

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DENGAN MASERASI
EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)
MENGUNAKAN METODE BIOAUTOGRAFI TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Nihayatul Masfufah, Akademi Farmasi Surabaya

Tri Puji L. Sudarwati, Akademi Farmasi Surabaya

Anisa Rizki Amalia, Akademi Farmasi Surabaya

ABSTRAK

Carica papaya L. adalah salah satu tanaman herbal yang telah dikenal sebagai obat tradisional infeksi bakteri dengan berbagai bioaktivitas seperti antiseptik, antiinflamasi, antijamur dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol diperoleh dengan metode maserasi dan diuji menggunakan metode bioautografi. Ekstrak daun etanol pepaya dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% dengan rata-rata diameter zona hambat yaitu 5,52 mm; 6,34 mm; 7,06 mm; 7,72 mm dan 8,9 mm. Pengujian KLT bioautografi dengan eluen n-butanol : asam asetat : aquadest (4 : 1 : 5) diperoleh zona penghambatan pada noda dengan nilai Rf 0,93. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa noda adalah tanin. Hasil statistik *Anova oneway* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari masing-masing konsentrasi.

Keywords : *Carica papaya L.*, *Staphylococcus aureus*, Kromatografi Lapis Tipis, Bioautografi.

ABSTRACT

Carica papaya L. is one of herbal plant that has been known as a traditional medicine of bacterial infections with various bioactivities such as an antiseptic, antiinflammatory, antifungal and antibacterial. This research aims to determine the antibacterial activity of the extracts ethanol leaf of papaya (*Carica papaya L.*) against *Staphylococcus aureus*. Extract ethanol were obtained by maceration

method and were tested using bioautography method. The extracts ethanol leaf of papaya can inhibit growth of *Staphylococcus aureus* at concentrations 2%, 4%, 6%, 8% and 10% with average inhibitory zone diameter that are 5,52 mm; 6,34 mm; 7,06 mm; 7,72 mm and 8,9 mm. TLC bioautography assay with eluen n-butanol : acetate acid : aquadest (4 : 1 : 5) is obtained inhibitory zone at stain with Rf value 0,93. Result of identification shown that the stain are tannin. Statistical result of Anova oneway showed significant difference from each concentration.

Keywords : *Carica papaya L.*, *Staphylococcus aureus*, Thin Layer Chromatogram, Bioautography.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki hasil pertanian dan tanaman herbal yang banyak memberikan manfaat dalam kehidupan sehari-hari yang salah satunya dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Obat tradisional secara turun temurun digunakan sebagai antibakteri alami dalam pengobatan infeksi. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri alami adalah daun pepaya (*Carica papaya L.*).

Berdasarkan hasil analisis fitokimia daun pepaya oleh Duke (2008) dalam Tuntun (2016), didapatkan bahwa daun pepaya mengandung senyawa-senyawa kimia *tannin*, *alkaloid*, *flavonoid*, *terpenoid*, dan *saponin*. Senyawa alami ini berpotensi dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi. Salah satu contoh bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus adalah jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan infeksi dan kelainan kulit seperti impetigo, ruam, infeksi kulit folikulitis, infeksi pada folikel rambut. Infeksi bakteri ini biasanya terjadi pada luka terbuka atau luka potong dan dapat ditemukan pada hidung, mulut, kulit, mata, jari, usus dan hati serta dapat tinggal sementara di daerah kulit yang basah (Radji, 2010).

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* telah banyak dilakukan akan tetapi penelitian tersebut hanya menunjukkan aktivitas antibakteri dari daun pepaya saja tidak

diketahui komponen senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Untuk mengetahui komponen senyawa aktif yang bersifat antibakteri dari daun pepaya dilakukan pengujian menggunakan metode bioautografi. Metode ini menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) dengan respon mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu analit yang dapat berupa antibakteri, antiparasit, dan antiprotozoal (Macek dkk, 2005 dalam Lukman, 2016).

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 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, *erlenmeyer*, kaca arloji, batang pengaduk, sendok tanduk, kawat ose, batang *spreader*, mikropipet, bejana, lempeng KLT, lampu UV, pipa kapiler, jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun pepaya, etanol 96%, ekstrak murni daun pepaya, aquadest, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Brooth* (NB), bakteri *Staphylococcus aureus*, aluminium foil, kapas, plastik wrap,, n-butanol, asam asetat, air.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi dengan merendam 50 gram serbuk daun pepaya kedalam pelarut etanol 500 mL selama 24 jam. Hasil maserasi diuapkan sehingga didapatkan ekstrak murni. Ekstrak murni tersebut dibuat berbagai konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%.

Pembuatan Media

Pembuatan media NA dengan menimbang sebanyak 4 gram serbuk NA kemudian dilarutkan ke dalam 200 mL aquadest, dipanaskan di atas kompor

hingga berwarna seperti minyak goreng. Kemudian media NA disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ukur 15 mL media NA steril yang masih hangat, tuang ke dalam cawan petri kemudian inkubasi 24 jam.

Pembuatan suspensi bakteri dengan menggoreskan 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* kemudian disuspensikan dengan media *Nutrient Brooth* (NB) steril 9 mL dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, pipet sebanyak 0,1 mL ratakan dalam cawan petri secara *spread plate* inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.

Bioautografi

Masing-masing konsentrasi ekstrak pepaya ditotolkan diatas lempeng KLT. Kemudian dielusi dalam bejana dengan pelarut n-butanol : asam asetat : air (4:1:5), setelah terelusi sempurna bercak yang timbul diamati dibawah sinar UV dan tandai bercak yang timbul. Lempeng KLT hasil elusi yang telah ditandai bercaknya tersebut ditempelkan diatas permukaan media NA padat yang telah diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Ukur zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil Pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) menghasilkan noda sebagai berikut.

Tabel 1 Nilai Rf dan warna noda hasil KLT

Noda	Jarak noda	Nilai Rf	Warna penampak noda
1.	3,7 cm	0,46	Hijau kehitaman
2.	5 cm	0,63	Lembayung
3.	7,5 cm	0,93	Lembayung

Noda yang terbentuk pada lempeng KLT saat disinari dengan lampu UV 366 menghasilkan adanya 3 noda dengan nilai Rf yang berurutan 0,46, 0,63 dan 0,93. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987) dalam bukunya bahwa tanin dapat dideteksi dengan sinar UV pendek berupa noda yang berwarna lembayung, selain itu didukung dengan nilai Rf dari ekstrak tanaman mimosa yang memiliki kadar tanin yang besar dengan nilai Rf sebesar 0,62. Senyawa yang terangkat dalam lempeng KLT berupa tanin, hal ini dikarenakan eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun pepaya adalah n-

butanol : asam asetat : air (BAA) dengan perbandingan 4 : 1 : 5 dimana menurut penelitian identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh oleh Hayati (2010) menunjukkan bahwa campuran eluen tersebut mampu memberikan pemisahan terbaik karena dari komposisinya eluen tersebut bersifat sangat polar sehingga bisa memisahkan senyawa tanin yang juga bersifat polar.

Senyawa tanin pada lempeng KLT diuji kepekaannya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan terbentuknya zona hambat berada dibagian atas bekas penempelan lempeng KLT. Berikut hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya.

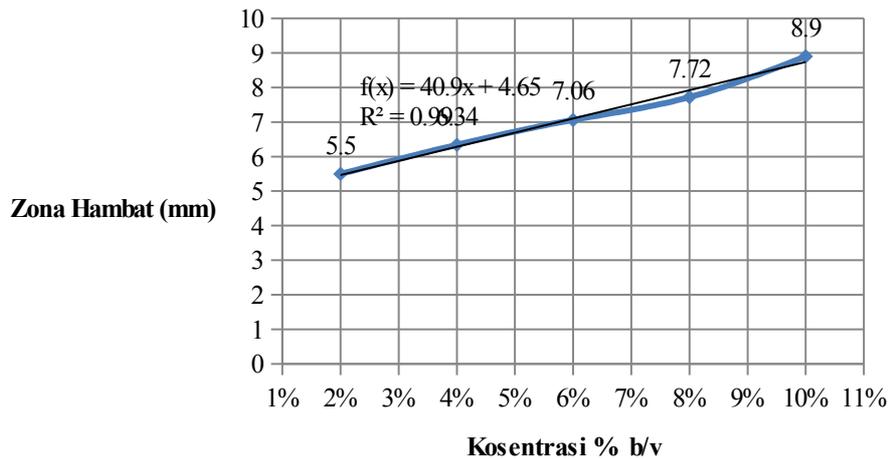
Tabel 2 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Konsentrasi				
	2 %	4 %	6 %	8 %	10%
1	5,7 mm	6,7 mm	7,3 mm	7,6 mm	8,5 mm
2	5,6 mm	6,1 mm	6,9 mm	7,7 mm	8,4 mm
3	6,0 mm	6,5 mm	7,2 mm	8,2 mm	11,2 mm
4	4,7 mm	6,0 mm	6,7 mm	7,4 mm	8,0 mm
5	5,6 mm	6,4 mm	7,2 mm	7,7 mm	8,4 mm
Rata-rata	5,52 mm	6,34 mm	7,06 mm	7,72 mm	8,9 mm
Kategori	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang

Berdasarkan data tabel di atas hasil rata-rata zona hambat yang terbentuk masuk dalam nilai rentang 5-10 mm sehingga didapatkan antibakteri yang bersifat sedang Menurut Davis dan Stout (1971) apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatnya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.. Hal ini dikarenakan struktur dinding sel bakteri Gram positif (*S. aureus*) memiliki struktur yang lebih sederhana yakni hanya tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teikoat. Lapisan-lapisan tersebut terdiri dari polimer yang dapat larut air sehingga memudahkan senyawa antibakteri yang bersifat polar, seperti senyawa fenolik (flavonoid dan tanin) untuk berpenetrasi ke dalam sel (Handrianto, 2016). Tanin mempunyai sifat sebagai pengelat berefek spasmolitik yang dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel

tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Untuk mengetahui konsentrasi yang aktif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat dan dihitung menggunakan persamaan garis linier pada gambar dibawah ini



Gambar 1 Kurva rata-rata aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan gambar diatas konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat dilihat dari kenaikan kurva dan persamaan garis korelasi linier didapatkan $r^2 = 0,9893$. Dimana menurut Sembiring (2003) makin dekat r^2 dengan 1 makin baik kecocokan data dengan model, dan sebaliknya, makin dekat r^2

dengan 0 makin jelek kecocokan tersebut. Sehingga semakin tinggi konsentrasi semakin besar zona hambat yang terbentuk.

SIMPULAN

Uji aktivitas antimikroba dengan maserasi ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L*) menggunakan metode bioautografi pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori sedang dan senyawa yang diduga sebagai antibakteri adalah senyawa tanin.

RUJUKAN

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak daun *psidium guajava l*. **BIOSCIENTIAE**, Volume 1, nomor 1, halaman 31-38.
- Davis, W. W., Stout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. **APPLIED MICROBIOLOGY**, Vol. 22, No. 4, halaman 666-670.
- Handrianto, Prasetyo. 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah *Zingiber officinale var. Rubrum* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Journal of Research and Technologies**, Vol. 2, No. 1, hal. 1-4.
- Harborne, J. B. 1987. **Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan**. Bandung. Institut Teknologi Bandung.
- Hayati, E., Fasyah, A. G., Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). **Jurnal Kimia**, volume 4, nomor 2, halaman 193-200.
- Lukman, A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap Bakteri Patogen dengan Metode KLT Bioautografi. Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan. **Skripsi**. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Radji, M. 2010. **Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran**. Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Sembiring, R. K. 2003. **Analisis Regresi edisi kedua**. Bandung:ITB.

Tuntun, M. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. **Jurnal Kesehatan**, volume VII nomor 3, halaman 497-502.