

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Pertama, ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun pepaya (*Carica papaya* L.) mampu menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Kedua, fraksi etil asetat daun pepaya merupakan fraksi paling efektif sebagai antibiofilm terhadap *S. mutans* ATCC 25175.

Ketiga, nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun pepaya adalah 21,4 mg/ml; 16,96 mg/ml; 9,69 mg/ml; dan 29,4 mg/ml yang berarti keempat sampel sangat kuat menghambat biofilm *S. mutans* ATCC 25175 ( $IC_{50} < 50$  mg/ml).

#### **B. Saran**

Peneliti menyarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas degradasi biofilm ekstrak daun pepaya terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175. Peneliti juga menyarankan untuk dilakukan identifikasi senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibiofilm terhadap *S. mutans* ATCC 25175 karena ekstrak dan fraksi daun pepaya memiliki potensi yang baik dalam menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme yang terjadi pada aktivitas terhadap biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama H, Fuji K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. 2001. Antibacterial action of several tanins against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 48:487-491.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Jakarta: Universitas Indonesia. hlm 605-619.
- Arumugam N, Boobalan T, Rajeswari PR, Duraimurugan MD. 2014. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Cynodon dactylon* and *Carica papaya*. *RIB* 5:21-31.
- Banu RH, Nagarajan N. 2014. TLC and HPTLC fingerprinting of leaf extracts of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merrill. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2:29-33.
- Basset *et al.* 1994. *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: EGC.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, and Adelberg*. Ed ke-23. Jakarta: EGC.
- Cappucino JG, Sherman, Natalie. 1983. *Microbiology a Laboratory Manual*. New York: Addison Wesley Publishing Company. hlm 365-371.
- Cavaliere R, Ball JL, Turnbull L, Whitchurch CB. 2014. The biofilm matrix destabilizers, EDTA and DNaseI, enhance the susceptibility of nontypeable *Hemophilus influenza* biofilms to treatment with ampicillin and ciprofloxacin. *Microbiology Open* 3:557-567.
- Chaineib *et al.* 2011. Complementary and alternative medicine use among adults. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 11:103-108.
- Cobrado L, Azevedo MM, Silva A. 2012. Cerium, chitosan, and hamamelitannin as novel biofilm inhibitors. *J Antimicrob Chemother* 67:1159-1162.
- Davey EM, O'Toole AG. 2000. Microbial biofilm: from ecology to molecular typing of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Mol Biol* 64:847-867.
- Davies DG, Marques CN. 2009. A fatty acid is responsible for inducing dispersion in microbial biofilms. *Journal of Bacteriology* 191:1393-1403.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika*. Ed ke-3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 11.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 57-58.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Donlan RM. 2002. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases* 8:881-890.
- Ekajayanti K, Syamsul F, Novik N. 2016. Aktivitas antibiofilm ekstrak air daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. *Current Biochemistry* 2:150-163.
- Gandjar IG. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. hlm 220.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid ke-1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gursoy *et al.* 2009. Antibiofilm properties of *Satureja hortensis* L. essential oil against periodontal pathogens. *Anaerobe* 15:164-167.
- Hadioetaomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik Dan Praktek Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 42-44.
- Hapsari ND, Almira H. 2017. Efek ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. *Prodenta journal of dentistry* 1:24-34.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia dan Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung:Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia dan Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Cetakan ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung:Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia dan Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-26. Hartanto, penerjemah; Jakarta: EGC.
- Kalie MB. 1994. *Bertanam Pepaya*. Jakarta: Niaga Swadaya.
- [Kemenkes RI] Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia Suplemen III*. Edisi ke-1. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

- Kidd, Bechal. 2008. *Essential of Dental Caries*. Ed ke-3. Newyork: Oxford Universiy Press.
- Kidd, Edwina AM, Bechal, Sally J. 2013. *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangan*. Jakarta: EGC.
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, Kurniadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Lay BW. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Lee JH *et al.* 2011. Apple flavonoid phloretin inhibits *Escherichia coli* O157:H7 biofilm formation and ameliorates colon inflammation in rats. *Infect Immun* 79:4819-27.
- Lee JH *et al.* 2013. Antibiofilm activities of quercetin and tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Biofouling* 29:5.
- Livia RA, Syamsul F, Novik N. 2016. Aktivitas ekstrak air daun pepaya sebagai antibiofilm terhadap *Escherichia coli*. *Current Biochemistry* 2:164-175.
- Mahami T. 2011. Biofilm associated infections : public health implications. *International Research Journal of Microbiology* 2:375-381.
- Marek R, Lenka G, Jiri D. 2007. Quaternary protoberberine alkaloids. *Phytochemistry* 68: 150-175.
- Marliana SD. 2005. Skrining fitiokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule jacq.* Swartz.) dalam ekstrak etanol [Skripsi]. Surakarta: FMIPA, Universitas Sebelas Maret.
- Mars P, Martin MV. 1999. *Oral Microbiology*. Ed ke-4. Great Britain: MPG Books Ltd.
- Michalek, Gee M. 2005. *Biology of microorganism*. New Jersey: Pearson Education.
- Milind P, Gurditta. 2011. Basketful benefits of papaya. *IRJP* 2:6-12.
- Moussaoui E *et al.* 2001. Revisiting the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their possible participation in the plant defence mechanism. *CMLS* 58:556-570.
- Muhammad. 2011. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Streptococcus mutans* secara *in vitro* [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Muhlisah F. 2011. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penebar Swadaya..

- Novitasari AE, Putri DZ. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains* 6:12.
- Oladimeji OH, Nia R, Ndukwe K, Attih M. 2007. In vitro biological activities of *Carica papaya*. *Research Journal of Medicinal Plant* 1:92-99.
- OToole GA. 2011. Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of visualized experiments* 8:47.
- Paraje MG. 2011. *Antimicrobial resistance in biofilm*. Argentina: Formatex. hlm 736-744.
- Park J *et al.* 2008. Solenopsin, a venom alkaloid from the fire ant *Solenopsis invicta*, inhibits quorum sensing signaling in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis* 198:1198-1201.
- Pelezar MJ, Chan ECS. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Hadioetomo, Ratnasari, penerjemah; Jakarta:Universitas Indonesia. Hlm 954-955.
- Praeparandi. 2006. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl.
- Pratiwi R. 2005. Perbedaan daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal. *Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J.)* 38:64–67.
- Pratiwi SU, Lagendijk EL, Hertiani T, De WS, Van CA. 2015. Antimicrobial effects of Indonesian medicinal plants extracts on planktonic and biofilm growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Horticulture* 2:15.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EKG.
- Rasamiravaka T, Labtani Q, Duez P, El JM. 2015. The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomed Research International* 15:75-93.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Kokasih Padmawinata, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari : *The Organic Constituent of Higher Plant*.
- Rohde H, Frankenberger S, Zahringer U, Mack D. 2010. Structure, function, and contribution of polysaccharide intercellular adhesin (PIA) to *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and pathogenesis of biomaterial associated infections. *Eur J Cell Bio* 89:1.
- Safaa YQ, Ahmed NA, Mona AL. 2010. Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the holly quran. *EJBS* 2: 40-51.

- Samarayanake LP. 2002. *Essential Mikrobiologi for Dentistry*. Ed ke-2. Philadelphia, United States of America: Elsevier's Health Sciences Rights Departement.
- Sastrohamidjojo H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Shukla K, Syed RE, Skogman R. 2017. A platform for anti-biofilm assay combining viability, biomass and matrix quantifications in susceptibility assessments of antriicrobials against *Staphylococcus aureus* biofilms. Finland: Abo Academic University.
- Simoës LC, Viera MJ. 2010. A review of current and emegency biofilm control strategies. *LWT-Food Science and Technology* 43: 573-583.
- Stahl E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Steenis V. 2002. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- Stiefel *et al.* 2016. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The Lancet*. 358: hlm 135-138.
- Stoodley P, Dodds I, De BD, Scoth HL, Boyle JD. 1998. Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure. *J Appl Microbiol* 85: 198-288.
- Sukanto SP, Yulianti A. 2002. Daya hambat ekstrak kulit buah delima putih terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Majalah kedokteran gigi (Dent.J)* 35:95-98.
- Suriawiria U, 1986. *Pengantar Biologi Umum*. Bandung: Angkasa. hlm 65.
- Thomas *et al.* 2004. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections. *Acta Pathologica*. 10:122
- Tiwari P, Kumar B, Kaur MGH. 2011. A review: phytochemical screening and extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 1:98-106.
- Tortora *et al.* 2010. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus disease*. Todars Online Textbook Bacteriol.
- Trisnawati. 2010. Pengaruh perlakuan sanitizer air panas pada peralatan penyajian terhadap penurunan angka total bakteri dan coliform di bangsal geriatri RSUP Dr. Kariadi Semarang [Skripsi]. Semarang : UNDIP. hlm 29.
- Vermerris, Wilfred, Ralph N. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands: Springer.

- Viju N, Satheesh S, Vincent SGP. 2013. Antibiofilm activity of coconut (*Cocos nucifera* Linn.) husk fibre extract. *Saudi J Biol Sci* 20:85–91.
- Vikram A, Jayaprakasha GK, Jesudhasan PR, Pillai SD, Patil BS. 2010. Suppression of bacterial cell–cell signalling, biofilm formation, and type III secretion system by citrus flavonoids. *J Microbiol* 109:515–27.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Sediaan Farmasi*. Ed ke-5. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharmazeutisches Technologi*. hlm 95-101.
- Wang GX. 2010. In vivo anthelmintic activity of five alkaloids from *Macleaya microcarpa* (Maxim) fedde against dactylogyrus intermedius in *Carassius auratus*. *Veterinary Parasitology* 171:305-313.
- Wel Q, Ma LZ. 2013. Biofilm matrix and its regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of molecular sciences* 14:983-1005.
- Yunita, Irwan A, Nurmasari R. 2009. Skrining fitokimia daun tumbuhan katimaha. *Sains Dan Terapan Kimia* 3:112-123.
- Yunus L. 2000. Pembentukan biofilm oleh *Salmonella blockey* pada permukaan stainless steel serta pengaruh sanitasi terhadap pembentukan kembali biofilm baru. [Skripsi]. Bogor : IPB. hlm 12-15.

## Lampiran 1. Hasil determinasi daun pepaya



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

Nomor : 076/UN27.9.6.4/Lab/2019  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : Ayu Angsasi Dyah Pangesti  
NIP : 22164917A  
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.

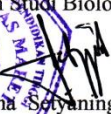
Surakarta, 17 Juli 2019

Kepala Lab. Program Studi Biologi

  
Dr. Nita Etikawati, M.Si.  
NIP. 19710426 199702 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. Hasil perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun pepaya**

| Bobot basah (gram) | Bobot kering (gram) | Rendemen (%) |
|--------------------|---------------------|--------------|
| 8000               | 1200                | 15%          |

$$\begin{aligned}
 \text{rendemen} &= \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\% \\
 &= \frac{1200 \text{ gram}}{8000 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 15\%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 3. Hasil perhitungan susut pengeringan serbuk daun pepaya**

| No                 | Bobot serbuk (g) | Susut pengeringan (%) |
|--------------------|------------------|-----------------------|
| 1                  | 2                | 7                     |
| 2                  | 2                | 7,5                   |
| 3                  | 2                | 8                     |
| Rata-rata $\pm$ SD |                  | 7,5 $\pm$ 0,5         |

$$\text{Rata – rata kadar lembab serbuk daun pepaya} = \frac{7+7,5+8}{3} = 7,5\%$$

**Lampiran 4. Hasil perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun pepaya**

| No                 | Penimbangan (g) | Volume air (ml) | Kadar air (%)   |
|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1                  | 20,51           | 1,6             | 7,80            |
| 2                  | 20,13           | 1,4             | 6,96            |
| 3                  | 20,04           | 1,5             | 7,49            |
| Rata-rata $\pm$ SD |                 |                 | 7,42 $\pm$ 0,42 |

Replikasi 1

$$\begin{aligned}
 \text{kadar air} &= \frac{\text{volume air}}{\text{berat yang ditimbang}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,6 \text{ ml}}{20,51 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 7,80\%
 \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 \text{kadar air} &= \frac{\text{volume air}}{\text{berat yang ditimbang}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,4 \text{ ml}}{20,13 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 6,96\%
 \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$kadar\ air = \frac{\text{volume air}}{\text{berat yang ditimbang}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,5\text{ ml}}{20,04\text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 7,49\%$$

$$rata - rata\ kadar\ air = \frac{7,80 + 6,96 + 7,49}{3}$$

$$= 7,42\%$$

#### Lampiran 5. Hasil perhitungan persen rendemen ekstrak daun pepaya

| Berat serbuk (g) | Etanol (ml) | Berat ekstrak (g) | Rendemen (%) |
|------------------|-------------|-------------------|--------------|
| 800              | 12000       | 130,03            | 16,25        |

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{130,03}{800} \times 100\%$$

$$= 16,25\%$$

#### Lampiran 6. Hasil perhitungan persen rendemen fraksi n-heksan

| No             | Bobot ekstrak (g) | Bobot fraksi (g) | Rendemen (%) |
|----------------|-------------------|------------------|--------------|
| 1              | 10,13             | 6,45             | 63,67        |
| 2              | 10,04             | 6,21             | 61,85        |
| 3              | 10,03             | 6,28             | 62,61        |
| Rata-rata ± SD |                   |                  | 62,71 ± 0,91 |

Replikasi 1

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{6,45}{10,13} \times 100\%$$

$$= 63,67\%$$

Replikasi 2

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{6,21}{10,04} \times 100\%$$

$$= 61,85\%$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{6,28}{10,03} \times 100\% \\
 &= 62,61\% \\
 \text{rata - rata kadar air} &= \frac{63,67 + 61,85 + 62,61}{3} \\
 &= 62,71\%
 \end{aligned}$$

#### Lampiran 7. Hasil perhitungan persen rendemen fraksi etil asetat

| No                 | Bobot ekstrak (g) | Bobot fraksi (g) | Rendemen (%)    |
|--------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| 1                  | 10,13             | 0,54             | 5,33            |
| 2                  | 10,04             | 0,73             | 7,27            |
| 3                  | 10,03             | 0,42             | 4,19            |
| Rata-rata $\pm$ SD |                   |                  | 5,60 $\pm$ 1,56 |

Replikasi 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,54}{10,13} \times 100\% \\
 &= 5,33\%
 \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,73}{10,04} \times 100\% \\
 &= 7,27\%
 \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,42}{10,03} \times 100\% \\
 &= 4,19\% \\
 \text{rata - rata kadar air} &= \frac{5,33 + 7,27 + 4,19}{3} \\
 &= 5,60\%
 \end{aligned}$$

### Lampiran 8. Hasil perhitungan persen rendemen fraksi air

| No                 | Bobot ekstrak (g) | Bobot fraksi (g) | Rendemen (%)     |
|--------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 1                  | 10,13             | 2,92             | 28,83            |
| 2                  | 10,04             | 2,60             | 25,90            |
| 3                  | 10,03             | 2,91             | 29,01            |
| Rata-rata $\pm$ SD |                   |                  | 27,91 $\pm$ 1,75 |

#### Replikasi 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,92}{10,13} \times 100\% \\
 &= 28,83\%
 \end{aligned}$$

#### Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,60}{10,04} \times 100\% \\
 &= 25,90\%
 \end{aligned}$$

#### Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,91}{10,03} \times 100\% \\
 &= 29,01\% \\
 \text{rata - rata kadar air} &= \frac{28,83 + 25,90 + 29,01}{3} \\
 &= 27,91\%
 \end{aligned}$$

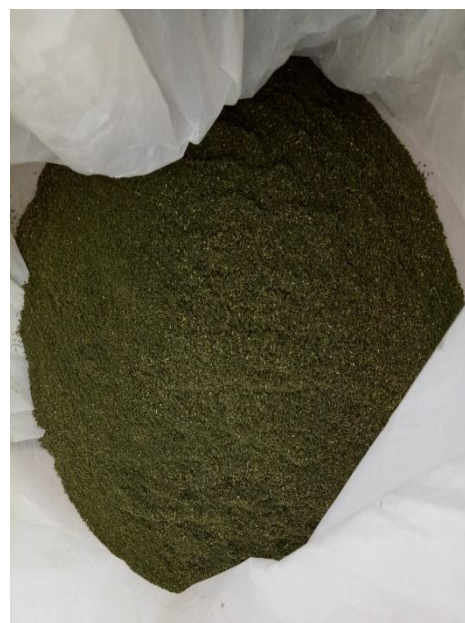
**Lampiran 9. Foto tanaman pepaya, daun pepaya , dan serbuk daun pepaya**



Tanaman Pepaya



Daun pepaya



Serbuk daun pepaya

**Lampiran 10. Foto botol maserasi, *rotary evaporator*, ekstrak daun pepaya, fraksinasi, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun pepaya**



Botol maserasi



*rotary evaporator*



Ekstrak daun pepaya



Fraksinasi



Fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun pepaya

**Lampiran 11. Foto alat *Moisture balance Sterling bidwell*, oven, inkubator, autoklaf, dan inkas**



*Moisture balance*



*Sterling bidwell*



Oven



Inkubator

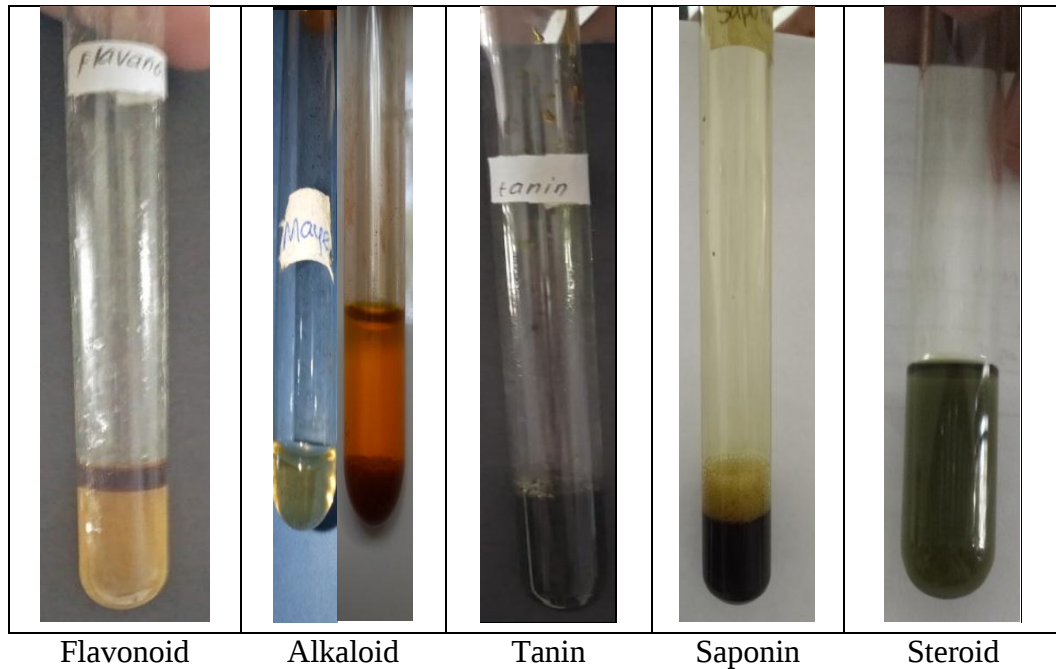


Autoklaf



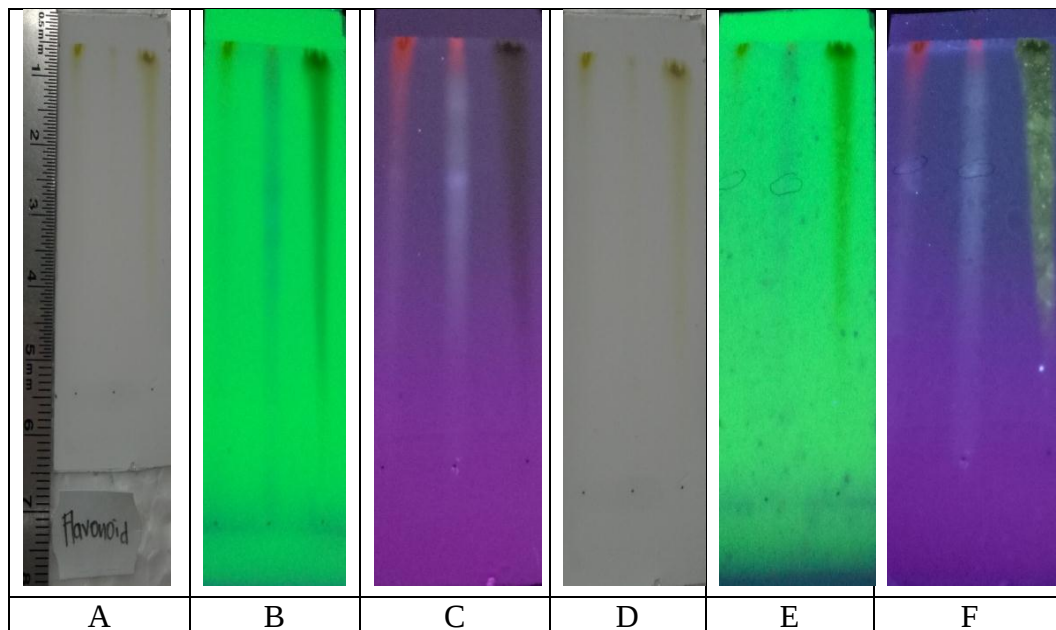
Inkas

### Lampiran 12. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dengan pereaksi warna



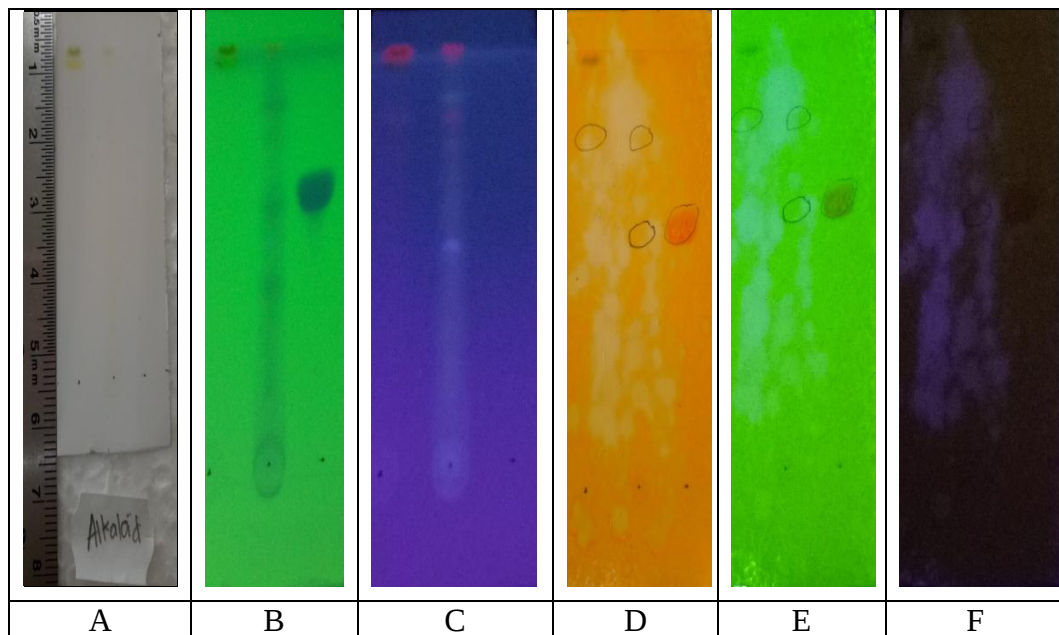
### Lampiran 13. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi dengan KLT

#### a. Flavonoid



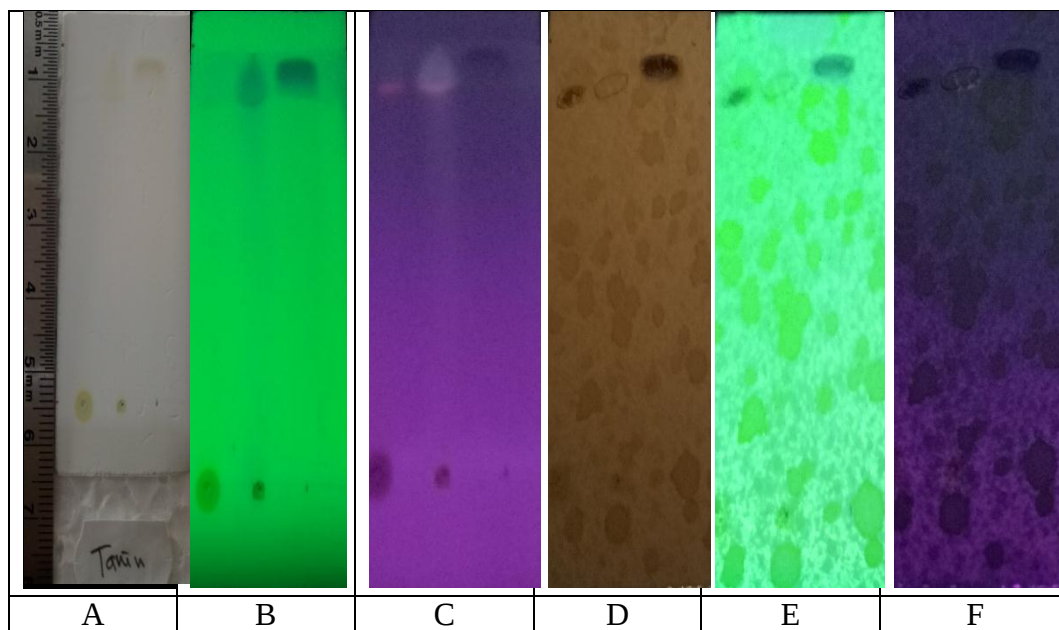
Gambar 2. Hasil KLT Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid, (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) Sinar UV 254 nm, (c) Sinar UV 366 nm, (d) Sinar tampak setelah disemprot Sitoborat, (e) Sinar UV 254 nm setelah disemprot Sitoborat, (f) Sinar UV 366 nm setelah disemprot Sitoborat.

## b. Alkaloid



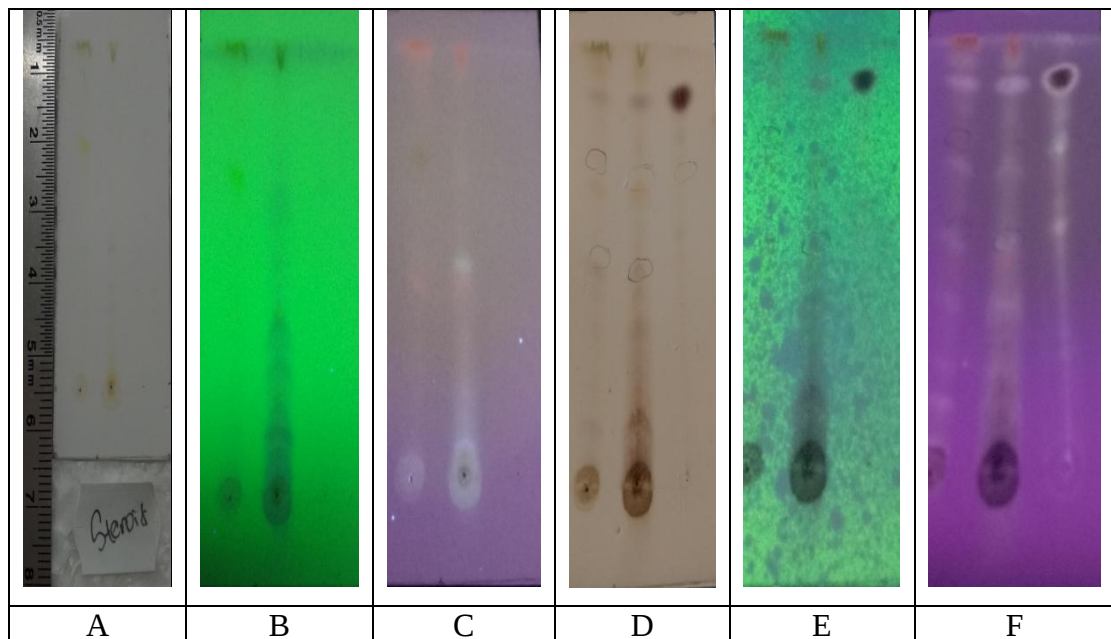
Gambar 4. Hasil KLT Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid. (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) Sinar UV 254 nm, (c) Sinar UV 366 nm, (d) Sinar tampak setelah disemprot Dragendorff, (e) Sinar UV 254nm setelah disemprot Dragendorff, (f) Sinar UV 366 nm setelah disemprot Dragendorff.

## c. Tanin



Gambar 3. Hasil KLT Identifikasi Senyawa Golongan Tanin. (a) Sinar tampak, (b) Sinar UV 254nm, (c) Sinar UV 366nm, (d) Sinar tampak setelah disemprot FeCl3 5%, (e) Sinar UV 254 nm setelah disemprot FeCl3 5%, (F) Sinar UV 366 nm setelah disemprot FeCl3 5%

## d. Steroid



Gambar 4. Hasil KLT Identifikasi Senyawa Golongan Steroid. (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) Sinar UV 254 nm, (c) Sinar UV 366 nm, (d) Sinar tampak setelah disemprot Lieberman Burchard, (e) Sinar UV 254 nm setelah disemprot Lieberman Burchard, (f) sinar UV 366nm setelah disemprot Lieberman Burchard.

**Lampiran 14. Foto uji penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175**

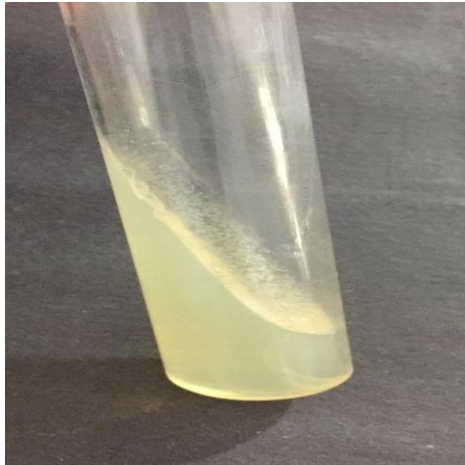


Setelah diwarnai kristal violet 0,1%

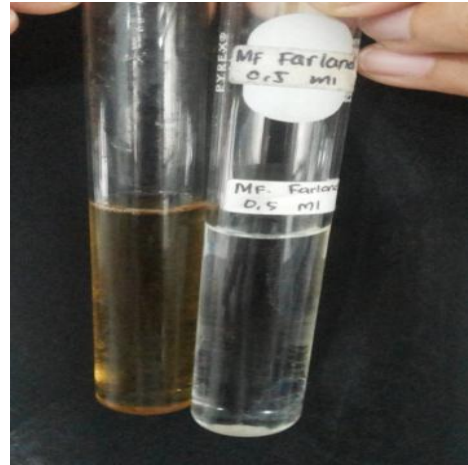


Setelah ditetesi dengan etanol 96%

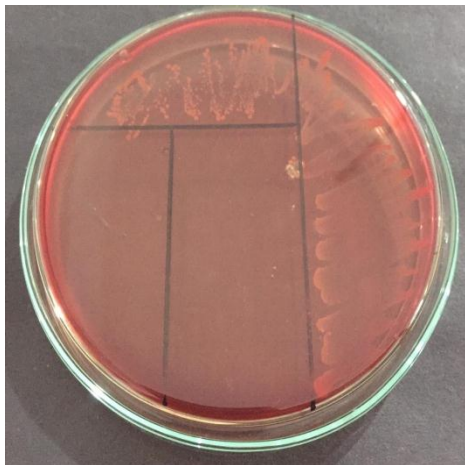
**Lampiran 15. Foto biakan murni, suspensi bakteri, identifikasi makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia *S. mutans* ATCC 25175**



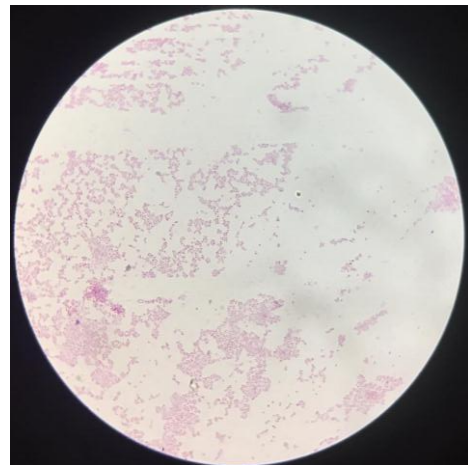
Biakan murni



Suspensi bakteri



Identifikasi makroskopis



Identifikasi mikroskopis



Uji Katalase



Uji Koagulase

**Lampiran 16. Hasil penentuan panjang gelombang maksimal ( $\lambda_{maks}$ )**

| NO               | ABSORBANSI                 |                            |                            |
|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                  | $\lambda : 490 \text{ nm}$ | $\lambda : 550 \text{ nm}$ | $\lambda : 630 \text{ nm}$ |
| 1                | 0,098                      | 0,275                      | 0,189                      |
| 2                | 0,081                      | 0,119                      | 0,104                      |
| 3                | 0,118                      | 0,170                      | 0,156                      |
| 4                | 0,082                      | 0,102                      | 0,105                      |
| 5                | 0,116                      | 0,100                      | 0,091                      |
| 6                | 0,072                      | 0,121                      | 0,073                      |
| 7                | 0,074                      | 0,118                      | 0,105                      |
| 8                | 0,062                      | 0,097                      | 0,087                      |
| 9                | 0,064                      | 0,093                      | 0,093                      |
| 10               | 0,092                      | 0,093                      | 0,081                      |
| <b>RATA-RATA</b> | <b>0,086</b>               | <b>0,129</b>               | <b>0,108</b>               |

**Lampiran 17. Hasil OD penghambatan pembentukan biofilm**

| Konsentrasi      | Ekstrak      | Fraksi n-heksan | Fraksi Etilasetat | Fraksi Air   |
|------------------|--------------|-----------------|-------------------|--------------|
| 30 mg/ml         | 0,083        | 0,081           | 0,078             | 0,084        |
|                  | 0,082        | 0,08            | 0,079             | 0,086        |
|                  | 0,081        | 0,081           | 0,076             | 0,085        |
| <b>Rata-rata</b> | <b>0,082</b> | <b>0,081</b>    | <b>0,078</b>      | <b>0,085</b> |
| 60 mg/ml         | 0,07         | 0,068           | 0,065             | 0,072        |
|                  | 0,07         | 0,067           | 0,064             | 0,071        |
|                  | 0,071        | 0,069           | 0,067             | 0,071        |
| <b>Rata-rata</b> | <b>0,071</b> | <b>0,068</b>    | <b>0,065</b>      | <b>0,071</b> |
| 90 mg/ml         | 0,063        | 0,062           | 0,045             | 0,066        |
|                  | 0,064        | 0,061           | 0,043             | 0,063        |
|                  | 0,062        | 0,06            | 0,046             | 0,065        |
| <b>Rata-rata</b> | <b>0,063</b> | <b>0,061</b>    | <b>0,045</b>      | <b>0,065</b> |

| Kontrol | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | Rata-rata |
|---------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| Negatif | 0,163       | 0,166       | 0,162       | 0,164     |
| Positif | 0,054       | 0,054       | 0,054       | 0,054     |
| Media   | 0,054       | 0,052       | 0,053       | 0,053     |
| Pelarut | 0,060       | 0,063       | 0,063       | 0,062     |

**Lampiran 18. Hasil perhitungan persentase penghambatan pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175**

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \left(1 - \left(\frac{xOD_t - xOD_{mc}}{xOD_{vc}}\right)\right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \left(1 - \left(\frac{0.083 - 0.053}{0.062}\right)\right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = 51.61\%$$

| Konsentrasi           | Ekstrak             | Fraksi n-heksan     | Fraksi Etilasetat   | Fraksi Air          |
|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 30 mg/ml              | 51,61               | 54,84               | 59,68               | 50,00               |
|                       | 53,23               | 56,45               | 58,06               | 46,77               |
|                       | 54,84               | 54,84               | 62,90               | 48,39               |
| <b>Rata-rata ± SD</b> | <b>53,23 ± 1.62</b> | <b>55,38 ± 0.93</b> | <b>60,21 ± 2.46</b> | <b>48,39 ± 1.62</b> |
| 60 mg/ml              | 72,58               | 75,81               | 80,65               | 69,35               |
|                       | 72,58               | 77,42               | 82,26               | 70,97               |
|                       | 70,97               | 74,19               | 77,42               | 70,97               |
| <b>Rata-rata ± SD</b> | <b>72,04 ± 0.93</b> | <b>75,81 ± 1.62</b> | <b>80,11 ± 2.46</b> | <b>70,43 ± 0.94</b> |
| 90 mg/ml              | 83,87               | 85,48               | 95,16               | 79,03               |
|                       | 82,26               | 87,10               | 91,94               | 83,87               |
|                       | 85,48               | 88,71               | 93,55               | 80,65               |
| <b>Rata-rata ± SD</b> | <b>83,87 ± 1.61</b> | <b>87,1 ± 1.62</b>  | <b>93,55 ± 1.61</b> | <b>81,18 ± 2.46</b> |

**Kontrol negatif (Suspensi bakteri dalam media BHI)**

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \left(1 - \left(\frac{xOD_t - xOD_{mc}}{xOD_{vc}}\right)\right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \left(1 - \left(\frac{0.164 - 0.053}{0.062}\right)\right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = -79.03\%$$

**Kontrol positif (Listerin 45%<sup>v/v</sup>)**

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \left(1 - \left(\frac{xOD_t - xOD_{mc}}{xOD_{vc}}\right)\right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \left(1 - \left(\frac{0.054 - 0.053}{0.062}\right)\right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = 98.39\%$$

**Lampiran 19. Hasil perhitungan nilai IC 50 penghambatan pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175**

Ekstrak  $Y = 0.5107X + 39.073$

$$X = \frac{50 - 39.073}{0.5107} = 21,40 \text{ mg/ml}$$

F. n-Heksan  $Y = 0.5287X + 41.043$

$$X = \frac{50 - 41.043}{0.5287} = 16,94 \text{ mg/ml}$$

F. Etil asetat  $Y = 0.5557X + 44.617$

$$X = \frac{50 - 44.617}{0.5557} = 9.69 \text{ mg/ml}$$

F. Air  $Y = 0.5465X + 33.877$

$$X = \frac{50 - 33.877}{0.5465} = 29,50 \text{ mg/ml}$$

**Lampiran 20. Hasil uji statistik aktivitas penghambatan biofilm**

**1. Homogenitas**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

|                                  |                | tr_persenpeng<br>hambatan |
|----------------------------------|----------------|---------------------------|
| N                                |                | 39                        |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 1.8584                    |
|                                  | Std. Deviation | .09531                    |
| Most Extreme<br>Differences      | Absolute       | .136                      |
|                                  | Positive       | .100                      |
|                                  | Negative       | -.136                     |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | .851                      |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | .464                      |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : Data terdistribusi normal ( $\text{Sig} \geq 0,05$ )

## 2. Normalitas

### Levene's Test of Equality of Error

#### Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: persenpenghambatan

| F     | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1.455 | 13  | 28  | .196 |

Kesimpulan : Data bervariasi homogen ( $\text{Sig} \geq 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji

### Two-Way ANOVA

## 3. Two-Way Anova

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: persenpenghambatan

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F         | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------|
| Corrected Model | 73567.655 <sup>a</sup>  | 13 | 5659.050    | 1660.777  | .000 |
| Intercept       | 95646.550               | 1  | 95646.550   | 28069.656 | .000 |
| Kel.Uji         | 625.883                 | 3  | 208.628     | 61.226    | .000 |
| Konsentrasi     | 6335.226                | 2  | 3167.613    | 929.608   | .000 |
| Kel.Uji *       | 13.741                  | 6  | 2.290       | .672      | .673 |
| Konsentrasi     | 95.409                  | 28 | 3.407       |           |      |
| Error           | 95.409                  | 28 | 3.407       |           |      |
| Total           | 240053.766              | 42 |             |           |      |
| Corrected Total | 73663.064               | 41 |             |           |      |

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .998)

### Persen penghambatan

Tukey HSD

| Kel.Uji     | N | Subset   |         |         |         |         |
|-------------|---|----------|---------|---------|---------|---------|
|             |   | 1        | 2       | 3       | 4       | 5       |
| negatif     | 3 | -78.4967 |         |         |         |         |
| air         | 9 |          | 66.6667 |         |         |         |
| Ekstrak     | 9 |          | 69.7133 | 69.7133 |         |         |
| n-heksan    | 9 |          |         | 72.7600 |         |         |
| etil asetat | 9 |          |         |         | 77.9578 |         |
| Positif     | 3 |          |         |         |         | 98.3900 |
| Sig.        |   | 1.000    | .104    | .104    | 1.000   | 1.000   |

## Lampiran 21. Pembuatan media dan pembuatan sampel

### 1. Pembuatan media

#### a. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

|                              |           |
|------------------------------|-----------|
| Brain infusion               | 12,5 gram |
| Heart infusion               | 5,0 gram  |
| Protease peptone             | 10,0 gram |
| Glucose                      | 2,0 gram  |
| Sodium choride               | 5,0 gram  |
| di-sodium hydrogen phosphate | 2,5 gram  |
| aquadest ad                  | 1000 ml   |

Reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4.

#### b. Formulasi dan pembuatan Endo Agar

|                               |           |
|-------------------------------|-----------|
| Pepton for meat               | 10,0 gram |
| Di potassium hydrogen phosfat | 3,5 gram  |
| Laktosa                       | 10,0 gram |
| Sodium sulfit                 | 2,5 gram  |
| Fuchsin                       | 0,4 gram  |
| Agar-agar                     | 12,5 gram |
| pH 7,4                        |           |

Reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4.

### 2. Pembuatan sampel

- 30 mg/ml : ditimbang 30 mg sampel di larutkan DMSO 5% hingga 1 ml.
- 60 mg/ml : ditimbang 60 mg sampel di larutkan DMSO 5% hingga 1 ml.
- 90 mg/ml : ditimbang 90 mg sampel di larutkan DMSO 5% hingga 1 ml.