

**POTENSI ANTIBIOTIK FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL  
BUNGA PEPAYA JANTAN (*Carica papaya L*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia Coli***

**SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Farmasi



Diajukan Oleh :

**Dimas Satria Putra Santoso**

NPM : 16.0605.0009

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAGELANG  
MAGELANG**

**2020**

**HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING**

**POTENSI ANTIBIOTIK FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL  
BUNGA PEPAYA JANTAN (*Carica papaya L*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia Coli***

Skripsi yang diajukan oleh:

**Dimas Satria Putra Santoso**

NPM : 16.0605.0009

telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama



(apt. Fitriana Yuliasuti, M.Sc)

NIDN. 0613078502

Tanggal

04 Juni 2020

Pembimbing Pendamping



(apt. Imron Wahyu Hidayat, M.Sc)

NIDN. 0625108103

Tanggal

06 Juni 2020

HALAMAN PENGESAHAN

POTENSI ANTIBIOTIK FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL  
BUNGA PEPAYA JANTAN (*Carica papaya L*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia Coli*

Oleh :

**Dimas Satria Putra Santoso**

NPM: 16.0605.0009

Dipertahankan di Hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Program Studi Farmasi (S1)  
Universitas Muhammadiyah Magelang  
pada tanggal : 17 Juni 2020

Mengetahui  
Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Magelang  
Dekan



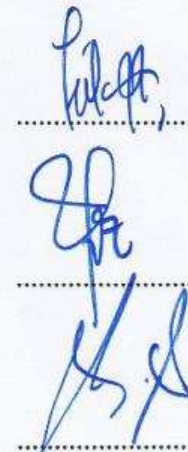
**(Puguh Widiyanto, S. Kp., M. Kep)**

NIDN. 0621027203

Panitian Penguji:

1. apt. Ni Made Ayu Nila S, M.Sc
2. apt. Fitriana Yuliasuti, M.Sc
3. apt. Imron Wahyu Hidayat, M.Sc

Tanda Tangan



## **PERNYATAAN KEASLIAN KARYA**

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini tidak memuat karya atau bagian karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, dengan mengikuti ketentuan sebagaimana layaknya karya ilmiah.

Apabila di kemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam naskah ini, maka saya bersedia menanggung segala sanksi sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Magelang, 20 Mei 2020  
Penulis

Dimas Satria Putra Santoso

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Esa serta dukungan dan doa dari orang-orang tercinta, akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Maka dengan rasa bangga dan bahagia saya Dimas Satria Putra Santoso bersyukur dan terimakasih kepada:

Tuhan Yang Maha Esa, puji syukur kepada Allah SWT karena atas ridho dan karunia-Nya, skripsi ini dapat dibuat dan selesai pada waktunya dan yang telah memberikan nikmat sehat dan telah mengabulkan segala doa yang selama ini dipanjatkan.

Papah dan Ibu tersayang, saya ucapkan terimakasih banyak untuk perjuangan yang selama ini kalian lakukan dukungan dan doa yang tak pernah berhenti untuk saya, terimakasih untuk segala ridho yang telah kalian berikan kepada saya dalam setiap perjalanan ini, terimakasih juga untuk mbak Putri, mas Mbomboh, mbak Cherry, mas Yunus, Tegar dan ponakan ponakan om yaitu Darell, Naraya, Danella yang selalu membuat tertawa untuk menghilangkan rasa jenuh.

Dosen yang telah membimbing, memberi masukan, nasihat, pencerahan, memberikan waktunya dan membesarkan hatinya untuk anak bimbingnya. Terimakasih tak terhingga untuk dosen pembimbing saya ibu Ni Made Ayu Nila S,M.Sc., Apt., ibu Fitriana Yuliasuti,M.Sc.,Apt, dan bapak Imron Wahyu Hidayat ,M.Sc.,Apt.

Partner spesial Maulidiyatul Khasanah terimakasih telah memberikan semangat, nasehat, doa. Terimakasih juga teman-teman seperjuangan S1 Farmasi angkatan pertama yang telah menemani selama 4 tahun dalam mengarungi suka duka di bangku perkuliahan, canda tawa, tangis, dan perjuangan yang kita lewati bersama.

**“Wahai orang-orang yang beriman, bertawakalalah kepada Allah dan carilah jalan untuk mendekatkan diri kepada-Nya, dan berjihadlah (berjuanglah) di jalan-Nya, agar kamu mendapat kesuksesan atau keberuntungan. – (Q.S Al-Maidah : 35)”**

## **KATA PENGANTAR**

Segala puji bagi Allah SWT, atas semua kenikmatan dan karuniaNya, maka purnalah sudah penulisan skripsi ini. Penulisan ini adalah salah satu syarat guna melengkap program kuliah sarjana satu (S I) pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang.

Usaha dan doa semaksimal mungkin telah penulis tuangkan dalam penulisan ini hingga sedemikian rupa, sehingga karya ini mengandung makna dan manfaat bagi siapa saja, khususnya bagi penulis sendiri. Kaitannya dengan penulisan ini, tentu saja kelemahan dan kekurangan masih nampak dalam skripsi ini, sehingga penulis menyadari bahwa karya ini bukanlah semata-mata hasil penulis sendiri saja, akan tetapi berbagai pihak telah turut membantu dalam penyusunan karya ini antara lain:

1. Puguh Widiyanto, S. Kp., M. Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang yang telah memberikan izin dan kesempatan bagi penulis untuk menyelesaikan studi.
2. Imron Wahyu Hidayat M.Sc., Apt. selaku Kaprodi S I Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang dan Dosen Pembimbing kedua yang sudah memberikan banyak masukan untuk perbaikan skripsi.
3. Fitriana Yuliasuti, M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing pertama yang telah memberikan masukan dan arahan demi terselesaikannya skripsi ini.
4. Ni Made Ayu Nila S, M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji atas memberikan banyak masukan, ketulusan hati dan kesabarannya dalam membimbing, mendukung dan mengarahkan penulis.
5. Missya Putri dan Triantono selaku laboran yang telah membantu dalam penelitian ini
6. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-satu, terima kasih atas dukungan, doa dan semangatnya.

Magelang, 05 Juni 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA .....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
ABSTRAK .....	xi
<i>ABSTRACT</i> .....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Bunga Pepaya Jantan .....	5
B. Bakteri.....	7
C. Antimikroba.....	10
D. Ekstraksi Simplisia .....	13
E. Fraksinasi .....	19
F. <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)</i> .....	20
G. Hipotesis .....	23
H. Kerangka Teori .....	24
I. Kerangka Konsep.....	25
BAB III METODE PENELITIAN .....	26
A. Jenis Penelitian.....	26
B. Variabel dan Definisi Operasional.....	26
1. Variabel Bebas .....	26

2. Variabel Terikat.....	26
C. Sampel.....	26
D. Alat dan Bahan Penelitian.....	26
E. Cara Penelitian.....	27
F. Analisis Hasil.....	33
G. Tempat dan waktu penelitian.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
A. KESIMPULAN.....	47
B. SARAN.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan Bunga Pepaya Jantan .....	6
Gambar 2. Skema GC-MS .....	21
Gambar 3. Kerangka Teori.....	24
Gambar 4. Kerangka Konsep .....	25
Gambar 5. Proses Fraksinasi .....	29
Gambar 6. Proses Antibakteri .....	32

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Efektivitas Zat Antibakteri.....	12
Tabel 2. Konstanta Dielektrikum dan Tingkat Kelarutan Beberapa Pelarut.....	14

## ABSTRAK

Penyakit infeksi terjadi karena interaksi dengan mikroba yang dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh dan menimbulkan berbagai gejala. Terapi infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ialah penggunaan antibiotik, namun pemberian antibiotik dapat menyebabkan resistensi. Potensi antibiotik dari alam sangat banyak contohnya berasal dari Bunga pepaya jantan (*Carica Papaya L*). Penelitian dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antibiotik yang berasal dari bunga pepaya jantan yang di fraksinasi menggunakan etil asetat ekstrak etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode sumuran serta untuk mengetahui kandungannya menggunakan GC-MS. Ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 70% dan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan dan etil asetat. Ekstrak kental hasil fraksinasi diuji menggunakan GC-MS dan KHM (Kadar Hambat Minimum). Hasil dari pengujian GC-MS diperoleh senyawa *E-Citral* yang memiliki persentase kemiripan sebesar 49%, *Linalool* 87%, *2-Methoxy-4-vinylphenol* 87%. Hasil uji KHM pada konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% menunjukkan tidak ada daya hambat pada bakteri *Escherichia coli*, namun pada konsentrasi 5% daya hambat minimum dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Analisis data menggunakan *Kruskal-Wallis* karena uji prasyarat data tidak terdistribusi normal sehingga menggunakan uji nonparametrik tes, diperoleh hasil *Asymp.sig* 0,011 ( $0,011 < 0,05$ ) sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan diameter zona hambat pada seri konsentrasi dengan kontrol perlakuan.

**Kata Kunci : uji kadar Hambat Minimum, Fraksi etil asetat, Bunga pepaya jantan (*Carica Papaya L*), GC-MS**

## ***ABSTRACT***

Infectious diseases occur due to interactions with microbes that can cause damage to the body and cause various symptoms. Treatment of infections caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* is the use of antibiotics, but the administration of antibiotics can cause resistance. Potential antibiotics from nature very much for example comes from male papaya flowers (*Carica Papaya L*). The study was conducted to determine the potential for antibiotic activity derived from male papaya flowers fractionated using ethyl acetate ethanol extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria with wells and to determine their contents using GC-MS. Extraction using maceration with 70% ethanol solvent and fractionation using n-hexane and ethyl acetate. The fractionated thick extract was tested using GC-MS and MIC (Minimum Inhibitory Content). The results of the GC-MS test obtained E-Citral compounds which have a similarity percentage of 49%, Linalool 87%, 2-Methoxy-4-vinylphenol 87%. The results of the MIC test at concentrations of 2.5%, 5%, 10%, 20%, and 40% showed no inhibition on *Escherichia coli* bacteria, but at a minimum of 5% the inhibitory concentration could inhibit *Staphylococcus aureus* bacteria. Data analysis uses Kruskal-Wallis because the prerequisite test data is not normally distributed so using the nonparametric test, the Asymp.sig 0.011 (0.011 <0.05) results are concluded that there are significant differences in inhibition zone diameters in the concentration series with treatment controls.

**Keywords:** *Minimum Inhibitory test, Ethyl acetate fraction, Male papaya flower (Carica Papaya L), GC-MS*

**BAB I**  
**PENDAHULUAN**  
**A. Latar Belakang**

Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan karena berkembangbiaknya mikroorganisme seperti bakteri, fungi, parasit, dan virus. Penyakit infeksi terjadi saat interaksi dengan mikroba yang dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh dan dapat menimbulkan berbagai gejala. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan menggunakan antibiotik (Novard, Suharti, & Rasyid, 2019). Antibiotik dapat menyebabkan resistensi pada bakteri gram positif salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* (*S.Aureus*) dan gram negatif adalah bakteri *Escherichia coli* (*E.Coli*) (Chudlori, Kuswandi, & Indrayudha, 2012).

*Escherichia coli* terdapat di usus manusia atau hewan yang akan dikeluarkan melalui feses. Mikroorganisme patogen yang terkandung dalam feses dapat menularkan berbagai penyakit pada manusia. Mikroorganisme patogen yang terkandung dalam feses berupa virus, protozoa, cacing, dan bakteri. Bakteri yang umum banyak ditemukan ialah jenis bakteri *Escherichia coli* (Zikra, Amir, & Putra, 2018). Penyakit yang disebabkan karena infeksi bakteri *Escherichia coli* salah satunya adalah diare. Dimana diare diartikan sebagai buang air encer lebih dari empat kali sehari, baik disertai lendir dan darah maupun tidak. (Bakri, Hatta, & Massi, 2015).

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang sering ditemukan sebagai kuman flora pada manusia. Habitat *Staphylococcus aureus* biasanya berada di rongga hidung namun dapat berpindah dan menyebar ke kulit (Rahardjo,

Koendhori, & Setiawati, 2017). Terapi infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* merupakan masalah penting dalam kesehatan. Masalah yang sama juga dialami oleh infeksi yang disebabkan oleh *Escherichia coli* yaitu penggunaan antibiotik, namun pemberian antibiotik dapat menyebabkan resistensi sehingga dalam penelitian ini menggunakan bunga pepaya jantan (*Carica Papaya L*) sebagai antibiotik.

*Carica Papaya L* atau yang dikenal oleh masyarakat ialah tanaman pepaya memiliki banyak khasiat sebagai pengobatan. Tanaman pepaya memiliki beberapa bagian salah satunya ialah bunga pepaya jantan yang mempunyai bahan aktif sebagai obat herbal. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Prabandaru dkk, 2018) menyatakan bahwa bunga pepaya jantan (*Carica Papaya L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Penelitian yang sama yang dilakukan oleh (Roni, Maesaroh, & Marliani, 2018) menyatakan *Carica Papaya L* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa golongan senyawa flavonoid, polifenol, tanin, saponin, alkaloid, steroid bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri pada tanaman herbal terdapat pada kandungan metabolit sekunder yang terdiri dari flavonoid, tanin, alkaloid, minyak atsiri, dan beberapa komponen lain (Fратиwi, 2015).

Prinsip Fraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda dalam dua pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda pula. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda bergantung pada jenis simplisia (Pratiwi, Fudholi, Martien, & Pramono, 2016).

Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi pada penelitian ini adalah etil asetat yang merupakan pelarut semi polar sehingga dapat melarutkan senyawa semi polar pada dinding sel seperti glikon flavonoid. Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat menyari senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri diantaranya flavonoid pilohidroksi dan fenol (Mulyati, 2009).

Berdasarkan latar belakang ini bahwa penelitian terhadap bunga pepaya jantan (*Carica papaya L.*) perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi bunga pepaya jantan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibiotik dari bunga pepaya jantan (*Carica Papaya L*) dengan menguji aktivitas antibiotik fraksi etil asetat ekstrak etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan dapat memberikan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia Coli*?
2. Golongan senyawa apakah yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan dengan menggunakan instrumen GC-MS?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan dapat memberikan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia Coli*

2. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan dengan menggunakan instrumen GC-MS.

#### **D. Manfaat Penelitian**

1. Bagi Perkembangan ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan kajian dan tambahan pustakaan terhadap teori yang telah diperoleh mahasiswa selama melakukan penelitian tentang potensi antibiotik fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan (*Carica Papaya L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*.

2. Bagi Institusi

Hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai pedoman untuk mengadakan penelitian di bidang farmasi dan sebagai acuan dalam penelitian selanjutnya.

3. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat bunga pepaya jantan (*Carica papaya L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia Coli*.



**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**  
**A. Bunga Pepaya Jantan**

**1. Klasifikasi Tanaman Pepaya**

Tanaman pepaya berdasarkan struktur klasifikasi adalah sebagai berikut (Yogiraj, Goyal, Chauhan, Goyal, & Vyas, 2014):

*Domain* : *Flowering plant*

*Kingdom* : *Plantae*

*Sub Kingdom* : *Tracheobionta*

*Class* : *Magnoliopsida*

*Subclass* : *Dilleniidae*

*Superdivision* : *Spermatophyta*

*Phyllum* : *Steptophyta*

*Order* : *Brassicales*

*Family* : *Caricaceae*

*Genus* : *Carica*

*Botanical Name* : *Carica papaya Linn*

**2. Deskripsi Tanaman Pepaya**

Bunga pepaya jantan adalah bunga yang hanya memiliki benang sari saja (*unisexual*), dimana bunga pada tanaman pepaya berguna sebagai alat perkembangbiakan yang termasuk pada golongan tumbuhan poligami, karena terdapat bunga jantan, bunga betina, dan bunga sempurna. Bunga jantan biasanya terdapat pada pohon jantan. Pohon jantan mudah dikenal karena memiliki malai, bunga bercabang banyak yang menggantung dengan bunga-

bunga yang lebat. Jenis pohon ini tidak akan menghasilkan buah karena bunganya tidak mempunyai bakal buah. Bunga pepaya jantan dapat dilihat pada gambar 1:



Gambar 1. Tumbuhan Bunga Pepaya Jantan (Sumber : Primer)

### 3. Kandungan

Kaya akan kandungan senyawa bioaktif tidak membuat semua bagian tanaman pepaya telah dimanfaatkan dengan baik salah satunya adalah bunga pepaya. Bunga pepaya jantan mengandung senyawa Triterpenoid / steroid, flavonoid, tanin, dan glikosid (Nainggolan & Kasmirul, 2015). Penelitian (Ukpabi, O, C, & Chizaram, 2015) juga menyatakan bunga pepaya mengandung saponin, alkaloid, tanin dan flavonoid. Salah satu senyawa aktif yang memiliki peranan paling efektif sebagai antibakteri adalah flavonoid yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* penyebab diare (Fратиwi, 2015).

### 4. Khasiat

Tanaman pepaya merupakan tanaman yang kaya akan manfaat diantaranya memiliki manfaat sebagai *antidengue*, *anticancer*, *antimicrobial*,

*antiparasitic, anti inflammatory, antioxidant, antidiabetic activities* dan anti trombopenik. Presentase dari bunga menjadi buah yang hanya 27,6% membuat bunga pepaya yang tidak menjadi buah hanya digunakan sebagai tambahan bahan makanan, dan herba green tea sehingga ini menjadi menarik untuk dimanfaatkan (Mukhaimin, Latifahnya, & Puspitasari, 2018). Bunga pepaya jantan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* (PKM).

## **B. Bakteri**

### **1. Pengertian Bakteri**

Bakteri adalah mikroba prokariotik yang uniseluler dan berkembangbiak dengan cara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil namun ada yang bersifat fotosintetik, kemudian bakteri hidup secara bebas, parasit, saprofit, sebagai patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya terdapat dimana-mana misalnya di alam, tanah, laut, atmosfer dan di dalam lumpur. Bentuk tubuhnya ada yang bulat, spiral dan batang. Selain itu bakteri merupakan struktur sel yang tidak mempunyai membran inti sedangkan komponen genetiknya terdapat di dalam molekul DNA tunggal yang terdapat di dalam sitoplasma. Ukuran sel-sel bakteri sangat bervariasi tergantung masing-masing spesiesnya, namun pada umumnya  $0,5-1,0 \times 2,0-5 \mu\text{m}$ . Hal tersebut sama halnya dengan 10.000 bakteri yang panjang selnya  $1 \mu\text{m}$  dari satu ujung ke ujung lainnya (Riskawati, 2016).

Setiap bakteri memiliki temperatur optimal dimana mereka dapat tumbuh sangat cepat dan memiliki rentang temperatur dimana mereka dapat

tumbuh. Berdasarkan rentang temperatur di mana dapat terjadi pertumbuhan, bakteri dikelompokkan menjadi tiga (Riskawati, 2016):

- 1) Psikrofilik, -50C sampai 300C, optimum pada 10-200C;
- 2) Mesofilik, 10-45°C, optimum pada 20-40°C;
- 3) Termofilik, 25-80°C, optimum pada 50-60°C.

Temperatur optimal biasanya mencerminkan lingkungan normal mikroorganisme. Bakteri patogen pada manusia biasanya tumbuh baik pada temperatur 37°C.

## 2. Klasifikasi Bakteri *Eschericia Coli*

Adapun klasifikasi dari bakteri ini sebagai berikut (Riskawati, 2016):

Kingdom	: Monera
Phylum	: Protophyta
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Riskawati, 2016).

## 3. Ciri-Ciri Bakteri *Eschericia Coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif enterik (*Enterobacteriaceae*) yaitu kuman flora normal yang ditemukan dalam usus besar manusia. Sifat dari bakteri ini patogen apabila berada diluar usus dan melebihi dari jumlah normalnya. Bakteri *E.coli* sering menimbulkan infeksi pada saluran kemih, saluran empedu dan tempat-tempat lain di rongga perut

serta penyebab diare (Suryati, Bahar, & Ilmiawati, 2017). Bentuk dari bakteri *E.coli* yaitu berupa batang dari pendek sampai kokus, saling terlepas antara satu dengan yang lainnya tetapi ada juga yang bergandeng dua-dua (diplobasil) dan ada juga yang bergandeng seperti rantai pendek, tidak membentuk spora maupun kapsula, berdiameter  $\pm 1,1 - 1,5 \times 2,0 - 6,0 \mu\text{m}$ , dapat bertahan hidup di medium sederhana (Riskawati, 2016).

#### 4. Morfologi Bakteri *Escherichia Coli*

Batang dengan ukuran  $1 \times 3-4 \mu\text{m}$ , dapat tersusun seperti bamboo, bentuk batangnya persegi atau cekung ujungnya, sendiri-sendiri, berpasangan atau membentuk rantai pendek, tidak bergerak, berspora oval yang letaknya sental, kadang-kadang berkapsul (Riskawati, 2016).

#### 5. Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Adapun klasifikasi dari bakteri ini sebagai berikut (Putri, 2016)

Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Classis	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Familia	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

#### 6. Ciri – Ciri Bakteri *Staphylococcus Aureus*

*Staphylococcus aureus* memiliki sifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus*

tumbuh pada suhu 6,5 - 46° C dan pH 4,2 - 9,3. Koloni tumbuh pada waktu 24 jam dan dengan diameter mencapai 4 mm. Koloni memiliki bentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau (Dewi, 2013).

### **C. Antimikroba**

#### 1. Defenisi antimikroba

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia, termasuk golongan ini yang akan dibicarakan yang berhubungan dengan bidang farmasi antara lain antibiotika, antiseptika, desinfektansia, preservatif. Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Disini, mikroba yang dimaksud terbatas pada jasad renik yang tidak termasuk kelompok parasit (Irawan, 2017).

#### 2. Sifat antimikroba

##### a. Bakteriostatik

Bakteriostatik adalah zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroba atau bakteri. Keadaan seperti ini jumlah mikroorganisme menjadi stasioner, tidak dapat lagi multiplikasi atau berkembang biak.

##### b. Bakteriosida

Bakteriosida adalah zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme atau bakteri. Jumlah mikroorganisme (bakteri) akan

berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan multiplikasi atau berkembang biak (Irawan, 2017).

### 3. Pembagian Antimikroba

Antimikroba berdasarkan spektrum atau kisaran kerja antimikroba dapat dibedakan menjadi (Irawan, 2017):

- a. Spektrum sempit yaitu antimikroba yang hanya mampu menghambat satu golongan bakteri saja, contohnya hanya mampu membunuh atau menghambat bakteri dari Gram negatif saja atau Gram positif saja
- b. Spektrum luas yaitu antimikroba yang dapat menghambat atau membunuh bakteri baik gram negatif, maupun gram positif.

### 4. Prinsip Kerja Antimikroba

Suatu antimikroba memperlihatkan toksisitas yang selektif, dimana obatnya lebih toksis terhadap mikroorganisme dibandingkan pada sel hospes. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroorganisme atau karena obat pada reaksi-reaksi biokimia penting dalam sel parasit lebih unggul daripada pengaruhnya terhadap sel hospes. Disamping itu juga struktur sel mikroorganisme berbeda dengan struktur sel manusia(hospes, inang) (Irawan, 2017).

### 5. Uji efektivitas Antimikroba

Pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode dilusi (pengenceran) atau dengan metode difusi:

a. Metode dilusi

Zat antibakteri dengan konsentrasi yang berbeda-beda dimasukkan pada media cair. Media tersebut langsung diinokulasi dengan bakteri dan diinkubasi. Tujuan dari percobaan ini adalah menentukan konsentrasi terkecil suatu zat antibakteri dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Metode dilusi agar membutuhkan waktu yang lama dalam pengerjaannya sehingga jarang digunakan.

b. Metode difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar dengan menggunakan cakram kertas, cakram kaca, pencetak lubang. Prinsip metode ini adalah mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri didalam media padat melalui pencadang. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar cakram. Luas daerah berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri, semakin kuat daya aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah hambatnya.

6. Kekuatan Aktivitas Antimikroba

Diameter adalah hambatan diukur setelah masa inkubasi berakhir. Berikut ini klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada tabel 1 :

Tabel 1. Efektivitas Zat Antibakteri (Utami, 2017)

<b>Diameter zona hambat</b>	<b>Respon hambatan pertumbuhan</b>
>20 mm	Sangat Kuat
10 - 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
0 - 5 mm	Lemah



## **D. Ekstraksi Simplisia**

### **1. Pengertian**

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman, simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni, sedangkan simplisia mineral adalah simplisia yang berasal dari bumi, baik telah diolah ataupun belum, tidak berupa zat kimia murni (Irawan, 2017).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi bau yang telah ditetapkan (Irawan, 2017).

Ekstraksi atau penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif, yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Umumnya penyarian akan bertambah baik jika permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin (Irawan, 2017). Tujuan ekstraksi adalah untuk menyari semua komponen kimia yang terdapat pada simplisia. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk dalam pelarut.

Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut karena kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsi yang baik, etanol dapat bercampur dengan air dengan skala perbandingan, suhu panas yang diperlukan dalam pemekatan lebih sedikit (Maulana, 2018). Etanol yang digunakan ialah etanol 70% dikarenakan etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Indraswari dalam (Azis, Febrizky, & Mario, 2014).

Konstanta dielektrikum beberapa pelarut ditunjukkan pada tabel 2:

Tabel 2. Konstanta Dielektrikum dan Tingkat Kelarutan Beberapa Pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Heksana	1,9	TL	68,7
Petroleum eter	2,28	TL	60
Benzene	2,38	TL	80,1
Toluene	4,81	TL	111
Klorofom	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Metil asetat	6,68	S	57
Metil klorida	9,08	S	39,75
Butanol	15,8	S	117,2
Propanol	20,1	L	97,22
Aseton	20,7	L	56,2
Etanol	24,3	L	78,5
Metanol	33,6	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan, TL = Tidak Larut, S = Sedikit, L = Larut dalam berbagai proporsi (Rizkia, 2014)

## 2. Metode Ekstraksi

### a. Maserasi

Maserasi dilakukan dengan melakukan perendaman bagian tanaman secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah alkohol atau kadang-kadang juga air. Campuran ini kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dipress untuk memperoleh bagian cairnya saja. Cairan yang diperoleh kemudian dijernihkan dengan penyaringan atau dekantasi setelah dibiarkan selama waktu tertentu.

Keuntungan proses maserasi diantaranya adalah bahwa bagian tanaman yang akan diekstraksi tidak harus dalam wujud serbuk yang halus, tidak diperlukan keahlian khusus dan lebih sedikit kehilangan alkohol sebagai pelarut seperti pada proses perkolasi atau sokhletasi. Kerugian proses maserasi adalah perlunya dilakukan penggojogan atau pengadukan, pengepresan dan penyaringan, terjadinya residu pelarut di dalam ampas, serta mutu produk akhir yang tidak konsisten (Endarini, 2016).

### b. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air dingin / air mendidih dalam jangka waktu yang pendek yaitu dengan temperatur 96-98°C selama 15-20 menit (Sitepu, 2010). Pemilihan suhu infus tergantung pada ketahanan senyawa bahan aktif yang selanjutnya segera digunakan sebagai

obat cair. Hasil infus tidak bisa digunakan dalam jangka waktu yang lama karena tidak menggunakan bahan pengawet. Namun pada beberapa kasus, hasil infusi (larutan infus) dipekatkan lagi dengan pendidihan untuk mengurangi kadar airnya dan ditambah sedikit alkohol sebagai pengawet (Endarini, 2016).

#### c. Perkolasi

Perkolasi merupakan teknik yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dari bagian tanaman dalam penyediaan tinktur dan ekstrak cair. Sebuah perkolator, biasanya berupa silinder yang sempit dan panjang dengan kedua ujungnya berbentuk kerucut yang terbuka. Bagian tanaman yang akan diekstrak dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kurang lebih 4 jam dalam tangki tertutup. Langkah selanjutnya, bagian tanaman ini dimasukkan ke dalam perkolator dan bagian atas perkolator ditutup. Sejumlah pelarut biasanya ditambahkan hingga membentuk lapisan tipis di bagian tanaman yang akan diekstrak. Bagian tanaman ini dibiarkan mengalami maserasi selama 24 jam dalam perkolator tertutup, setelah itu cairan hasil perkolasi dibiarkan keluar dari perkolator dengan membuka bagian pengeluaran (tutup bawah) perkolator. Sejumlah pelarut ditambahkan lagi (seperti membilas) sesuai dengan kebutuhan hingga cairan ekstrak yang diperoleh menjadi kurang lebih tiga per empat dari volume yang diinginkan dalam produk akhir. Ampas ditekan / dipress, dan cairan yang diperoleh ditambahkan ke dalam cairan ekstrak. Sejumlah pelarut ditambahkan lagi ke dalam cairan ekstrak untuk memperoleh

ekstrak dengan volume yang diinginkan. Campuran ekstrak yang diperoleh dijernihkan dengan penyaringan atau sedimentasi dengan dilanjutkan dengan dekantasi (Endarini, 2016).

d. Refluk

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna (Sitepu, 2010).

e. Sokhletasi

Teknik ekstraksi ini, bagian tanaman yang sudah digiling halus dimasukkan ke dalam kantong berpori (*thimble*) yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan dimasukkan ke dalam alat sokhlet untuk dilakukan ekstraksi. Pelarut yang ada dalam labu akan dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada kondenser. Embunan pelarut ini akan merayap turun menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak. Kontak antara embunan pelarut dan bagian tanaman ini menyebabkan bahan aktif terekstraksi. Ketika ketinggian cairan dalam tempat ekstraksi meningkat hingga mencaapai puncak kapiler maka cairan dalam tempat ekstraksi akan tersedot mengalir ke labu selanjutnya. Proses ini berlangsung secara terus-menerus (*kontinyu*) dan dijalankan sampai tetesan pelarut dari pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan. Keuntungan dari proses ini jika dibandingkan dengan proses-proses yang telah dijelaskan

sebelumnya adalah dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit. Hal ini sangat menguntungkan jika ditinjau dari segi kebutuhan energi, waktu dan ekonomi. Proses sokhletasi ini hanya dijalankan secara batch pada skala kecil. Namun, proses ini akan lebih ekonomis jika dioperasikan secara kontinyu dengan skala menengah atau besar (Endarini, 2016).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan di isolasi. Memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya (Mukhriani, 2014):

- 1) Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
- 2) Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
- 3) Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut:

- 1) Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dan lain-lain).  
Pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan
- 2) Pemilihan pelarut
- 3) Pelarut polar (air, etanol, metanol, dan sebagainya)
- 4) Pelarut semi polar (etil asetat, diklorometan, dan sebagainya)
- 5) Pelarut non polar (n-heksan, petroleum eter, klorofom, dan sebagainya)

### **E. Fraksinasi**

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Penarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar (Irawan, 2017). Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda dalam dua pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda pula. Fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair dilakukan dengan pengocokan. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda bergantung pada jenis simplisia. Senyawa-senyawa bersifat polar akan masuk dalam pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non-polar akan masuk kepelarut non-polar (Pratiwi et al., 2016).

Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi adalah etil asetat yang merupakan pelarut semi polar sehingga dapat melarutkan senyawa semi polar pada dinding sel seperti glikon flavonoid. Etil asetat adalah senyawa organik yang merupakan ester dari etanol dan asam asetat serta merupakan pelarut polar menengah yang volatil, tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat menyari senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri diantaranya flavonoid pilohidroksi dan fenol yang lain (Mulyati, 2009).

### **F. Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)**

GC-MS adalah teknik analisis yang menggabungkan dua metode analisis yaitu kromatografi gas dan spektrometri massa. Kromatografi gas adalah metode analisis, di mana sampel dipisahkan secara fisik menjadi bentuk molekul-molekul yang lebih kecil (hasil pemisahan berupa kromatogram). Spektrometri massa adalah metode analisis di mana sampel yang akan dianalisis diubah menjadi ion-ionnya, dan massa dari ion-ion tersebut dapat diukur berupa spektrum massa (Setiaji, 2014).

#### **1. Prinsip Kerja GC-MS**

GC hanya terjadi pemisahan untuk mendapatkan komponen yang diinginkan, sedangkan bila dilengkapi dengan MS (berfungsi sebagai detektor) akan dapat mengidentifikasi komponen tersebut, karena bisa mendapat spektrum bobot molekul pada suatu komponen yang dapat dibandingkan langsung dengan *library (reference)* pada *software*. Proses pemisahan pada GC terjadi di dalam kolom (kapiler) melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam adalah zat yang ada di dalam kolom, dan fase gerak adalah gas pembawa (helium atau hidrogen) dengan kemurnian tinggi.

Proses pemisahan terjadi karena terdapat perbedaan kecepatan alir tiap molekul di dalam kolom. Perbedaan tersebut disebabkan oleh perbedaan afinitas antar molekul dengan fase diam yang ada di dalam kolom. Proses pendeteksian sampel pada MS diawali dengan diubahnya sampel yang berasal dari GC menjadi ion-ion gasnya terlebih dahulu. Kemudian ion-ion tersebut dilewatkan melalui suatu penganalisis massa (*mass analyzer*) yang berfungsi

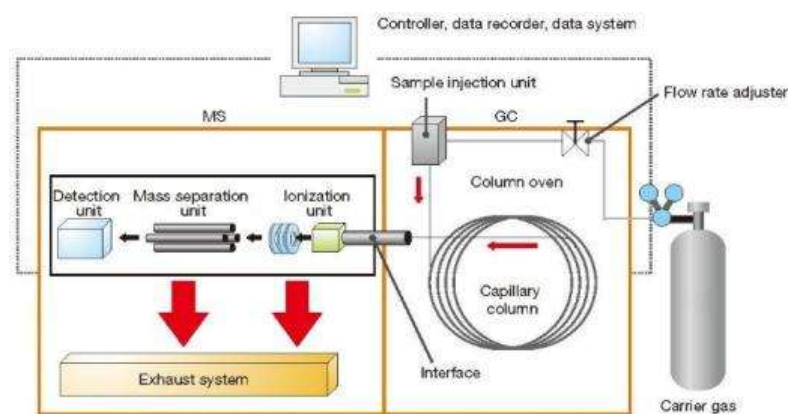


secara selektif untuk memisahkan ion dengan satuan massa atom yang berbeda. Terakhir ion-ion tersebut dideteksi oleh *electron multiplier detector* (lebih peka dari detektor biasa) (Setiaji, 2014).

## 2. Instrument GC-MS

Instrumentasi GC yang menggunakan spektrometer massa (MS) sebagai detektor dapat digunakan untuk memisahkan campuran komponen dalam suatu sampel, sekaligus mengidentifikasi komponen-komponen tersebut pada tingkat molekuler. Senyawa-senyawa yang terpisah dari analisis GC akan keluar dari kolom dan mengalir ke dalam MS, kemudian senyawa-senyawa tersebut teridentifikasi berdasarkan bobot molekul. Molekul-molekul analat yang bersifat netral diubah menjadi ion-ion dalam fase gas. Ion-ion yang dihasilkan kemudian dipisahkan menurut rasio massanya ( $m/e$ ). Spektrum massa dari analat yang muncul dibandingkan dengan spektrum pada *library* MS sehingga akan diketahui bobot molekul dari analat tersebut (Setiaji, 2014).

Skema GC-MS dapat dilihat pada gambar 2 dibawah ini:



Gambar 2. Skema GC-MS (Kawana & Miyagawa, 2011)

Bagian instrumentasi kromatografi gas-spektrometer massa sebagai berikut (Setiaji, 2014):

- a. Pengatur aliran gas (*Gas Flow Controller*). Tekanan diatur sekitar 1-4 atm sedangkan aliran diatur 1-1000 liter gas per menit. Fase bergerak adalah gas pembawa, yang paling lazim digunakan adalah He, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, Ar, tetapi untuk detektor konduktivitas termal, He lebih disukai karena konduktivitasnya yang tinggi. Gas pembawa dialirkan lebih dahulu pada suatu silinder berisi *molecular sieve* untuk menyaring adanya kontaminasi pengotor.
- b. Tempat injeksi sampel (*injector*). Sampel diinjeksikan dengan suatu mikro *syringe* melalui suatu septum karte silikon ke dalam kotak logam yang panas. Banyaknya sampel berkisar 0,5-10 µL.
- c. Kolom kromatografi. tempat berlangsungnya proses kromatografi, kolom memiliki variasi dalam ukuran dan bahan isian. Ukuran yang umum sepanjang 6 kaki dan berdiameter dalam ¼ inci, terbuat dari tabung tembaga atau baja tahan karat, berbentuk spiral. Tabung diisi dengan suatu bahan padat halus dengan luas permukaan besar yang relatif inert. Padatan tersebut adalah sebuah penyangga mekanik untuk cairan. Sebelum diisi padatan tersebut diimpregnasi dengan cairan yang diinginkan yang berperan sebagai fase stasioner. Cairan ini harus stabil dan tidak mudah menguap pada temperatur ruang dan harus sesuai untuk pemisahan tertentu.
- d. *Interface*, Berfungsi untuk mengirimkan sampel dari GC ke MS dengan meminimalkan kehilangan sampel saat pengiriman.
- e. Sumber ion (*ion source*), tempat terjadinya proses ionisasi dari molekul yang berupa uap. Molekul tersebut akan kehilangan satu elektron dan

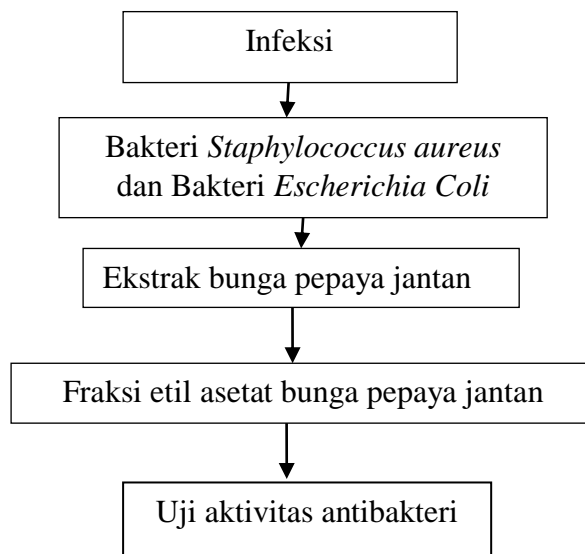
terbentuk ion molekul bermuatan positif. Proses lain, molekul menangkap satu elektron bermuatan negatif.

- f. Pompa vakum (*vacuum pump*). Pompa vakum tinggi untuk mengurangi dan mempertahankan tekanan pada MS saat analisis dan pompa vakum rendah untuk mengurangi tekanan udara luar MS.
- g. Penganalisis massa (*mass analyzer*). Susunan alat untuk memisahkan ion-ion dengan perbandingan massa terhadap muatan yang berbeda. Penganalisis massa harus dapat membedakan selisih massa yang kecil serta dapat menghasilkan arus ion yang tinggi.
- h. Detektor. Peka terhadap komponen-komponen yang terpisahkan di dalam kolom serta mengubah kepekaannya menjadi sinyal listrik. Kuat lemahnya sinyal bergantung pada laju aliran massa sampel dan bukan pada konsentrasi sampel gas penunjang.

### **G. Hipotesis**

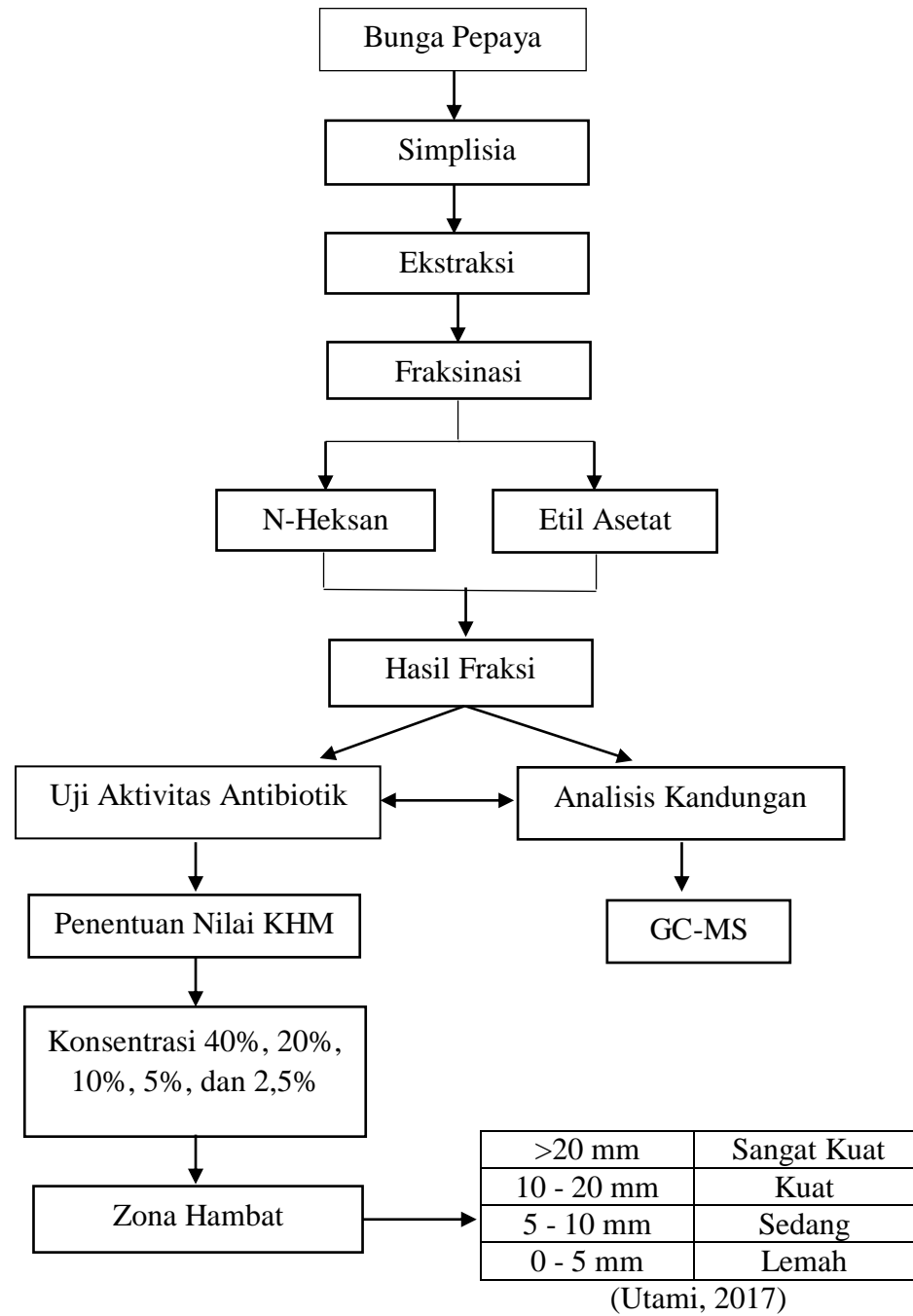
1. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol bunga pepaya jantan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan.

### H. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

### I. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui ekstrak bunga pepaya jantan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*

#### **B. Variabel dan Definisi Operasional**

##### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi fraksi etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *escherichia coli*.

##### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai KHM (Kadar Hambat Minimum).

#### **C. Sampel**

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah bunga pepaya jantan (*Carica papaya L*) diambil dari daerah Kecamatan Sawangan Kabupaten Magelang.

#### **D. Alat dan Bahan Penelitian**

##### 1. Alat

Alat yang digunakan adalah alat maserasi, autoklaf, cawan petri, cawan porselin, chamber, gelas Erlenmeyer 100 ml, gelas kimia 250 ml, gelas ukur 5

ml, 10 ml dan 50 ml, inkubator, kompor, lampu spiritus, lampu UV 254 nm, *Laminary Air Flow (LAF)*, mikropipet 1-10 µl ose bulat, ose lurus, oven, penangas air, rotari evaporator, tabung reaksi, timbangan analitik, water bath, vial, vortex mixer dan wadah maserasi.

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biakan murni mikroba *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, DMSO (Dimeti 1 Sulfoksida), medium Nutrient Agar (NA), sampel ekstrak etanol bunga papaya jantan, pelarut n-heksan, pelarut etil asetat, pelarut etanol 70%.

## E. Cara Penelitian

### 1. Determinasi

Determinasi tanaman pepaya dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Identifikasi ini dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologinya dengan pustaka

### 2. Pengolahan sampel

Sebelum dilakukan penyarian atau maserasi, terlebih dahulu bunga papaya jantan di sortasi basah. Setelah proses pencucian, kemudian bunga di angin-anginkan di dalam ruangan yang terlindung oleh cahaya matahari langsung. Karena dapat merusak kandungan kimia yang terkandung dalam bunga papaya jantan.

### 3. Ekstraksi sampel

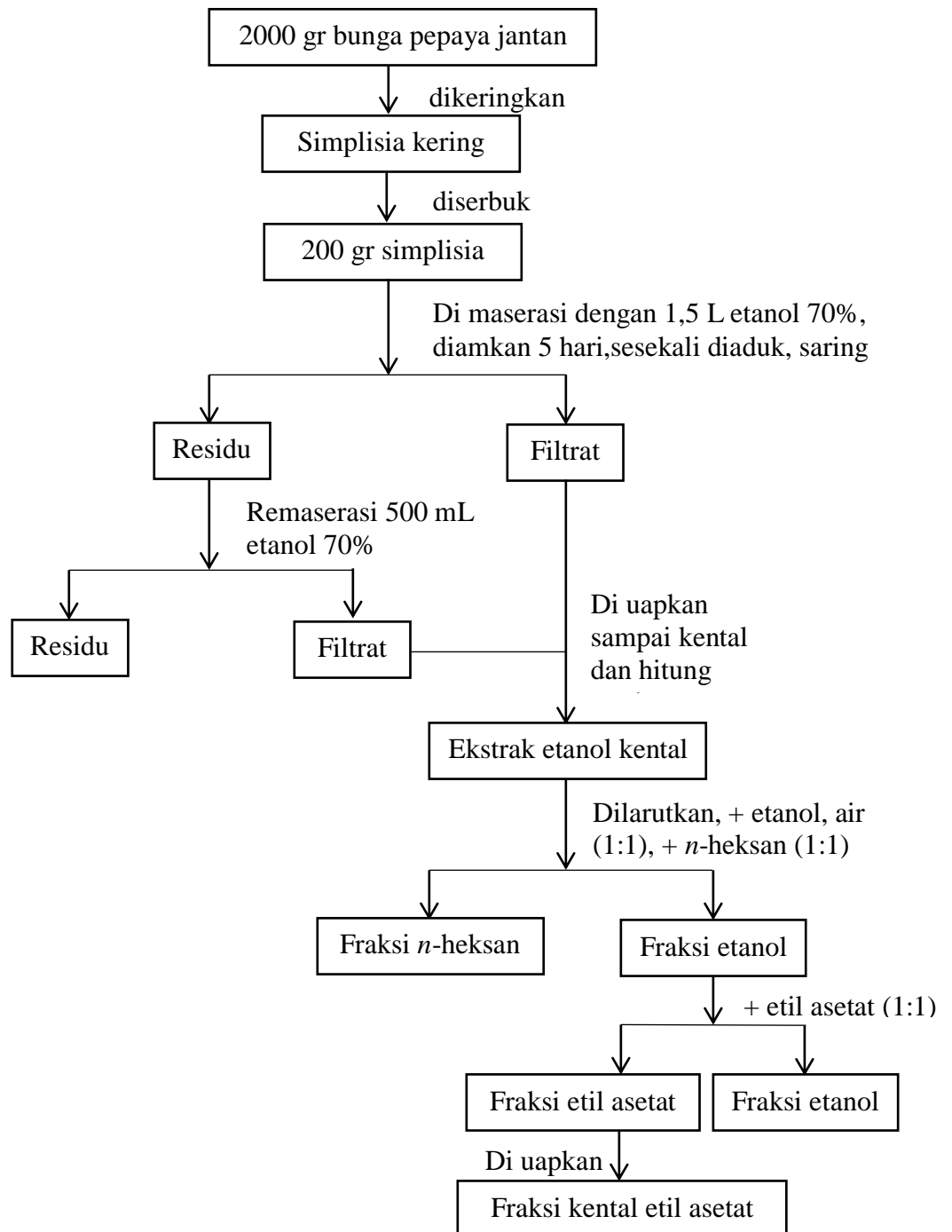
Sampel bunga pepaya jantan yang telah kering ditimbang 200 gram dan dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan 1,5 L pelarut etanol 70% hingga terendam seluruhnya. Wadah maserasi ditutup dan disimpan 3 hari ditempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtrat. Ampas diremaserasi dengan 500 mL etanol 70% selama 2 hari . Filtrat etanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penyaringnya dengan rotari evaporator sampai diperoleh ekstrak etanol kental (Padmasari, Astuti, & Warditiani, 2013). Rumus menghitung randemen:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

### 4. Fraksinasi

Pekatkan ekstrak etanol bunga pepaya jantan. Selanjutnya dilarutkan dengan etanol dan aquadest dengan perbandingan 1:1 sebanyak 200 ml. Lakukan pemisahan menggunakan corong pisah, tambahkan 200 ml *n*-heksan, di kocok perlahan lahan (etanol : *n*-heksan = 1 : 1). Diamkan hingga terjadi pemisahan antara *n*-heksan dan etanol-air. Fraksinasi dilanjutkan dengan menggunakan etil asetat dengan proses yaitu masukkan hasil fraksi yang tidak larut heksan, lalu ditambahkan etil asetat dngan perbandingan 1:1. Diamkan hingga terjadi pemisahan antara etil asetat dan *n*-heksan. Selanjutnya uapkan hasil dari fraksi etil asetat sehingga mendapatkan fraksi kental. (Salni, Marisa, & Mukti, 2011).





Gambar 5. Proses Fraksinasi

## 5. Uji Antibakteri

### a. Sterilisasi

Alat – alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu harus dicuci bersih dan kering, untuk alat – alat gelas disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Spatel, jarum ose, dan kaca objek disterilkan dengan cara melewatkan diatas nyala bunsen selama 30 detik. Ruangan dan lemari kaca aseptis disterilkan dengan larutan alkohol 70 % sebelum dan sesudah kerja (Yosmar, Suharti, & Rasyid, 2013).

### b. Pembuatan Media Agar

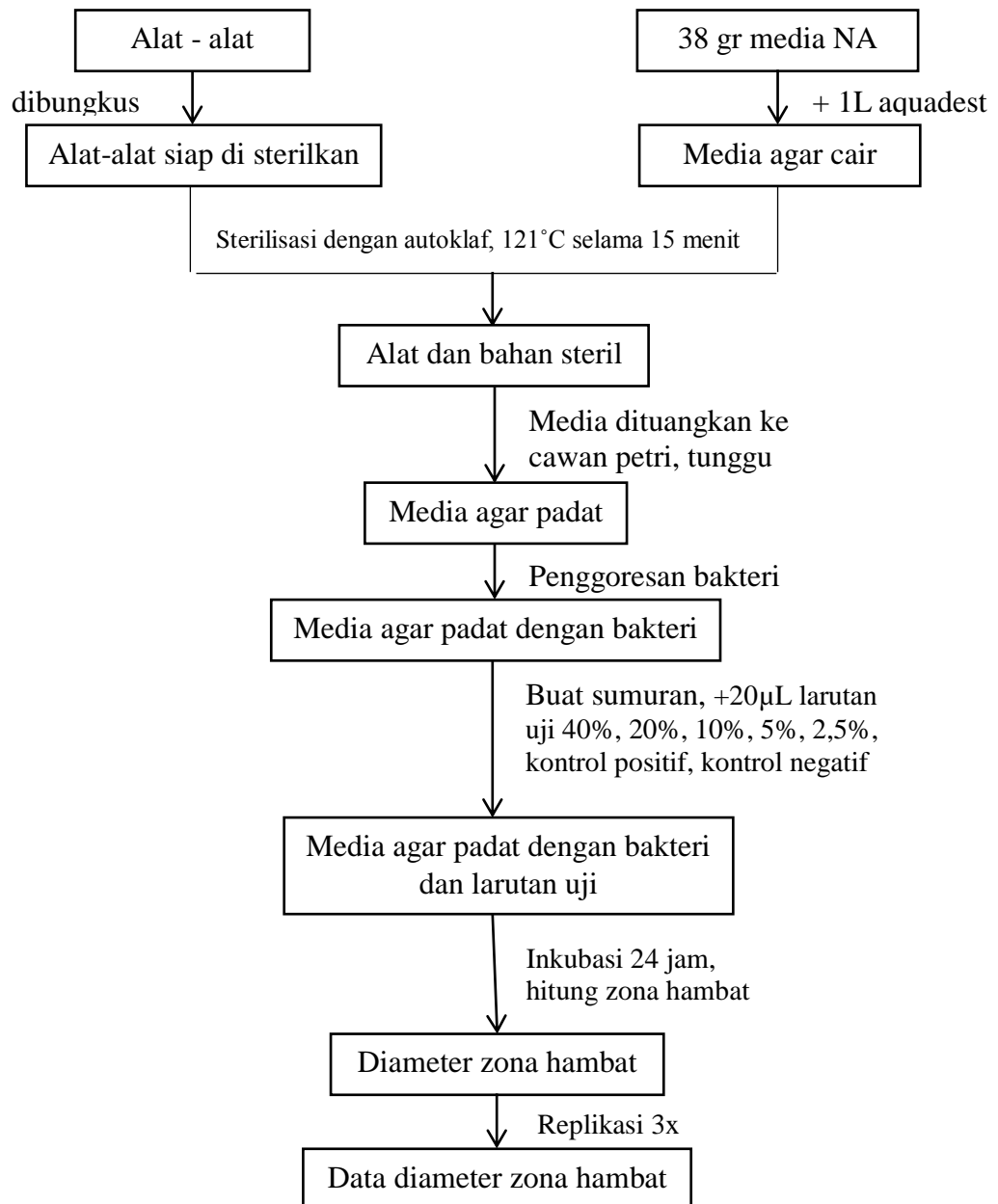
Sejumlah 38 gr serbuk media nutrient agar (NA) dilarutkan dalam aquadest 1000 ml dan di panaskan sampai bahan semua terlarut sempurna. Selanjutnya media di sterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sejumlah 15 ml media NA dimasukkan kedalam cawan petri pada suhu 37°C dan dibiarkan memadat. (Zakaria, Soekamto, Syah, & Firdaus, 2017).

### c. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan melarutkan fraksi etil asetat bunga pepaya jantan menggunakan pelarut etil asetat. Larutan yang dibuat dengan konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, dan 2,5% (Syarifuddin, Sulistyani, & Kintoko, 2018).

d. Uji KHM (Kadar Hambat Minimum)

Fraksi teraktif ditentukan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan kadar yang digunakan antara lain : 40%, 20%, 10%, 5% dan 2,5% serta menggunakan kontrol positif kloramfenikol 0,1% dan kontrol negatif DMSO 10%. Secara aseptis cawan petri yang telah ditambahkan NA akan digoresi suspensi bakteri menggunakan *cutton bud* steril, kemudian dibuat lubang sumuran. Setiap cawan petri yang sudah dilubangi diberi larutan uji dengan seri kadar, kontrol positif, dan kontrol negatif sebanyak 20  $\mu$ L lalu dibiarkan selama 2 jam, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Syarifuddin et al., 2018).



Gambar 6. Proses Antibakteri

## 6. GC-MS

Analisis kandungan bunga pepaya jantan dengan instrument GC-MS dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. GC-MS digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa pada fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan yang berpotensi sebagai antibiotik untuk diare.

### **F. Analisis Hasil**

Hasil pengukuran diameter zona hambat di analisis dengan SPSS. Uji dilakukan dengan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan uji one way Anova dengan taraf kepercayaan 95%.

### **G. Tempat dan waktu penelitian**

#### 1. Tempat Penelitian

Tempat pengujian di Laboratorium Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang

#### 2. Waktu pelaksanaan

Penelitian akan dilakukan selama satu bulan, pada bulan November 2019 sebagai bahan skripsi.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. KESIMPULAN**

Kesimpulan penelitian ini adalah :

1. Fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan tidak memberikan daya hambat terhadap bakteri *Eschericia Coli* akan tetapi dapat menghambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* karena kandungan senyawa fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan ialah linalool yang merupakan salah satu komponen minyak atsiri yang mampu menghambat salah satunya bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan ialah *E-Citral* yang memiliki persentase kemiripan 49%, *Linalool* 87%, *2-Methoxy-4-vinylphenol* 87%

#### **B. SARAN**

Bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi antibiotik pada fraksi etil asetat bunga pepaya jantan terhadap bakteri *Eschericia Coli*, tetapi dengan menggunakan pelarut yang berbeda yaitu pelarut yang bersifat polar dan menggunakan bakteri gram positif. Maka dari itu peluang untuk berpotensi sebagai antibiotik lebih besar, sehingga mendapatkan hasil yang optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azis, T., Febrizky, S., & Mario, A. D. (2014). *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yieldalkaloiddari Daun Salam India (Murraya Koenigii)*. 20(2), 1–6.
- Bakri, Z., Hatta, M., & Massi, M. N. (2015). Deteksi Keberadaan Bakteri Escherichia Coli O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan Pcr. *Jst Kesehatan*, 5(2), 184–192.
- Chudlori, B., Kuswandi, M., & Indrayudha, P. (2012). Pola Kuman Dan Resistensinya Terhadap Antibiotik Dari Spesimen Pus Di Rsud Dr. Moewardi Tahun 2012. *Pharmacon*, 13(2), 70–76.
- Dewi, Amalia Krishna. (2013). Isolasi, Identifikasi Dan Uji Sensitivitas Staphylococcus Aureus Terhadap Amoxicillin Dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (Pe) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jsv*, 31(2).  
<https://doi.org/10.2105/Ajph.45.9.1138>
- Endarini, L. H. (2016). *Farmakognosi Dan Fitokimia*. Jakarta: Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Febrina, L., Riris, I. D., & Silaban, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Escherichia Coli Dan Antioksidan Dari Ekstrak Air Tumbuhan Binara (Artemisia Vulgaris L.). *Jurnal Pendidikan Kimia*, 9(2), 311–317.  
<https://doi.org/10.24114/jpkim.v9i2.7621>
- Fратиwi, Y. (2015). The Potential Of Guava Leaf (Psidium Guajava L .) For Diarrhea. *J Majority*, 4, 113–118.
- Gopalakrishnan, S., & Vadivel, E. (2011). Gc-Ms Analysis Of Some Bioactive Constituents Of Mussaenda Frondosa Linn. *International Journal Of Pharma And Bio Sciences*, 2(1), 313–320.

- Irawan, A. S. (2017). *Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Rimpang Jeringau (Acorus Calamus L.) Terhadap Bakteri Patogen*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Kadarohman, A., Dwiyantri, G., Anggraeni, Y., & Khumaisah, L. (2011). Komposisi Kimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Kemangi (*Ocimum Americanum L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*, *Shigella Sonnei*, Dan *Salmonella Enteritidis*. *Journal Of Biological Researches*, 16(2), 101–110. <https://doi.org/10.23869/Bphjbr.16.2.20111>
- Kawana, S., & Miyagawa, H. (2011). *Development Of Green Technologies In Gcms-Qp2010 Ultra*. 1–8.
- Maulana, M. (2018). *Profil Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Ekstrak Daun Bidara Arab (Ziziphus Spina Cristi. L) Berdasarkan Variasi Pelarut*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Mukhaimin, I., Latifahnya, A. N., & Puspitasari, E. (2018). *Penentuan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Bunga Pepaya (Carica Papaya L) Dengan Metode Microwave Assisted Extraction*. 1(2), 66–73.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2), 361–367.
- Mulyati, E. S. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Ceramai (*Phyllanthus Acidus (L.) Skeels*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Dan Bioautografinya. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nainggolan, M., & Kasmirul. (2015). *Cytotoxicity Activity Of Male Carica Papaya L. Flowers On MCF-7 Breast Cancer Cells*. 7(5), 772–775.
- Novard, M. F. A., Suharti, N., & Rasyid, R. (2019). Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen Dan Pola Resistensinya Di



- Laboratorium Rsup Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Kesehatan Andalas*, 8, 26–32.
- Novitasari, Mega Rizky, Febrina, L., Agustina, R., Rahmadani, A., & Rusli, R. (2016). Analisis Gc-MS Senyawa Aktif Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Libo (*Ficus Variegata* Blume.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(5), 221–225. <https://doi.org/10.1017/Cbo9781107415324.004>
- Nurhayati. (2011). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar (Ipomoea Batatas L.), Cultivar Umbi Putih Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Aeruginosa*.
- Octaviani, M., Fadhli, H., & Yuneistya, E. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Dari Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa* L.) Dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Science Research*, 6(1), 62–68.
- Padmasari, P. ., Astuti, K. ., & Warditiani, N. . (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 1–7.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, Fraksi Etil Asetat, Dan Fraksi N-Heksan Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Jpscr : Journal Of Pharmaceutical Science And Clinical Research*, 1(2), 71–82. <https://doi.org/10.20961/Jpscr.V1i2.1936>
- Putri, S. Utami. (2016). *Efek Ekstrak Makroalga Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Methicillin Resisten Staphylococcus Aureus*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Rahardjo, M., Koendhori, E. B., & Setiawati, Y. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 17(2), 65–70. <https://doi.org/10.24815/Jks.V17i2.8975>

- Riskawati. (2016). *Isolasi Dan Karakteristik Bakteri Patogen Pada Tanah Di Lingkungan Tempat Pembuangan Akhir Sampah (Tpas) Kota Makassar*. Uin Alauddin Makassar.
- Rizkia, P. (2014). *Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70%, Ekstrak Dan Isolat Senyawa Flavonoid Dalam Umbi Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Roni, A., Maesaroh, M., & Marliani, L. (2018). Aktivitas Antibakteri Biji, Kulit Dan Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(1), 29–33. <https://doi.org/10.26874/kjif.v6i1.134>
- Salni, Marisa, H., & Mukti, R. W. (2011). Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium Lobatum Benth*) Dan Penentuan Nilai Khm-Nya. *Penelitian Sains*, 14, 38–41.
- Setiaji, G. (2014). *Karakteristik Dan Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Hasil Ekstraksi Biji Honje (Etilingera Elatior)*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Sitepu, J. S. G. (2010). *Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Secara Maserasi Dan Dengan Alat Soxhlet Terhadap Kandungan Kurkuminoid Dan Minyak Atsiri Dalam Ekstrak Etanolik Kunyit*. Universitas Sanata Dharma.
- Solikhah, Kusuma, S. B. W., & Wijayati, N. (2016). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Batang Dan Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*). *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 5(2), 104–107.
- Suryati, N., Bahar, E., & Ilmiawati. (2017). *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Aloe Vera Terhadap Pertumbuhan Escherichia Coli Secara In Vitro*. 6(3), 518–522.
- Syarifuddin, A., Kamal, S., Yulastuti, F., Pradani, M. P. K., & Septianingrum, N.

- M. A. N. (2019). Ekstraksi Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Dari Isolat Al6 Serta Potensinya Sebagai Antibakteri Terhadap <Em>Escherichia Coli</Em>. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (Jbbi)*, 6(2), 210. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v6i2.3516>
- Syarifuddin, A., Sulistyani, N., & Kintoko. (2018). Aktivitas Antibiotik Isolat Bakteri Kp13 Dan Analisa Kebocoran Sel Bakteri Escherichia Coli. *Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 137–144.
- Tanaya, V., Retnowati, R., & Suratmo. (2015). Fraksi Semi Polar Dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera Casturi* Kosterm). *Kimia Student Journal*, 1(1), 778–784.
- Ukpabi, S. C., O, E., C, C. H., & Chizaram, E. (2015). Chemical Composition Of Carica Papaya Flower (Paw-Paw). *International Journal Of Scientific Research Adn Engineering Studies*, 2(3), 55–57. Retrieved From [Www.Ijres.Com](http://www.ijres.com)
- Utami, N. A. (2017). *Uji Daya Hambat Bakteriostatik Dari Ekstrak Tomat (Lycopersicon Esculentum Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Epidermis*. Universitas Sanata Darma.
- Yogiraj, V., Goyal, P. K., Chauhan, C. S., Goyal, A., & Vyas, B. (2014). Carica Papaya Linn : An Overview. *International Journal Of Herbal Medicine*, 2(5), 1–8.
- Yosmar, R., Suharti, N., & Rasyid, R. (2013). Isolasi Dan Uji Kualitatif Hidrolisat Jamur Penghasil Enzim Selulase Dari Tanah Tumpukan Ampas Tebu. *Jurnal Farmasi Andalas*, 1(1), 5–12.
- Yuliani, N. Nyoman, Sambara, J., & Mau, Maria Alexandria. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etilasetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Var. *Rubrum*) Dengan Metode Dpph(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Info Kesehatan*, 14, 1091–1111.

- Zakaria, Soekamto, N. H., Syah, Y. M., & Firdaus. (2017). Aktivitas Antibakteri Dari Fraksi *Artocarpus Integer* (Thunb.) Merr. Dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 12(2), 1–6.
- Zikra, W., Amir, A., & Putra, A. E. (2018). Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* (E.Coli) Pada Air Minum Di Rumah Makan Dan Cafe Di Kelurahan Jati Serta Jati Baru Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(2), 212. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i2.804>