

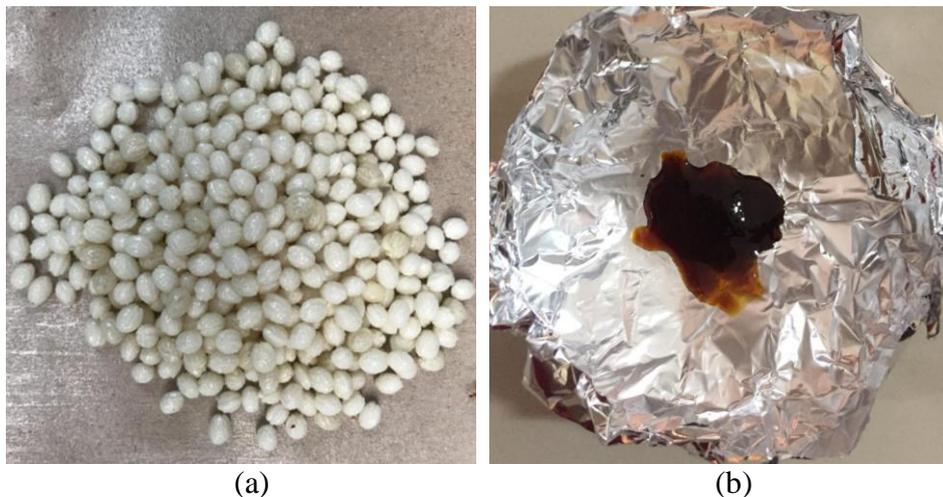
## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Karakteristik biji buah pepaya

Objek dalam penelitian ini adalah biji buah pepaya (*Carica papaya L.*). Biji buah pepaya yang digunakan ialah biji buah pepaya *California* muda berwarna putih, berbentuk bulat, berukuran 0.4-0.7 cm, tidak berjamur dan sampel ini diambil di Desa Riang Gede, Tabanan. Berat basah dari tanaman biji buah pepaya yaitu 1 kilogram, setelah dikeringkan dan dihaluskan diperoleh berat simplisia 170 gram. Dari jumlah tersebut, digunakan sebanyak 150 gram simplisia yang dilarutkan dalam 1400 mL etanol 96% setelah melalui proses evaporasi sehingga diperoleh berat ekstrak sebesar 16,58 gram. Hasil pengukuran kadar air simplisia biji buah pepaya sebesar 8,2% (Lampiran 4) yang menunjukkan bahwa simplisia biji buah pepaya sudah memenuhi syarat, karena kadar airnya tidak melebihi 10% (Krisyanella, 2013). Bentuk fisik biji buah pepaya dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. (a) bentuk fisik, (b) ekstrak biji buah pepaya

## **2. Diameter zona hambat *Ciprofloxacin***

*Ciprofloxacin* dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol kerja sebanyak 5 µg. Dari hasil pengukuran diameter zona hambat dengan lima kali pengulangan didapatkan rerata sebesar 33,5mm ( $\pm 0,5$ ) (Lampiran 1).

## **3. Diameter zona hambat etanol 96% (konsentrasi 0%)**

Dalam penelitian ini etanol 96% (konsentrasi 0%) digunakan sebagai kelompok kontrol dengan lima kali pengulangan. Dari hasil pengukuran diameter zona hambat didapatkan rerata sebesar 0 mm ( $\pm 0$ ) (Lampiran 1).

## **4. Diameter zona hambat ekstrak etanol biji buah pepaya konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%**

Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada ekstrak etanol biji buah pepaya konsentrasi 20% , 40%, 60% dan 80% masing- masing dilakukan lima kali pengulangan. Dari hasil pengukuran diameter zona hambat didapatkan rerata konsentrasi 20% sebesar 7,9 mm ( $\pm 0,4$ ) , konsentrasi 40% sebesar 9,5 mm ( $\pm 0,3$ ), konsentrasi 60% sebesar 11.9 mm ( $\pm 0,3$ ) dan konsentrasi 80% sebesar 13,4 mm ( $\pm 0,3$ ) (Lampiran 1).

## **5. Analisis data diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi ekstrak**

Hasil pengukuran zona hambat dalam penelitian ini kemudian dianalisis dengan uji statistik sebagai berikut :

- a. Dari hasil uji statistik *Kolmogorov Smirnov* (KS) diperoleh hasil nilai probabilitas ( $p$ ) = 0,168. Bila dibandingkan dengan nilai  $\alpha$  (0,05), maka nilai  $p > \alpha$  (0,168 > 0,05) yang artinya data tersebut berdistribusi normal.
- b. Dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* karena data berdistribusi normal. Dari hasil uji statistik *One Way Anova* diperoleh hasil  $p$  (0,000) <  $\alpha$  (0,05), yang

artinya signifikan, ada perbedaan zona hambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji buah pepaya secara simultan.

c. Perbedaan pada masing-masing konsentrasi secara parsial, ekstrak etanol biji buah pepaya dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dapat diketahui dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Dalam uji ini diperoleh hasil sebagai berikut :

- 1) Untuk konsentrasi 0% dibandingkan dengan 20%, 40%, 60% dan 80% didapatkan hasil  $p(0,000) < \alpha (0,05)$ , yang artinya signifikan, ada perbedaan zona hambat yang bermakna.
- 2) Konsentrasi 20% dibandingkan dengan 0%, 40%, 60% dan 80% didapatkan hasil  $p(0,000) < \alpha (0,05)$ , yang artinya signifikan, ada perbedaan zona hambat yang bermakna.
- 3) Konsentrasi 40% dibandingkan dengan 0%, 20%, 60% dan 80% didapatkan hasil  $p(0,000) < \alpha (0,05)$ , yang artinya signifikan, ada perbedaan zona hambat yang bermakna.
- 4) Konsentrasi 60% dibandingkan dengan 0%, 20%, 40% dan 80% didapatkan hasil  $p(0,000) < \alpha (0,05)$ , yang artinya signifikan, ada perbedaan zona hambat yang bermakna.
- 5) Konsentrasi 80% dibandingkan dengan 0%, 20%, 40% dan 60% didapatkan hasil  $p(0,000) < \alpha (0,05)$ , yang artinya signifikan, ada perbedaan zona hambat yang bermakna

## B. Pembahasan

### 1. Diameter zona hambat

- a. Diameter zona hambat pada *Ciprofloxacin* terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotik *Ciprofloxacin* digunakan sebagai kontrol kerja. Kontrol kerja berfungsi untuk mengkonfirmasi beberapa hal diantaranya, mengetahui bahwa isolat bakteri uji layak digunakan, daya difusi zat, ketepatan konsentrasi suspensi bakteri, validasi zona hambat yang terbentuk serta untuk mengetahui bahwa media pertumbuhan untuk pengujian daya hambat bakteri yang akan digunakan dalam kondisi baik, yang dapat dilihat dari kemampuan antibiotik *Ciprofloxacin* yang berdifusi ke dalam media sehingga membentuk zona hambat.

Berdasarkan hasil pengukuran rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada kontrol kerja dengan *Ciprofloxacin* adalah 33,5 mm. Dalam tabel *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* *Ciprofloxacin* dikatakan sensitif apabila diameter zona hambatnya  $\geq 31$  mm, jika diameter zona hambat yang dihasilkan pada kontrol kerja tersebut dibandingkan dengan tabel CLSI maka kontrol kerja ini termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Ciprofloxacin* merupakan golongan *flouroquinolone* yang mempunyai daya antibakteri lebih kuat dan spektrum *Ciprofloxacin* memiliki aktivitas yang sangat luas, baik terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram- negatif. Mekanisme kerja antibiotik *Ciprofloxacin* dengan menghambat sintesis asam nukleat. Antibiotik golongan ini dapat masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui kanal protein terisi air pada membran luar bakteri secara intra seluler. Secara unik obat- obat ini menghambat replikasi DNA

bakteri dengan cara mengganggu kerja DNA *girase (topoisomerase II)* selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Pratiwi, 2013).

b. Diameter zona hambat etanol 96% (konsentrasi 0 %)

Dalam penelitian ini etanol 96% (konsentrasi 0%) digunakan sebagai kelompok kontrol. Pemeriksaan pada kelompok kerja bertujuan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan memiliki pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak. Hasil pengukuran kelompok kontrol yaitu 0 mm, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa yang ada pada biji buah pepaya.

Etanol merupakan salah satu pelarut umum yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa aktif yang terdapat pada bahan-bahan alam dan dapat berfungsi sebagai antimikroba (Henny, 2015). Namun aktivitas antimikroba pada etil alkohol dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu, konsentrasi, waktu kontak, dan volume yang digunakan (Ramadhan, 2013).

Pada penelitian ini etanol tidak membentuk zona hambat, karena etanol memiliki sifat mudah menguap dan memiliki sifat tidak persisten dalam membunuh bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan (2013), tentang uji daya hambat terhadap beberapa merk *hand sanitizer*, menyatakan bahwa diameter terbesar yaitu 12 mm terdapat pada *hand sanitizer* yang mengandung alkohol dengan *triclosan*, namun pada *hand sanitizer* yang mengandung alkohol saja, tidak membentuk zona hambat (0 mm). Hal ini dikarenakan kandungan alkohol saja tidak efektif dalam membunuh bakteri dan hanya bersifat *short acting*.

- c. Diameter zona hambat ekstrak etanol biji buah pepaya dengan variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*.

Pada penelitian ini, didapatkan hasil ekstrak etanol biji buah pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Penelitian ini dilakukan dengan 1 replikasi dengan 5 kali pengulangan, rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol biji buah pepaya konsentrasi 20 % yaitu 7,9 mm dengan diameter terbesar 8,5 mm dan diameter terkecil 7,6 mm. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi ini merupakan rerata diameter terkecil dari rerata diameter zona hambat lainnya. Pada ekstrak biji buah pepaya konsentrasi 40% didapatkan hasil rerata diameter zona hambatnya yaitu 9,5 mm dengan diameter terbesar 9,8 mm dan diameter terkecil 9,0 mm. Kemampuan menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 40% lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi 20% yang ditandai dengan luas diameter zona hambat yang terbentuk. Ekstrak etanol biji buah pepaya konsentrasi 60% menghasilkan diameter zona hambat yaitu 11,9 mm dengan diameter terbesar 12,2 mm dan diameter terkecil 11,5 mm. Konsentrasi ini menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 40%. Ekstrak etanol biji pepaya konsentrasi 80% merupakan konsentrasi terbesar dalam penelitian ini, diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu 13,4 mm dengan diameter terbesar 13,6 mm dan diameter terkecil 13,2 mm. pada konsentrasi 80% merupakan diameter terluas dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

Diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak biji buah pepaya terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dapat

dikategorikan. Menurut Susanto, Sudrajat dan Ruga dalam Permadani, dkk (2014) kategori zona hambat dapat diklasifikasikan lemah dengan diameter zona hambat  $\leq 5$  mm, sedang dengan diameter 6-10 mm, kuat dengan diameter 11-20 mm dan sangat kuat dengan diameter  $\geq 21$  mm. Dilihat dari hasil pengukuran diameter zona hambat yang didapatkan pada konsentrasi 20% dan 40% ekstrak biji buah pepaya dapat dikategorikan memiliki daya hambat yang sedang karena diameter zona hambat yang terbentuk termasuk dalam rentang 5-10 mm. Pada konsentrasi 60% dan 80% ekstrak biji buah pepaya dapat dikategorikan memiliki daya hambat yang kuat karena diameter zona hambat yang terbentuk termasuk dalam rentang 11-20 mm. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Gunawan (2018) tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 10, 20, 40, 60, dan 80% berturut-turut didapatkan diameter zona hambat yaitu 0 mm, 7,12 mm, 8,14 mm, 8,86 mm, dan 9,38 mm. Keempat zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun salam dapat dikategorikan sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Jika dibandingkan dengan aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya dengan konsentrasi yang sama maka dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol biji buah pepaya menghasilkan zona hambat yang lebih besar dan lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Dari penelitian tersebut menunjukkan adanya perbedaan hasil diameter zona hambat. Hal ini diperkuat oleh penelitian Rahmah dan Kurniawan (2011) bahwa peningkatan dan penurunan besar zona hambat ditentukan oleh faktor-faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman seperti iklim, tanah, sinar matahari dan kondisi pertumbuhan tanaman. Brooks *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa

aktifitas antibakteri dipengaruhi beberapa faktor yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri pada tanaman dan jenis bakteri yang dihambat.

Dalam penelitian Agustiani, Kharisma dan Romadhona (2017) menyatakan bahwa ekstrak air buah pepaya muda memiliki kandungan triterpenoid, tanin, flavonoid dan tidak menghambat pertumbuhan flora normal *Lactobacillus acidophilus* pada dosis 10 mg/ml, 20 mg/ml dan 40 mg/ml. Penelitian lain dilakukan oleh Syafriana, Rentiana dan Poeloengan (2016) dikatakan bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin dan glikosida tetapi ekstrak etanol daun pepaya tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus agalactiae*. Penelitian yang dilakukan oleh Fitria (2016) menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% akar pepaya mengandung senyawa aktif seperti saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, fenol dan glikosida. Ekstrak etanol akar pepaya tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *Vibrio cholerae*. Hal ini diduga karena dari semua senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam akar pepaya, belum diketahui jenis senyawa mana yang paling bertanggung jawab sebagai antibakteri, sehingga belum dapat diketahui sifat kimianya. Sifat kimia tersebut sangat menentukan jenis pelarut dan cara isolasi yang terbaik untuk mendapatkan senyawa aktif yang terkandung dalam akar pepaya.

Penelitian juga dilakukan oleh Roni, Maesaroh dan Marliani (2018) menyatakan ekstrak biji pepaya memiliki aktivitas antibakteri terbesar dibandingkan dengan ekstrak kulit pepaya dan daun pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fraksi n-heksan biji pepaya memiliki aktivitas antibakteri paling besar dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan

metanol-air terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Dari hasil bioautografi yang berfungsi untuk mengetahui golongan senyawa yang bertanggungjawab sebagai antibakteri, diduga golongan senyawa aktif yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah golongan senyawa terpenoid. Pada penelitian Astri dan Yuliani (2015) menyatakan bahwa golongan senyawa pada ekstrak etanol biji dan batang pepaya yang diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* adalah tanin sedangkan golongan senyawa pada ekstrak biji pepaya yang diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus sonnei* adalah alkaloid dan tanin.

Dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa biji buah pepaya memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih banyak dan menghasilkan zona hambat yang lebih besar dan dijelaskan pada penelitian Mulyono (2013) tentang aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya muda dan biji pepaya tua terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* didapatkan hasil diameter zona hambat konsentrasi 80% ekstrak biji pepaya muda sebesar 12,2 mm dan biji pepaya tua sebesar 10,4 mm ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya muda memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol biji pepaya muda yang dilihat dari besarnya zona hambat yang dihasilkan. Zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi ekstrak etanol biji buah pepaya muda menunjukkan terjadinya penghambatan pertumbuhan koloni bakteri yang disebabkan oleh adanya senyawa aktif yang lebih banyak terdapat dalam ekstrak tersebut sehingga mampu berdifusi ke dalam media. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Torar, dkk (2015), menyatakan bahwa biji buah pepaya mengandung senyawa aktif seperti terpenoid, flavonoid, alkaloid dan karpain. Sejalan dengan skrining fitokimia yang telah

dilakukan oleh penulis, biji pepaya dilaporkan memiliki berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, fenol dan kuinon.

Ekstraksi senyawa aktif dari bahan tanaman tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi. Etanol 96% disarankan penggunaannya untuk pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia oleh Departemen Kesehatan Republik Indonesia dalam Farmakope Herbal Indonesia tahun 2008. Meskipun pada skrining fitokimia terdapat hasil positif pada uji yang dilakukan, namun skrining tersebut hanya bersifat kualitatif sehingga tidak dapat diperkirakan berapa banyak jumlah senyawa yang terdapat dalam ekstrak uji yang berperan dalam hambatan pertumbuhan bakteri.

Masing-masing dari senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak biji buah pepaya memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda. Menurut Mahanani, Praharani dan Purwanto (2013) kandungan alkaloid dalam ekstrak etanol biji buah pepaya berfungsi sebagai agen antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan sel bakteri mudah mengalami kematian. Menurut Sudrajat, Sadani, dan Sudiastuti (2012) senyawa flavonoid yang bersifat bakteriostatik, diduga merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino. Senyawa yang terdapat dalam dinding bakteri ini akan bereaksi dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan menyebabkan senyawa tersebut dapat flavonoid masuk kedalam inti sel bakteri. Selanjutnya senyawa ini akan bereaksi dengan DNA pada inti sel bakteri dan melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus

alkohol pada senyawa flavonoid akan terjadi reaksi sehingga akan merusak struktur lipid dari DNA bakteri sehingga inti sel bakteri akan mengalami lisis. Senyawa tanin dapat mengganggu permeabilitas sel karena kemampuannya dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel bakteri. Tanin mampu menginaktivasi adhesin mikroba, enzim, dan protein transport pada membran sel (Khasanah, Sarwiyono, dan Surjowardojo, 2012). Senyawa fenol memiliki sifat yang dapat merusak membran sel yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan atau matinya sel karena perubahan permeabilitas sel. Senyawa fenol juga dapat mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisiskan dinding sel jamur. Selain itu, Senyawa fenol melalui gugus hidroksi yang akan berikatan dengan gugus sulfhidril dari protein fungi sehingga mampu mengubah konformasi protein membran sel target (Kumalasari, 2015). Senyawa kuinon dapat menghambat respirasi sel. Selain itu, kuinon dapat menerima elektron rantai respirasi, proses ini dapat menghasilkan pembentukan radikal bebas dan merusak mitokondria. Aktivitas kuinon menyebabkan *cyanide-resistant respiration*, yaitu kurangnya pasokan oksigen dalam proses respirasi (Husnawati, 2018).

## **2. Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dengan menggunakan ekstrak etanol biji buah pepaya pada konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%.**

Keempat seri konsentrasi ekstrak etanol biji buah pepaya dapat menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dengan diameter zona hambat yang berbeda-beda. Berdasarkan data hasil penelitian pada Lampiran 1 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk

berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak. Daya hambat ekstrak biji buah pepaya yang paling lemah terdapat pada konsentrasi 20%, yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat yang paling kecil dibandingkan dengan konsentrasi 40%, 60% dan 80%. Kemampuan menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* paling kuat ditunjukkan pada konsentrasi 80% yang ditunjukkan dengan terbentuknya diameter paling luas dibandingkan dengan konsentrasi 20%, 40% dan 80%. Perbedaan peningkatan diameter zona hambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dari konsentrasi 20% ke 40% sebesar 1,6 mm, dari konsentrasi 40% ke 60% sebesar 2,4 mm, dari konsentrasi 60% ke 80% sebesar 1,5 mm.

Ekstrak biji buah pepaya pada konsentrasi 20% dalam menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat dikategorikan sedang dengan diameter zona hambat sebesar 7,9 mm. Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan hasil uji penelitian Roni, Maesaroh dan Marliani (2018) mengenai aktivitas antibakteri biji pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil diameter zona hambat 12,6 mm yang dikategorikan kuat. Sehingga dapat diketahui bahwa adanya perbedaan diameter yang dihasilkan ekstrak etanol biji buah pepaya konsentrasi 20% dimana ekstrak tersebut lebih menghambat bakteri gram positif daripada gram negatif. Hal ini disebabkan karena dinding sel bakteri gram negatif yaitu membrane terluar lipoprotein mengandung molekul protein yang disebut porin dan lipopolisakarida. Porin pada membran terluar dinding sel bakteri gram negatif tersebut bersifat hidrofilik. Kandungan porin tersebut menyebabkan molekul- molekul komponen ekstrak lebih sukar masuk ke dalam sel bakteri.

Adanya perbedaan struktur dan komponen dinding sel tersebut menyebabkan bakteri gram negatif lebih resisten (Cadrasari, dkk., 2012).

Ekstrak etanol biji buah pepaya pada konsentrasi 40% , 60% dan 80% dalam menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat dikategorikan sedang dan kuat. Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan hasil uji penelitian Torar, Lolo dan Citraningtyas (2017) mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan hasil diameter zona hambat yang dikategorikan sedang. Dari perbedaan kategori yang dihasilkan maka dapat diketahui bahwa ekstrak etanol biji buah pepaya lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Hal ini disebabkan oleh resistensi dari bakteri terhadap substansi bioaktif.

Hasil diameter zona hambat ekstrak etanol biji buah pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan variasi konsentrasi memiliki diameter zona hambat yang berbeda-beda. Perbedaan zona hambat terjadi karena adanya kadar zat aktif yang berbeda-beda dari setiap konsentrasi yang dipengaruhi oleh seri pengenceran dalam variasi konsentrasi. Dalam penelitian yang dilakukan oleh penulis mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* didapatkan hasil adanya peningkatan diameter zona hambat. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Lestari, dkk (2018) tentang aktivitas antibakteri seduhan biji buah pepaya terhadap *Eschericia coli*, *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% menghasilkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Eschericia coli* berturut-turut sebesar 8,72 mm, 9,53 mm, 10,61 mm, 10,99 mm

dan 12,19 mm, terhadap bakteri *Salmonella thypi* berturut-turut sebesar 7,07 mm, 8,63 mm, 9,54 mm, 8,78 mm dan 10,16 mm sedangkan menghasilkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berturut-turut sebesar 6,4 mm, 6,8 mm, 7,8 mm, 7,9 mm dan 10,1 mm. Hal ini diperkuat dengan penelitian Oroh, dkk (2015) dan Zuhud, dkk (2011), yang menyatakan diameter zona hambat ekstrak akan semakin meningkat bersamaan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Peningkatan tersebut disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka jumlah kandungan senyawa antimikroba yang dilepaskan semakin tinggi, sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel. Selain itu faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan kemampuan menghambat bakteri antara lain kemampuan dan kecepatan difusi bahan uji pada media, konsentrasi bahan uji, interaksi antar komponen medium, sensitivitas mikroorganisme terhadap zat uji dan kondisi lingkungan mikro in vitro (Candrasari, dkk., 2012; Sarlina, Razak dan Tandah, 2017).