

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DENGAN MASERASI EKSTRAK  
DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) MENGGUNAKAN METODE  
BIOAUTOGRAFI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

**Moh. Slamet Rudianto, Akademi Farmasi Surabaya**

**Tri Puji Lestari Sudarwati, Akademi Farmasi Surabaya**

**M.A Hanny Ferry Fernanda, Akademi Farmasi Surabaya**

**ABSTRAK**

*Carica papaya L* mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat antiseptik, antiinflamasi, anti fungal, dan antitibakteri, ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan menggunakan metode bioautografi uji Kromotografi lapis tipis mendapatkan tiga noda yang memiliki Rf 0,28, Rf 0.46, Rf 0.93, hasil dari penelitian menunjukkan bahwa nilai Rf yang aktif dari hasil uji bioautografi memiliki nilai Rf 0.93 menyatakan kandungan tanin dengan warna lembayung memiliki nilai rata rata zona hambat 5,52 mm 6,38 mm 7,08 mm 7.6 mm 8.74 mm dengan katagori sedang, mekanisme kerja tanin sebagai anti bakteri dengan cara merusak membran sel yang menyebabkan kebocoran intraseluler, Hasil dari uji Anova One Way diperoleh Signifikan <0,05 dimana H0 ditolak (tidak terdapat pengaruh zona hambat) dan H1 diterima (terdapat pengaruh zona hambat ). Data tersebut dapat di artikan bahwa terdapat pengaruh konsentrasi maserasi ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya L* ) dengan menggunakan metode bioautografi terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli* yang terbentuk. Kesimpulan kandungan tanin yang terdapat dalam daun pepaya dapat menghambat bakteri escherichia coli

**Kata Kunci** : Daun pepaya (*Carica papaya L*), Bioautografi, KLT, *Escherichia Coli*,  
Tanin

**ABSTRACT**

*Carica papaya L* has been shown to have antiseptic, antiinflammation, antifungal, and athtibacterial properties. Papaya leaf can also used to treat infections caused by *Eschericha coli*. Tannin is the substances that believed to against *Esherichia coli*. This research was aimed to observe the antibacterial activity of maserated

ethanol papaya leaves extract (*Carica papaya* L) against *Escherichia coli* using bioautographic method. Thin layer chromatography test of the extract showed three spots with Rf 0.28, Rf 0,46, Rf 0,93. However, the active antibacterial was only showed at Rf 093 with inhibition zone of 5.5 mm, 6.38 mm, 7.08 mm 7,6mm, 8,74 mm That classified as moderat antibacterial category. The mechanism of action tannin as anti bacterial is by destroying the cell membrane which can intracellular leakage. In conclusion, macerated ethanol papaya leaf extract of (*Carica papana* L) showed an inhibition property to *Escherichia coli*.

**Keywords :** *Papaya leaves (Carica papay L), Bioautography, TLC, Escherichia Coli, Tanin*

## **PENDAHULUAN**

Indonesia memiliki berbagai macam kekayaan alam, di antaranya ialah kekayaan tumbuh-tumbuhan yang termasuk didalamnya tanaman berkasiat obat. Secara turun temurun berdasarkan pengalaman, setiap bagian tanaman dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat seperti akar, batang, dan daun. Kini penggunaan dan permintaan terhadap obat tradisional semakin meningkat seiring dengan semakin tingginya kesadaran masyarakat untuk kembali memanfaatkan kekayaan alam sesuai dengan slogan “*back to nature*” atau kembali ke alam serta kecilnya efek samping yang timbulkan oleh obat tradisional di bandingkan dengan obat modern (Mutmainnah, 2016). Berdasarkan analsis pada daun pepaya mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat antiseptik, antiinflamasi, anti fungal, dan atntibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun pepaya diantaranya *tanin, alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin* (Duke dalam Tuntun, 2016). Daun pepaya dimanfaatkan oleh masyarakat dalam mengatasi infeksi.

Infeksi adalah invasi jaringan tumbuh hospes oleh organisme penyebab penyakit, diikuti perbanyakannya diri, dan reaksi jaringan hospes terhadap organisme atau racun yang dihasilkannya. Infeksi dapat disebabkan oleh agen infeksi, antarlain virus, bakteri, jamur dan parasit (Soedarto, 2015), selama ini penyakit infeksi diatasi dengan menggunakan antibiotika. Penggunaan

antibiotika yang tidak rasional bisa membuat mikroba menjadi resisten (Refdanita, et al., dalam Adila dkk, 2013). Salah satu penyebab infeksi adalah *Escherichia coli* karena *Escherichia coli* bakteri yang patogen yang sering ada di sekitar manusia.

Penelitian terdahulu menunjukkan daya hambat ekstrak daun pepaya terhadap *Escherichia coli* tetapi tidak mengetahui komponen aktif yang dapat menghambat mikroorganisme, salah satu metode yang dikembangkan untuk mengetahui komponen aktif antibakteri adalah biotografi. Salah satu metode ini menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dengan respon dari mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas dari suatu analit yang berupa antibakteri, antiparasit dan antiprotozoa (Choma I dalam Kusumaningtyas, 2008), salah satu keuntungan dari metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif (Pratiwi, 2008).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Tuntun (2016), ekstrak daun pepaya dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 20% sampai 100% dengan rata-rata diameter zona 6.5 mm sampai dengan 9.1 mm dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode ini menggunakan piringan yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar (Andidha, 2015). Sedangkan penelitian menggunakan metode bioautografi dari ekstrak etanol herba seledri terhadap *Escherichia coli* yang pernah dilakukan oleh Khairati dan Ihsan (2011) dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 2%, 4%, menghasilkan daya hambat 15,2 mm, 17,3 mm, 19,3 mm dan 20,83 mm dengan Rf 0,32, dari kedua metode tersebut menunjukkan bahwa metode difusi cakram hanya menunjukkan adanya antibakteri tanpa mengetahui senyawa yang terdapat didalamnya sedangkan metode bioautografi dapat mengetahui senyawa aktif yang dapat menghambat mikroorganisme.

Dari data tersebut maka dilakukan penelitian tentang antimikroba dengan maserasi ekstrak daun pepaya (*Coccarica papaya* L) menggunakan metode bioautografi terhadap bakteri *Escherichia coli* untuk mengidentifikasi senyawa aktif

yang terkandung di dalam daun pepaya yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini maserator, *beaker glass*, gelas ukur, kaca arloji, sendok tanduk, kain serka, *evaporator*, labu ukur, pipet tetes, sendok tanduk. oven, autoklaf, inkubator, kompor, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, *erlenmeyer*, *beaker glass*, kaca arloji, batang pengaduk, sendok tanduk, kawat ose, batang *spreader*, mikropipet, bejana, lempeng KLT, lampu UV, pipa kapiler, gelas ukur, *beaker glass*, jangka sorong.

### **Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya**

Daun pepaya sebanyak 50 g diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 500 ml. Ekstrak yang diperoleh dikentalkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kemudian dibuat konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10%.

### **Pembuatan Media**

Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* dengan mengambil satu goresan biakan *Escherichia coli* disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi *Nutrient Brooth* (NB) sebanyak 9 mL. Kemudian inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

Pembuatan media NA dengan menimbang 4 gram serbuk NA dan larutkan ke dalam aquadest 200 mL. Panaskan diatas *hot plate* hingga berwarna jernih seperti minyak goreng. Kemudian media NA disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Mengukur media NA yang masih cair sebanyak 15 mL dan tunggu sampai memadat. Setelah memadat, media NA di inokulasi dengan bakteri *Bacillus subtilis*. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

### **Pengujian Bioautografi**

Pada tahap ini dilakukan dengan cara menotolkan ekstrak daun pepaya sesuai konsentrasi di atas plat KLT. Masukkan kedalam chamber yang sudah berisi fase gerak n-butanol, asam asetat, air dengan perbandingan (4, 1, 5) dan elusikan. Setelah terelusi sempurna amati noda di bawah sinar UV dan beri tanda pada noda yang terbentuk. Plat KLT yang telah telah diberi tanda pada noda

ditempelkan diatas media NA yang sebelumnya telah di tanamkan bakteri *eschericia coli* , inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Ukur zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan statistika SPSS 17 dengan membandingkan diameter zona hambat dan nilai Rf dari masing - masing konsentrasi ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) dengan menggunakan uji Annova *One Way*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Menurut Wulandari 2011 Kromotografi lapis tipis adalah salah satu metode pemisahan kromotografi yang fleksibel dan banyak digunakan. Keuntungan kromotografi lapis tipis banyak digunakan untuk tujuan penetapan kadar, penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Gandjar, 2007). Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan alikot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (Lempeng KLT silika gel Gf 254) sebanyak 2 µL untuk membentuk zona, kemudian dikeringkan dan dimasukkan dalam chamber yang sudah berisi fase gerak n-butanol, asam asetat, air dengan perbandingan (4: 1: 5), penggunaan BAA menurut harbrone, 1987 campuran pelarut klasik dengan BAA memang dirancang sebagai sarana untuk meningkatkan kadar air lapisan n-butanol memperbaiki manfaat campuran pelarut, eluen n-butanol-asam astat-air (4:1:5) merupakan pelarut terbaik untuk memisahkan senyawa tanin ( Mukholifah, 2014)

Pada penelitian ini mendapatkan beberapa noda dan memiliki nilai Rf, pada noda pertama memilki Rf 0,28, noda ke dua memiliki Rf 0,46, dan pada noda ketiga memiliki Rf 0,93, setelah di amati dibawah sinar UV pada warna gelombang 254nm dan 366nm memiliki 2 warna, Rf 0,28 dan 0,93 memiliki warna ungu kehitaman dan Rf 0,46 memiliki warna hijau, hal ini didukung oleh (Firdaus, 2016) menyatakan dugaan adanya kandungan tanin yang berwarna ungu dan memiliki nilai Rf 0,89. Untuk memperkuat hasil uji diatas maka dilakukan uji fitokimia dengan penambahan reagen, ekstrak daun pepaya dengan ditetesi Ferric cholirde akan terjadi perubahan warna hijau kehitaman dan adanya endapan putih hal ini di perkuat oleh (Fath, 2016) menyatakan bahwa kandungan tanin berwarna

hijau kehitaman, setelah dilakukan uji secara kimiawi kemudian dilanjutkan dengan uji mikrobiologi

Untuk melihat adanya korelasi yang terjadi antara kimiawi dan mikrobiologi maka lempeng KLT yang sudah di elusi di tempelkan selama 30 menit diatas media agar yang sudah di inokulasi bakteri setelah itu lempeng KLT diambil kemudian diinkubasi 24 jam

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil data pengukuran zona hambat yang disajikan dalam bentuk tabel 4.1

**Tabel 1 Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Bakteri *Eschericia coli***

Replikasi	Kontrol Negatif	Konsentrasi				
		2	4	6	8	10
1	-	5,4	6,4	7,2	7,8	8.1
2	-	5,5	6,8	7,2	7,8	8,00
3	-	5,3	6,3	7,1	7,6	8,00
4	-	5,3	5,8	6,9	7,6	10,8
5	-	6,1	6,6	7,00	7,2	8,8
Rata-rata		5,52	6,38	7,08	7,6	8,74
Kategori		Sedang	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang

Pada penelitian ini dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10, menghasilkan nilai rata-rata 5,52mm, 6,38mm, 7,08mm, 8,74mm, dengan kategori sedang. Kandungan tanin dari hasil uji Kromotografi lapis tipis kemudian di pindahkan diatas media agar yang sudah diinokulasi bakteri *Eschericia coli* untuk mengetahui aktivitas kandungan tanin dalam ekstak daun pepaya, mekanisme kerja tanin sebagai anti bakteri dengan cara merusak membran sel yang menyebabkan kebocoran intraseluler (Andidha, 2015), sedangkan pada konsentrasi tinggi tanin berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas ini sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan, saat lapisan fosfolipid dikelilingi sel dlam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat berpenetrasi dengan

mudah dan merusak isi sel (Sujatmiko, 2014). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa maserasi ekstrak daun pepaya (*Caraica papaya L*) memiliki khasiat sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*. Hal ini di dukung dengan adanya uji anova *one way*

**Tabel 2 Hasil uji Anova Oneway**

ANOVA					
Ekstrak Pepaya					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29,742	4	7,435	21,016	,000
Within Groups	7,076	20	,354		
Total	36,818	24			

Data pengamatan didukung oleh perhitungan statistika SPSS 17 menggunakan uji Anova One Way. Hasil dari uji Anova One Way diperoleh Signifikan <0,05 dimana H0 ditolak (tidak terdapat pengaruh zona hambat) dan H1 diterima (terdapat pengaruh zona hambat ). Data tersebut dapat di artikan bahwa terdapat pengaruh konsentrasi maserasi ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya L* ) dengan menggunakan metode bioautografi terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli* yang terbentuk.

## KESIMPULAN

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) dapat menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dengan menggunakan metode Bioautografi dan memiliki rata rata zona hambat 5,52 mm, 6,38 mm, 7,08 mm, 7,6 mm dan 8,74 mm dengan kategori sedang

## RUJUKAN

- Adila, R., Nurmiati., & Agustien, A., 2016. Uji Antimikroba *Curcuma spp* Terhadap Pertumbuhan *Candida abricans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Jurnal Biologi Universitas Andalas**. Halaman : 1-7. ISSN : 2303-2162
- Andidha, K. Y. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Gracinia benthami Pierre* Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Dengan Metode Bioautografi. **Skripsi**. Uin Syarrif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.

- Fath, M. A. (2016). Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Biji Adas (*Foeniculum vkgare Mill*), Rimpang Kencur (*Kaempferia galaga*), Herba Pangan (*catella asiatica*) Serta Ramuannya .**Skripsi**. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Firdaus, I. A. (2016). Identifikasi Tanin Pada Fraksi Air Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile B.*) dan Uji Aktivitas AntiKankenr Payudara. **Skripsi**. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2007. **Kimia Farmasi Analisis**. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Harbone, J.B., (1987) . **Metode Fitokimia**. Ed II. Bandung:ITB
- Kusumaningtyas, E., Astuti, E., dan Darmono. 2008. Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak Agar Overlay dalam Penentuan Senyawa Antikapang. **Ilmu Kefarmasian Indonesia** , Vol. 6, No. 2, Halaman : 75-79.
- Muthmainnah B. 2016. Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Yang Berasal Dari Balupoddo Kabupaten Sinjai . **Pharmaceutical Science and Herbal Technology**, Vol. 1 No. 1 Halaman : 12-17.
- Pratiwi, S. T. 2008. **Mikrobiologi Farmasi**. Yogyakarta: Erlangga.
- Sujatmiko, Y. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamamum bumannii B.*) Dengan Cara Ekstraksi Yang Berbeda Terhadap *Escherichia coli* Sensitif Dan Multiresisten Antibiotik. **Naskah Publikasi** , Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Soedarto. 2015. **Mikrobiologi Kedokteran** . Jakarta : Sagung Seto.
- Tuntun, M. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. **Jurnal Kesehatan** , Volume VII, Nomor 3. Halaman : 497-502.