

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN PEPAYA JEPANG (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M.JOHNST) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Sofia Pinardi¹, Feronia R. C. Santoso², Jessica Trisina³, Hanadya F. Rajagukguk⁴, Dewi Martalena^{5*}

¹ Program Studi Farmasi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

² Program Studi Farmasi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

³ Jurusan D3 Farmasi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

⁴ Program Studi Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta, Indonesia

*Corresponden : dewi.martalena@uhamka.ac.id

Jumlah Tabel : 6 tabel

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Etanol Daun Pepaya Jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*)

Tabel 2. Uji Kesetaraan Antibiotik Gentamisin Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*

Tabel 3. Kesetaraan Ekstrak Daun Pepaya Jepang dengan Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

Tabel 4. Kesetaraan Ekstrak Daun Pepaya Jepang dengan Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Staphylococcus*

Tabel 5. Hasil Pengukuran Rata-rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pepaya Jepang Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*

Tabel 6. Uji Konsentrasi Bunuh Maksimum (KBM) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Spektrofotometri

Jumlah gambar : 5 gambar

Gambar 1. Ekstrak Kental Daun Pepaya Jepang

Gambar 2. Aktivitas Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* (A); *Escherichia Coli* (B)

Gambar 3. Grafik kurva Uji Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Gambar 4. Grafik kurva Uji Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

Gambar 5. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya Jepang Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* (A); *Escherichia Coli* (B)

Kata Kunci: daun pepaya jepang (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M.JOHNST), antibakteri, difusi agar.

Abstract

Latar Belakang :

Bahan alam merupakan suatu potensi yang banyak dieksplorasi untuk menemukan senyawa yang memiliki khasiat antimikroba, salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri adalah daun pepaya jepang (*Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I.M.JOHNST) merupakan tumbuhan semak asli meksiko, yang memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Propionibacterium acnes*. Daun pepaya jepang memiliki kadar air yang lebih rendah dibanding tanaman daun hijau lainnya seperti bayam atau selada.

Metode :

Daun pepaya jepang dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dan menghasilkan rendemen ekstrak sebanyak 10,81%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan empat konsentrasi ekstrak yaitu 80000ppm, 40000ppm, 20000ppm dan 10000ppm, dengan penggunaan gentamisin sebagai kontrol positif yang memiliki aktivitas spektrum luas dan *akuadest* steril sebagai kontrol negatif. Pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun pepaya jepang dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar dengan variasi konsentrasi 80000ppm, 40000ppm, 20000ppm dan 10000ppm.

Hasil :

Hasil pengujian menyatakan ekstrak daun pepaya jepang dengan konsentrasi 80000ppm memiliki aktivitas yang efektif sebagai antibakteri dengan diameter hambat 12 mm terhadap bakteri *Escherichia Coli* dan 16 mm terhadap *Staphylococcus Aureus*. Hasil uji kesetaraan antibiotik dengan ekstrak daun pepaya jepang terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak dengan konsentrasi 20000ppm memiliki kesetaraan dengan antibiotik gentamisin pada konsentrasi 29.31 ppm. Sedangkan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil aktivitas ekstrak pada konsentrasi 10000ppm setara dengan antibiotik pada konsentrasi 36.92ppm. Konsentrasi bunuh minimum daun pepaya jepang terhadap bakteri *Escherichia Coli* diperoleh pada konsentrasi 20000ppm, sedangkan bakteri *Staphylococcus Aureus* diperoleh pada konsentrasi 10000ppm menggunakan spektrofotometri.

Kesimpulan :

Ekstrak etanol daun pepaya jepang memiliki aktivitas senyawa antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 80000 ppm. Pengujian menggunakan spektrofotometri menyatakan bahwa pada konsentrasi ekstrak daun pepaya jepang 20000 ppm memiliki aktivitas pada bakteri *Escherichia coli* dan 10000 ppm pada *Staphylococcus aureus*.

Pendahuluan

Antibakteri merupakan suatu bahan yang dapat membasmi bakteri yang merugikan bagi manusia. Penggunaan bahan antibakteri merupakan upaya untuk mencegah penyebaran infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Bahan alam, memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan sifat toksisitasnya, dibagi menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Bakterisidal yaitu antibakteri dengan sifat membunuh, sedangkan bakteriostatik menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak mematikan. Antibakteri memiliki 2 aktivitas yaitu spektrum luas (*Broad Spectrum*) dan sempit (*Narrow Spectrum*). Antibakteri dengan *broad spectrum* mampu membunuh berbagai jenis bakteri, sedangkan antibakteri *narrow spectrum* hanya mampu membunuh beberapa bakteri saja.¹ Terdapat beberapa mekanisme kerja yang dimiliki antibakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat sintesis protein bakteri, menghambat replikasi DNA bakteri dan sebagai antagonis folat.²

Staphylococcus aureus adalah bakteri jenis gram positif umum yang diisolasi di Amerika Serikat dan Eropa. *Staphylococcus aureus* yaitu mikroflora normal di dalam saluran nafas atas, namun dapat menginfeksi apabila melebihi jumlah normal (>110 CFU/mL). *Staphylococcus aureus* menjadi penyebab infeksi yang sering terjadi di dunia dengan tingkah keparahan yang bervariasi, seperti infeksi minor di kulit, infeksi traktus respiratorius, infeksi traktus urinarius.³ Sedangkan untuk *Escherichia Coli* adalah bakteri gram negatif yang umumnya terdapat di dalam usus besar pada manusia. Umumnya pun bakteri ini tidak bahaya, namun beberapa bakteri *Escherichia coli* dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius yang disebabkan oleh daging yang belum matang.⁴ Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu antibiotik gentamisin, dengan aktivitas spektrum luas yang termasuk kedalam golongan antibiotik aminoglikosida. Gentamisin efektif terhadap bakteri gram positif maupun negatif.

Pepaya jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) memiliki tinggi yang mencapai hampir 6 meter dengan struktur daun lobus dan memiliki bunga berwarna putih yang tersebar. Daun pepaya jepang telah banyak digunakan oleh kelompok Maya dan Mesoamerika sebagai makanan, dan dapat menjadi obat. Daun pepaya jepang merupakan tumbuhan semak asli Meksiko yang memiliki daun dengan kadar air yang rendah dibanding tanaman daun hijau lainnya. Daun pepaya jepang memiliki tekstur yang lunak, tidak memiliki bulu dan daunnya tidak lebar. Di negara Meksiko, Pepaya jepang dijadikan sebagai obat tradisional dalam pengobatan kanker, penurunan berat badan, hipertensi, diabetes melitus serta penyakit ginjal.⁵ Berdasarkan potensi yang dimiliki oleh daun pepaya jepang sebagai antibakteri, maka diperlukan penelitian terhadap aktivitas senyawa antibakteri daun pepaya jepang terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Metodologi penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Desember 2021 - Maret 2021, bertempat di *Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Pelita Harapan, Laboratorium Farmaseutika dan Teknologi Farmasi Universitas Pelita Harapan, Gedung Fakultas Kedokteran Lt 11 Universitas Pelita Harapan, Karawaci*.

Alat yang digunakan pada penelitian adalah erlenmeyer, tabung reaksi, gelas kimia, gelas ukur, sendok tanduk, spatula, batang pengaduk, corong, anak timbangan kasar, neraca analitik, *stirrer*, cawan porselen, waterbath, pipet tetes, stopwatch, *autoclave*, *Laminar Air Flow*, ose, *spreader* dan cawan *petridist*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pepaya jepang, etanol 96%, bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, antibiotik gentamisin, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *wrap plastic*, *wrap aluminium foil* dan akuades.

Penyiapan

Daun pepaya jepang disiapkan, dilakukan sortasi basah dengan tujuan untuk memisahkan dari zat pengotor, cuci daun hingga bersih dan tiriskan daun. Lalu potong daun kecil-kecil ± 1 cm, dan keringkan dengan oven pada suhu 50°C . Bobot simplisia ditimbang dan dihaluskan dengan blender, lalu serbuk yang didapat ditimbang.

Pembuatan ekstrak

Serbuk simplisia sebanyak 300gram direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 1500 mL selama 1x24jam, dengan pengulangan 3 kali, kemudian dimasukan ke dalam *rotary evaporator* dengan suhu 40°C, lalu uapkan dengan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak yang kental seperti pasta. Hasil yang didapatkan kemudian ditimbang dan hitung rendemen.

Pembuatan larutan antibiotik gentamisin

Antibiotik dilarutkan dengan akuadest steril dan dibuat dalam beberapa konsentrasi. Pembuatan larutan antibiotik dikerjakan pada kondisi aseptis didalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan disimpan dalam wadah steril.

Pembuatan larutan ekstrak

Ekstrak daun papaya jepang dibuat dengan seri konsentrasi pengenceran 80000ppm, 40000ppm, 20000ppm dan 10000ppm dengan akuadest steril dan dibuat seri pengenceran sesuai dengan perhitungan yang telah ditentukan.

Pembiakan bakteri

Masukan 1 ose bakteri ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NB, tutup dengan kapas yang dilapisi kasa dan di *wrap* dengan aluminium. Inkubasi *overnight* pada 37°C selama 18 jam. Apabila bakteri tidak langsung dipakai, maka bakteri dalam NB dapat di simpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4 hingga 8°C selama 24 jam.

Penyiapan media uji

Siapkan 6 cawan petri yang telah berisi NA, 1 cawan digunakan sebagai kontrol negatif. Masukan 100 µl suspensi bakteri di NB dengan mikropipet. Lalu diratakan dengan *spreader* dan tutup petri. Diamkan hingga suspensi bakteri meresap selama 30 menit. Kemudian buat sumuran sesuai dengan posisi sampel yang telah ditandai.

Uji aktivitas antibakteri

Masukan 25 µl sampel ekstrak dengan konsentrasi 80000ppm, 40000ppm, 20000ppm dan 10000ppm kedalam sumuran sesuai dengan penanda yang telah ditentukan. Cawan untuk kontrol positif tidak diberikan sampel karena untuk menjamin bahwa bakteri tumbuh dengan baik di media NA. sedangkan cawan untuk media kontrol negative dibuka didalam LAF selama proses pengerjaan untuk menjamin proses kerja aseptis. Tutup cawan petri dan *seal* dengan *clingwrap*. Inkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam.

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Masukan *Nutrient agar* ke cawan petri, tutup dan tunggu hingga agar menjadi padat. Kemudian, suspensi bakteri sebanyak 100µl dimasukan ke cawan petri yang telah berisi agar

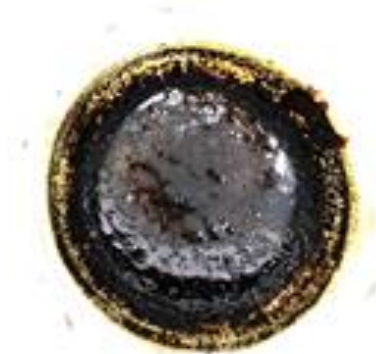
memadat. Diamkan hingga bakteri meresap selama 30 menit. Buat 6 sumuran pada agar, masukan 4 konsentrasi ekstrak etanol daun pepaya jepang 80000ppm, 40000ppm, 20000ppm dan 10000ppm, antibiotik gentamisin sebagai kontrol positif dan *water sterile* sebagai kontrol negatif. Lalu dilakukan inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Diameter zona bening yang terbentuk pada sekitar lubang diukur. Penentuan KHM ialah zona bening yang terbentuk pada ekstrak daun pepaya jepang dengan konsentrasi terkecil.

Pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Pengujian dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometri untuk mengetahui kadar bunuh minimum bakteri. Semua alat terlebih dahulu disterilisasi dengan *autoclave* suhu 121°C selama 15 menit. Siapkan 6 tabung reaksi yang berisi: tabung 1 sebagai kontrol positif, tabung 2 sebagai kontrol negatif dan tabung 3-6 sebagai sampel uji dengan konsentrasi 80000ppm, 40000ppm, 20000ppm dan 10000ppm, untuk kontrol positif dimasukan NB 3,75mL ditambah 100µl suspensi bakteri, dan 25µl antibiotik gentamisin, untuk kontrol negatif dimasukan NB sebanyak 5mL dan 100µl suspensi bakteri. Sedangkan untuk sampel uji masing-masing tabung dimasukan NB sebanyak 3,75 mL ditambah 100µl suspensi bakteri, dan 25µl ekstrak daun pepaya jepang. Kemudian di inkubasi hingga 18 jam dengan suhu 37°C. Lalu, diuji KBM menggunakan spektrofotometri.

Hasil dan Pembahasan

Simplisia daun pepaya jepang yang telah dikeringkan, di maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Filtrat yang dihasilkan, dipekatkan dengan *rotary vaporator* dan berlanjut dengan oven pada suhu 50°C. Jumlah ekstrak kental yang diperoleh dilakukan perhitungan rendemen dan didapat hasil 10,81% dengan warna hijau kehitaman. Hasil rendemen terdapat dalam Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Ekstrak Kental Daun Pepaya Jepang

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Etanol Daun Pepaya Jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*)

Simplisia	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
-----------	---------------------	-------------------	--------------

Daun	100	10,81	10,81
------	-----	-------	-------

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%, dengan tujuan mendapatkan sejumlah besar senyawa dengan berbagai kepolaran. Menurut Puspitasari, *et al* (2013) etanol 96% adalah pelarut yang umum digunakan karena memiliki indeks polaritas yaitu 5.2⁶, hal ini yang menyebabkan senyawa polar maupun nonpolar dapat tertarik ke dalam pelarut. Beberapa senyawa bioaktif seperti tanin, fenol dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri, dapat dengan mudah di ekstraksi dengan pelarut etanol 96%. Salah satu factor pendukungnya adalah etanol 96% lebih mampu dalam menembus membran sel. Senyawa flavonoid adalah senyawa yang bersifat polar, yang larut dalam etanol, metanol, dimetil sulfoksida, *acetone*, butanol dan air. Tanin merupakan salah satu metabolit sekunder yang pada strukturnya memiliki sisi polar (hidrofilik) dan non polar (hidrofobik). Pemakaian pelarut universal memungkinkan sejumlah besar golongan tanin untuk terekstraksi dan masuk pada pelarut.

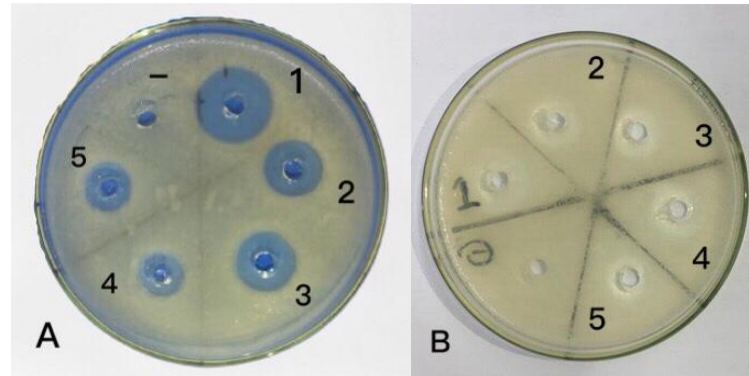
Fenol merupakan golongan besar metabolit sekunder, flavonoid dan tanin termasuk dalam golongan fenol. Melihat perbedaan kepolaran dari flavonoid dan tanin, pemilihan pelarut universal memperbesar kemungkinan beberapa senyawa metabolit sekunder lain yang memiliki aktivitas antibakteri untuk tertarik pada pelarut.⁷

Uji antibiotik gentamisin

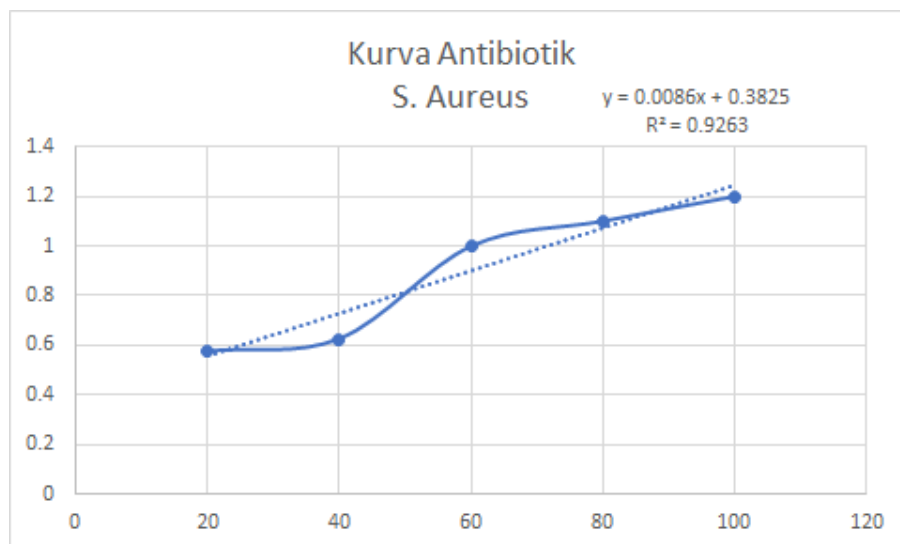
Dalam penelitian ini digunakan antibiotik gentamisin sebagai standar kurva antibiotik karena gentamisin mempunyai aktivitas antibakteri *broad spectrum* yang mampu menghambat berbagai pertumbuhan bakteri. Selain itu, gentamisin merupakan antibiotik yang sangat umum dalam pengobatan yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein bakteri dengan mengganggu fungsi dari subunit 30s ribosom.⁸ Hasil penelitian terdapat dalam Tabel 2; Gambar 1 dan Grafik 1.

Tabel 2. Uji Kesetaraan Antibiotik Gentamisin Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*

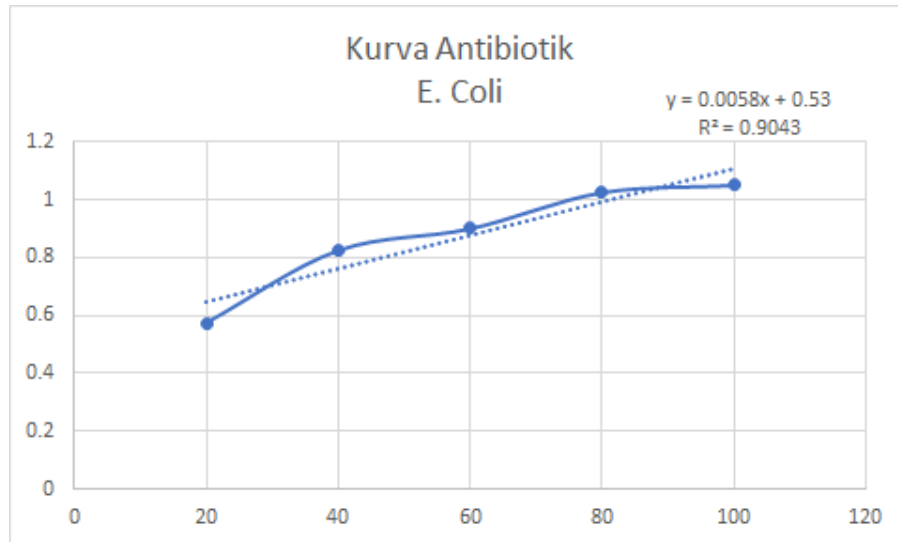
Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat Antibiotik Gentamisin (mm)	
	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Escherichia Coli</i>
100 ppm	12	10.5
80 ppm	11	10.25
60 ppm	10	9
40 ppm	6.25	8.25
20 ppm	5.75	5.75
Kontrol (-)	-	-



Gambar 1. Aktivitas Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* (A); *Escherichia Coli* (B)



Grafik 1. Kurva Uji Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*



Grafik 2. Kurva Uji Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

Tabel 3. Kesetaraan Ekstrak Daun Pepaya Jepang dengan Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

konsentrasi ekstrak (ppm)	Konsentrasi gentamisin (ppm)
80000	115.52
40000	89.66
20000	29.31
10000	-5.17

Tabel 4. Kesetaraan Ekstrak Daun Pepaya Jepang dengan Antibiotik Gentamisin Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*

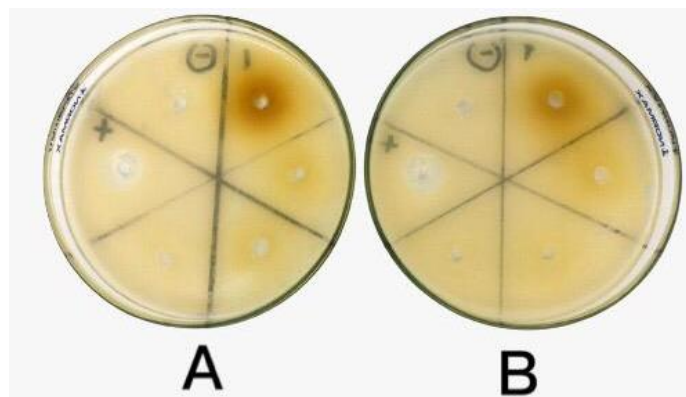
konsentrasi ekstrak (ppm)	Konsentrasi gentamisin (ppm)
80000	141.57
40000	106.69
20000	83.43
10000	36.92

Uji kesetaraan antibiotik gentamisin dengan cara memasukan diameter hambatan dan konsentrasi antibiotik kedalam persamaan regresi linear. Berdasarkan hasil yang diperoleh uji kesetaraan antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* diperoleh zona hambatan dengan ukuran 12 mm untuk konsentrasi 100ppm; 11 mm (80 ppm); 10 mm (60 ppm); 6.25 mm (40 ppm) dan 5.75 mm (20 ppm), sedangkan bakteri *Escherichia coli* didapatkan hasil zona hambatan dengan ukuran 10.5 mm (100 ppm); 10.25 mm (80 ppm); 9 mm (60 ppm); 8.25 mm (40 ppm) dan 5.75 mm (20 ppm). Hasil tersebut menunjukkan bahwa antibiotik gentamisin mampu menghambat aktivitas pertumbuhan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan merupakan antibiotik dengan aktivitas *broad spectrum* (Cowan, 1999).

Dari hasil uji kesetaraan antibiotik dengan ekstrak daun pepaya jepang terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat lihat pada Tabel 3, yang menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak dengan konsentrasi 20000 ppm memiliki kesetaraan dengan antibiotik gentamisin pada konsentrasi 29.31 ppm. Sedangkan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil aktivitas ekstrak pada konsentrasi 10000ppm memiliki kesetaraan dengan antibiotik pada konsentrasi 36.92ppm, Hasil terdapat dalam Tabel 4.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*)

Ekstrak daun pepaya jepang memiliki zat aktif diantaranya alkaloid, flavonoid dan tannin yang berfungsi sebagai antibakteri. Senyawa alkaloid pada pepaya jepang memiliki mekanisme kerja dengan melakukan penghambatan sintesis dinding sel, zat flavonoid bekerja dengan menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif, dan senyawa tanin pada pepaya jepang mengkoagulasi protein pada sel bakteri. Aktivitas senyawa antibakteri ekstrak etanol daun pepaya jepang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh berdasarkan uji zona hambat dengan metode difusi agar. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri yang terlihat dari hasil uji aktivitas daun pepaya jepang pada konsentrasi 80000 ppm, 40000 ppm, 20000 ppm dan 10000 ppm, dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 2. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya Jepang Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* (A); *Escherichia Coli* (B)

Tabel 5. Hasil Pengukuran Rata-rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pepaya Jepang Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri (mm)	
	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>
80000	12	16
40000	10.5	13
20000	7	11

10000	5	7
Kontrol (+)	4.5	5
Kontrol (-)	-	-

Hasil pengukuran dilakukan dengan mengukur 2 sisi berbeda dan dikurangi dengan diameter *paper disc*. Pada Tabel 3. kontrol negatif tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri. kontrol negatif pada penelitian adalah *water steril* yang tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri. Kontrol positif menghasilkan aktivitas antibakteri dengan zona hambat yang terbentuk adalah 5 mm. Kontrol positif tersebut adalah antibiotik dengan dosis terkecil. Uji aktivitas senyawa antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak daun pepaya jepang 80000ppm membentuk zona hambat sebesar 12 mm merupakan diameter zona hambat terbesar pada hasil pengujian. Sedangkan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* membentuk zona hambat dengan diameter terkecil pada konsentrasi 10000ppm dengan diameter 7 mm, diameter zona hambat terus bertambah seiring dengan pertambahan konsentrasi ekstrak. Efek antibakteri pada gram positif dan gram negatif yang terbesar terdapat pada konsentrasi ekstrak 80000ppm.

Antibakteri atau antibiotik dapat dinyatakan mempunyai aktivitas terhadap bakteri apabila zona hambat yang dihasilkan berukuran kurang dari 5 mm (lemah), 6-10 mm (sedang), 11-20 mm (kuat) dan 21-30 mm (sangat kuat).⁹ Maka, hasil pada Tabel 3 diperoleh daya hambat ekstrak daun pepaya jepang terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan aktivitas senyawa antibakteri yang sangat kuat pada konsentrasi 80000ppm, sedangkan pada konsentrasi 40000ppm, 20000ppm dan 10000ppm menunjukkan aktivitas antibakteri yang sedang. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* aktivitas senyawa antibakteri dengan kategori kuat ditunjukkan ekstrak daun pepaya jepang pada konsentrasi 80000ppm, 40000ppm dan 20000ppm, sedangkan pada konsentrasi 10000ppm memiliki aktivitas antibakteri yang sedang. Maka dari itu, diketahui bahwa konsentrasi ekstrak daun pepaya jepang yang efektif sebagai senyawa antibakteri terhadap bakteri gram positif dan negatif adalah pada konsentrasi 80000ppm.

Berdasarkan hasil pengujian, aktivitas ekstrak etanol daun pepaya jepang terdapat perbedaan sifat dari daya hambat kedua bakteri tersebut karena memiliki struktur dan sel bakteri yang berbeda. Sehingga bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* mempunyai aktivitas daya hambat yang lebih peka, dibandingkan gram negatif *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif memiliki struktur sel yang kaku karena dinding sel peptidoglikan yang dimiliki lebih tebal. Bakteri gram positif memiliki struktur yang lebih sederhana sehingga senyawa antibakteri lebih mudah masuk kedalam dinding sel. Sedangkan untuk bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* memiliki struktur yang lebih kompleks dan memiliki tiga lapisan yang terdiri dari lipoprotein pada lapisan luar, liposakarida pada lapisan tengah dan peptidoglikan pada lapisan dalam.¹⁰ Umumnya, dinding sel bakteri yang tersusun oleh polisakarida lebih mudah didenaturasi dibandingkan dengan susunan fosfolipid. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang mengandung peptidoglikan dan asam teikoat dan asam teikuronat. Maka, sebagian besar dinding sel gram positif adalah polisakarida. Sedangkan pada bakteri gram negatif hanya mengandung sedikit peptidoglikan. Sehingga hal ini yang menyebabkan bakteri gram positif lebih cepat mengalami denaturasi dibandingkan dengan bakteri gram negatif.¹¹

Kemudian dilanjutkan dengan uji KBM menggunakan spektrofotometri dengan pengamatan pada nilai absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi, yang bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri. Panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur jumlah bakteri adalah 600 nm karena pada panjang gelombang ini mampu menyerap sel-sel bakteri. Dari hasil pengamatan didapatkan bahwa setelah diinkubasi nilai absorbansi yang berkurang menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri. Ekstrak daun pepaya jepang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, pada konsentrasi 80000ppm hingga 10000ppm terdapat peningkatan nilai absorbansi, sehingga pada konsentrasi terkecil yaitu 10000ppm tidak memberikan aktivitas membunuh. Sedangkan konsentrasi KBM ekstrak daun pepaya jepang pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 10000ppm. Hal ini dikarenakan konsentrasi terkecil masih mampu membunuh bakteri *S. aureus*.¹²

Tabel 6. Uji Konsentrasi Bunuh Maksimum (KBM) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Spektrofotometri

Larutan Uji	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
80000 ppm	1.244	0.8062	2.2984	1.5702
	1.2447	0.8088	2.2892	1.5406
	1.244	0.8138	2.2891	1.5532
40000 ppm	1.3673	1.0559	2.2378	1.3395
	1.3663	1.0548	2.2391	1.3544
	1.3657	1.0586	2.248	1.4021
20000 ppm	1.4408	1.1903	2.2219	1.2653
	1.4409	1.1912	2.2242	1.2868
	1.44	1.1939	2.2208	1.2830
10000 ppm	1.9485	1.9776	2.2164	1.2376
	1.9511	1.9817	2.2201	1.2670
	1.9481	1.9797	2.2065	1.2113
Kontrol positif	1.2695	0.8610	2.127	0.3201
	1.2709	0.8650	2.1262	0.3692
	1.2745	0.8786	2.1361	0.6232
Kontrol negatif	0.8791	1.0709	2.1114	2.3013
	0.8782	1.0699	2.1087	2.2987
	0.8726	1.0643	2.1054	2.2952

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya jepang memiliki aktivitas senyawa antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Konsentrasi 80000ppm adalah konsentrasi yang efektif dalam menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada hasil spektrofotometri didapatkan bahwa konsentrasi ekstrak daun pepaya jepang sebagai senyawa antibakteri terhadap *Escherichia coli* adalah 20000ppm, sedangkan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi terkecil yaitu 10000ppm masih mampu memberikan aktivitas membunuh.

REFERENSI

1. Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. *Dasar-dasar Mikrobiologi* 2. Penerjemah: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S. S., & Angka, S. L. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 2005.
2. Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran; 2008.
3. DeLeo, F. R., Otto, M., Kreiswirth, B. N., & Chambers, H. F. *Community-associated meticillin resistant Staphylococcus aureus*. Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis. Rocky Mountain Laboratories. National Institute of Allergy And Infectious Diseases. National Institutes of Health. Hamilton, MT 59840, USA; 2010. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61999-1
4. Kusuma, Sri. Agung. Fitri. *Escherichia Coli*. Jatinagor: Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran; 2010.
5. Ross-barra, J. *Origen y domesticacion de la chaya (Cnidoscous aconitifolius (Mill) I. M. Johnst)*: La espinaca Maya: Mexican Studies. 2003;19(2), 287-302.
6. Puspitasari, L., Swastini, D. A., & Arisanti, C. I. A. *Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L)*. Jurnal Farmasi Udayana. dec. 2013. ISSN 2622-4607.
7. Savitri, N. P. I. *Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L) Terhadap Bakteri Mix saluran Akar Gigi*. Denpasar: Universitas Mahasaraswati; 2014. DOI: 10.20527.
8. Cowan, M. *Plants products as antimicrobial agents*. *Clinical Mikrobiology Reviews*. 1999;12(4):564582.
9. David, W. W & Stout, T. R. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. *Microbiology*.1971;22(4): 659-665.
- 10.Radji, M. *Mikrobiologi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2011. p. 39-42.
- 11.Helmiyati, A. F., & Nurrahman. *Pengaruh Konstraksi Tawas Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Negatif*. Jurnal Pangan dan Gizi. 2010. DOI: 10.26714/ 112010.
- 12.Watson, D. G. *Pharmaceutical Analysis* 2nd ed. London: Elsevier; 2005. Vol. 10; p. 88.