polimer kuat sehingga porin akan mengalami kerusakan. Kerusakan porin yang terjadi akan mengganggu proses keluar masuknya substansi, sehingga permeabilitas dinding sel bakteri akan menurun. Menurunnya permeabilitas dinding sel bakteri akan menyebabkan sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat dan mati.

Minyak biji papaya yang berwarna kuning diketahui mengandung 71,60% asam oleat, 15,13% asam palmitat, 7,68% asam linoleat, 3,60% asam stearat dan

asam-asam lemak lain dalam jumlah relative sedikit atau terbatas (Warisno, 2003). Selain mengandung asam-asam lemak, biji pepaya juga mengandung metabolit sekunder seperti golongan fenol, terpenoid, alkaloid, dan saponin. Golongan triterpenoid merupakan komponen utama dari biji pepaya dan memiliki aktivitas fisiologi sebagai antibakteri (Sukadana, 2007).

5. Kandungan Kimia

Kandungan kimia dari tanaman pepaya (*Carica papaya*, L.) diantaranya terdapat pada daun, dimana di dalam daun pepaya terkandung enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo-karpaina, glikosid, karposid dan saponin, sakarosa, dekstrosa, dan levulosa. Alkaloid karpaina mempunyai efek seperti digitalis. Pada buah, terkandung β -karotena, pektin, d-galaktosa, l-arabinosa, papain, papayotimin papain, serta fitokinase. Sedangkan, pada biji diketahui mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Kandungan terpenoid, flavonoid dalam biji pepaya telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri yang dapat membunuh bakteri dengan merusak integritas membran sel bakteri yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Senyawa alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis. Pada getah, terkandung papain, kemokapain, lisosim, lipase, glutamin, dan siklotransferase (Martiasih *et al.* 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan ilmiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Didik & Mulyani, 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman yang dimaksud adalah isi sel

yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1985).

2. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya yang menempel pada simplisia seperti tanah, debu, dan kotoran lainnya melekat pada simplisia. Sehingga, mikroba atau kotoran dapat merubah dan merusak komposisi dalam simplisia. Proses pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo, 2013).

Pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan aktif agar memudahkan dalam hal pengelolaan selanjutnya. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan alat pengering. Pengeringan ada beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan serta luas permukaan bahan. Pengeringan dengan panas sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena mudah dan murah (Gunawan & Mulyani, 2004).

3. Penyarian

Penyarian merupakan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari mempunyai kandungan zat aktif yang dapat larut dan tidak dapat larut. Faktor kecepatan penyarian dipengaruhi oleh kecepatan difusi zat yang terlarut melewati lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut. Proses penyarian dibedakan menjadi pembuatan serbuk, penyarian, dan pemekatan (Gunawan & Mulyani, 2004).

C. Metode Penyarian

1. Pengertian Ekstrak

Ekstraksi adalah penarikan zat yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat pokok akan terlarut, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan zat aktif dengan maksimal dan seminimal mungkin bagi senyawa yang tidak diinginkan (Istiqomah, 2013).

2. Metode maserasi

Ekstraksi biji papaya dilakukan dengan metode meserasi. Metode maserasi digunakan karena menggunakan peralatan yang sederhana sehingga dapat diterapkan disemua laboratorium, pengerjaan yang mudah, dan tidak merusak senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Pelarut etanol 70% dapat menarik senyawa-senyawa polar yang terkandung dalam biji papaya seperti alkaloid, terpenoid sampai senyawa nonpolar seperti beberapa golongan flavonoid (Harbone, 1996). Maserasi merupakan cara penyaringan yang sederhana dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut akan adanya perbedaan konsentrasi. Cairan penyari yang digunakan bisa berupa air, etanol air-etanol atau pelarut lain. Meserasi dilakukan selama 5 hari, ampas diperas. Ampas ditambahkan cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari. Bejana ditutup, dibiarkan selama 2 hari, kemudian endapan dipisahkan (Depkes 1986). Ekstraksi adalah sediaan kering, kental atau cair, dibuat dengan mengambil sari simplisia nabati atau hewani dengan cara yang sesuai, diluar pengaruh cahaya matahari langsung cairan penyaringan yang digunakan antara lain air. Air merupakan sebagai penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan larut (Basset J *et al.* 1994)

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, begitu

pula sebaliknya senyawa-senyawa nonpolar akan terlarut dalam pelarut nonpolar. Mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Masing-masing pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut berdasarkan perbedaan kepolarannya, mula-mula disari dengan pelarut nonpolar, kemudian disari pelarut semipolar dan terakhir disari dengan pelarut polar (Harbone 1987). Pelarut *n*-heksan adalah pelarut yang bersifat nonpolar maka dapat menyari senyawa kimia yang nonpolar misalnya minyak atsiri, asam lemak, triterpenoid dan steroid. Pelarut semipolar digunakan etil asetat untuk melarutkan senyawa semipolar alkaloid, flavonoid, fenol, steroid dan triterpenoid (Pramano 2013, diacu dalam Susanti 2015). Air sebagai pelarut polar untuk melarutkan senyawa polar misalnya tanin, flavonoid fenol dan saponin (Robinson 1995).

4. Pelarut

Pemilihan pelarut penyari harus dipertimbangkan banyak faktor, cairan, penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain murah dan mudah diperoleh stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, dapat mencegah bahan dari kontaminasi mikroba dan tidak mudah terbakar. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, *n*-heksan, etil asetat dan air.

4.1 Etanol. Etanol merupakan pelarut serba guna untuk ekstraksi pendahuluan. Ekstraksi senyawa fenol tumbuhan dengan etanol mendidih biasanya mencegah terjadinya oksidasi enzim (Harbon 1987). Etanol sebagai penyari dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut keuntungan lainnya adalah sifatnya untuk mengendapkan bahan putih telur dan menghambat kerja enzim. Umumnya berlaku sebagai pengekstraksi dengan campuran bahan pelarut yang berlainan terutama campuran etanol air dengan etanol 70% dapat dihasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dengan skala kecil turut dengan cairan pengekstraksi (Voight 1989).

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Depkes 1986).

4.2 *n*-heksan. *n*-heksan merupakan hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri dari campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatil, mudah terbakar, bau karekteristik.*n*-heksan tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzen, kloroform, eter. Uapnya mudah meledak bila berikatan dengan udara, maka sebaiknya disimpan pada tempat yang dingin. Pelarut ini adalah pelarut non polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid, serta karetenoid (Depkes 1987).

4.3 Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semipolar berupa cairan jernih, tak berwarna, memiliki bau yang khas, dan dapat larut dalam air serta dapat bercampur dengan etanol dan eter (DEPKES 1979). Etil asetat merupakan pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa dengan polaritas menengah seperti alkaloid, flavonoid, fenol, steroid dan triterpenoid (Pramono 2013).

4.4 Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan enzim sehingga yang terlarut dengan air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi dengan adanya air maka akan mempercepat proses hidrolisis. Air dapat melarutkan glikosida, tanin, dan gula (Depkes 1986).

5. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase diam silikula gel GF terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 105°C-110°C selama 1 jam. Ekstrak etanol biji pepaya konsentrasi 25% ditotolkan sebanyak \pm μ L pada fase diam, kemudian dielus dengan fase gerak kloroform : etanol (9 : 1), Plat KLT yang sudah dielus dideteksi pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Bercak diidentifikasi dengan pereaksi semprot KOH 10% dalam etanol (Naftokunion dan Kumarin), FeCl₃ (fenol), pereaksi semprot sitroborat (flavonoid), Liebermann-Buchard (triterpenoid).

D. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika bakteri

Menurut G.M Garrity *et al.* (2007) sistematik ilmiah dari bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Karakteristik bakteri

Staphylococcus aureus berbentuk kokus, bergaris tengah 0,8-1 mikrometer, termasuk Gram positif, terdapat tunggal, berpasangan, bergerombol menyerupai untaian anggur, dan biasanya tersusun dalam kelompok tak beratur. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang terdapat pada kulit dan saluran pernafasan bagian atas (Radji 2010).

Staphylococcus menghasilkan katalase. *Staphylococcus* memfermentasi banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak terdapat gas berasal dari kata “*staphetele*” yang berarti kumpulan dari anggur dan kata “*aureus*” dalam bahasa latin yang berarti emas. *Staphylococcus aureus* hampir dapat tumbuh di segala macam medium pertumbuhan. Pertumbuhan yang paling baik apabila berada dalam kondisi aerobik (banyak oksigen), walaupun dapat tumbuh dalam kondisi oksigen yang sedikit. Tumbuh subur pada suhu antara 25-35°C, dapat juga tumbuh pada suhu 8 °C-48 °C. Bakteri ini dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein (Supardi & Sukamto, 1999). *Staphylococcus aureus* tahan terhadap panas (tahan terhadap suhu 60 °C selama 1 jam dan beberapa strain tahan terhadap suhu 80 °C selama 30 menit), tahan kering (pada nanah yang kering akan tahan berminggu-minggu

hingga bulanan), dan juga tahan terhadap sulfonamid dan antibiotik lainnya (Jawetz *et al.*2012)

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus patogen menghasilkan koagulase dan pigmen kuning bersifat hemolitik dan meragikan manitol. Gambaran infeksi lokal *Staphylococcus aureus* adalah suatu infeksi folikel rambut, atau suatu abses biasanya suatu infeksi peradangan yang hebat, terlokalisir, sakit yang mengalami pernanahan sentral dan yang sembuh dengan cepat bila nanah kemudian dikeluarkan (Jawetz *et al.*2005).

Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menggunakan antibiotic seperti eritromisin yang sering diberikan untuk luka pada kulit. Eritromisin merupakan antibiotic golongan makroloid yang dapat menghasilkan sintesis protein bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus*. Infeksi berat pada bakteri gram positif yang disebabkan *Staphylococcus aureus* memerlukan pengobatan antibiotic penisilin secara oral atau intravena, seperti penisilin, metisilin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rimfamisin. Sebagian besar galur *Staphylococcus* sudah resisten terhadap berbagai antibiotik tersebut, sehingga perlu diberikan antibiotic berspektrum lebih luas seperti kloramfenikol, amoksilin, dan tetrasiklin (Jawetz *at al.* 2005)

E. Media

Media adalah substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba. Media harus steril sebelum digunakan untuk penelitian, artinya tidak ditumbuhi mikroba lain. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik dengan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pengembangan mikroba. Media juga harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba.

Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematik seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya. Media padat adalah media yang ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar-agar per 1000 mL media. Jumlah

tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang digunakan. Jenis media yang memerlukan kadar air tinggi maka jumlah tepung agar-agar harus kecil, tetapi untuk jenis media yang memerlukan kandungan air rendah maka penambahan tepung harus banyak. Media padat umumnya digunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang mikroalga.

Media cair apabila kedalam media tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair digunakan untuk perbakaan mikroalga dan juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi. Media semi cair atau semi padat apabila penambahan zat pematat hanya 25% atau kurang dari yang seharusnya. Umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawiria 2005).

F. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan proses penghilangan semua jenis organism hidup yaitu mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma, virus) yang terdapat dalam suatu benda. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering. Sterilisasi pemanasan kering bertujuan untuk mematikan organism dengan cara mengoksidasi komponen sel atau mendenaturasi enzim, metode tersebut tidak dapat digunakan untuk bahan yang terbuat dari karet atau plastic, waktu sterilisasi adalah 2-3 jam dan alat yang digunakan yaitu oven dengan suhu 160-170⁰C. Sterilisasi pemanasan basah dengan menggunakan air yang mendidih 100⁰C selama 10 menit dan alat yang digunakan yaitu autoklaf, proses sterilisasi dengan autoklaf dapat membunuh mikroorganisme dengan mendenaturasi atau mengkoagulasi protein pada enzim dan membran sel mikroorganisme (Cahyani 2009).

G. Ciprofloksasin

1. Mekanisme kerja Ciprofloksasin

Antibiotik golongan fluorokuinolon merupakan obat bakterisidal yang kuat terhadap bermacam-macam mikroorganisme. Target antibiotik ciprofloksasin adalah DNA girase bakteri dan topoisimerase IV. Topoisomerase IV adalah target

primer untuk sejumlah bakteri gram-positif. DNA girase adalah target primer untuk sejumlah bakteri gram-negatif. ciprofloksasin menghambat (*supercoiling*) DNA yang diperantarai oleh girase pada konsentrasi yang berhubungan dengan kerja antibakteri efektifnya. Mutasi *gyrA* dapat memberikan resistensi terhadap obat ini. Topoisomerase IV memisahkan molekul DNA tertaut silang yang dihasilkan dari replikasi DNA dan juga merupakan target dari ciprofloksasin (Goodman & Gilman 2007).

2. Efek samping ciprofloksasin

Mual ringan, muntah, gangguan abdominal, diare dan kolitis jarang terjadi, sakit kepala ringan, pening, halusinasi, delirium, dan seizure sangat jarang terjadi, ruam, reaksi fotosensitivitas, leukopenia, eosifilia (Goodman & Gilman 2007).

3. Resistensi ciprofloksasin

Resistensi terhadap kuinolon dapat berkembang melalui mutasi dalam gen kromosom bakteri yang mengkode DNA girase atau topoisomerase IV atau melalui transpor aktif obat keluar dari bakteri. Tidak ada mekanisme penginaktivasi kuinolon yang telah teridentifikasi. Sensitivitas telah menurun, khususnya pada *Pseudomonas* dan *Stafilokokus*. Sensitivitas fluorokuinolon juga menurun pada *Salmonella*, *Netsseria gonorrhoeae*, dan *Streptococcus pneumpniae* (Goodman & Gilman 2007).

H. Aktivitas Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Suatu zat antibakteri yang ideal harus memiliki sifat toksisitas reproduksi bakteri, artinya bahwa suatu obat berbahaya terhadap parasit tetapi tidak membahayakan tuan rumah. Zat bakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan antibakteri yang dapat membunuh bakteri (Talaro 2009).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri merupakan peristiwa penghambatan suatu bakteri oleh senyawa antibakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya dibagi

menjadi 5 kelompok yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat metabolisme sel bakteri, mengganggu keutuhan membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, dan menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri (Setiabudy 2007).

2.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Mekanisme kerusakan dinding sel dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk terdisosiasi. Gugus hidrofobik pada senyawa antibakteri dapat mengikat daerah hidrofobik membran serta melarut baik pada fase lipid membran bakteri. Umumnya senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis peptidoglikan karena kemampuan dari senyawa tersebut dalam menghambat enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan seperti karboksipeptidase, endopeptidase, dan transpeptidase. Jika aktivitas enzim-enzim tersebut dihambat oleh senyawa antibakteri maka enzim autolitik sebagai reseptor hilang dan enzim tidak mampu mengendalikan aktivitasnya sehingga dinding sel akan mengalami degradasi (Jawetz *et al*, 2011).

2.2 Menghambat sintesis protein sel bakteri. Senyawa antibakteri dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme dengan cara mengganggu aktivitas enzim-enzim metabolik. Beberapa senyawa antibakteri yang dapat mengaktivasi enzim adalah asam benzoat, asam lemak, sulfit, dan nitrit (Jawetz *et al*, 2011).

2.3 Mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Sel bakteri dikelilingi oleh struktur kaku yang disebut dinding sel, yang melindungi sitoplasma baik osmotik maupun mekanik. Setiap zat yang dapat merusak dinding sel atau mencegah sintesisnya akan menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap osmotik. Adanya tekanan dalam sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Jawetz *et al*, 2011).

2.4 Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Salah satu mekanisme kerja yang dimiliki oleh anti bakteri ini adalah menghalangi sintesis

DNA dengan cara memblokir DNA girase, contohnya adalah antibiotik kuinolon dan fluorokuinolon. Rifampin bekerja membentuk ikatan dengan enzim polymerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Contoh antibiotik lain yang bekerja menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri adalah nifrofuran, kuinolon, rifampisin, dan nitromidazol (Jawetz *et al.* 2010).

2.5 Menghambat metabolisme sel bakteri. Bakteri membutuhkan asam folat untuk hidup, sehingga harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bersaing dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan kematian bakteri. Contoh antibiotik yang bekerja menghambat metabolisme sel adalah sulfonamida dan trimetoprim (Permatawati 2015).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Jawetz *et al.* 2010).

1. Metode difusi

Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram (disk) yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembedihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Pada metode ini, zat yang akan ditentukan aktivitas antibakterinya berdifusi pada lempeng agar yang telah ditanami biakan bakteri uji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antibakteri. Ukuran dari zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas dari media

biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram atau silinder, sensitivitas organisme terhadap, dan interaksi antibiotika dengan media. Metode cakram atau silinder difusi dapat mewakili prosedur sederhana untuk menyelidiki zat dalam menentukan apakah signifikan dan mempunyai aktivitas antibiotika yang berguna (Harmita & Radji 2005).

Kerugian dari metode difusi adalah tidak dapat mengukur secara kuantitatif Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), sedangkan keuntungannya adalah praktis, cepat, dan dapat digunakan untuk menguji beberapa agen antimikroba dalam satu waktu terhadap suatu mikroba (Setianingrum 2010).

2. Metode dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat perumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Metode ini dilakukan dengan mencampur secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah atau konsentrasi yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi kuman kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2005)

J. Landasan Teori

Sebagian besar masyarakat Indonesia masih menggunakan bahan-bahan alami untuk keperluan sehari-hari maupun bidang kesehatan. Obat-obat tradisional itu dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit. Secara tradisional biji pepaya dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing gelang, gangguan pencernaan, diare, penyakit kulit, bahan baku obat masuk angin dan sebagai sumber untuk mendapatkan minyak dengan kandungan asam lemak tertentu (Warisno 2003). Minyak biji pepaya yang berwarna kuning diketahui mengandung 71,60%

asam oleat, 15,13 % asam palmitat, 7,68 asam linoleat , 3,60% asam stearat, dan asam-asam lemak lain dalam jumlah relatif sedikit atau terbatas. Biji pepaya pun diketahui mengandung senyawa kimia lain seperti golongan fenol, alkaloid, dan saponin. Biji pepaya juga mempunyai aktivitas farmakologi daya antiseptik terhadap bakteri peyebab diare, yaitu *Escherichia coli* (Warisno 2013).

Biji pepaya mengandung berbagai senyawa seperti terpenoid, flavonoid, dan alkaloid. Kandungan terpenoid, flavonoid dalam biji pepaya telah diteliti memiliki antibakteri yang dapat membunuh bakteri dengan merusak integrasi membran sel bakteri yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Senyawa alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis (Martiasih *et al.* 2012)

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu golongan utama, pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya (Harborne 2006). Pelarut yang digunakan dalam fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penelitian Pendit (2016) terhadap biji pepaya menunjukkan bahwa fraksi flavanoid mempunyai aktivitas antibakteri yang paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air. Fraksi *n*-heksana bersifat nonpolar, etil asetat bersifat semipolar, dan air bersifat polar. Dari ketiga pelarut tersebut, diduga fraksi teraktif dari ekstrak etanolik biji pepaya adalah fraksi etil asetat.

Ekstrak etanol 70% dari biji pepaya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* disebabkan karena adanya metabolit sekunder yang dihasilkan yang terdapat pada biji pepaya seperti terpenoid, flavonoid dalam biji pepaya telah diteliti memiliki antibakteri yang dapat membunuh bakteri dengan merusak integrasi membran sel bakteri yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Senyawa alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis (Martiasih *et al.* 2012)

Senyawa alkaloid dapat bereaksi dengan asam amino penyusun dinding sel dan DNA bakteri. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino bakteri karena sebagian asam amino telah bereaksi dengan gugus basa dari alkaloid. Perubahan susunan asam amino pada DNA akan mengakibatkan perubahan keseimbangan genetik pada asam amino DNA sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Kerusakan tersebut akan mendorong terjadinya lisis pada inti sel bakteri. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang berfungsi untuk mengganggu sintesis dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kebocoran plasma yang mengakibatkan lisisnya bakteri (Asniyah 2009).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang berbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa. Metode dilusi digunakan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme (Jawetz *et al.*2007).

K. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, disusun hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak biji pepaya (*Carica papaya*, L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Kedua, dari ketiga fraksi biji pepaya diperoleh fraksi *n*-heksan, fraksi dan fraksi etil asetat yang paling efektif menghambat aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* yaitu fraksi etil asetat.

Ketiga, dapat menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ekstrak biji pepaya (*Carica papaya*, L.) terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pepaya (*Carica papaya*, L.) yang diambil dari daerah Boyolali, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah biji pepaya (*Carica papaya*, L.). Biji pepaya dari buah papaya yang diambil secara acak dengan memilih biji yang segar, dan tidak rusak yang diambil dari daerah Boyolali, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah biji pepaya (*Carica papaya*, L.) yang di ekstraksi dengan etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi yang menggunakan *n*-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar.

Variabel utama kedua adalah aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dan ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya*, L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel utama yang sengaja diubah-ubah untuk pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan-perubahan. Variabel bebas yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari biji pepaya dalam berbagai konsentrasi.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil

yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang olah peneliti secara cepat dan tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus*, kondisi laboratorium (meliputi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril), serta media yang digunakan dalam penelitian.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, biji pepaya adalah biji pada tanaman pepaya yang segar yang diperoleh dari daerah Boyolali, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk biji papaya adalah serbuk yang diperoleh dari biji papaya yang sudah dicuci bersih, dijemur dan dikeringkan dengan bantuan sinar matahari. Selanjutnya di blender dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol biji papaya adalah hasil ekstraksi dari biji pepaya dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% lalu dipekatkan dengan evaporator.

Keempat, fraksi *n*-heksan biji pepaya adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol menggunakan pelarut *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat biji pepaya adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksan dengan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air dari biji pepaya adalah residu dari hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dengan pelarut air.

Ketujuh, bakteri yang digunakan dalam penelitian yaitu *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode dan dilusi yaitu dengan mengukur luas daerah hambatan atau daya hambat pertumbuhan bakteri dan menentukan konsentrasi Hambat Minimum(KHM) yaitu konsentrasi terendah yang masih bisa menghambat pertumbuhan bakteri dan Konsentrasi Bunuh Minimum(KBM) dengan cara diinokulasi secara goresan pada media selektif yaitu VJA (*Vogel Jhonson Agar*).

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah bijipepaya, bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan BHI (*Brain Heart Infusion*).

Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut n-heksan, etil asetat, etanol 70%, antibiotik ciprofloxacin, spiritus, lugol iodine, blank paper disc, aquadest, pelarut DMSO 5%, dan larutan standart Mc Farland 0,5.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, timbangan, blender, cawan penguap, desikator, corong pisah, mikropipet, cawan petri steril, jarum ose, inkas, korek api, tabung reaksi, gelas ukur, botol kaca gelap, beaker gelas, kertas saring, kertas label, stopwatch, lampu spiritus, waterbath, Rotary evaporator, erlenmeyer, objek glass, labu takar, mikroskop binokuler, mikropipet, pipet volume, rak tabung reaksi, kapas lidi steril, vortex, ayakan nomor 40, alat maserasi, bejana maserasi, kain flannel, neraca elektrik, pipet.

D. Rencana Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi yang dilakukan dalam penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan mencocokkan ciri makroskopis, serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman biji pepaya. Determinasi dilakukan di unit Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret.

2. Pembuatan serbuk biji pepaya

Biji pepaya yang telah dipilih kemudian dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran yang menempel, lalu ditiriskan kemudian dikeringkan dengan bantuan matahari tanpa terpapar langsung oleh cahayanya. Pengeringan dilakukan kurang lebih 5 hari hingga kering bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Biji pepaya yang telah kering kemudian diblender dan diayak dengan

ayakan nomor 40 sampai serbuk terayak habis, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk melakukan penelitian.

3. Pembuatan ekstrak etanol biji pepaya

Pembuatan ekstrak dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Serbuk biji pepaya sebanyak 800 gram Campuran pelarut etanol 6000ml didiamkan selama 5 hari, dalam sehari digojog selama 1 jam. Maserat dan ampas dipisahkan, maserat yang didapatkan disaring, kemudian dipekatkan dengan evaporator sampai didapat maserat yang pekat.

4. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji sudah bebas etanol atau belum dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak tercium bau eter yang khas dari etanol. Tujuan dilakukannya tes bebas etanol ini bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri (Kurniawati 2015).

5. Fraksinasi

Fraksinasi dari ekstrak etanol biji pepaya dibuat dengan menimbang ekstrak hasil maserasi didalam beaker glass sebanyak 10 gram. Ekstrak etanol yang sudah ditimbang disuspensikan dengan air sebanyak 75 mL kemudian dipisahkan di corong pisah dengan menambahkan *n*-heksan 75 mL sebanyak tiga kali, sehingga didapat fraksi *n*-heksan. Fraksi *n*-heksan akan berada di bagian atas sedangkan residu ada di bagian bawah. Hasil fraksinasi yang diperoleh ditampung dan dipekatkan dalam *rotary evaporator* lalu ditimbang.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia

6.1 Uji flavonoid. Serbuk dan ekstrak dilarutkan dengan pelarut secukupnya, diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol, 2 ml HCL, dan pelarut amil alkohol, lalu dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Jika terjadi warna merah sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid, sedangkan jika warna kuning menunjukkan adanya flavon, kalkon, auron (Robinson 1995).

6.2 Uji Terpenoid Serbuk dan ekstrak ditambahkan 1 tetes lieberman burchard yang terdiri dari 1 ml asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat 1 tetes. Terpenoid menunjukkan reaksi positif dengan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan. Sedangkan, steroid menunjukkan reaksi positif apabila muncul cincin biru kehijauan (Sarker 2006).

6.3 Uji Alkaloid. Serbuk dan ekstrak sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1,5 ml HCl 2% tambahkan 2-4 tetes reagen dragendroff. Serbuk dan ekstrak secukupnya, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah 2 tetes pereaksi mayer. Hasilnya positif apabila terbentuk endapan dan kekeruhan berwarna putih (Depkes 1977).

7. Identifikasi kandungan kimia dengan uji KLT

Pertama, identifikasi flavonoid sampel dilarutkan dengan sedikit pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Baku pembanding yang digunakan adalah quersetin. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak *n*-heksana : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2). Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian di semprot menggunakan pereaksi sitoborat, hasil positif bila terbentuk bercak berwarna kuning cepat pudar (Depkes RI 1986).

Kedua, identifikasi alkaloid sampel dilarutkan dengan pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Baku pembanding yang digunakan adalah kafein. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak toluen : etil asetat : dietilamin (7 : 2 : 1). Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian di semprot menggunakan pereaksi Dragendroff, hasil positif bila terbentuk bercak berwarna merah bata (Harbone 1987).

Ketiga, identifikasi terpenoid sampel positif mengandung terpenoid jika bercak berwarna merah ungu/hijau biru (Robinson 1995). Warna ini timbul karena adanya pereaksi Lieberman Bourchard. Pengamatan dilakukan dibawah sinar UV 254 nm, UV 366 nm, dan secara visibel. Pada pengamatan secara visibel, bercak sampel berwarna merah ungu dihasilkan oleh ekstrak dan fraksi etil asetat, tetapi fraksi *n*-heksan dan air tidak menunjukkan bercak berwarna merah ungu.

8. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur, cawan petri, tabung rekasi, kapas lidi, dan beaker glass disterilisasi dengan oven pada suhu 170°C-180°C selama 2 jam sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan langsung (Suriawati 2005).

9. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil 1-2 ose dan dimasukkan kedalam tabung yang telah berisi media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi yang diencerkan dengan BHI dan dibandingkan kekeruhannya dengan standar kekeruhan 0,5 Mc Farland yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pembuatan suspensi bakteri untuk pengujian dilusi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suspensi yang kekeruhannya setara dengan standar kekeruhan 0,5 Mc Farland digunakan konsentrasi tersebut untuk memudahkan pengamatan kekeruhan.

10. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

10.1 Identifikasi Berdasarkan koloni. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada media differensial *Vogel Jhonson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium terurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* dapat mereduksi terurit menjadi metalik warna medium disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol.

10.2 Identifikasi Mikroskopis Secara Morfologi. Persamaan Gram positif *Staphylococcus aureus* menggunakan gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama, Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai pelentur), dan Gram D (cat sarfianian sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara buat perparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai ulasan terwarnai, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadest mengalir dan dikering anginkan, selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadest mengalir kemudian ditetesi

Gram D dan diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadest mengalir kemudian keringkan preparat. Bakteri *Staphylococcus aureus* dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop.

10.3 Identifikasi Mikroskopis Secara Fisologi. Identifikasi secara fisiologi ada dua yaitu katalase dan koagulase, uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dan H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂ hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara.

11. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi

11.1 Pengujian antibakteri secara difusi. Pengujian daya antibakteri dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi. Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam medium MHA dengan metode perataan dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Pada media tersebut terdapat 6 cakram dengan jarak yang sama. Masing-masing cakram direndam ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ciprofloksasin sebagai kontrol positif dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Konsentrasi fraksi tiap petri masing-masing 25%. Pembuatan konsentrasi fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air menggunakan pelarut DMSO 5%. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar disk yang dinyatakan dalam datuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar disk menandakan bahwa kandungan kimia biji pepaya memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

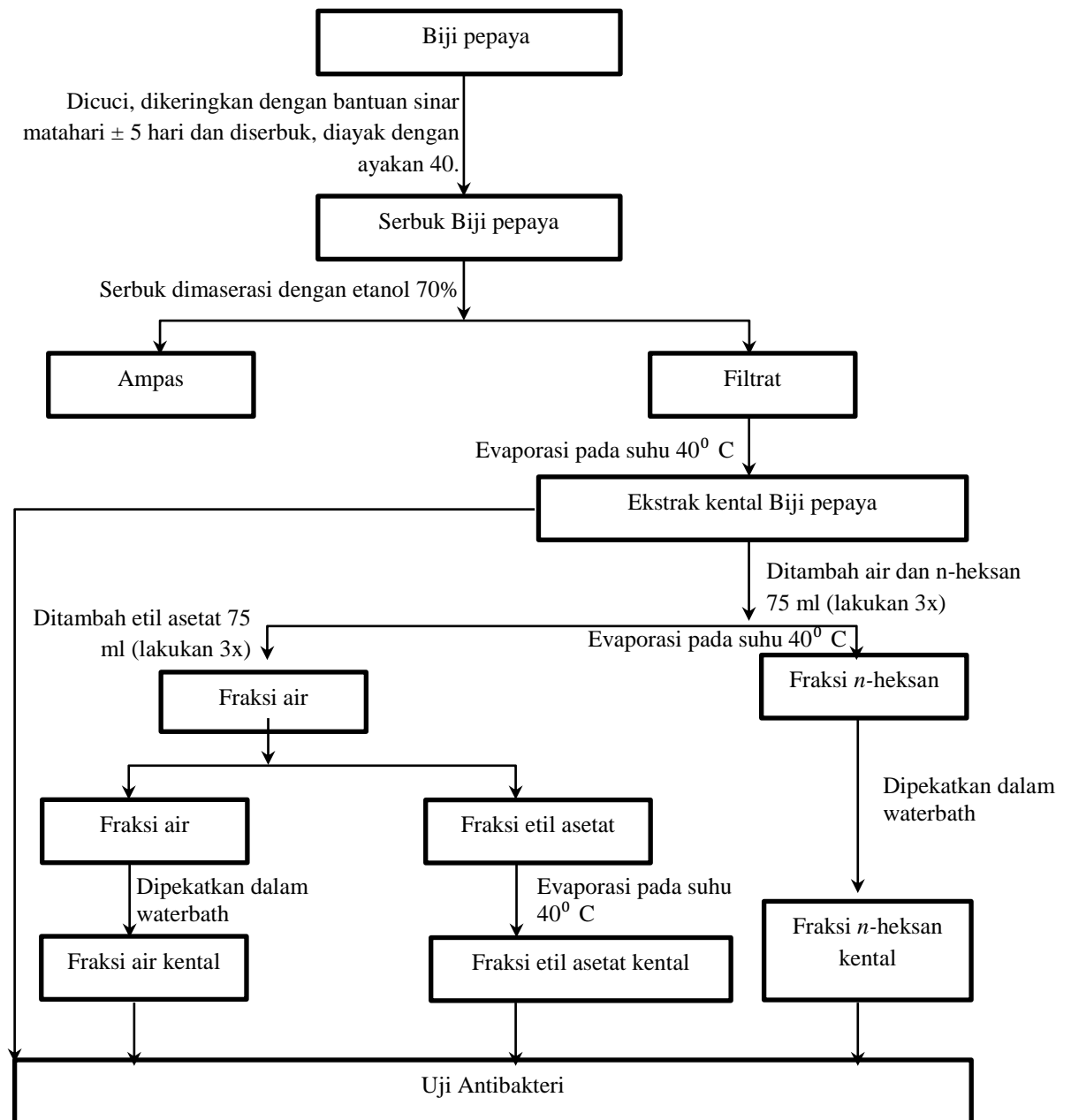
Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Bakteri diambil dari media BHI dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi media MHA dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media. Kontrol positif adalah ciprofloksasin dan kontrol negatif adalah DMSO 5% . Cawan petri inkubasi

selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar disk menandakan bahwa kandungan kimia Biji pepaya memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* (Bonang & Koeswardono 1982).

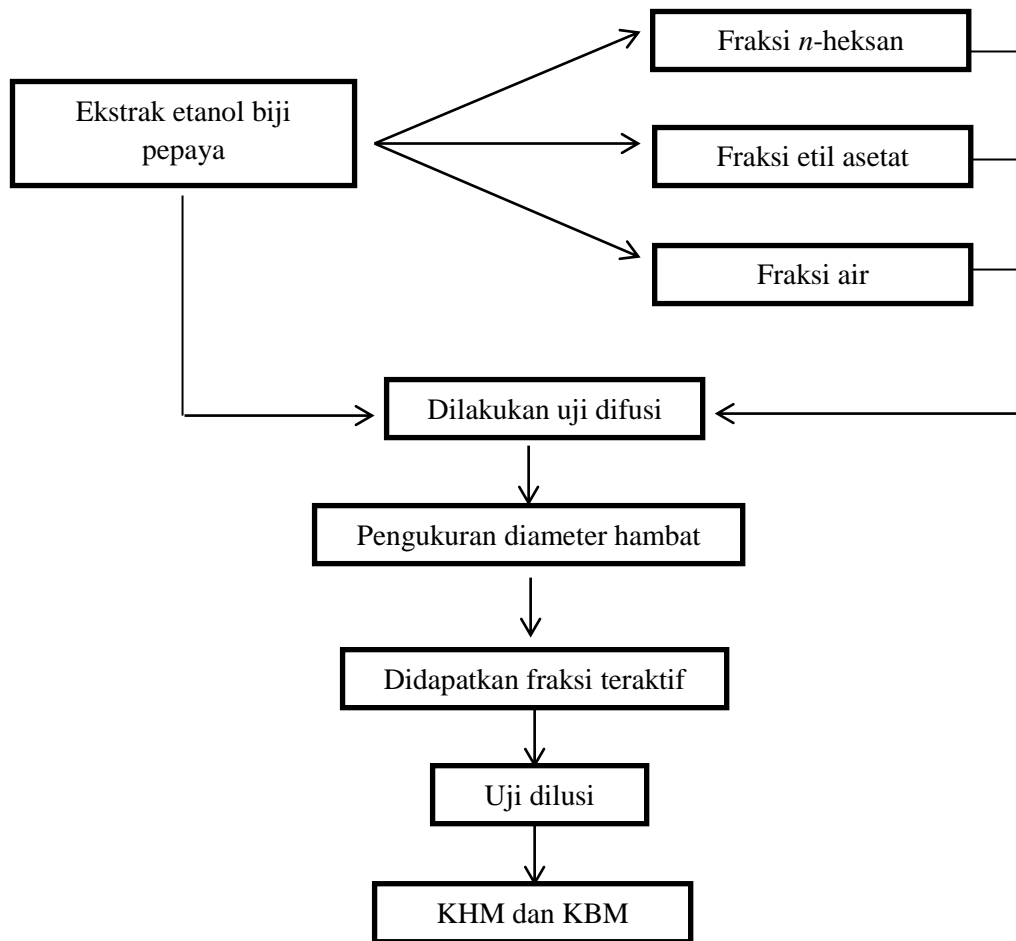
11.2 Pengujian antibakteri secara dilusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat menghambat dan membunuh bakteri uji. Metode dilusi menggunakan 12 tabung steril. Konsentrasi larutan stok yang dibuat adalah 50%. Secara aseptis dari larutan stok tersebut dibuat deret konsentrasi yaitu kontrol (-); 50%; 25; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% dan kontrol (+). Media BHI dimasukkan 0,5 ml pada tiap tabung kecuali tabung 1. Secara aseptis, masukkan 1 ml larutan stok yang akan diuji pada tabung 1, kemudian pada tabung 2 dan 3 dimasukkan 0,5 ml larutan stok, kemudian dari tabung 3 dipipet 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Tambahkan 0,5 ml biakan bakteri dari tabung 2 sampai tabung 12. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media. Bakteri yang sudah digoreskan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam. Diamati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dari goresan larutan uji pada medium deferensial atau medium selektif kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan pada goresan bakteri, sehingga KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dapat diketahui.

E. Analisis Hasil

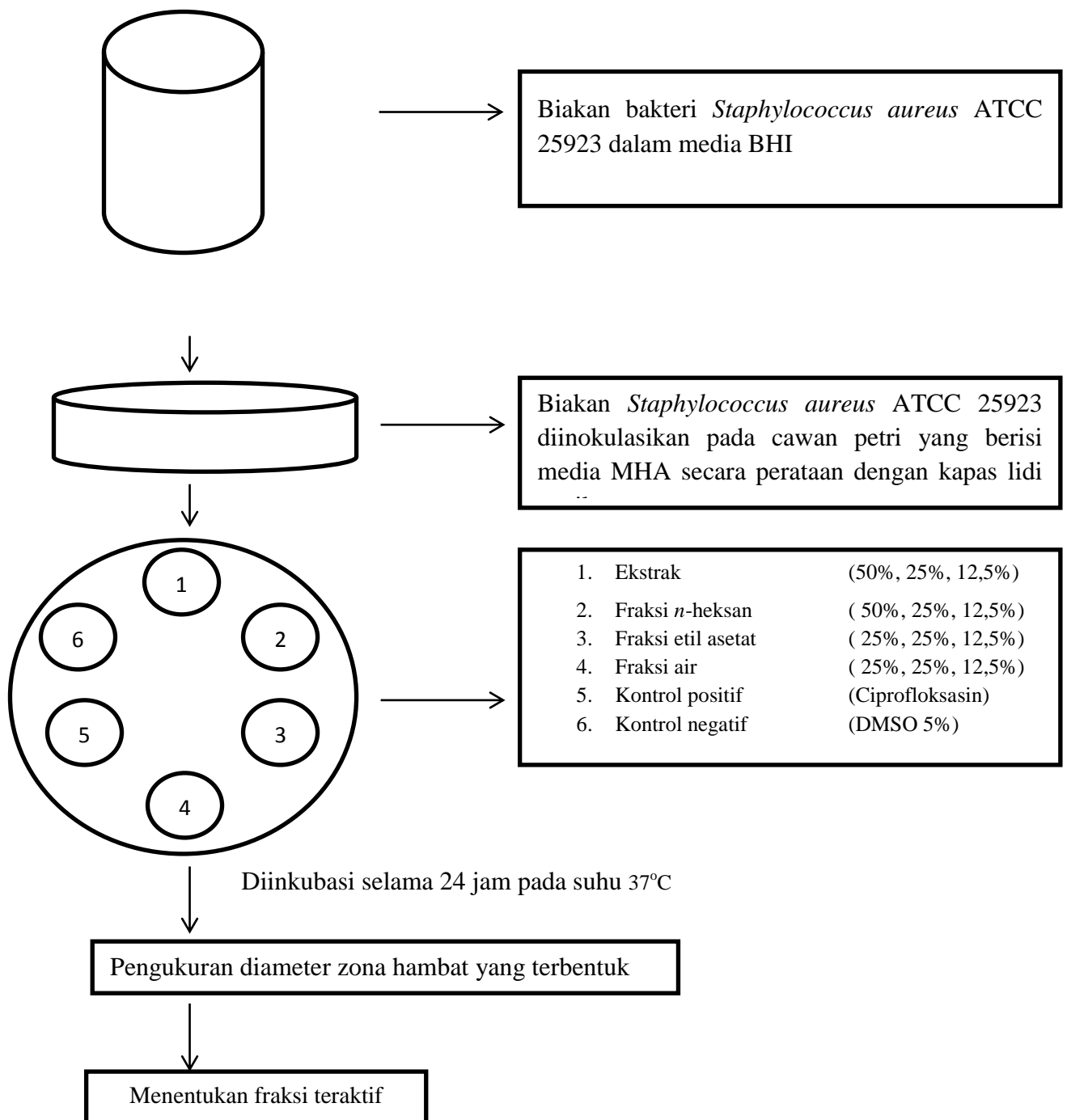
Analisis data yang diperoleh untuk membandingkan aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari biji pepaya (*Carica papaya*, L.) serta kontrol positif dan kontrol negatif terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi, dalam penelitian ini menggunakan analisis statistik dengan Analisis of Varians (ANOVA) satu jalan dengan menggunakan software SPSS 18.



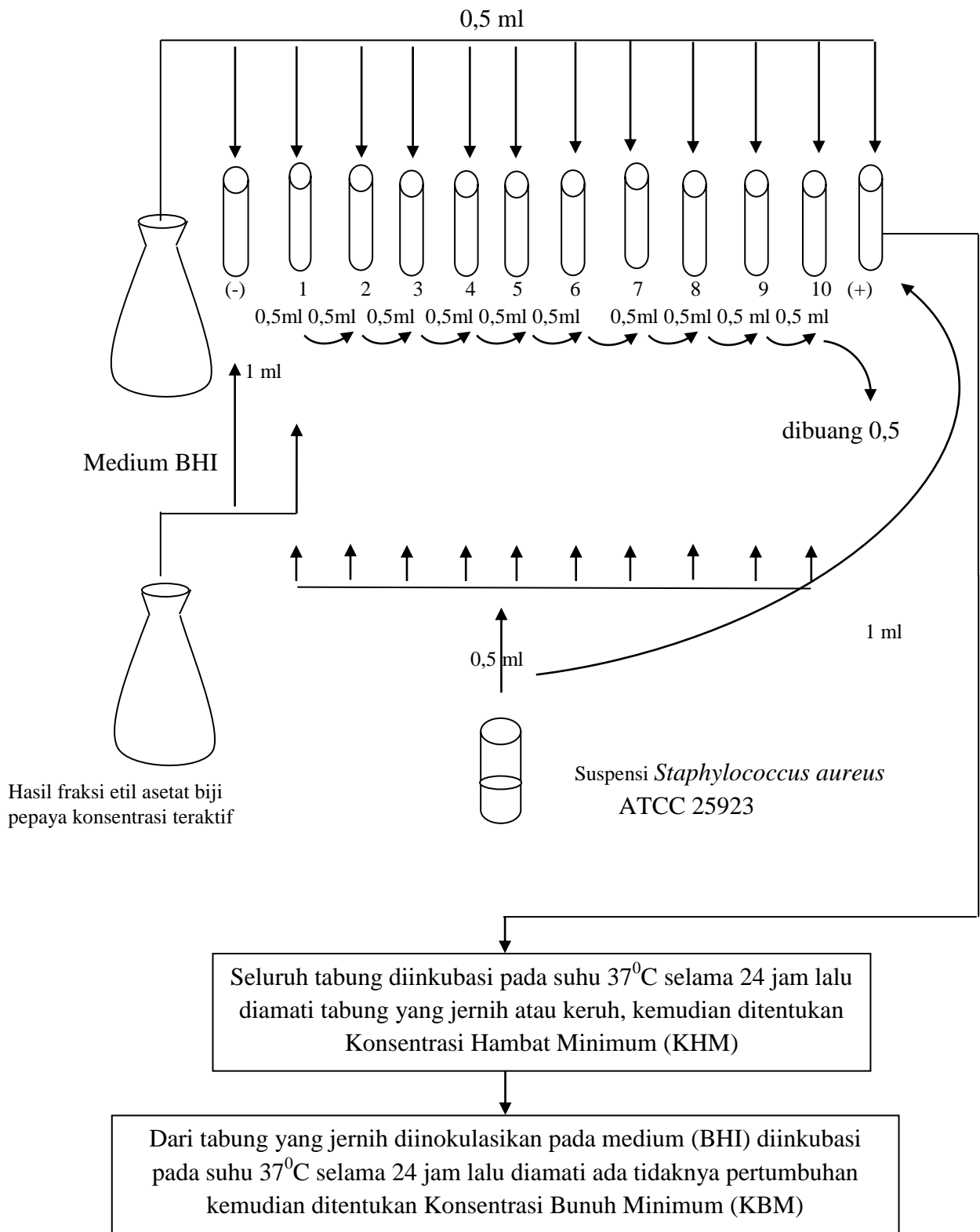
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi ekstrak Biji pepaya



Gambar 2. Skema uji aktivitas antibakteri



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman biji pepaya (*Carica papaya*, L)

1.1. Determinasi tanaman biji pepaya (*Carica papaya*, L) dilakukan di Laboratorium FMIPA Universitas Sebelas Maret. Determinasi biji pepaya dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran dari sampel yang diambil, untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam mengumpulkan bahan serta kemungkinan terjadinya pencampuran bahan dengan tumbuhan yang lainnya.

Hasil determinasi menurut C.A.Backer. dan R.C. Bakhuizen Brink, Jr. (1963) : 1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b - 26b - 27a - 28b - 29b-30b - 31a - 32a - 33a - 34a - 35a - 36d - 37b - 38b - 39b- 41b- 42b - 44b - 45b- 46e - 50b - 51b - 53b - 54b - 56b - 57b - 58b - 59d - 72b - 73a - 74a - 75b - 76a - 77a - 78b - 103c- 104b - 106b - 107a - 108b - 109b - 134a - 135b - 136b - 137a - 138c - 139b - 140a - 141b - 142b-143b-147b-156b-157a-158b-160b - 162a_____

77.Caricaceae_____

Carica _____

***Carica papaya* L.**

Foto determinasi tanaman dapat dilihat di lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk biji pepaya

Biji pepaya yang telah dikeringkan, digiling lalu diayak dengan ayakan no 40 dan dihitung prosentase bobot kering terhadap bobot basah yang tercantum pada tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah biji pepaya

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen % (b/v)
5000 gram	3000 gram	60%

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam bahan sehingga dengan pengeringan yang maksimal dapat mencegah terjadi kerusakan bahan oleh bakteri dan jamur. Bahan yang telah kering juga dapat

mempermudah dalam pembuatan serbuk. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah yaitu 60%. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada lampiran 10.

3. Penetapan kadar lembab serbuk biji pepaya

Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab serbuk biji pepaya

Replikasi	Berat awal serbuk (gram)	Kadar lembab (%)
1	2	7
2	2	5
3	2	5
Rata-rata		5,67

Penetapan kadar air serbuk biji pepaya menggunakan *moisture balance*. Alat diatur suhu dan waktu pengeringan terlebih dahulu pada 105°C. Neraca timbang dimasukkan pada posisi 0,00 gram. Serbuk biji pepaya ditimbang sebanyak 2,0 gram, dan ditunggu sampai alat berbunyi tanda telah selesai penetapan kadar air.

Penetapan kadar lembab serbuk biji pepaya bertujuan untuk mengetahui bahwa serbuk tersebut benar-benar kering. Kadar lembab serbuk biji pepaya memenuhi syarat dengan nilai rata-rata 5,76 %, karena kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Kadar lembab kurang dari 10% menyebabkan sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008). Jika kadar air melebihi 10% maka kemungkinan simplisia akan rusak dan ditumbuhi mikrob. Pengeringan menggunakan oven mempunyai keuntungan bahwa dengan suhu yang stabil akan menghambat pertumbuhan jamur. Perhitungan penetapan kadar air serbuk biji pepaya dapat dilihat pada lampiran 9.

4. Pembuatan ekstrak etanol biji pepaya

Hasil pembuatan ekstrak etanol biji pepaya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rendemen ekstrak biji pepaya

Bobot serbuk	Bobot ekstrak	Rendemen ekstrak (%b/v)
800 gram	361 gram	45,12%

Hasil maserasi serbuk biji pepaya 800 g didapatkan ekstrak kental seberat 361 gram dan rendemen sebesar 45 %. hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran Perhitungan hasil pembuatan ekstrak etanol biji pepaya dapat dilihat pada lampiran 9

5. Uji bebas etanol ekstrak etanol biji pepaya

Tabel 4. Uji bebas etanol ekstrak biji pepaya

Uji bebas etanol	Hasil uji
Ekstrak etanol biji pepaya + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH, dipanaskan	tidak tercium bau ester yang khas

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya telah bebas dari etanol 70% yaitu ditandai dengan tidak terciumnya bau ester yang khas dari etanol pada ekstrak. Tujuan dilakukan uji bebas etanol pada ekstrak biji pepaya adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan dalam tahap penelitian selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas anti bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 , sebab etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian. Adanya pelarut etanol yang tertinggal didalam ekstrak dapat mengakibatkan bakteri terbunuh bukan oleh ekstrak, tetapi oleh sisa pelarut etanol yang tertinggal.

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol biji pepaya

Identifikasi kandungan yang terdapat dalam biji pepaya bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat didalam biji pepaya tersebut. Hasil pada tabel 5 dibawah ini merupakan identifikasi kandungan kimia dari ekstrak etanol biji pepaya. Senyawa yang terkandung didalam biji pepaya adalah flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Hasil identifikasi kandungan kimia biji pepaya dapat dilihat pada tabel

Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji pepaya

Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
Flavonoid	Warna kuning pada lapisan amil alkohol.	Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	(+)
Alkaloid	Tabung 1 → Endapan putih kekuningan. Tabung 2 → Endapan merah kecoklatan.	Terbentuk endapan menggumpal warna putih kekuningan pada reagen Mayer dan terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga kecoklatan pada reagen Dragendroff (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	(+)
Terpenoid	merah kecoklatan	Terbentuknya warna merah kecoklatan atau ungu (Harbone 1987)	(+)

Keterangan : (+) = ada senyawa yang diuji
(-) = tidak ada senyawa yang diuji

Hasil pada tabel 5 merupakan hasil identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi biji pepaya menggunakan tabung reaksi seperti pada lampiran 6. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak mengandung flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Kandungan senyawa yang ada didalam ekstrak etanol maupun fraksi diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.

7. Hasil fraksinasi ekstrak etanol

Tabel 6. Rendemen hasil fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air biji pepaya

Berat ekstrak (gram)	Fraksi	Bobot Fraksi (gram)
30	n-Heksana	2,7
	Etil asetat	3,96
	Air	15,82

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya dalam suatu tumbuhan. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Tiwari *et al.*, 2011). Bahan aktif yang sudah terekstraksi dalam masing-masing pelarut yang sesuai dengan kepolarannya akan mudah diperkirakan kandungan kimia yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Mukhrani 2014; Tiwari *et al.* 2011).

Hasil ekstrak yang didapatkan dari maserasi difraksi dengan 3 pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang berbeda-beda. Pelarut nonpolar yaitu *n*-heksan, pelarut semi polar adalah etil asetat, dan air adalah sebagai pelarut polar yang kemudian dilakukan fraksinasi.

fraksi *n*- heksan. Hasil ekstrak maserasi yang telah didapatkan ditimbang kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut nonpolar (*n*-heksan), difraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksan masing-masing 75 ml, kemudian fraksi *n*-heksan yang didapat diuapkan dengan oven pada suhu 40°C. Residu yang didapat dilakukan ekstraksi lanjutan dengan pelarut etil asetat. Organoleptis fraksi *n*-heksan berwarna kehijauan, konsistensi kental, tidak berbau. Hasil rendemen prosentase fraksi *n*-heksan biji pepaya dapat dilihat pada tabel 6

Berdasarkan hasil perhitungan diatas prosentase rata-rata rendemen fraksi *n*-heksan biji pepaya adalah 45%. Hasil perhitungan prosentase rendemen fraksi *n*-heksan dapat dilihat pada lampiran 9.

fraksi etil asetat. Residu dari *n*-heksana dilanjutkan dengan fraksinasi dengan pelarut semipolar (etil asetat). Residu dari fraksinasi *n*-heksan difraksi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml. Fraksi yang didapat dipekatkan dalam oven 40°C. Organoleptis fraksi etil asetat warna hitam kecoklatan, konsistensi kental, tidak berbau.

Hasil perhitungan prosentase rendemen fraksi etil asetat biji pepaya dapat dilihat pada lampiran 9.

Hasil fraksi air. Residu hasil fraksinasi etil asetat dilanjutkan dengan pemekatan dengan waterbath pada suhu 40°C sehingga didapat ekstrak kental. Organoleptis fraksi air warna hitam konsistensi kental, tidak berbau.

8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi secara KLT

Identifikasi senyawa ini digunakan untuk mengetahui senyawa golongan flavonoid, alkaloid dan terpenoid pada ekstrak etanol dan fraksi-fraksi biji pepaya. dengan metode KLT.

Tabel 7. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi secara KLT

Kandungan Kimia	Ekstrak etanol	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid	+	+	+	+
Alkaloid	-	-	+	-
Terpenoid	+	-	+	-

Keterangan :

+ :mengandung senyawa

- :tidak mengandung senyawa

Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya mengandung senyawa flavonoid, terpenoid dan alkaloid. Hasil ini ditunjukkan dengan munculnya bercak yang sama antara ekstrak dan pembanding sehingga harga Rf keduanya sama. Pada UV 254 nm lempeng silika gel akan berfluoresensi sedangkan pada bercak mengalami peredaman, hal tersebut dikarenakan adanya gugus kromofor pada lempeng silika gel sehingga dapat berfluoresensi mengalami peredaman. Hasil dapat dilihat selengkapnya dilampiran 7

9. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

9.1 Hasil identifikasi mikroskopis pewarnaan Gram.

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pewarnaan Gram menggunakan 4 jenis reagen, Gram A (kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (Etanol: aseton = 1:1), Gram D (cat safranin sebagai cat lawan/ penutup). Bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu sedangkan bakteri Gram negatif tidak akan mempertahankan warna ungu kristal violet, tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan berwarna merah. Prinsip dari metode ini adalah didasarkan pada perbedaan struktur pada dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal, tersusun oleh sebagian besar peptidoglikan yang dapat mengikat warna dan tidak rusak setelah penambahan Gram C sehingga dapat mempertahankan warna kristal violet. Bakteri Gram negatif berwarna merah karena memiliki dinding sel yang relatif tipis, membran luar dilapisi oleh

lipopolisakarida dan tidak dapat mempertahankan zat warna, sehingga pada saat penambahan Gram C warna dari kristal violet luntur dan sewaktu diberi pewarnaan Gram D maka bakteri Gram negatif akan tampak berwarna merah (Jawetz *et al.*2008). hasil identifikasi dengan pewarnaan Gram dapat dilihat pada Lampiran 6 .

9.2 Hasil metode goresan. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan pada medium VJA yang sebelumnya telah ditambahkan kalium tellurit 1% dan diinkubasi selama 24jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil yang positif. VJA mengandung mannitol, tellurite, lithium chlorid yang berperan untuk mengisolasi bakteri yang bersifat koagulase positif. Hasil positif ditandai dengan koloni berwarna kuning. Hasil identifikasi dengan uji biokimia dapat dilihat pada Lampiran 6.

9.3 Hasil uji katalase. Uji katalase berguna untuk mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase. Dilakukan dengan cara mencampurkan 0,5 ml hydrogen peroksida 3% dengan 1 ose *Staphylococcus aureus*. Hasil pada penelitian positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung atau buih yang disebabkan adanya katalase yang dimiliki *Staphylococcus aureus*, H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂, hydrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hasil identifikasi dengan uji biokimia dapat dilihat pada Lampiran 6.

9.4 Hasil uji koagulase. Uji koagulase dilakukan dengan cara menyiapkan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24jam. Berdasarkan hasil uji koagulase yang dilakukan diperoleh hasil positif yang dibuktikan dengan dapat mengkoagulasi plasma. Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat digunakan untuk sarana diagnostik. Hasil identifikasi dengan uji biokimia dapat dilihat pada Lampiran 5

10. Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil dari suatu biakan murni pada media *Nutrien Agar* (NA) diambil kurang lebih 2 ose dan dibuat suspensi dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan MC Farland 0,5 yang menunjukkan jumlah sel bakteri setara dengan 10^8 CFU/ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri yang digunakan dalam medium BHI mempunyai perbandingan pengenceran 1:1000.

11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi

Hasil sediaan dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air biji pepaya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi untuk mengetahui terbentuk atau tidaknya daerah jernih di sekeliling cakram (disk) yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada medium *Muller Hinton Agar* (MHA). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui mana yang mempunyai daya hambat yang paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pengujian aktivitas sediaan dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji pepaya dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi masing-masing 50%, 25% dan 12,5%. Ciprofloksasin sebagai kontrol positif serta DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Perhitungan konsentrasi larutan dapat dilihat pada lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 8 Hasil uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 metode difusi

Konsentrasi	Sampel	Diameter Hambat (mm)			
		Replikasi			
		1	2	3	Rata-rata
50%	Ekstrak etanol	12	12	9	11
	<i>n</i> -Heksan	9	9	12	10
	Etil asetat	18	17	16	17
	Air	7	8	8	7,6
25%	Ekstrak etanol	11	12	10	11
	<i>n</i> -Heksan	7	8	7	7,3
	Etil asetat	14	15	14	14,3
	Air	8	7	7	7,3
12,5%	Ekstrak etanol	10	10	8	9,3
	<i>n</i> -Heksan	7	7	6	6,6
	Etil asetat	12	12	10	11,3
	Air	4	4	4	4
Kontrol (+)		19	18	19	18,3
Kontrol (-)		-	-	-	-

Keterangan : Kontrol + : Ciprofloksasin

Kontrol - : DMSO 5%

Berdasarkan hasil tabel diatas dari pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan adanya daya hambat dibuktikan dengan adanya daerah disekitar disk yang tidak ditumbuhi bakteri, dari tabel diatas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai daya hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena fraksi etil asetat mampu menarik semua senyawa kandungan kimia pada biji pepaya bersifat semipolar. Perbedaan diameter hambat dikarenakan senyawa yang terdapat dalam ekstrak berbeda-beda tergantung tingkat kepolaran dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Pada pelarut DMSO 5% tidak ada pertumbuhan bakteri karena DMSO 5% digunakan untuk melarutkan bahan uji (sebagai kontrol negatif), sehingga pelarut tersebut tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri artinya, pelarut DMSO 5% tersebut tidak memiliki zona hambat pada media tersebut. Jika dibandingkan dengan ciprofloksasin sebagai kontrol positif maka fraksi etil asetat

memiliki zona hambat yang termasuk dalam kategori sedang, sedangkan kontrol positif (ciprofloksasin) termasuk dalam kategori kuat karena kontrol positif merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga kontrol positif (ciprofloksasin).

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi menggunakan statistik Analisis of Varian (ANOVA) *one way*. ANOVA *one way* digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan ANOVA *one way* adalah konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% dari fraksi *n*-heksan, etil asetat, air, dan ekstrak etanol biji pepaya. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara fraksi *n*-heksan, etil asetat, air, ekstrak etanol, guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Hasil uji *One-Sampel Kolmogorove-Sminov* diperoleh signifikan $0,886 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji *oneway* ANOVA tabel diameter hambat diperoleh $F = 111,500$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ yang berarti dari tiap sampel uji terdapat perbedaan nyata dalam menghambat *staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan tabel Tukey dan Bonferroni test terdapat tanda \square pada *Mean Difference*, tanda tersebut menunjukkan bahwa perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri tersebut signifikan. Apabila tidak terdapat tanda \square maka diameter hambat aktivitas antibakteri tidak signifikan artinya tidak memiliki perbedaan. Hasil analisis Tukey test dan Bonferroni test dapat dilihat pada lampiran 13

Berdasarkan tabel 8 dan analisis data maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan mempunyai aktivitas terbesar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksan, fraksi air, dan ekstrak etanol biji pepaya.

Ekstrak etanol mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam biji pepaya, tetapi senyawa tersebut tidak mampu bekerja secara optimum sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan fraksi etil asetat. Pada penelitian ini fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas penghambatan paling

rendah dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi air memiliki aktivitas sebagai antibakteri lebih besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, hal ini kemungkinan fraksi air mampu menarik senyawa yang aktif sebagai antibakteri. Fraksi etil asetat mampu menarik senyawa yang paling aktif sebagai antibakteri, sehingga fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya. Hal ini diduga kandungan senyawa kimia yang bersifat semipolar di dalam fraksi etil asetat dapat menarik senyawa yang bersifat polar (air) maupun non polar (*n*-heksana) sehingga lebih optimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Putri *et al.* 2013). Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menyari senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Putri *et al.* 2013).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada di dalam sel (Ngajow *et al.* 2013). Menurut Gunawan dan Mulyani (2004), senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan mekanisme flavonoid yang dapat mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme dan bersifat irreversible atau tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel sehingga menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Juliantina *et al.* 2008).

12. Hasil pengujian aktivitas antibakteri biji pepaya (*Carica papaya* L.)

secara dilusi

Pengujian aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan menggunakan metode dilusi sediaan yang digunakan adalah fraksi teraktif dalam menghambat aktivitas antibakteri yang diperoleh dari hasil uji difusi. Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan metode dilusi untuk mengetahui nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum).

Pengujian dilakukan dengan konsentrasi larutan fraksi etil asetat masing-masing adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%; kontrol negatif (fraksi teraktif dari ekstrak biji pepaya tanpa penambahan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) kontrol positif (suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat dilihat dari kejernihan tabung reaksi yang menunjukkan bahwa pada tabung tersebut dapat menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kemudian dari semua tabung tersebut dilakukan inokulasi bakteri pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Inokulasi dilakukan karena pada hasil penelitian tidak dapat dilihat kejernihannya pada tabung karena tertutup oleh kekeruhan dari bahan fraksi etil asetat yang digunakan. Inokulasi dari tabung pada medium agar dalam cawan petri perlu dilakukan sehingga diketahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sulit diamati karena fraksi uji yang berwarna sehingga sulit dibedakan antara keruh dan jernih, sehingga perlu dilakukan goresan pada media selektif yaitu VJA (*Vogel Jhonson Agar*). VJA (*Vogel Jhonson Agar*) digunakan untuk mengisolasi bakteri gram negatif berdasarkan kemampuan memfermentasi laktosa atau tidak. Tujuannya supaya terlihat Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada fraksi yang diuji. Metode dilusi bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari fraksi yang bersifat antibakteri. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasi sediaan dari tabung uji pada dalam cawan petri steril. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari ekstrak biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode dilusi.

Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat 50%		
	I	II	III
kontrol (+)	+	+	+
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	-	-	-
3,12%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,1 %	+	+	+
0,09 %	+	+	+
kontrol (-)	-	-	-

Keterangan
 (+): ada pertumbuhan bakteri
 (-) : tidak ada pertumbuhan bakteri
 Kontrol (-): fraksi etil
 Kontrol (+) : suspensi bakteri

Berdasarkan tabel 9 diatas hasil dari penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Konsentrasi Bunuh Minimum 6,25%. Foto hasil uji dilusi fraksi teraktif (etil asetat 50%) dapat dilihat pada lampiran 9.

Fraksi etil asetat konsentrasi 50% adalah fraksi yang paling aktif. Hasil tersebut diduga disebabkan oleh adanya kandungan senyawa semipolar di fraksi etil asetat yang lebih optimum dibandingkan senyawa didalam fraksi *n*-heksan dan fraksi air biji pepaya dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga diduga aktivitas antibakteri yang efektif dari fraksi etil asetat biji pepaya adalah flavonoid, alkaloid dan flavonoid.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada di dalam sel (Ngajow *et al.* 2013). Menurut Gunawan dan Mulyani (2004), senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan mekanisme flavonoid yang dapat mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme

dan bersifat irreversible atau tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel sehingga menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Juliantina *et al.* 2008). Daun pepaya mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat antiseptic, antiinflamasi, antifungal dan antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun pepaya senyawa tannin, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin (Duke, 2009). Secara tradisional daun pepaya dimanfaatkan oleh masyarakat dalam mengatasi penyakit diare dan mengobati penyakit kulit seperti jerawat. Senyawa alkaloid berperan dalam mengganggu penyusun sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis. Kandungan terpenoid, flavonoid dan alkaloid di biji pepaya telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri yang dapat membunuh bakteri dengan merusak integritas bakteri. Senyawa alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis. Kandungan terpenoid, flavonoid dan alkaloid dalam biji pepaya telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri yang dapat membunuh bakteri dengan merusak integritas membran sel bakteri yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri (Martiasih, *et al.* 2012)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air biji pepaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol biji pepaya merupakan fraksi teraktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu 17 mm.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi etil asetat biji pepaya sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu pada konsentrasi 6,25%

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji aktivitas antibakteri dari biji pepaya dengan menggunakan metode lain .

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji ktivitas antibakteri dari biji pepaya yang dikombinasi dengan tanaman lain terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez-Suarez, J.M., Gasparini, M., Forbes-Hernández, T.Y., Mazzoni, L., Giampieri, F., 2014. Review: The Composition and Biological Activity of Honey: A Focus on Manuka Honey. *Foods*, 3: 420-432
- Amini, Pramono, S., Soegihardjo, C. J., and Hartiko, H., 1991, *Biokimia Tumbuhan*, PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Amini, Pramono, S., Soegihardjo, C. J., and Hartiko, H., 1991, *Biokimia Tumbuhan*, PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Andy, Prastowo. 2013. *Pengembangan Bahan Ajar Tematik-Panduan Lengkap Aplikatif*, Yogyakarta: DIVA Press (Anggota IKAPI)
- Voigt, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani N. S., UGM Press, Yogyakarta.
- Asniyah. 2009. Efek antimikroba jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli in vitro*. *J Biomed.* (1):1
- Baker, G. C., J. J. Smith and D. A. Cowan. 2003. Review and Re-analysis of Domain Specific 16S Primers. *Journal Microbiology Methods*, **55**, 541–555
- Bonang G., S. Enggar dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran*. P.T Gramedia, Jakarta
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia.
- Cahyono R. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-Heksan, Etil Asetat, dan Air Dari Ekstrak Bunga Biduri (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara in vitro [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi Surakarta.
- Chandra, S. & Rakholiya, K., 2011, Combination therapy Synergism Between Natural Plant Extract and Antibiotics Against Infection Diseases, *Science against microbial pathogens*, 360 (5), 520-529.
- Cowan, Kelly., Talaro, Kathleen Park. 2009. *Microbiology A Systema Approach*, Second Edition. USA: The McGraw-Hill Companies. h:355.
- Cushnie, T. P. & Lamb, A. J., 2005, Antimicrobial aktiviti of Flavonoids *International Jurnal of Animicrobial Agents*, 26, 343-356.
- Cushnie, T.P. dan Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoid. *J. Nat. Prod.* 26:343-356.

- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid I*. Jakarta: Trubus Agriwidya; hal 214
- Dalimartha S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid II*. Jakarta: Trubus Agriwidya; 2001. 90-2.
- Darmandi. 2008. Infeksi Nosokomial : Problematika dan Pengendaliannya. Jakarta:Salemba Medika .hal.80-81.
- Depkes RI, 2000. *Acuan Sediaan Herbal* .Jakarta:Diktorat Jendral POM Depkes RI.
- Depkes, RI. 1985. *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Ditjen POM.
- Didik Gunawan & sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Bogor: Penebar Swadaya
- Direja HE. 2007. *Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativaL) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan* [Skripsi]. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas teknologi Pertanian, Institut Pertaian Bogor.
- Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. *jurnal ilmiah* .Hlm 14
- Food and Agriculture Organization (FOA). 2002. *Mulberri for Animal Production*, Roma
- Forbes. B. A., Sahm. D. F., Weissfeld. A. S. 2002. *Bailey & scott's diagnostic microbiology 11th edition*. United State of America: Mosby, Inc.
- Ganiswara, S. G., 2005, Farmakologi dan Terapi, Edisi 4, 571-571, Jakarta,Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ganiswara. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-5. Jakarta: Gaya Baru. Hlm. 585-598.
- Gilman, A.G., 2007, *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*, diterjemahkan oleh Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, Edisi X, 877, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysbeth, editor. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. hlm 585-587, 605-608.
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2004. *Ilmu Obat Alami (Farmakognosi)*. Jilid 1. Bogor: Penerbit Swadaya
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasih P, Iwang S, penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.

- Hariana, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 2*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Harmita dan Radji, M., 2008. Kepekaan Terhadap Antibiotik. Dalam: Buku Ajar Analisis Hayati, Ed.3. EGC, Jakarta: 1-5
- Haryani Y, Chainulfiffah, Rustiana, 2012. Fermentasi Karbohidrat oleh Isolate *Salmonella spp.* dari Jajanan Pinggir Jalan. *Jurnal Indonesia che.Acta* 3:23-25.
- Hastuti, U.S., Oktantia, A., dan Khasanah, H.N. 2012. *Daya Antibakteri Daun dan Buah Murbei (Morus alba L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Shigella dysenteriae.* [Skripsi]. Malang : Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang
- Heyne K. ,(1987), Tumbuhan berguna Indoneisa II, *Badan Litbang Kehutanan*, Jakarta.
- Jawetz E, JL Melnick, EA Adelberg, EA .1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 16, Jakarta :Buku kedokteran. Hlm 299-301.
- Jawetz E, JL Melnick, EA Adelberg, EA. 2005. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Diterjemakan oleh Bonang G. Edisi XXIV, ECG., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Jawetz Melnick, dan Adelbergs. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A., 2005, Mikrobiologi Kedokteran,315-326, 352-360, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 1996, Mikrobiologi Kedokteran, Edisi ke-20, 213, EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta
- Juliantina, F. R. 2008. Sebagai Agen Anti Bakteri Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *JKK-Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Jurian V. Yosavin 2016. *Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak daun Murbei (Morus alba L.) Terhadap Escherichia coli*. [Skripsi]. Jember; Teknologi Pertanian Universitas Jeber
- Kairupan PC, Fatimawali , Widya AL. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu (hibiscus rosa- sinesis L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Eschericia Coli. *Phrmacon jurnal ilmiah farmasi* 3:93-98
- Kementerian Kesehatan RI. 2014. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Lenny, S. 2006. Senyawa Terpenoid dan Steroid. Medan: Departemen Kimia

- List P.H.,P.C.Schmidt. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. ahli bahasa David Ellaby. Florida: CRS Press.hal 67, 71, 73, 107-111.
- Maharani E.T.W; Mukaromah A.H; Farab M.F. 2014. Uji Fitokimia eksrak daun Sukun kering (*artocarpud altilis*). *jurnal unimus*.edisi 11
- Martiasih, Maria, *et.al*.2012.Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*: Fakultas Teknologi Univesitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Martin, E. A. 2012. *Kamus Sains*. Alih bahasa oleh Ahmad Lintang Lazuardi. Jakarta: Pustaka Pelajar
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7:361-367.
- Musawwir. 2014. *Daya Hambat Antibakteri Daun Murbei (Morus alba L.) dan Penggunaannya Sebagai Konsentrat terhadap Performa Ayam Buras Petelur*. [Skripsi]. Makassar : Fakultas Peternakan Universitas Hasanudin
- Peter, Jyotsna Kiran *et.al*.2014.Antibacterial activity and of seed and leaf Extrac of *Carica papayavar* Pusa drawf Linn.*Jurnal of pharmacy and Biological Science*.vol.9;20-37
- Peter, Jyotsna Kiran *et.al*.2014.Antibacterial activity and of seed and leaf Extrac of *Carica papayavar* Pusa drawf Linn.*Jurnal of pharmacy and Biological Science*.vol.9;20-37
- Radji, M., 2011, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi &Kedokteran, Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Rahmah, Fathul, *et.al*.2017.Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap bakteri *staphylococcus aureus* MRSA: Analisis Kesehatan Politeknik Medica Farma Husada Mataram
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi . Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB Press. Bandung.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, Hal 191-216,
- Suriawiria U. 2005. Mikrobiologi Dasar. Jakarta : Paps Sinar Sinanti.
- Sutarma.2000. Jurnal Teknik Pembuatan Kultur Media Bakteri, Yusuf Hidayat dan Sutarma,Balai Penelitian Veteriner, JL.R.E Martadinata,30 Bogor 16114
- Talaro, K.P., Talaro, A.,2002. Foundations in Microbiology, 4 Th edition. Canad a: Mc Graw Hill: 612-617
- Warisno. (2003). Budidaya Pepaya. Yogyakarta. Kanisius

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan melakukan identifikasi tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 66/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Octaviana Dyah Oentari
NIM : 20144253A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Carica papaya L.*
Familia : Caricaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73a-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107a-108b-109b-134a-135b-136b-137a-138c-139b-140a-141b-142b-143b-147b-156b-157a-158b-160b-162a

77. Caricaceae

1

Carica

1

Carica papaya L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu atau pohon, menahun, tumbuh tegak, tinggi 2.5-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat, lurus, tidak berkayu, berongga di tengah, umumnya tidak bercabang, berwarna putih kotor, terdapat benjolan bekas tangkai daun yang sudah rontok, bergetah putih. Daun : tunggal, berjejal di ujung batang, bentuknya bulat, diameter 25-27 cm, ujungnya runcing, pangkalnya bertoreh, tepinya bergerigi, pertulangan menjari, permukaan gundul, bergetah putih, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda; tangkai daun bulat, berongga di bagian tengah, panjang 25-100 cm, berwarna hijau, bergetah putih. Bunga : tunggal, terdapat di ketiak daun, berkelamin satu atau berumah dua. Bunga jantan terletak pada tandan yang serupa malai, kelopak kecil, bentuk mahkota bunganya terompet, tepinya bertaju lima dan bertabung panjang dengan warna putih kekuningan, kepala sari bertangkai pendek atau duduk dan warnanya kuning. Bunga betina mahkota bunganya lepas, kepala putiknya lima, duduk, warnanya putih kekuningan, bakal buahnya beruang satu. Buah : buni, bentuknya bulat memanjang, panjang 10-25 cm, diameter 7-15 cm, berongga besar di tengah, warna hijau muda bila masih muda dan kuning-jingga bila sudah tua, bergetah putih terutama ketika muda. Biji : bulat panjang, kecil, bagian luarnya dibungkus selaput yang berisi cairan, warna putih bila masih muda dan hitam bila sudah tua.

Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002



Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Foto biji pepaya dan serbuk biji pepaya



Biji pepaya



Serbuk biji pepaya

Lampiran 3. Foto alat *Moisture balance*, evaporator dan corong pisah, timbangan, oven, vortex, autoklaf, inkas, inkubator, mikroskop.



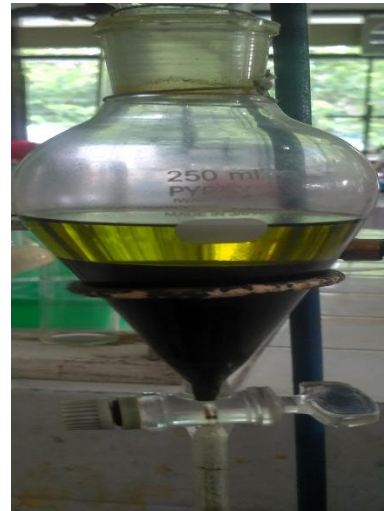
Moisture balance



evaporator



oven



corong pisah



Inkubator



Autoklaf



Vorteks



Mikroskop



Timbangan analitik



inkas

Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air biji pepaya

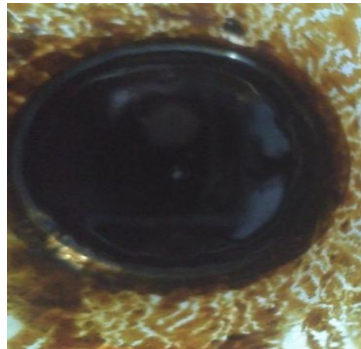
Lampiran 4. Foto ekstrak biji pepaya, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air



Fraksi *n*-heksan biji pepaya



Fraksi etil asetat biji pepaya



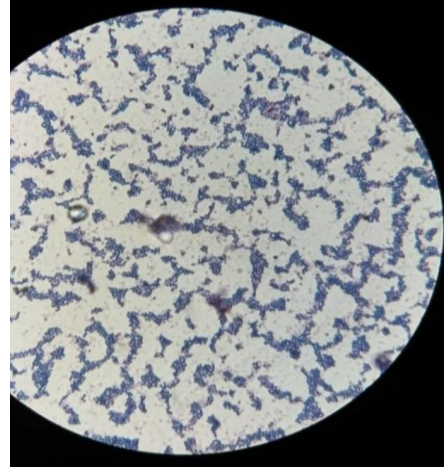
Fraksi air biji pepaya

Lampiran 5. Foto hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara mikroskopis dan makroskopis

Makroskopis



Mikroskopis

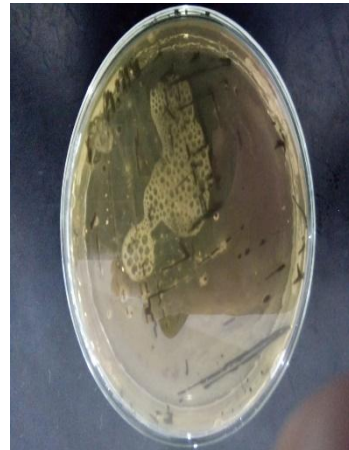


Hasil biokimia






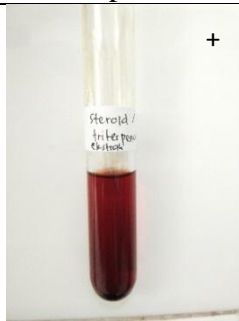
Koagulase



Katalase

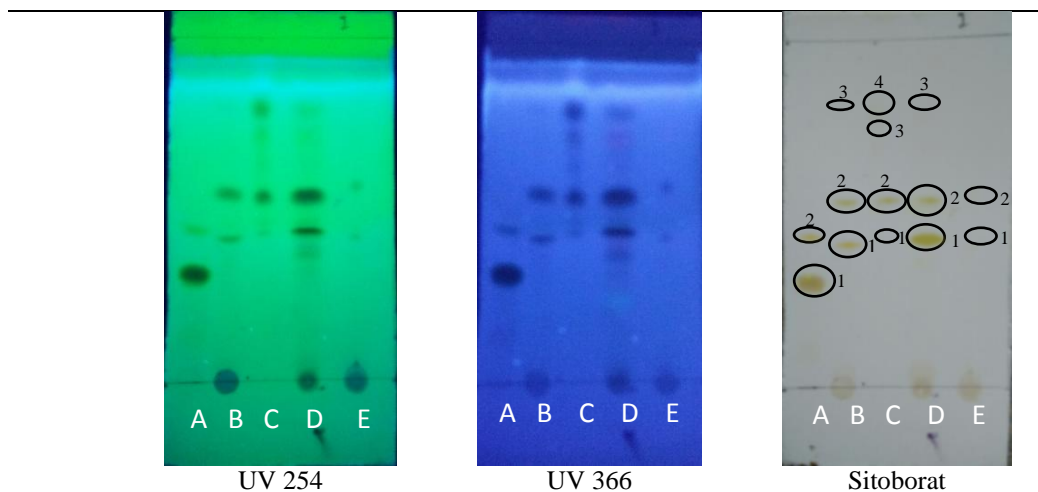


Lampiran 6. Foto identifikasi senyawa serbuk biji pepaya

Senyawa golongan	Serbuk	Ekstrak etanol
<p>Flavanoid</p> <p>Serbuk/ekstrak + 0,1 Mg + 2 ml alkohol + 2 ml HCL + amil alkohol</p>		
	Positif (merah pada amil alkohol)	
<p>Alkaloid</p> <p>Mayer : serbuk/ ekstrak + 2 tetes reagen mayer, Dragendroff : serbuk/ ekstrak + 1,5 ml HCL 2% + 2-4 tetes reagen dragendroff.</p>		
	Positif (mayer : endapan dan keruh putih; dragendroff : keruh dan endapan coklat)	
<p>Terpenoid</p> <p>Serbuk/ ekstrak + 1 tetes reagen Lieberman Bourchard (1 ml asam asetat anhidrat + 1 tetes asam sulfat pekat)</p>		
	Negatif (terpenoid : tidak terbentuk cincin coklat; steroid : tidak terbentuk cincin biru-kehijauan)	

Lampiran 7. Hasil KLT pada senyawa Flavonoid, Alkaloid dan Terpenoid

A. Identifikasi KLT senyawa Flavonoid



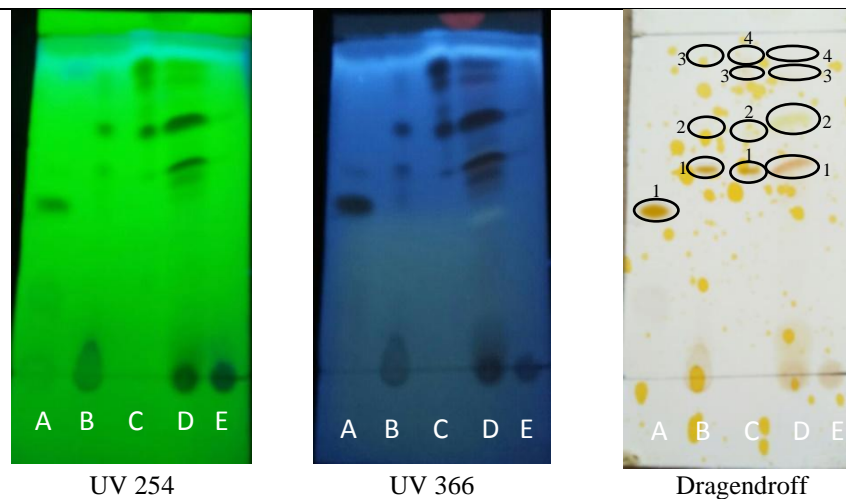
Fase gerak : *n*-heksana : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : sitoborat. Baku kuersetin (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C), fraksi etil asetat (D), fraksi air (E)

Sampel	Kode bercak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi sitoborat	Pustaka (Depkes RI 1987)	Ket
A	A ₁	0,30	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	
	A ₂	0,45	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	
B	B ₁	0,41	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	B ₂	0,55	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	B ₃	0,83	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
C	C ₁	0,40	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
	C ₂	0,55	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	C ₃	0,73	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
	C ₄	0,83	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
D	D ₁	0,40	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	D ₂	0,55	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	D ₃	0,83	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
E	E ₁	0,40	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	E ₂	0,46	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+

$$\text{Contoh perhitungan Rf} = \frac{\text{jarak bercak senyawa (x)}}{\text{jarak fase gerak (y)}}$$

$$A_1 = \frac{1,8}{6} = 0,30$$

B. Identifikasi KLT senyawa Alkaloid



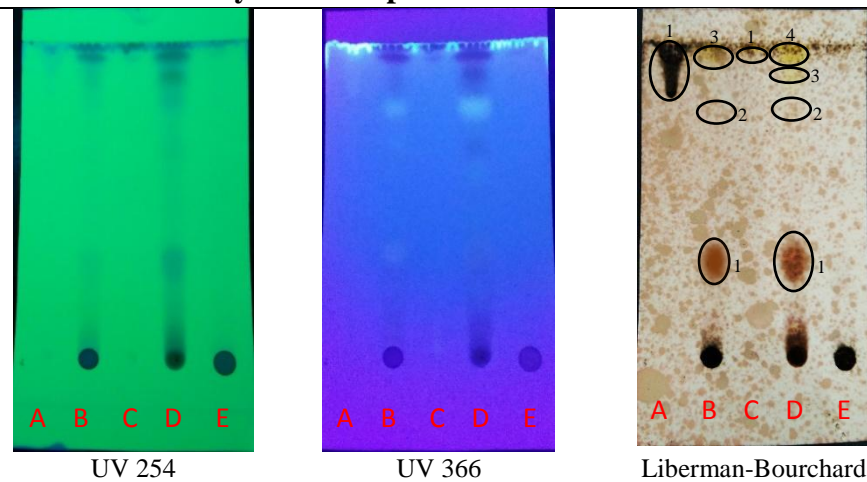
Fase gerak toluen : etil asetat : dietil amin (7:2:1). Fase diam : silika gel GF₂₅₄.
 Pereaksi : Dragendorff. Baku kafein (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C),
 fraksi etil asetat (D), fraksi air (E)

Sampel	Kode bercak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Dragendorff	Pustaka (Meiyanto 2002)	Ket
A	A ₁	0,48	Gelap	Hitam	Merah bata	Merah bata	
B	B ₁	0,61	Gelap	Hitam	Coklat	Merah bata	-
	B ₂	0,75	Gelap	Hitam	-	Merah bata	-
	B ₃	0,95	Gelap	Hitam	-	Merah bata	-
C	C ₁	0,6	Gelap	Hitam	Coklat	Merah bata	-
	C ₂	0,73	Gelap	Hitam	-	Merah bata	-
	C ₃	0,91	Gelap	Hitam	-	Merah bata	-
	C ₄	0,95	Gelap	Hitam	-	Merah bata	-
D	D ₁	0,61	Gelap	Hitam	Merah bata	Merah bata	+
	D ₂	0,75	Gelap	Hitam	Hijau	Merah bata	-
	D ₃	0,91	Gelap	Hitam	-	Merah bata	-
	D ₄	0,95	Gelap	Hitam	-	Merah bata	-
E	-	-	-	-	-	Merah bata	-

Contoh perhitungan Rf = $\frac{\text{jarak bercak senyawa (x)}}{\text{jarak fase gerak (y)}}$

$$B_1 = \frac{3,7}{6} = 0,6$$

C. Identifikasi KLT senyawa triterpenoid



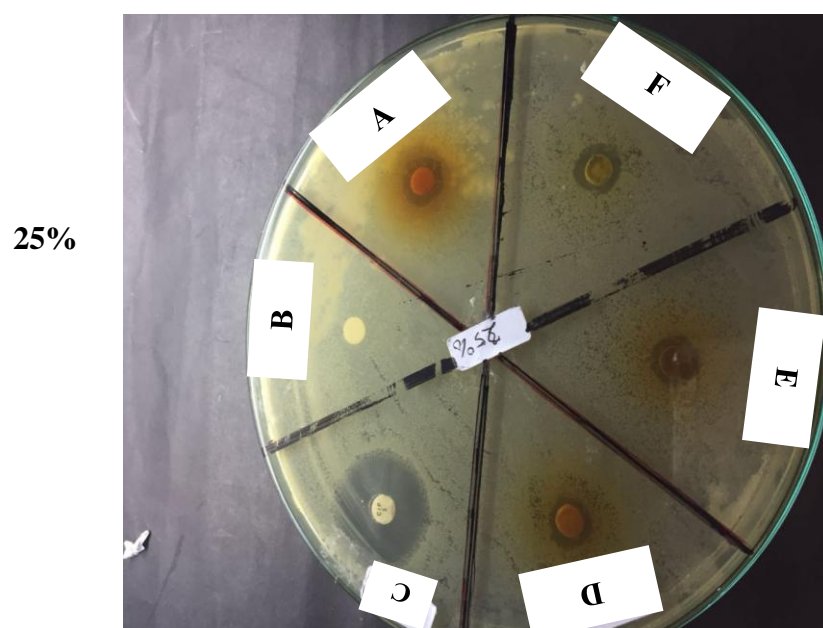
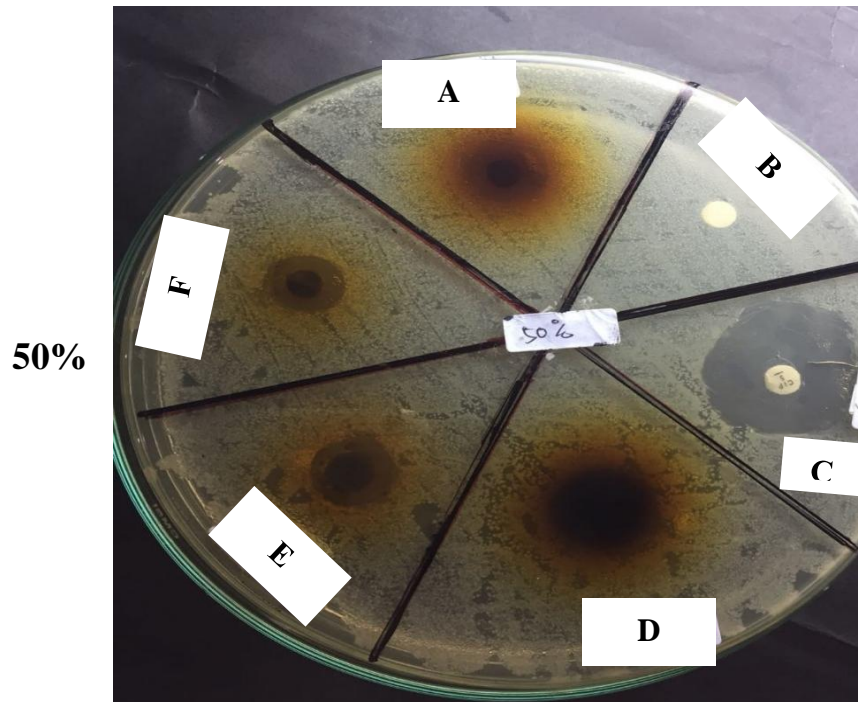
Fase gerak *n*-heksan : etil asetat (4:1). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : Lieberman-Bourchard. Baku stigmasterol (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C), fraksi etil asetat (D), fraksi air (E).

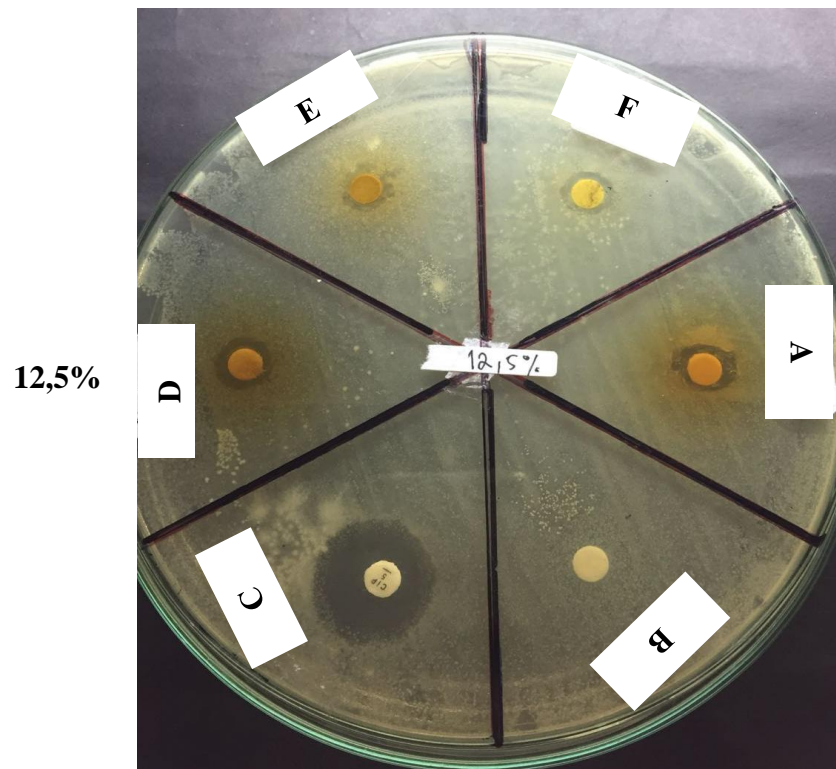
Sampel	Kode berkak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Lieberman burchard	Pustaka (Robinson 1995)	Ket
A	A ₁	0,91	Gelap	Biru	Merah-hitam	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	
B	B ₁	0,3	Gelap	Biru	Merah-ungu	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	+
	B ₂	0,76	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
	B ₃	0,95	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
C	C ₁	0,96	Gelap	Biru	Coklat-kuning	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	-
D	D ₁	0,30	Gelap	Biru	Merah-ungu	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	+
	D ₂	0,76	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
	D ₃	0,9	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
	D ₄	0,95	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
E	-	-	-	-	Tidak ada perubahan	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	-

Contoh perhitungan $R_f = \frac{\text{jarak bercak senyawa (x)}}{\text{jarak fase gerak (y)}}$

$$D_1 = \frac{1,8}{6} = 0,30$$

Lampiran 8. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak biji pepaya secara difusi pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923





Keterangan :

A : Fraksi air

B :DMSO 5%

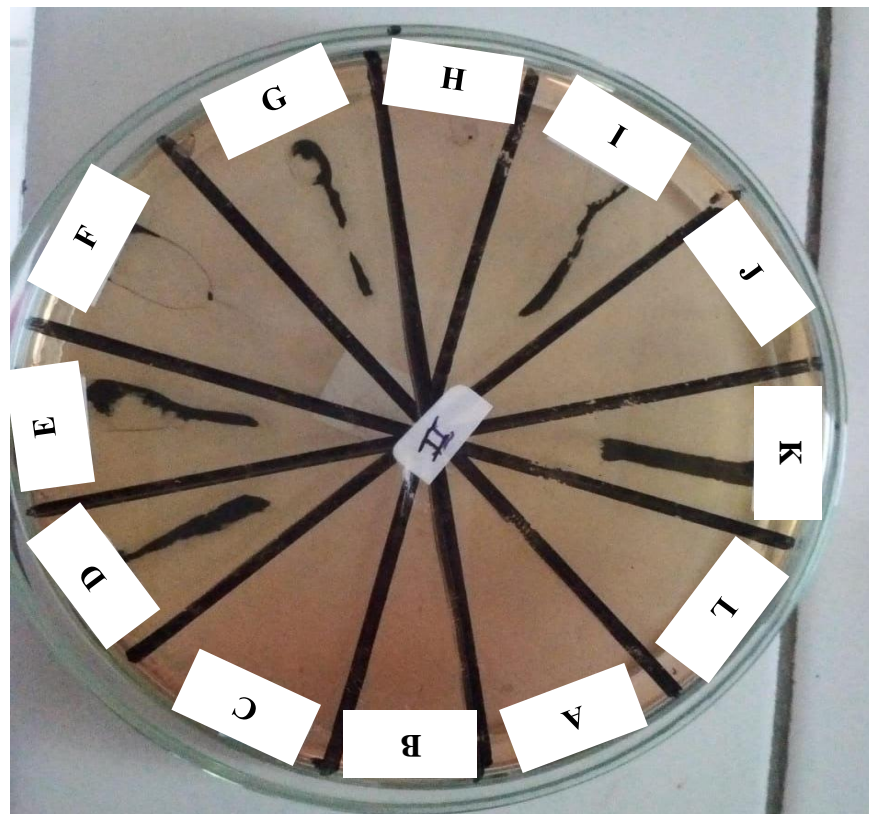
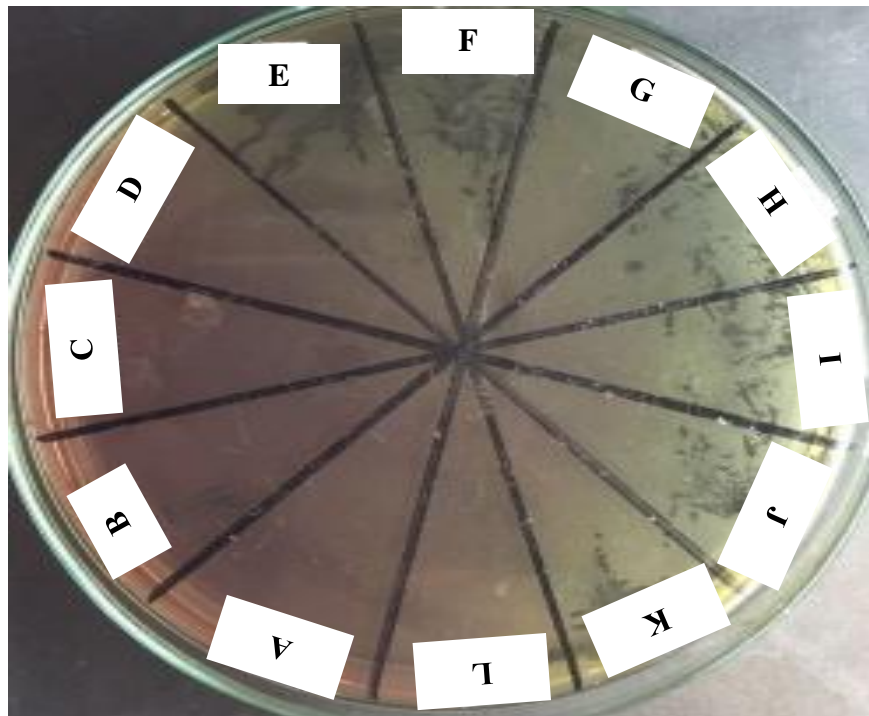
C : Ciprofloksasin

D : Ekstrak

E : Fraksi *n*-heksan

F : Fraksi etil

Lampiran 9. Hasil dilusi fraksi etil asetat biji pepaya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Keterangan :

A : 50%

G : 0,78%

B : 25%

H : 0,39%

C : 12,5%

I : 0,19%

D : 6,25%

J : 0,09%

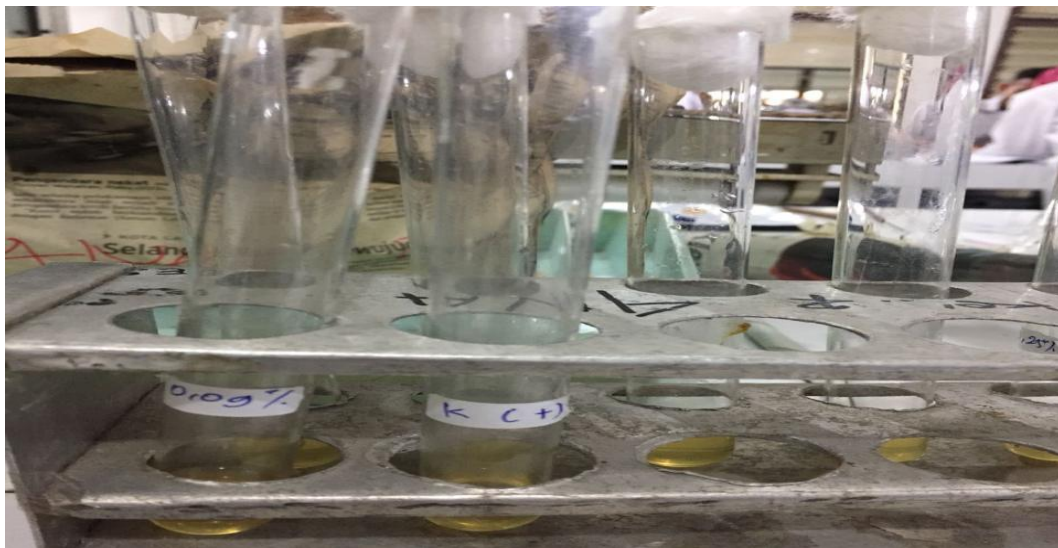
E : 3,12 %

K : Kontrol (+)

F : 1,56%

L : Kontrol (-)





Hasil dilusi fraksi etil asetat biji pepaya

Lampiran 10. Hasil perhitungan rendemen simplisia biji pepaya

Bobot basah(g)	Bobot kering(g)	Rendemen (%b/b)
5000	3000	60%

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen serbuk} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{3000 \text{ (g)}}{5000 \text{ (g)}} \times 100 \% \\
 &= 60\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 11. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air biji pepaya**Prosentase bobot ekstrak maserasi biji pepaya**

Serbuk biji pepaya (g)	Hasil ekstrak kental (g)	Rendemen ekstrak (%)
800	361	45

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen ekstrak etanolik} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{361 \text{ (g)}}{800 \text{ (g)}} \times 100 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. Hasil fraksi ekstrak etanol biji pepaya

Bobot (gram)	Berat fraksi (gram)			Rendemen (%)		
	<i>n</i> -Heksan	Etil asetat	Air	<i>n</i> -Heksan	Etil asetat	Air
10	0,90	1,32	5,22	9,0	13,2	52,2
10	0,93	1,35	5,31	9,2	13,5	53,0
10	0,88	1,29	5,29	8,8	13,9	53,0
Rata-rata	0,90	1,37	5,27	9,0	13,5	52,7

Perhitungan rendeman fraksi *n*-heksan

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{berat ekstrak (gram)}} \times 100\%$$

- Rendemen = $\frac{0,90 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 9,0\%$
- Rendemen = $\frac{0,92 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 9,2\%$
- Rendemen = $\frac{0,88 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 8,8\%$

Kesimpulan: prosentase rata-rata fraksi *n*- heksan dari ekstrak biji pepaya adalah 9%

Perhitungan rendeman fraksi etil asetat

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{berat ekstrak (gram)}} \times 100\%$$

- Rendemen = $\frac{1,32 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 13,2\%$
- Rendemen = $\frac{1,35 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 13,5\%$

- Rendemen = $\frac{1,29 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 12,9\%$

Kesimpulan: prosentase rata-rata fraksi etil asetat dari ekstrak biji pepaya adalah 13,2%.

Perhitungan rendemen fraksi air

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{berat ekstrak (gram)}} \times 100\%$$

- Rendemen = $\frac{5,22 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 52,2\%$

- Rendemen = $\frac{5,31 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 53,0\%$

-

- Rendemen = $\frac{5,30 \text{ (gram)}}{10 \text{ (gram)}} \times 100\% = 53,0\%$

-

Kesimpulan: prosentase rata-rata fraksi air dari ekstrak biji pepaya adalah 52,7%.

Lampiran 13. Pembuatan larutan stok uji difusi dan dilusi

A. Larutan stok difusi

$$\begin{aligned} 25\% \text{ b}_v &= \frac{25 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \\ &= 0,5 \text{ g} / 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Ditimbang 0,5 gram ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air biji pepaya kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% sebanyak 2 ml.

B. Larutan stok dilusi

$$\text{Larutan stok } 50\% \quad = \% \text{b/v} = 50 \text{g}/100 \text{ml}$$

$$\text{Konsentrasi } 50\% \quad = 2 \text{g}/4 \text{ml}$$

- Ditimbang 2 gram fraksi etil asetat kemudian dimasukkan kedalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 4ml

Tabung reaksi 3 sampai 11 diisi BHI terlebih dahulu

1. Konsentrasi 50%

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 2

2. Konsentrasi 25%

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 3 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

3. Konsentrasi 12,5% $= V.C(25\%) = V (1ml). C(12,5\%)$

$$V = 0,5ml$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (25%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 4 yang telah berisi BHI ad 1ml.

4. Konsentrasi 6,255% $= V.C(12,5\%) = V (1ml). C(6,25\%)$

$$V = 0,5ml$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (12,5%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 5 yang telah berisi BHI ad 1ml.

5. Konsentrasi 3,125% $= V.C(6,25\%) = V (1ml). C(3,125\%)$

$$V = 0,5ml$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (6,25%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 6 yang telah berisi BHI ad 1ml.

6. Konsentrasi 1,563% $= V.C(3,125\%) = V (1ml). C(1,563\%)$

$$V = 0,5ml$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (3,125%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 7 yang telah berisi BHI ad 1ml.

7. Konsentrasi 0,781% $= V.C(1,563\%) = V (1ml). C(0,781\%)$

$$V = 0,5ml$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (1,563) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 8 yang telah berisi BHI ad 1ml.

8. Konsentrasi 0,391% $= V.C(0,781\%) = V (1ml). C(0,391\%)$

$$V = 0,5ml$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,781%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 9 yang telah berisi BHI ad 1ml.

9. Konsentrasi 0,196% $= V.C(0,391\%) = V (1ml). C(0,196\%)$

$$V = 0,5\text{ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,391%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 10 yang telah berisi BHI ad 1ml.

$$10. \text{Konsentrasi } 0,098\% = V.C(0,196\%) = V(1\text{ml}). C(0,098\%)$$

$$V = 0,5\text{ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,196%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 11 yang telah berisi BHI ad 1ml. dipipet dari tabung 11 sebanyak 0,5ml kemudian dibuang.

Dari tabung reaksi 2 sampai tabung reaksi 11 masing-masing dimasukkan 0,5 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Lampiran 14. Komposisi dan pembuatan media

1. Brain Heart Infusion (BHI)

Komposisi: Sari otak sapi	12 g
Sari jantung sapi.....	5 g
Proteose peptone	10 g
Bacto dextrose	2 g
NaCl	5 g
Dinatrium Fosfor	2,5 g
Bacto agar.....	15 g
Aquadest ad	1 L
pH =	7.4±0,2

Reagen tersebut diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml. Dipanaskan sampai larut sempurna, dituangkan dalam tabung reaksi steril, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

2. Formulasi dan pembuatan Vogel Jhonson Agar (VJA)

Peptone dari kasein	10,0 g
Ekstrak ragi	5,0 g
Hidrogen fosfat.....	5,0 g
D (-) Manitol	10,0 g
Klorida lithium.....	5,0 g
Glisine	10,0 g

Phenol red0,025 g

Agar13,0 g

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

3. Formulasi dan pembuatan Muller Hinton Agar (MHA)

Beef Extract 2g

Acid Hydrolysate of Casein 17,5 g

Starch 1,5 g

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000ml, dipanaskan sampai lrut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

4. Pembuatan suspensi Mc Farland 0,5

Suspensi Standart Mc. Farland adalah suspensi yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 108CFU/ml.

Komposisi:

Larutan Asam Sulfat.....1 % b/v 9,5 ml

Larutan Barium klorida.....1,175% v/v 0,5 ml

Cara pembuatan:

Dicampur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standart, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah 108 CFU/ml (Bridson 1998).

Lampiran 15. Hasil analisis data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameterhambat	42	9.6905	4.84636	.00	19.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameterhambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.6905
	Std. Deviation	4.84636
Most Extreme Differences	Absolute	.123
	Positive	.103
	Negative	-.123
Kolmogorov-Smirnov Z		.795
Asymp. Sig. (2-tailed)		.552

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Diameterhambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.692	13	28	.002

ANOVA

Diameterhambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	937.643	13	72.126	79.719	.000
Within Groups	25.333	28	.905		
Total	962.976	41			

Multiple Comparisons

Diameterhambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 50%	ekstrak etanol 25%	.00000	.77664	1.000	-2.8428	2.8428
	ekstrak etanol 12,5%	1.66667	.77664	.667	-1.1762	4.5095
	fraksi n-heksan 50%	1.00000	.77664	.987	-1.8428	3.8428
	fraksi n-heksan 25%	3.66667*	.77664	.004	.8238	6.5095
	fraksi n-heksan 12,5%	4.33333*	.77664	.000	1.4905	7.1762
	fraksi etil asetat 50%	-6.00000*	.77664	.000	-8.8428	-3.1572
	fraksi etil asetat 25%	-3.33333*	.77664	.011	-6.1762	-.4905
	fraksi etil asetat 12,5%	-.33333	.77664	1.000	-3.1762	2.5095
	fraksi air 50%	3.33333*	.77664	.011	.4905	6.1762
	fraksi air 25%	3.66667*	.77664	.004	.8238	6.5095
	fraksi air 12,5%	7.00000*	.77664	.000	4.1572	9.8428
	Ciprofloksasin	-7.66667*	.77664	.000	-10.5095	-4.8238
	DMSO 5%	11.00000*	.77664	.000	8.1572	13.8428
ekstrak etanol 25%	ekstrak etanol 50%	.00000	.77664	1.000	-2.8428	2.8428
	ekstrak etanol 12,5%	1.66667	.77664	.667	-1.1762	4.5095
	fraksi n-heksan 50%	1.00000	.77664	.987	-1.8428	3.8428
	fraksi n-heksan 25%	3.66667*	.77664	.004	.8238	6.5095
	fraksi n-heksan 12,5%	4.33333*	.77664	.000	1.4905	7.1762
	fraksi etil asetat 50%	-6.00000*	.77664	.000	-8.8428	-3.1572

	fraksi etil asetat 25%	-3.33333*	.77664	.011	-6.1762	-.4905
	fraksi etil asetat 12,5%	-.333333	.77664	1.000	-3.1762	2.5095
	fraksi air 50%	3.33333*	.77664	.011	.4905	6.1762
	fraksi air 25%	3.66667*	.77664	.004	.8238	6.5095
	fraksi air 12,5%	7.00000*	.77664	.000	4.1572	9.8428
	Ciprofloksasin	-7.66667*	.77664	.000	-10.5095	-4.8238
	DMSO 5%	11.00000*	.77664	.000	8.1572	13.8428
ekstrak etanol 12,5%	ekstrak etanol 50%	-1.66667	.77664	.667	-4.5095	1.1762
	ekstrak etanol 25%	-1.66667	.77664	.667	-4.5095	1.1762
	fraksi n-heksan 50%	-.66667	.77664	1.000	-3.5095	2.1762
	fraksi n-heksan 25%	2.00000	.77664	.397	-.8428	4.8428
	fraksi n-heksan 12,5%	2.66667	.77664	.082	-.1762	5.5095
	fraksi etil asetat 50%	-7.66667*	.77664	.000	-10.5095	-4.8238
	fraksi etil asetat 25%	-5.00000*	.77664	.000	-7.8428	-2.1572
	fraksi etil asetat 12,5%	-2.00000	.77664	.397	-4.8428	.8428
	fraksi air 50%	1.66667	.77664	.667	-1.1762	4.5095
	fraksi air 25%	2.00000	.77664	.397	-.8428	4.8428
	fraksi air 12,5%	5.33333*	.77664	.000	2.4905	8.1762
	Ciprofloksasin	-9.33333*	.77664	.000	-12.1762	-6.4905
	DMSO 5%	9.33333*	.77664	.000	6.4905	12.1762
	fraksi n-heksan 50% ekstrak etanol 50%	ekstrak etanol 25%	-1.00000	.77664	.987	-3.8428
ekstrak etanol 12,5%		.66667	.77664	1.000	-2.1762	3.5095
fraksi n-heksan 25%		2.66667	.77664	.082	-.1762	5.5095
fraksi n-heksan 12,5%		3.33333*	.77664	.011	.4905	6.1762
fraksi etil asetat 50%		-7.00000*	.77664	.000	-9.8428	-4.1572
fraksi etil asetat 25%		-4.33333*	.77664	.000	-7.1762	-1.4905
fraksi etil asetat 12,5%		-1.333333	.77664	.893	-4.1762	1.5095
fraksi air 50%		2.333333	.77664	.195	-.5095	5.1762
fraksi air 25%		2.66667	.77664	.082	-.1762	5.5095
fraksi air 12,5%		6.00000*	.77664	.000	3.1572	8.8428
Ciprofloksasin		-8.66667*	.77664	.000	-11.5095	-5.8238

	DMSO 5%	10.00000*	.77664	.000	7.1572	12.8428
fraksi n-heksan 25% 12,5%	ekstrak etanol 50%	-3.66667*	.77664	.004	-6.5095	-.8238
	ekstrak etanol 25%	-3.66667*	.77664	.004	-6.5095	-.8238
	ekstrak etanol 12,5%	-2.00000	.77664	.397	-4.8428	.8428
	fraksi n-heksan 50%	-2.66667	.77664	.082	-5.5095	.1762
	fraksi n-heksan 12,5%	.66667	.77664	1.000	-2.1762	3.5095
	fraksi etil asetat 50%	-9.66667*	.77664	.000	-12.5095	-6.8238
	fraksi etil asetat 25%	-7.00000*	.77664	.000	-9.8428	-4.1572
	fraksi etil asetat 12,5%	-4.00000*	.77664	.001	-6.8428	-1.1572
	fraksi air 50%	-.33333	.77664	1.000	-3.1762	2.5095
	fraksi air 25%	.00000	.77664	1.000	-2.8428	2.8428
	fraksi air 12,5%	3.33333*	.77664	.011	.4905	6.1762
	Ciprofloksasin	-11.33333*	.77664	.000	-14.1762	-8.4905
	DMSO 5%	7.33333*	.77664	.000	4.4905	10.1762
fraksi n-heksan 12,5%	ekstrak etanol 50%	-4.33333*	.77664	.000	-7.1762	-1.4905
	ekstrak etanol 25%	-4.33333*	.77664	.000	-7.1762	-1.4905
	ekstrak etanol 12,5%	-2.66667	.77664	.082	-5.5095	.1762
	fraksi n-heksan 50%	-3.33333*	.77664	.011	-6.1762	-.4905
	fraksi n-heksan 25%	-.66667	.77664	1.000	-3.5095	2.1762
	fraksi etil asetat 50%	-10.33333*	.77664	.000	-13.1762	-7.4905
	fraksi etil asetat 25%	-7.66667*	.77664	.000	-10.5095	-4.8238
	fraksi etil asetat 12,5%	-4.66667*	.77664	.000	-7.5095	-1.8238
	fraksi air 50%	-1.00000	.77664	.987	-3.8428	1.8428
	fraksi air 25%	-.66667	.77664	1.000	-3.5095	2.1762
	fraksi air 12,5%	2.66667	.77664	.082	-.1762	5.5095
	Ciprofloksasin	-12.00000*	.77664	.000	-14.8428	-9.1572
	DMSO 5%	6.66667*	.77664	.000	3.8238	9.5095
fraksi etil asetat 50%	ekstrak etanol 50%	6.00000*	.77664	.000	3.1572	8.8428
	ekstrak etanol 25%	6.00000*	.77664	.000	3.1572	8.8428
	ekstrak etanol 12,5%	7.66667*	.77664	.000	4.8238	10.5095
	fraksi n-heksan 50%	7.00000*	.77664	.000	4.1572	9.8428
	fraksi n-heksan 25%	9.66667*	.77664	.000	6.8238	12.5095

	fraksi n-heksan 12,5%	10.33333 [*]	.77664	.000	7.4905	13.1762
	fraksi etil asetat 25%	2.66667	.77664	.082	-.1762	5.5095
	fraksi etil asetat 12,5%	5.66667 [*]	.77664	.000	2.8238	8.5095
	fraksi air 50%	9.33333 [*]	.77664	.000	6.4905	12.1762
	fraksi air 25%	9.66667 [*]	.77664	.000	6.8238	12.5095
	fraksi air 12,5%	13.00000 [*]	.77664	.000	10.1572	15.8428
	Ciprofloksasin	-1.66667	.77664	.667	-4.5095	1.1762
	DMSO 5%	17.00000 [*]	.77664	.000	14.1572	19.8428
fraksi etil asetat 25%	ekstrak etanol 50%	3.33333 [*]	.77664	.011	.4905	6.1762
	ekstrak etanol 25%	3.33333 [*]	.77664	.011	.4905	6.1762
	ekstrak etanol 12,5%	5.00000 [*]	.77664	.000	2.1572	7.8428
	fraksi n-heksan 50%	4.33333 [*]	.77664	.000	1.4905	7.1762
	fraksi n-heksan 25%	7.00000 [*]	.77664	.000	4.1572	9.8428
	fraksi n-heksan 12,5%	7.66667 [*]	.77664	.000	4.8238	10.5095
	fraksi etil asetat 50%	-2.66667	.77664	.082	-5.5095	.1762
	fraksi etil asetat 12,5%	3.00000 [*]	.77664	.031	.1572	5.8428
	fraksi air 50%	6.66667 [*]	.77664	.000	3.8238	9.5095
	fraksi air 25%	7.00000 [*]	.77664	.000	4.1572	9.8428
	fraksi air 12,5%	10.33333 [*]	.77664	.000	7.4905	13.1762
	Ciprofloksasin	-4.33333 [*]	.77664	.000	-7.1762	-1.4905
	DMSO 5%	14.33333 [*]	.77664	.000	11.4905	17.1762
fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak etanol 50%	.33333	.77664	1.000	-2.5095	3.1762
	ekstrak etanol 25%	.33333	.77664	1.000	-2.5095	3.1762
	ekstrak etanol 12,5%	2.00000	.77664	.397	-.8428	4.8428
	fraksi n-heksan 50%	1.33333	.77664	.893	-1.5095	4.1762
	fraksi n-heksan 25%	4.00000 [*]	.77664	.001	1.1572	6.8428
	fraksi n-heksan 12,5%	4.66667 [*]	.77664	.000	1.8238	7.5095
	fraksi etil asetat 50%	-5.66667 [*]	.77664	.000	-8.5095	-2.8238
	fraksi etil asetat 25%	-3.00000 [*]	.77664	.031	-5.8428	-.1572
	fraksi air 50%	3.66667 [*]	.77664	.004	.8238	6.5095
	fraksi air 25%	4.00000 [*]	.77664	.001	1.1572	6.8428
fraksi air 12,5%	7.33333 [*]	.77664	.000	4.4905	10.1762	

	Ciprofloksasin	-7.33333*	.77664	.000	-10.1762	-4.4905
	DMSO 5%	11.33333*	.77664	.000	8.4905	14.1762
fraksi air 50%	ekstrak etanol 50%	-3.33333*	.77664	.011	-6.1762	-.4905
	ekstrak etanol 25%	-3.33333*	.77664	.011	-6.1762	-.4905
	ekstrak etanol 12,5%	-1.66667	.77664	.667	-4.5095	1.1762
	fraksi n-heksan 50%	-2.33333	.77664	.195	-5.1762	.5095
	fraksi n-heksan 25%	.33333	.77664	1.000	-2.5095	3.1762
	fraksi n-heksan 12,5%	1.00000	.77664	.987	-1.8428	3.8428
	fraksi etil asetat 50%	-9.33333*	.77664	.000	-12.1762	-6.4905
	fraksi etil asetat 25%	-6.66667*	.77664	.000	-9.5095	-3.8238
	fraksi etil asetat 12,5%	-3.66667*	.77664	.004	-6.5095	-.8238
	fraksi air 25%	.33333	.77664	1.000	-2.5095	3.1762
	fraksi air 12,5%	3.66667*	.77664	.004	.8238	6.5095
	Ciprofloksasin	-11.00000*	.77664	.000	-13.8428	-8.1572
	DMSO 5%	7.66667*	.77664	.000	4.8238	10.5095
fraksi air 25%	ekstrak etanol 50%	-3.66667*	.77664	.004	-6.5095	-.8238
	ekstrak etanol 25%	-3.66667*	.77664	.004	-6.5095	-.8238
	ekstrak etanol 12,5%	-2.00000	.77664	.397	-4.8428	.8428
	fraksi n-heksan 50%	-2.66667	.77664	.082	-5.5095	.1762
	fraksi n-heksan 25%	.00000	.77664	1.000	-2.8428	2.8428
	fraksi n-heksan 12,5%	.66667	.77664	1.000	-2.1762	3.5095
	fraksi etil asetat 50%	-9.66667*	.77664	.000	-12.5095	-6.8238
	fraksi etil asetat 25%	-7.00000*	.77664	.000	-9.8428	-4.1572
	fraksi etil asetat 12,5%	-4.00000*	.77664	.001	-6.8428	-1.1572
	fraksi air 50%	-.33333	.77664	1.000	-3.1762	2.5095
	fraksi air 12,5%	3.33333*	.77664	.011	.4905	6.1762
	Ciprofloksasin	-11.33333*	.77664	.000	-14.1762	-8.4905
	DMSO 5%	7.33333*	.77664	.000	4.4905	10.1762
fraksi air 12,5%	ekstrak etanol 50%	-7.00000*	.77664	.000	-9.8428	-4.1572
	ekstrak etanol 25%	-7.00000*	.77664	.000	-9.8428	-4.1572
	ekstrak etanol 12,5%	-5.33333*	.77664	.000	-8.1762	-2.4905
	fraksi n-heksan 50%	-6.00000*	.77664	.000	-8.8428	-3.1572

	fraksi n-heksan 25%	-3.33333*	.77664	.011	-6.1762	-.4905
	fraksi n-heksan 12,5%	-2.66667	.77664	.082	-5.5095	.1762
	fraksi etil asetat 50%	-13.00000*	.77664	.000	-15.8428	-10.1572
	fraksi etil asetat 25%	-10.33333*	.77664	.000	-13.1762	-7.4905
	fraksi etil asetat 12,5%	-7.33333*	.77664	.000	-10.1762	-4.4905
	fraksi air 50%	-3.66667*	.77664	.004	-6.5095	-.8238
	fraksi air 25%	-3.33333*	.77664	.011	-6.1762	-.4905
	Ciprofloksasin	-14.66667*	.77664	.000	-17.5095	-11.8238
	DMSO 5%	4.00000*	.77664	.001	1.1572	6.8428
Ciprofloksasin	ekstrak etanol 50%	7.66667*	.77664	.000	4.8238	10.5095
	ekstrak etanol 25%	7.66667*	.77664	.000	4.8238	10.5095
	ekstrak etanol 12,5%	9.33333*	.77664	.000	6.4905	12.1762
	fraksi n-heksan 50%	8.66667*	.77664	.000	5.8238	11.5095
	fraksi n-heksan 25%	11.33333*	.77664	.000	8.4905	14.1762
	fraksi n-heksan 12,5%	12.00000*	.77664	.000	9.1572	14.8428
	fraksi etil asetat 50%	1.66667	.77664	.667	-1.1762	4.5095
	fraksi etil asetat 25%	4.33333*	.77664	.000	1.4905	7.1762
	fraksi etil asetat 12,5%	7.33333*	.77664	.000	4.4905	10.1762
	fraksi air 50%	11.00000*	.77664	.000	8.1572	13.8428
	fraksi air 25%	11.33333*	.77664	.000	8.4905	14.1762
	fraksi air 12,5%	14.66667*	.77664	.000	11.8238	17.5095
	DMSO 5%	18.66667*	.77664	.000	15.8238	21.5095
DMSO 5%	ekstrak etanol 50%	-11.00000*	.77664	.000	-13.8428	-8.1572
	ekstrak etanol 25%	-11.00000*	.77664	.000	-13.8428	-8.1572
	ekstrak etanol 12,5%	-9.33333*	.77664	.000	-12.1762	-6.4905
	fraksi n-heksan 50%	-10.00000*	.77664	.000	-12.8428	-7.1572
	fraksi n-heksan 25%	-7.33333*	.77664	.000	-10.1762	-4.4905
	fraksi n-heksan 12,5%	-6.66667*	.77664	.000	-9.5095	-3.8238
	fraksi etil asetat 50%	-17.00000*	.77664	.000	-19.8428	-14.1572
	fraksi etil asetat 25%	-14.33333*	.77664	.000	-17.1762	-11.4905
	fraksi etil asetat 12,5%	-11.33333*	.77664	.000	-14.1762	-8.4905
	fraksi air 50%	-7.66667*	.77664	.000	-10.5095	-4.8238

fraksi air 25%	-7.33333*	.77664	.000	-10.1762	-4.4905
fraksi air 12,5%	-4.00000*	.77664	.001	-6.8428	-1.1572
Ciprofloksasin	-18.66667*	.77664	.000	-21.5095	-15.8238

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

diameterhambat

Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
DMSO 5%	3	.0000						
fraksi air 12,5%	3		4.0000					
fraksi n-heksan 12,5%	3		6.6667	6.6667				
fraksi n-heksan 25%	3			7.3333	7.3333			
fraksi air 25%	3			7.3333	7.3333			
fraksi air 50%	3			7.6667	7.6667			
ekstrak etanol 12,5%	3			9.3333	9.3333	9.3333		
fraksi n-heksan 50%	3				10.0000	10.0000		
ekstrak etanol 50%	3					11.0000		
ekstrak etanol 25%	3					11.0000		
fraksi etil asetat 12,5%	3					11.3333		
fraksi etil asetat 25%	3						14.3333	
fraksi etil asetat 50%	3						17.0000	17.0000
Ciprofloksasin	3							18.6667
Sig.		1.000	.082	.082	.082	.397	.082	.667

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.