



Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Hananing Aprillia^{a,1}, Nelya Utari^{a,2*}, Nur'aini Purnamaningsih^{a,3}

^a Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Jl. Siliwangi, Ringroad Barat, Sleman, 55293, Indonesia
¹ahananing4@gmail.com; ²nelyautari2107@gmail.com*; ³nurainipurnamaningsih21@gmail.com

* corresponding author

ABSTRACT

ARTICLE INFO

Background: Infectious diseases are still a problem for the world of health. Infectious diseases are caused by viral, bacterial and parasitic infections. Inappropriate use of antibiotics in treating bacterial infections can cause antibiotic resistance effects. Prevention of the effects of resistance can be done by looking for natural antibiotic agents derived from plants. One of the potential medicinal plants as antibiotics is papaya leaf.

Objective: The objective of study was determine the antibacterial activity of the papaya leaf n-hexane fraction against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and to determine the diameter zone of inhibition the papaya leaf n-hexane fraction at 20%; 40%; 60%; 80%; and 100% against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Method: Papaya leaf were extraction by using maceration method of 70% ethanol as solvent. Separation of compounds based on the level of polarity using fractionation method with n-hexane: water (1:1 v/v) solvent then carried out phytochemical screening and separation of compounds using TLC method. The antibacterial activity testing used by agar diffusion method Kirby Bauer with the treatment group of papaya leaf n-hexane fraction with a concentration of 20%; 40%; 60%; 80%; and 100%, the positive control group used Ampicillin 10 µg and the negative control group used Aquades.

Result: Diameter zone of inhibition *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was smallest at 20% was $6,57 \pm 0,15$ mm and $6,69 \pm 0,33$ mm, while the diameter zone of inhibition the largest at 100% was $7,92 \pm 0,23$ mm and $7,94 \pm 0,16$ mm.

Conclusion: The papaya leaf n-hexane fraction concentration of 20%; 40%; 60%; 80%; and 100% had antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The higher concentration then the larger diameter zone of inhibition formed.

Article history

Received: 10 April 2024

Revised: 30 April 2024

Accepted: 10 May 2024

Keywords

Antibacterial

Escherichia coli

Staphylococcus aureus

n-hexane

fractionation

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi saat ini masih menjadi masalah besar bagi dunia kesehatan. Walaupun telah melewati sebagian dekade dengan perkembangan pengobatan serta pencegahannya, penyakit infeksi masih menjadi pemicu utama kesakitan dan kematian (1). Di negara-negara berkembang contohnya Indonesia penyakit infeksi yang sering terjadi, yaitu diare, demam tifoid, demam berdarah, serta radang paru-paru. Penyakit infeksi ini sangat mudah menyerang anak-anak sebab sistem imunnya



belum optimal. Pemicu dari penyakit infeksi ini diakibatkan oleh infeksi virus, infeksi bakteri, dan infeksi parasit. Bersumber pada Survei Kesehatan Rumah Tangga tahun 2007, pemicu utama kematian sebesar 28,1% diakibatkan oleh penyakit infeksi dan parasit, 18,9% diakibatkan oleh penyakit vaskuler, dan 15,7% diakibatkan oleh penyakit pernafasan (2).

Virus, bakteri, dan parasit bisa menyesuaikan diri di lingkungan semacam tanah, air, bahan organik, vektor serangga, hewan, serta manusia. Beberapa bakteri juga bisa menimbulkan penyakit pada manusia, hewan serta bisa juga keduanya. Bakteri *Salmonella sp* dan *Campylobacter* merupakan bakteri yang dapat menginfeksi pada hewan dan ditularkan lewat produk makanan ke manusia. Makanan yang terkontaminasi oleh limbah dapat memicu adanya bakteri *Escherichia coli* sehingga menyebabkan diare. *Mycobacterium tuberculosis* ialah bakteri yang menginfeksi pada manusia sehingga menimbulkan penyakit pernafasan, yaitu tuberkulosis. *Staphylococcus aureus* dapat dijumpai di lubang hidung anterior manusia apabila menggosok-gosokan hidung kemudian membawa stafilocoki pada tangannya lalu menyebarkan ke bagian badan lain ataupun ke orang lain dapat menimbulkan penyakit infeksi (3).

Bakteri *Escherichia coli* bisa menimbulkan penyakit diare akut yang dirasakan oleh semua usia. Bakteri ini menghasilkan racun yang bisa menempel dan merusak sel-sel mukosa usus halus. Indikasi klinis yang kerap terjadi antara lain diare berair, kram perut, demam ringan, dan mual. Bakteri *Staphylococcus aureus* ialah pemicu terbentuknya infeksi dengan indikasi khas semacam peradangan, nekrosis, pembentukan abses, dan bisa menimbulkan infeksi seperti jerawat, bisul, ataupun nanah. Antibakteri bisa mengganggu perkembangan ataupun mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolismenya. Antibakteri hanya bisa digunakan bila mempunyai sifat toksik selektif yang bisa membunuh bakteri pemicu penyakit namun tidak menimbulkan keracunan bagi penderitanya (3).

Mekanisme penghambatan terhadap perkembangan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berbentuk penghancuran dinding sel dengan menghalangi penyusunan atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menimbulkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat serta protein. Dalam bidang farmasi senyawa antibakteri disebut dengan antibiotik yang bekerja sebagai bakteriostatik (menghambat perkembangan bakteri) dan bakterisidal (membunuh bakteri) (4). Pemakaian antibiotik yang tidak tepat bisa memunculkan dampak resistensi antibiotik sehingga berakibat pada kenaikan morbiditas, mortalitas, dan biaya kesehatan (3).

Penduduk zaman dahulu menggunakan tanaman sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Salah satu tanaman obat yang potensial sebagai antibiotik, yaitu daun pepaya (*Carica papaya* Linn.). Pemakaian obat yang berasal dari tanaman maupun pengobatan tradisional lebih disukai sebab secara ekonomis yang murah, mudah didapatkan, serta mempunyai efek samping yang rendah dibanding dengan obat sintetik. Khasiat bahan tanaman sebagai bahan obat berdasarkan kandungan senyawa bioaktif yang dibuat oleh sel-sel tanaman dalam sistem jalur biosintesis metabolit sekundernya (5).

Tanaman pepaya (*Carica papaya* Linn.) merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Bagian tanaman pepaya seperti buah, daun, biji, dan akar mempunyai aktivitas farmakologi misalnya, pada ekstrak air daun pepaya dapat sebagai aktivitas penyembuhan luka dan aktivitas antioksidan, ekstrak etanol daun pepaya dapat sebagai antiinflamasi dan antibakteri, dan rebusan daun pepaya dapat sebagai aktivitas antihipertensi. Bagian daun pepaya memiliki kandungan alkaloid (karpin, karpain, pseudokarpin, vitamin C dan E, kolin, dan karposid) dan juga mengandung mineral (kalium, kalsium, magnesium, tembaga, zat besi, zink, dan mangan) (6). Menurut Nor dkk (7) ekstrak etanol daun pepaya memiliki efek antibakteri karena adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (8).

Menurut Tuntun (9) bahwa ekstrak etanol daun pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pada bakteri *Escherichia coli* konsentrasi 20% sampai 100% dengan rata-rata diameter zona 6,5 mm sampai 9,1 mm, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi 30% sampai 100% dengan rata-rata diameter zona 7,9 mm sampai 13,2 mm. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi n-heksana daun pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*

aureus. Penelitian bertujuan aktivitas antibakteri fraksi n-heksana daun pepaya terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2. Metode

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat: toples besar, gelas ukur, gelas bejana KLT, pipa kapiler, wajan, spatula kayu, kompor listrik, tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, propipet, neraca analitik, *beaker glass*, *miller*, corong pisah, statif dan klem, labu erlenmeyer, lampu UV 254 nm dan 366 nm, cawan porselin, kaca arloji. untuk uji aktivitas antibakteri adalah plat tetes, batang L, jarum ose, pembakar bunsen, cawan petri, jangka sorong, lemari pendingin, oven, inkubator, BSC (*Biological Safety Cabinet*), pinset, autoklaf, mikropipet 100-1.000 μL , *beaker glass*, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, tabung reaksi, labu erlenmeyer, *colony counter*.

Bahan: kain mori, kultur bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, kapas, *aluminium foil*, plastik *wrapping* 30 cm, *blue tip*, kertas payung, etanol 70%, asam klorida 2 N, pereaksi reagen: Wagner, Dragendroff, dan Mayer, kloroform (p.a), metanol (p.a), akuades, Kuersetin standar (p.a), plat silika GF254 (p.a), n-heksana (p.a), n-butanol (p.a), asam asetat glasial (p.a), media *Nutrient Agar* (p.a), media *Muller Hinton Agar* (p.a), asam klorida (p.a), serbuk magnesium (p.a), air panas, besi (III) klorida 10%, barium klorida 1%, asam sulfur 1%, NaCl 0,9%, kertas cakram kosong (*Merck Oxoid*), kertas cakram antibiotik Ampisilin 10 μg (*Merck Oxoid*).

2.2 Pembuatan Sampel

Daun pepaya yang utuh, tidak rusak, ukuran besar atau lebar, dan berwarna hijau tua yang segar. Daun pepaya diambil dari Desa Tajeman, Palbapang, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Daun pepaya diambil sebanyak ± 500 gram lalu dibersihkan dengan air mengalir dan diletakkan di atas koran sebagai alasnya untuk dikeringkan. Pengeringan daun pepaya dilakukan di bawah sinar matahari selama 6 hari dan ditutup dengan kain berwarna hitam. Simplisia kering ditandai dengan mudah diremas akan hancur kemudian diserbuk menggunakan *miller*.

Serbuk daun pepaya yang sudah ditimbang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 6 hari. Setiap hari sesekali dilakukan pengadukkan. Pada hari keempat, disaring dengan kain mori dan diperoleh filtrat 1 dan residu 1. Filtrat 1 ditampung dalam toples kaca dan residu 1 dilakukan remaserasi selama 2 hari. Kemudian, setelah 2 hari disaring kembali dan diperoleh filtrat 2 dan residu 2. Filtrat 1 dan 2 dicampurkan dalam toples kaca. Kemudian, dipekatkan filtrat dalam wajan dengan bantuan kompor listrik untuk memperoleh ekstrak kental dan dihitung nilai rendemen.

Proses Fraksinasi dilakukan dengan metode corong pisah. Ekstrak etanol daun pepaya yang diperoleh diencerkan dengan air hangat lalu dimasukkan dalam corong pisah. Kemudian, ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan (1:1 v/v) dan dikocok secara perlahan sampai homogen lalu didiamkan hingga memisah menjadi 2 lapisan, yaitu lapisan atas berupa fase n-heksana dan lapisan bawah berupa fase air. Diambil lapisan atas berupa fraksi n-heksana dan dikumpulkan dalam *beaker glass*. Lalu fase air ditambahkan dengan pelaut n-heksana dan dilakukan sama seperti sebelumnya. Fraksinasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Setelah fraksi n-heksana terkumpul lalu dipekatkan dalam wajan dengan bantuan kompor listrik untuk menjadi fraksi n-heksana kental dan dihitung nilai rendemen.

2.3 Uji Organoleptis

Penetapan organoleptik dilakukan untuk pengenalan secara fisik menggunakan alat indera dalam mendeskripsikan bentuk, bau, warna, dan rasa.

2.4 Skrining Fitokimia

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menimbang ekstrak dan fraksi sebanyak ± 2 gram dimasukkan dalam tabung reaksi, ditetesi dengan HCL 2 N kemudian dibagi dalam sebagian tabung reaksi. Masing-masing tabung ditambahkan tiap-tiap pereaksi. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes

peraksi Mayer, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff, serta tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner. Menunjukkan hasil positif adanya alkaloid apabila pada tabung pertama terbentuk endapan putih, tabung kedua terbentuk endapan jingga, serta tabung ketiga endapan merah kecoklatan (10).

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menimbang ekstrak dan fraksi sebanyak ± 2 gram dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan etanol 70% lalu ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Menunjukkan hasil positif adanya flavonoid apabila terbentuk warna merah tua atau hitam kemerahan (10).

Identifikasi saponin dilakukan dengan menimbang ekstrak dan fraksi sebanyak ± 2 gram dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas, lalu dinginkan. Setelah dingin dikocok tabung reaksi dengan kuat selama 10 detik. Menunjukkan hasil positif adanya saponin apabila terbentuk busa stabil setinggi 1-10 dan pada ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (10).

Identifikasi tanin dilakukan dengan menimbang ekstrak dan fraksi sebanyak ± 2 gram dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditambahkan air panas dan dikocok sampai homogen. Selanjutnya, ditambahkan besi (III) klorida 10%, menunjukkan hasil positif adanya tanin apabila terbentuk warna biru tua atau hitam (10).

2.5 Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi senyawa yang dilakukan adalah senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan metode KLT. Fase diam menggunakan plat silika GF254 dengan ukuran plat 10 cm \times 4 cm dan diberi garis tepi pada batas atas dan bawah masing-masing 1 cm. Fase gerak yang digunakan eluen n-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5). Standar senyawa yang digunakan sebagai pembanding adalah Kuersetin 0,1%. Penjenuhan dilakukan dengan sertas saring yang telah dipotong memanjang dimasukkan dalam gelas bejana yang berisi fase gerak hingga menjulur keluar dan gelas bejana ditutup rapat. Gelas bejana dikatakan jenuh apabila cairan pengelusi telah mencapai ujung dari kertas saring. Plat silika GF254 dipanaskan terlebih dahulu dalam oven selama 30 menit pada suhu 110°C untuk mengurangi kadar air dalam plat tersebut. Kemudian plat KLT diberi garis batas atas dan batas bawah masing-masing 1 cm dengan pipa kapiler pada batas bawah lempeng. Penotolan dilakukan secara tegak lurus lalu dimasukkan ke dalam gelas bejana yang telah dijenuhkan. Kemudian gelas bejana ditutup rapat dan dibiarkan cairan pengelusi mencapai batas atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari gelas bejana dan dibiarkan hingga kering. Kemudian lempeng diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Noda yang tampak pada lempeng ditandai untuk ditentukan nilai Rf.

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Sterilisasi alat-alat seperti cawan petri, tabung reaksi, *beaker glass*, dan batang L. Sterilisasi dilakukan dengan metode sterilisasi panas kering menggunakan oven pada suhu 171°C selama 1 jam. Sebelum dilakukan sterilisasi, alat-alat gelas dicuci dengan air mengalir sampai bersih lalu dikeringkan dengan tisu dan disemprotkan dengan alkohol 70%. Setelah disemprotkan dengan alkohol 70% kemudian dikeringkan dengan tisu dan dibungkus dengan kertas payung. Setiap lubang pada tabung reaksi disumbat dengan kapas untuk mencegah kontaminasi setelah dikeluarkan dari oven.

Sterilisasi bahan-bahan yaitu *blue tip*, NaCl 0,9%, media peremajaan bakteri dan media uji, serta akuades. Sterilisasi dilakukan dengan metode sterilisasi panas basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan media peremajaan bakteri dengan menimbang NA sebanyak 0,6 gram dilarutkan dengan 30 mL akuades menggunakan labu erlenmeyer, setelah itu diaduk dengan bantuan *hot plate* dan *magnetic stirrer* hingga larut homogen. Kemudian ditutup lubang labu erlenmeyer dengan kapas dan *aluminium foil* lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada temperatur 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Bakteri uji diremajakan dan diinokulasi ke dalam media NA miring lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Peremajaan bakteri dengan cara media NA miring dalam tabung reaksi

Pembuatan media uji dengan cara menimbang MHA sebanyak 8,5 gram dilarutkan dengan 250 mL akuades menggunakan labu erlenmeyer, setelah itu diaduk dengan bantuan *hot plate* dan *magnetic stirrer* hingga larut homogen. Kemudian ditutup lubang labu erlenmeyer dengan kapas dan *aluminium foil* lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada temperatur 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Pembuatan larutan standar *McFarland* dibuat dengan mencampurkan 9,95 mL asam sulfur (H_2SO_4) 1% dan 0,05 mL barium klorida ($BaCl_2$) 1% (7). Kemudian dilakukan pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 625 nm.

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan diambil biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebanyak 1 ose dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% steril sampai didapatkan kekeruhan yang sesuai dengan standar *McFarland* 0,5 atau sebanding dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ (CFU)/mL.

Pembuatan larutan uji fraksi n-heksana dibuat variasi konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100%. Pembuatan variasi konsentrasi tersebut dilakukan dengan 3 gram fraksi n-heksana kental dilarutkan dengan 3 mL akuades steril sebagai larutan stok 100%. Larutan stok 100% yang telah dibuat dilakukan pengenceran konsentrasi menjadi 20%; 40%; 60%; dan 80%.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar *Kirby Bauer*. Bakteri uji sebanyak 0,1 mL atau 100 μ L diinokulasikan ke atas media MHA *plate* dan diratakan dengan batang L. Kertas cakram kosong direndam ke dalam larutan uji fraksi n-heksana selama 5 menit kemudian diletakan di atas media uji. Media uji diinkubasi secara terbalik dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

2.7 Analisis Data

Hasil yang diperoleh dari kontrol kualitas ekstrak etanol dan fraksi n-heksana daun pepaya adalah penetapan organoleptik, penapisan fitokimia, dan pemisahan senyawa menggunakan KLT dianalisis secara deskriptif. Hasil uji aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yang dianalisis secara deskriptif dan statistik. Pengolahan data diameter zona hambat pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dianalisis secara statistik menggunakan uji *One-Way ANOVA*. Sebelum dianalisis secara statistik menggunakan uji *One-Way ANOVA*, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas yang dilakukan secara bersamaan dengan *One-Way ANOVA* menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 20.

3. Hasil dan Diskusi

Pengambilan sampel daun pepaya, yaitu daun yang utuh, tidak rusak, ukuran besar atau lebar, dan berwarna hijau tua yang segar. Daun pepaya diambil dari Desa Tajeman, Palbapang, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Kemudian, pengolahan daun pepaya dibuat dalam simplisia kering yang mudah diremas akan hancur dan diserbuk menggunakan *miller*.

Metode penyarian untuk membuat ekstrak etanol daun pepaya dengan cara maserasi. Proses maserasi dilakukan selama 6 hari. Metode maserasi dilakukan dengan cara perendaman bagian tanaman secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup selama sekurang-kurangnya 3 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan sampai semua melarut dalam cairan pelarut (11). Pemilihan metode maserasi digunakan karena merupakan metode yang mudah dan sederhana untuk dilakukan. Pelarut yang digunakan untuk merendam serbuk daun pepaya adalah etanol 70%. Menurut Snyder (12) dalam penelitian (13) pemilihan pelarut etanol 70% karena pelarut etanol bersifat universal yang dapat menarik senyawa bersifat polar, semi polar, dan non polar sehingga diharapkan dapat menarik semua senyawa aktif yang terkandung dalam daun pepaya. Pada hari ke-4 dilakukan penyaringan menggunakan kain mori dan diperoleh filtrat 1. Kemudian, hasil ampas dari penyaringan direndam kembali dengan pelarut etanol 70%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 1) berat ekstrak etanol daun pepaya adalah 43,55 gram dengan nilai rendemen, yaitu 14,516%. Menurut Harborne (14) dalam penelitian Hasnaeni dkk (15) semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak berat ekstrak yang diperoleh dan senyawa aktif yang terkandung juga semakin banyak.

Fraksinasi merupakan pemisahan suatu komponen senyawa dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksinasi diperlukan karena ekstrak yang didapat masih berupa campuran dari berbagai senyawa. Oleh karena itu, fraksinasi ekstrak etanol daun pepaya dilakukan menggunakan pelarut n-heksana dan pelarut air untuk memperoleh fraksi n-heksana daun pepaya. Pelarut n-heksana bersifat non polar dan pelarut air bersifat polar. Senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar dan senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar. Berdasarkan hasil yang diperoleh (tabel 2) berat fraksi n-heksana kental daun pepaya adalah 3,2 gram dengan nilai rendemen 40%. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak berat fraksi yang diperoleh.

Ekstrak etanol daun pepaya dan fraksi n-heksana kental daun pepaya dilakukan pengamatan organoleptik untuk mengetahui secara fisik tekstur, bau, warna, dan rasa (Tabel 3). Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki taktur yang kental, berbau khas pepaya, berwarna hitam kehijauan, dan rasanya pahit, sedangkan pada fraksi n-heksana kental daun pepaya memiliki taktur yang kental cair, berbau khas pepaya, berwarna hitam kehijauan, dan rasanya pahit.

Uji penapisan fitokimia (tabel 4) meliputi identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Penapisan fitokimia diperlukan untuk mengidentifikasi secara kualitatif golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pepaya dan fraksi n-heksana daun pepaya.

Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa ekstrak etanol daun pepaya menunjukkan hasil positif adanya senyawa flavonoid, saponin, dan tanin, sedangkan fraksi n-heksana daun pepaya menunjukkan hasil positif adanya alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Menurut A'yun & Laily (15) dalam penapisan fitokimia daun pepaya bahwa daun pepaya memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Pada hasil yang diperoleh memiliki perbedaan karena adanya sifat pelarut pada ekstrak etanol daun pepaya dan fraksi n-heksana daun pepaya. Menurut Snyder (12) dalam penelitian Padmasari dkk (13) etanol 70% bersifat universal artinya dapat menarik senyawa pelarut polar, semi polar, dan non polar, sedangkan pada fraksi n-heksana daun pepaya bersifat non polar. Selain perbedaan tersebut, dapat juga disebabkan dari jenis daun pepaya yang digunakan dalam penelitian.

Pemilihan dengan metode KLT untuk pemisahan senyawa ekstrak etanol daun pepaya dan fraksi n-heksana daun pepaya karena pelarut dan perlengkapan yang dibutuhkan sedikit serta persiapan sampel mudah. Prinsip metode KLT adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan adsorpsi dan partisi oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen) (16). Standar yang digunakan sebagai pembanding dari ekstrak etanol daun pepaya dan fraksi n-heksana daun pepaya adalah Kuersetin 0,1%. Kuersetin merupakan bentuk glikosida yang secara umum pada flavonol. Flavonol merupakan subkelas dari golongan flavonoid. Selain flavonol terdapat juga subkelas lain, yaitu flavanol, flavanon, flavon, isoflavon, antosianidin (17).

Identifikasi pemisahan senyawa dianalisis dengan cara menghitung nilai R_f (Tabel 5). Fase gerak yang digunakan adalah kloroform: metanol (9:1 v/v) karena pada fase gerak tersebut menghasilkan kenaikan bercak pada ekstrak etanol daun pepaya, fraksi n-heksana daun pepaya, dan Kuersetin standar serta tidak terjadi *tailing*, tetapi Kuersetin standar kenaikannya sedikit.

Berdasarkan jarak elusi sampel serta nilai R_f yang diperoleh bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki kemiripan atau mendekati nilai Kuersetin standar artinya ekstrak etanol daun pepaya memiliki karakteristik yang hampir sama dengan Kuersetin standar. Menurut penelitian Priyanto dkk (18) analisis kualitatif Kuersetin standar dengan fase diam plat silika GF254 dan fase gerak kloroform: metanol (1: 4) menggunakan metode KLT menghasilkan warna hijau pada pengamatan sinar UV 366 nm dan nilai R_f yang dihasilkan adalah 0,69.

Oleh karena itu, dalam penelitian ini untuk identifikasi Kuersetin standar nilai R_f masih jauh dibandingkan dengan penelitian tersebut. Menurut Sastrohamidjojo (19) dalam penelitian Sarwastuti (20) bahwa nilai R_f dapat dipengaruhi oleh volume penotolan, struktur senyawa kimia yang dipisahkan, polaritas fase diam, tebal dan kerataan permukaan fase gerak, polaritas fase gerak, kejenuhan bejana kromatografi, dan kesetimbangan.

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi agar *Kirby Bauer*. Dalam uji aktivitas antibakteri ini dikelompokkan menjadi 2, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol meliputi kontrol positif menggunakan antibiotik Ampisilin 10 μ g dan kontrol negatif menggunakan akuades. Kelompok perlakuan meliputi larutan uji fraksi n-heksana daun pepaya dengan konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100%. Perolehan data rerata

diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 6. Kemudian hasil uji aktivitas antibakteri kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap *E. coli* dan *S. aureus* didokumentasikan yang dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Berdasarkan hasil data rerata diameter zona hambat tersebut kemudian dibuat dalam bentuk grafik batang. Hasil rerata diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh bahwa fraksi n-heksana daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal tersebut sejalan dengan penelitian (8), bahwa ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Fraksi n-heksana daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri dibuktikan dengan adanya diameter zona hambat yang terbentuk pada kertas cakram yang berupa zona bening.

Pada kelompok perlakuan fraksi n-heksana daun pepaya pada konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100% terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dikategorikan memiliki kekuatan daya antibakteri yang sedang. Pada kelompok kontrol positif (Ampisilin 10 μg) terhadap bakteri *E. coli* dikategorikan kekuatan daya antibakteri yang kuat, sedangkan terhadap bakteri *S. aureus* dikategorikan kekuatan daya antibakteri yang sedang. Hasil kekuatan daya antibakteri tersebut dikelompokkan berdasarkan (21) dalam penelitian (22) bahwa diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, 6-10 mm dikategorikan sedang, 11-20 mm dikategorikan kuat, dan ≥ 21 mm dikategorikan sangat kuat.

Menurut CLSI (23), antibiotik Ampisilin 10 μg terhadap bakteri *Enterobacteriaceae* (bakteri Gram negatif) memiliki kriteria daya antibakteri dengan diameter zona hambat ≤ 13 mm dikategorikan *resistant* (resisten), 14-16 mm dikategorikan *intermediate* (sedang), ≥ 17 mm dikategorikan *susceptible* (sensitif), sedangkan terhadap bakteri *Staphylococcus* spp. (bakteri Gram positif) memiliki kriteria daya antibakteri dengan diameter zona hambat ≤ 28 mm dikategorikan *resistant* (resisten) dan ≥ 29 mm dikategorikan *susceptible* (sensitif). Oleh karena itu, diameter zona hambat pada Ampisilin 10 μg apabila dikelompokkan menurut CLSI (24) bahwa Ampisilin 10 μg terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dikategorikan resisten. Artinya, Ampisilin 10 μg tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Pada kelompok kontrol negatif (akuades) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* karena tidak terbentuk diameter zona hambat sehingga dikelompokkan pada kekuatan daya antibakteri yang lemah.

Hasil rerata diameter zona hambat fraksi n-heksana daun pepaya terdapat perbedaan pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Tuntun (9) bahwa diameter zona hambat ekstrak daun pepaya terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* adanya perbedaan, yaitu pada jenis bakteri uji. Jenis bakteri dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri.

Bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif memiliki perbedaan pada struktur dinding selnya. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki satu atau lebih lapisan peptidoglikan dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan, dan tidak memiliki asam teikoat. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih rumit dibandingkan dengan dinding sel bakteri Gram positif. Membran luar sel bakteri Gram negatif terdiri dari lipoprotein, fosfolipida, dan lipopolisakarid (24). Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki beberapa lapisan peptidoglikan yang tebal dan kaku (20-80 mm), memiliki asam teikoat, serta tidak memiliki lipoprotein, fosfolipida, dan lipopolisakarida (24).

Sifat senyawa antibakteri juga berpengaruh dalam aktivitas antibakteri karena senyawa antibakteri yang bersifat non polar lebih mudah menembus lapisan lipid yang dimiliki bakteri *E. coli*, sedangkan senyawa antibakteri yang bersifat polar lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang dimiliki bakteri *S. aureus*. Hal tersebut disebabkan karena lapisan lipid lebih bersifat non polar dan lapisan peptidoglikan bersifat polar. Fraksi n-heksana daun pepaya yang bersifat non polar akan memiliki pengaruh besar terhadap bakteri *E. coli* karena memiliki lapisan lipid yang bersifat non polar sehingga diameter zona hambat yang terbentuk akan lebih besar dibandingkan dengan bakteri *S. aureus*. Berdasarkan hasil rerata diameter zona hambat yang diperoleh bahwa diameter zona hambat yang terbentuk tidak sesuai karena diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan bakteri *E. coli*.

Dalam uji aktivitas antibakteri terdapat faktor yang dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Menurut Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg (3) kandungan senyawa metabolit dan kecepatan difusi senyawa antibakteri dapat mempengaruhi hasil diameter zona hambat. Selain itu,

suspensi bakteri uji yang tidak merata pada media uji sehingga jumlah tumbuhnya bakteri di media MHA tidak sama atau dapat juga suspensi bakteri uji yang sudah merata tetapi tidak tumbuh dengan baik, serta suspensi bakteri uji yang tidak sama keruhnya dengan larutan standar *McFarland* 0,5 (25). Semakin keruh suspensi bakteri uji yang dibuat maka menghasilkan kepadatan sel bakteri semakin banyak pada media uji sehingga senyawa antibakteri yang bekerja kurang optimal. Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan, yaitu 10^5 – 10^8 CFU/mL (7).

Antibiotik merupakan obat sintetis yang diindikasikan untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Menurut Pelczar (4), antibiotik dibagi menjadi 2 berdasarkan cara kerjanya, yaitu menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan membunuh sel bakteri (bakterisidal). Kertas cakram yang berisi antibiotik Ampisilin $10\ \mu\text{g}$ digunakan sebagai kontrol positif. Ampisilin merupakan antibiotik golongan Penisilin berspektrum luas yang dapat bekerja pada bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Mekanisme kerja Ampisilin dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan menghambat pembentukan mikropeptida. Pembentukan sintesis dinding sel diganggu maka bakteri tidak dapat mengatasi perbedaan tekanan osmosis di luar dan di dalam sel sehingga bakteri akan mati (26). Akuades digunakan sebagai kontrol negatif untuk perbandingan yang tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Mekanisme kerja antibakteri senyawa alkaloid adalah merusak DNA bakteri sehingga inti sel akan rusak. Kerusakan tersebut disebabkan karena pada alkaloid memiliki gugus basa yang dapat berinteraksi dengan DNA bakteri (9). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme sintesis dinding bakteri. Flavonoid akan mengganggu sintesis dinding bakteri sehingga terjadi kebocoran plasma dan kemudian bakteri akan lisis. Selain itu, flavonoid juga menghambat DNA girase dan menghambat aktivitas enzim ATPase sehingga bakteri tidak dapat tumbuh (27). Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri. Saponin menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak atau mengubah struktur dinding sel setelah terbentuk dan permeabilitas sel bakteri dirusak sehingga menyebabkan kebocoran nutrisi di dalam sel (4). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat tumbuh (27). Selain itu, tanin juga memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menginaktifkan adhesin sel mikroba dan enzim, serta mengganggu traspor protein pada lapisan dalam sel (28) dalam penelitian (29).

Pengolahan data diameter zona hambat pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dianalisis secara statistik parametrik menggunakan uji *One-Way* ANOVA (Tabel 7). Uji normalitas dan uji homogenitas dilakukan terlebih dahulu sebelum dianalisis statistik menggunakan uji *One-Way* ANOVA. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan perangkat lunak SPSS versi 20. Tujuan dilakukan uji normalitas untuk mengetahui populasi data terdistribusi normal atau tidak, sedangkan uji homogenitas digunakan untuk mengetahui beberapa varian populasi sama (homogen) atau tidak homogen. Data terdistribusi normal apabila nilai Sig. > 0,05 dan sebaran data homogen apabila nilai Sig. > 0,05 (18).

Berdasarkan pengolahan data terhadap uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* kelompok perlakuan dan kelompok kontrol memiliki nilai Sig. > 0,05 yang artinya data tersebut terdistribusi normal. Penggunaan *Shapiro-Wilk* dalam uji normalitas karena jumlah dalam sampel ≤ 50 (30). Selanjutnya, pengolahan data terhadap uji homogenitas dan uji *One-Way* ANOVA yang dilakukan secara bersamaan. Hasil yang diperoleh bahwa uji homogenitas diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* memiliki nilai Sig. 0,001 dan diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* memiliki nilai Sig. 0,047. Artinya, kedua data tersebut tidak homogen karena nilai Sig. < 0,05 sehingga hasil uji *One-Way* ANOVA tidak bisa dilanjutkan. Hal tersebut karena dalam uji *One-Way* ANOVA memiliki syarat yang harus terpenuhi, yaitu data harus terdistribusi normal dan varian data harus homogen (31). Oleh karena itu, dilakukan uji non parametrik sebagai alternatif dari uji parametrik, yaitu dengan uji *Kruskal-Wallis*. Pemilihan dengan uji *Kruskal-Wallis* karena digunakan untuk 2 atau lebih sampel acak yang independen untuk mengetahui sampel-sampel tersebut berasal dari populasi yang memiliki nilai rata-rata yang sama. Jika hasil yang diperoleh nilai Sig. > 0,05 maka tidak ada perbedaan (H_0 diterima dan H_a ditolak), sedangkan jika nilai Sig. < 0,05 maka ada perbedaan (H_0 ditolak dan H_a diterima) (Harinaldi, 2005). Dalam penelitian ini nilai H_0 (hipotesis nihil): tidak ada perbedaan aktivitas antibakteri fraksi n-heksana daun pepaya pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, sedangkan nilai H_a (hipotesis alternatif): ada perbedaan aktivitas antibakteri fraksi n-heksana daun pepaya pada konsentrasi 20%, 40%, 60%,

80%, dan 100% terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Berdasarkan hasil pengolahan data terhadap uji *Kruskal-Wallis* didapat bahwa diameter zona hambat terhadap *E. coli* memiliki nilai Sig. $0,006 < 0,05$ artinya ada perbedaan (H_0 ditolak dan H_a diterima), sedangkan diameter zona hambat terhadap *S. aureus* memiliki nilai Sig. $0,014 < 0,05$ artinya ada perbedaan (H_0 ditolak dan H_a diterima).

3.1 Gambar dan Tabel

Table 1. Hasil rendemen ekstrak etanol daun pepaya

Berat simplisia (gram)	Berat ekstrak (gram)	Hasil rendemen ekstrak (% b/b)
300 gram	43,55 gram	14,516%

Tabel 2. Hasil rendemen fraksi n-heksana kental daun pepaya

Berat ekstrak (gram)	Berat fraksi (gram)	Hasil rendemen fraksi (% b/b)
8 gram	3,2 gram	40%

Tabel 3. Hasil Organoleptik

Deskripsi	Ekstrak etanol daun pepaya	Fraksi n-heksana kental daun pepaya
Tekstur	Kental	Kental cair
Bau	Khas pepaya	Khas pepaya
Warna	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Rasa	Pahit	Pahit

Tabel 4. Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia	Hasil positif menurut (10)	Hasil yang diperoleh	
		Ekstrak etanol daun pepaya	Fraksi n-heksana kental daun pepaya
Alkaloid: Perekasi Mayer	Terbentuk endapan putih	Negatif Terbentuk warna hijau kecoklatan	Negatif Terbentuk endapan coklat kehitaman
Perekasi Wagner	Terbentuk endapan merah kecoklatan	Negatif Terbentuk endapan hijau kecoklatan	Positif Terbentuk endapan merah kecoklatan
Perekasi Dragendroff	Terbentuk endapan jingga	Negatif Terdapat endapan hijau kecoklatan	Negatif Terbentuk endapan coklat kehitaman
Flavonoid	Terbentuk warna merah tua atau hitam kemerahan	Positif Terbentuk warna coklat kemerahan	Positif Terbentuk warna merah tua
Saponin	Terbentuk busa stabil setinggi 1-10 cm	Positif Terbentuk busa	Positif Terbentuk busa

Tanin	Terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan	Positif Terbentuk warna hitam kehijauan	Positif Terbentuk warna hitam kehijauan
-------	---	--	--

Tabel 5. Hasil KLT

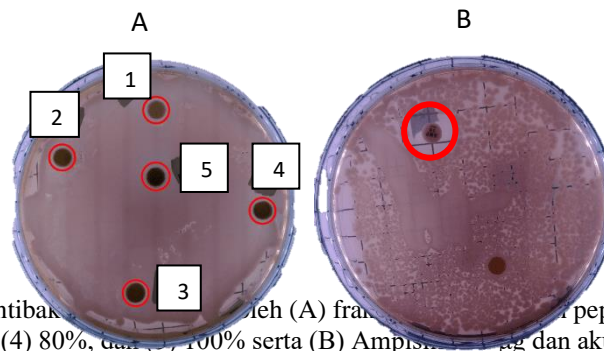
Sampel	Jarak elusi sampel	Sinar tampak	Sinar UV 254 nm	Sinar UV 366 nm	Nilai Rf
Fraksi n-heksana daun pepaya	2,5 cm	Hijau tua	Hijau tua	Hijau	0,312
Ekstrak etanol daun pepaya	2,7 cm	Hijau tua	Hijau tua	Hijau	0,337
Kuersetin standar	3 cm	Kuning	Hijau	Hijau	0,375
Kuersetin standar	-	-	-	Hijau	0,69

(kloroform: metanol 1: 4)

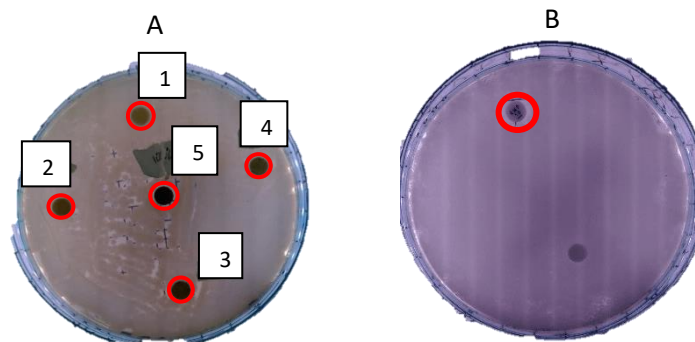
(18)

Tabel 6. Hasil Rerata Diameter Zona Hambat

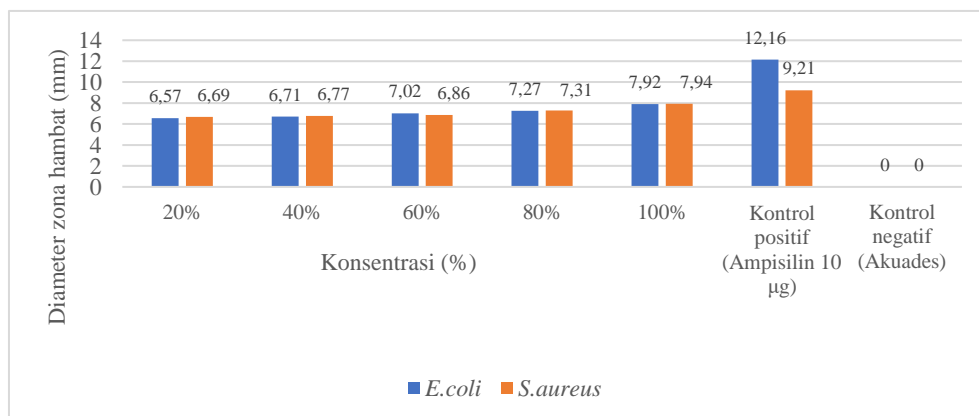
Bakteri uji	Kelompok	Konsentrasi	Rerata ± SD (mm)	Kekuatan daya antibakteri
<i>E. coli</i>	Fraksi n-heksana	20%	6,57 ± 0,15	Sedang
		40%	6,71 ± 0,20	Sedang
		60%	7,02 ± 0,52	Sedang
		80%	7,27 ± 0,31	Sedang
		100%	7,92 ± 0,23	Sedang
	Kontrol positif (Ampisilin 10 µg)	-	12,16 ± 2,90	Kuat
Kontrol negatif (Akuades)	-	0	Lemah	
<i>S. aureus</i>	Fraksi n-heksana	20%	6,69 ± 0,33	Sedang
		40%	6,77 ± 0,28	Sedang
		60%	6,86 ± 0,25	Sedang
		80%	7,31 ± 0,63	Sedang
		100%	7,94 ± 0,16	Sedang
	Kontrol positif (Ampisilin 10 µg)	-	9,21 ± 1,70	Sedang
Kontrol negatif (Akuades)	-	0	Lemah	



Gambar. 1 Uji aktivitas antibakteri pada *S. aureus* oleh (A) fraksi n-heksana daun pepaya (1) 20%, (2) 40%, (3) 60%, (4) 80%, dan (5) 100% serta (B) Ampisilin 10 µg dan akuades



Gambar. 2 Uji aktivitas antibakteri pada *S. aureus* oleh (A) fraksi n-heksana daun pepaya (1) 20%, (2) 40%, (3) 60%, (4) 80%, dan (5) 100% serta (B) Ampisilin 10 µg dan akuades



Gambar. 3 Hasil Rerata Diameter Zona Hambat

4. Kesimpulan

Fraksi n-heksana daun pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fraksi n-heksana daun pepaya konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100% memiliki kekuatan daya antibakteri yang sedang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Semakin tinggi nilai konsentrasi fraksi n-heksana daun pepaya maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

5. Ucapan Terimakasih

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Prodi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta yang telah memberikan sarana dan prasarana sehingga memungkinkan tim peneliti untuk menambah wawasan dan pengetahuan melalui penelitian ini. Semoga penelitian ini dapat membawa manfaat bagi kemajuan bangsa Indonesia

Referensi

- [1] Isselbacher, H. et al. (2012). *Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam* (A. A. H. (ed.); 13th ed.). EGC.
- [2] Depkes, R. (1997). *Survei Kesehatan Rumah Tangga*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- [3] Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika.
- [4] Pelczar, M. J. (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (T. S. S. Hadioetomo R.S., Imas T. (ed.); 2nd ed.). Universitas Indonesia.
- [5] Bakar, B. A. dan R. (2017). *Petunjuk Teknis Budidaya Pepaya*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Aceh.
- [6] Millind, P. and G. (2011). Basketful Benefits of Papaya. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(7), 6–12.
- [7] Nor, T. A. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan Metode Difusi Cakram. *Cendana Medical Journal*, 15(5), 327–337.
- [8] Nirossha, N. and R. M. (2013). Antibacterial Activity of Leaves and Stem Extract of *Carica papaya L.* *International Journal of Advance In Pharmacy, Biology and Chemistry*, 2(3), 473–476.
- [9] Tuntun, M. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 497–502. <https://doi.org/10.37887/jimkesmas.v5i1.11105>
- [10] A'yun, Q., & Laily, A. N. (2015). Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak, Malang. *Pendidikan Biologi, Pendidikan Geografi, Pendidikan Sains, PKLH – FKIP UNS*, 134–137.
- [11] Endarini, L. H. (2016). *Farmakognosi dan Fitokimia*. Badan Pengembangan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- [12] Snyder, O. P. 1997. Antimicrobial Effects of Spices and Herbs. Hospitality Institute of Technology and Management. Minnesota.
- [13] Padmasari, P. ., Astuti, K. ., & Warditiani, N. . (2013). Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (z. *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 1–7.
- [14] Harborne, J. B. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Diterjemahkan Oleh Kosasih Padmawinata Dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung 1987.
- [15] Hasnaeni. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 166–174. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- [16] Alen, Y., Agresa, F. L., & Yuliandra, Y. (2017). Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum Kurz* (*Kurz*) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), 146. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.3.2.141>
- [17] Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- [18] Priyanto, J. A., Pujiyanto, S., & Rukmi, I. (2014). Flavonoids Production Capability Test of Tea Mistletoe (*Scurrula Atropurpurea Bl.* Dans) Endophytic Bacteria Isolates. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 22(4), 89-96–96.
- [19] Priyatno, D. (2009). *5 Jam Belajar Olah Data dengan SPSS*. Elex Media Komputindo.
- [20] Sarwastuti, T. (2010). PERBANDINGAN KONDISI OPTIMUM EKSTRAKSI KAYU

- SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) SECARA DIGESTI DAN SOXHLETASI. 89
- [21] Ardiansyah. 2005. Daun beluntas sebagai bahan antibakteri dan antioksidan. Artikel IPTEK- Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan
- [22] Sudrajat. (2012). *Analisis Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Etanol Daun Meranti Merah (Shorea leprosula Miq.) Dan Sifat Antibakterinya Terhadap Staphylococcus aureus dan Eschericia coli*. 1(4), 303–311.
- [23] CLSI. (2019). CLSI Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (AST). *Journal of Enam Medical College*, 6(1), 15–18.
- [24] Radji, M. (2010). Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. In *Penerbit Buku Kedokteran EGC*. EGC. file:///C:/Users/Hp/AppData/Local/Temp/toaz.info-buku-ajar-mikrobiologi-panduan-mahasiswa-farmasi-amp-kedokteran-reaksi-rea-pr_992e36a9050a78b58679b9318f59704e.pdf
- [25] Suheri, F. L., dkk. (2015). Perbandingan Uji Resistensi Bakteri *Staphylococcus aureus* Terhadap Obat Antibiotik Ampisilin dan Tetrasiiklin. *Andalas Dental Journal*, 3(1), 25–33. <https://doi.org/10.25077/adj.v3i1.33>
- [26] Wirastuti, S. (2016). Resistensi Antibiotik Bakteri Gram Negatif yang Ditemukan di Udara Ruang RSUD H. Padjonga Daeng Ngalle Kabupaten Taklar. UIN Alauddin Makassar.
- [27] Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB.
- [28] Hasnaeni. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 166–174. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- [29] Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- [30] Hulu, V. T. and T. R. S. (2019). *Analisis Data Statistik Parametrik Aplikasi SPSS dan STATCAL*. Yayasan Kita Menulis.
- [31] Dahlan, M. S. (2011). *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan* (3rd ed.). Salemba Medika.