

Aktivitas antibakteri fraksi polar ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Margaretha Kurniasari, Kurnia Rahayu Purnomo Sari*, dan Nur'aini Purnamaningsih

Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta
Jl. Brawijaya, Ring Road Barat. Ambarketawang, Gamping, Yogyakarta

*Email: kurniarahayupurnamasari@gmail.com

Abstrak: Tujuan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi polar ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak etanol selanjutnya difraksinasi menggunakan pelarut etanol-air. Uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi agar cara Kirby Bauer. Variasi konsentrasi fraksi etanol-air ekstrak etanol daun pepaya 10, 15, 20, 25, 30, dan 100%. Zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diukur menggunakan jangka sorong. Hasil penelitian menunjukkan zona hambat fraksi etanol-air terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang paling optimum yaitu pada konsentrasi 100% sebesar 14,75 mm; sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* yang paling optimum yaitu pada konsentrasi 100% sebesar 11,53 mm. Namun tidak efektif jika dibandingkan dengan zona hambat kontrol positif kloramfenikol. Kesimpulan fraksi etanol-air ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci: antibakteri, *Carica papaya* L., *Escherichia coli*, fraksi polar, *Staphylococcus aureus*

Antibacterial activities of polar fraction of papaya leaf ethanolic extract (*Carica papaya* Linn.) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Abstract: This study aimed to determine the antibacterial activities polar fraction of papaya leaf ethanol extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Simplicia was extracted by ethanol 70% with the maceration method. Ethanolic extract was fractionated with ethanol water. Kirby Bauer diffusion method agar was used for antibacterial activities. Variation concentration of the ethanol-water fraction of papaya leaf ethanolic extract 10, 15, 20, 25, 30, and 100%. The growth inhibition zones of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* are measured using a caliper. The zone of inhibition of the ethanol-water fraction against *Staphylococcus aureus* was the most optimum at a concentration of 100% at 14.75 mm, while the most optimum for *Escherichia coli* was at a concentration of 100% at 11.53 mm, but did not effective than positive control Chloramphenicol. The conclusion of this study is that the ethanol-water fraction of papaya leaf ethanol extract could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: antibacterial, *Carica papaya* L., *Escherichia coli*, polar fraction, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan penyakit yang sering dialami oleh masyarakat. Terjadinya infeksi dapat disebabkan oleh adanya bakteri patogen. Beberapa contoh bakteri patogen diantaranya *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli* (Kayalvizhi, Cathrine, & Banu, 2015). Untuk mengatasi infeksi bakteri tersebut dalam pengobatan modern yang umum digunakan adalah antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan timbulnya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Pratiwi & Gunawan, 2018).

Adanya resistensi bakteri yang tinggi terhadap antibiotik menjadikan kesempatan yang besar dalam pemanfaatan bahan alam sebagai antibakteri. Contoh yang dapat digunakan sebagai antibakteri adalah daun pepaya. Sudah banyak penelitian yang menyatakan bahwa ekstrak dari daun pepaya dapat menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Untuk melakukan terobosan baru maka dilakukanlah fraksinasi senyawa polar. Tujuan dari fraksinasi untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Senyawa bioaktif yang dapat larut dalam pelarut polar diantaranya flavonoid yang berikatan dengan gula sebagai glikosida, tanin, fenol, alkaloid, dan saponin (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, & Kaur, 2011; Marfuah, Dewi, & Rianingsih, 2018). Senyawa tersebut sudah banyak diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah fraksi etanol-air ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta untuk mengetahui berapa konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat bakteri tersebut.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan adalah alat-alat gelas, neraca analitik (Ohaus), *autoclave* (Gea LS-B 50L), inkubator (Memmert IN30), oven (Memmert UN160), *waterbath* (Memmert), *BSC* (Daihan Labtech), *Binocular Microscope* (Olympus CX23), *UV Viewing Cabinet* 254 nm dan 366 nm (UvOC-02), *hotplate magnetic stirrer* (IKA HS-7), alat maserasi, jarum ose, pinset, batang L, mikropipet 100-1000 μ L, bejana KLT.

Bahan utama yang digunakan adalah Daun pepaya (*Carica papaya* Linn.) yang didapatkan dari Desa Tajeman, Palbapang, Bantul, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi UGM, etanol p.a (Merck KGaA), akuades steril, *n*-heksana p.a (Merck KGaA), kloroform p.a (Merck KGaA), methanol p.a (Merck KGaA), media Nutrient agar (Merck KGaA), media Mueller-Hinton agar (Merck KGaA), *blank paper disk* (Oxoid), *disk* kloramfenikol (Oxoid), standard kuersetin (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), NaCl fisiologis, HCl p.a (Mallinckrodt), FeCl₃ (Merck KGaA), AlCl₃ (Merck KGaA), reagen Dragendorf (Mediss), reagen Mayer (Mediss), reagen Wagner (Mediss), Cat gram (Mediss), *object glass*, *cover glass*, plat silika gel 60 (Merck KGaA).

Pembuatan ekstrak dan fraksi. Serbuk daun pepaya 300 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% teknis selama 3 hari sambil diaduk setiap 6 jam. Hasil maserasi yang terbentuk disaring, untuk memisahkan antara residu dan filtrat. Residu diremaserasi satu kali dengan pelarut etanol 70% 3 L selama 2 hari. Filtrat dari hasil maserasi dan remaserasi digabung untuk dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut etanol dan air perbandingan 4:1. Ekstrak etanol daun pepaya sebanyak 5 gram dilarutkan dalam air panas 10 mL, ditambahkan etanol sebanyak 40 mL dan dimasukkan dalam corong pisah. Ditambahkan 50 mL *n*-heksan lalu dikocok secara

perlahan. Fraksi polar (etanol-air) dipisahkan dengan fraksi non polar (*n*-heksan). Prosedur ini dilakukan sebanyak tiga kali. Fraksi etanol-air yang telah diperoleh dipekatkan diatas *waterbath*.

Skrining fitokimia, ekstrak etanol dan fraksi etanol-air digunakan menggunakan reagen FeCl_3 untuk fenolik dan tanin, reagen dragendorf dan Meyer untuk uji alkaloid, serta uji busa untuk analisis kandungan saponin.

Alat-alat yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan, sebelum dibungkus menggunakan kertas payung alat disemprot dengan alkohol 70%. Alat tersebut disterilkan dengan oven selama 1 jam pada suhu 171°C . Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan pada api bunsen.

Media peremajaan bakteri dibuat dengan cara melarutkan nutrient agar sebanyak 20 gram dalam 1000 mL akuades dalam tabung erlenmeyer kemudian dipanaskan sambil diaduk dengan bantuan *magnetic stirrer*. Media disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1 atm. Media dituang ke dalam tabung reaksi steril dalam BSC, selanjutnya mulut tabung disumbat dengan kapas dan media dibiarkan hingga memadat.

Media uji dibuat dengan cara melarutkan 34 gram Mueller-Hinton agar dalam 1000 mL akuades steril. Mueller-Hinton agar dipanaskan sambil diaduk dengan bantuan *magnetic stirrer* sampai bahan larut sempurna. Kemudian media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Media dituang dalam cawan petri yang sudah disterilkan dalam BSC dan dibiarkan hingga media memadat.

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diremajakan kembali pada media Nutrient Agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 mL sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 Mc Farland atau sebanding dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan 0,05 mL barium klorida 1%. Perbandingan dengan larutan standar bertujuan untuk memperkirakan kepadatan sel dan menggantikan perhitungan bakteri satu per satu. Larutan baku 0,5 *Mc Farland* sebanding dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Anonim, 2014).

Fraksi etanol-air ekstrak etanol daun pepaya sebanyak 3 gram dilarutkan dengan akuades sebanyak 3 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100%. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% dan 30% dalam 2 mL akuades menggunakan rumus pengenceran $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$.

Bakteri uji sebanyak 0,1 mL diinokulasikan ke atas media Mueller-Hinton agar plate dan diratakan dengan batang L. Kemudian *paper disk* dicelupkan secara aseptik pada larutan sampel hingga seluruh permukaan cakram basah. *Blank paper disk* yang sudah dicelupkan ke larutan sampel, *disk* yang dicelupkan akuades sebagai kontrol negatif dan *disk* kloramfenikol sebagai kontrol positif diletakkan di atas media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

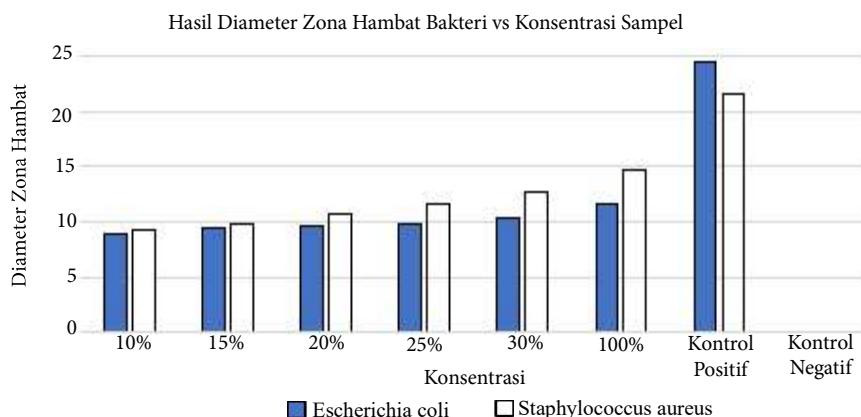
Hasil analisis fitokimia. Pada penelitian ini diperoleh ekstrak etanol *Carica papaya* Linn. dan fraksi etanol-air dengan rendemen masing-masing 27,53 dan 5,69%. Hasil organoleptik dari sampel ekstrak dan fraksi diperoleh bentuk yang kental pada ekstrak sedangkan pada fraksi lebih cair, kedua sampel memiliki bau khas, warna hijau kecoklatan dan rasa yang sangat pahit. Pada hasil skrining fitokimia, ekstrak etanol dan fraksi etanol-air mengandung senyawa saponin, fenolik, dan tanin.

Hasil aktivitas antibakteri. Dari hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etanol-air daun pepaya memiliki senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yakni senyawa saponin, fenolik, dan tanin yang berfungsi sebagai antibakteri. Senyawa saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan yang mengakibatkan kebocoran sel dan senyawa intraseluler menjadi keluar. Senyawa tersebut akan berdifusi lalu mengikat membran sitoplasma, sehingga sitoplasma keluar dari sel dan akhirnya mengakibatkan sel mati (Nor, Indriarini, & Koamesah, 2018). Tanin juga mempunyai kemampuan antibakteri dengan cara mengerutkan dinding sel hingga terjadi kerusakan membran, nutrisi yang diperlukan bakteri jadi tidak dapat masuk akibatnya permeabilitas sel terganggu dan menyebabkan kematian sel. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu akan terjadi interaksi antara senyawa flavonoid dengan DNA bakteri yang akan menyebabkan rusaknya permeabilitas dinding sel, mikrosom dan lisosom (Riwanti, Andayani, & Trinanda, 2021).

Nilai zona hambat yang terbentuk semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi atau berbanding lurus (Gambar 1). Dapat dikatakan bahwa aktivitas antibakteri fraksi polar ekstrak etanol daun pepaya bersifat *dose-dependent*. Konsentrasi yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yakni konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat masing-masing 11,53 mm dan 14,75 mm (Gambar 2). Sedangkan diameter zona hambat kontrol positif kloramfenikol 30 µg terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing yakni 24,36 mm dan 21,60 mm. Apabila diameter zona hambat yang terbentuk diklasifikasikan aktivitas antibakterinya maka pada konsentrasi 100% fraksi etanol-air termasuk kategori kuat sedangkan pada kontrol positif kloramfenikol termasuk kategori sangat kuat (Zahro & Agustini, 2013). Zona hambat pada kontrol positif sangat kuat dalam menghambat kedua bakteri diperkuat dengan penelitian yang menyatakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* 100% sensitif terhadap antibiotik kloramfenikol (Elvira, Puspawati, & Wibawa, 2017). Penelitian lain menyatakan antibiotik kloramfenikol 30 µg sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli* (Dian & Budiarmo, 2015).

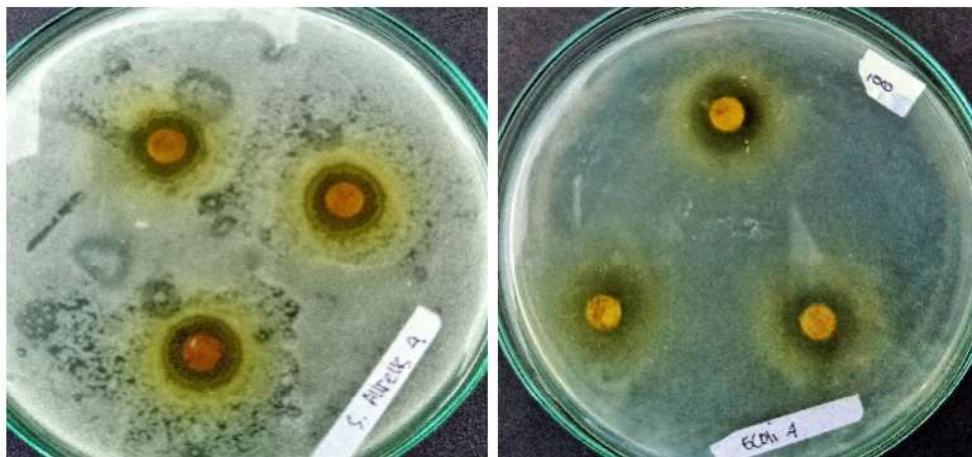
Gambar 1

Aktivitas antibakteri semua kelompok perlakuan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*



Gambar 2

Aktivitas antibakteri Fraksi etanol-air konsentrasi 100% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*



Pada penelitian ini, nilai zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut diduga karena terdapat perbedaan dari struktur dinding sel bakteri uji. Struktur dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* lebih banyak peptidoglikan dan penyusun lipidnya sedikit sekitar 1-4%, oleh karena itu dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Sedangkan struktur dinding sel bakteri *Escherichia coli* mengandung banyak lipid. Diketahui senyawa saponin, fenolik, dan tanin bersifat polar maka senyawa tersebut akan lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan daripada lapisan lipid. Hal ini menyebabkan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan bakteri *Escherichia coli*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol-air ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki aktivitas antibakteri karena mengandung senyawa saponin, fenolik, dan tanin yang bersifat antibakteri. Konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah konsentrasi 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2014). Mc Farland Standard. *Dalynn Biologicals*.
- Dian, R., & Budiarmo, F. (2015). Uji resistensi bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari plak gigi terhadap merkuri dan antibiotik kloramfenikol. *eBiomedik*, 3(1).
- Elvira, E., Puspawati, N., & Wibawa, D. A. A. (2017). Identifikasi *Staphylococcus aureus* dan uji sensitivitas terhadap antibiotik dari sampel darah pasien sepsis di RSUD Dr. Moewardi. *Biomedika*, 10(1), 23-29.

- Kayalvizhi, K., Cathrine, L., & Banu, K. S. (2015). Phytochemical and antibacterial studies on the leaf extracts of female *Carica papaya* linn. *International Journal of PharmTech Research*, 8(7), 166-170.
- Marfuah, I., Dewi, E. N., & Rianingsih, L. (2018). Kajian potensi ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J. Peng. & Biotek. Hasil Pi.*, 7(1).
- Nor, T. A., Indriarini, D., & Koamesah, S. M. J. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Cendana Medical Journal*, 15(3), 327-337. <http://repository.unwira.ac.id/5159/>.
- Pratiwi, R. D., & Gunawan, E. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) asal Papua terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2), 148-157.
- Riwanti, P., Andayani, R., & Trinanda, L. (2021). Uji aktivitas antibakteri *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacy and Science*, 6(1), 19-23. <https://doi.org/10.53342/pharmasci.v6i1.199>.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *Internasional Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
- Zahro, L., & Agustini, R. (2013). Uji efektivitas antibakteri ekstrak kasar saponin jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(3), 120-129.