

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Theresia Avilla Nor, Desi Indriarini, Sangguana Marten Jacobus Koamesah

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan salah satu agen infeksius penyebab penyakit yang menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare, infeksi saluran kemih, uretritis, pyelonefritis, pneumonia (karena aspirasi), meningitis pada bayi baru lahir dan septikemia. Resistensi antibiotik yang terjadi semakin mempersulit proses terapi penyembuhan pada penderita penyakit infeksi sehingga pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional dapat menjadi alternatif selain penggunaan antibiotik. Salah satu contoh tanaman yang sering digunakan menjadi obat-obatan tradisional adalah daun pepaya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan seberapa kuat potensi ekstrak daun pepaya sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Metode jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro* menggunakan *the post test only control group design*. Metode pengujian antibakteri yang digunakan adalah metode difusi agar menggunakan cakram disk. Penelitian ini menggunakan 10 kelompok perlakuan yang terdiri dari antibiotik ciprofloxacin sebagai kontrol positif, aquades steril sebagai kontrol negatif, dan ekstrak etanol daun pepaya 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, dengan tiga kali pengulangan. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hal yang diamati dari penelitian ini ada diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling disk setelah inkubasi 24 jam. Hasil Uji Kruskal-Wallis menunjukkan $p = 0,001$ yang berarti terdapat perbedaan besar zona hambat antara dua kelompok ($p < 0,05$). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya terlihat pada semua konsentrasi mulai dari 100% hingga 1,56%. Konsentrasi 100%, 75%, dan 50% mempunyai potensi antimikroba yang kuat sedangkan konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56% mempunyai potensi sedang.

Kata Kunci : Daun pepaya, Antibakteri, *Escherichia coli*

Penyakit infeksi merupakan polemik kesehatan yang masih menjadi tugas besar bagi dunia kesehatan. Meskipun sudah melewati beberapa dekade dengan perkembangan pengobatan dan pencegahannya, penyakit infeksi masih menjadi penyebab utama kematian serta kesakitan dan bertanggung jawab atas semakin buruknya kehidupan jutaan orang di seluruh dunia⁽¹⁾.

Escherichia coli merupakan salah satu agen infeksius penyebab penyakit yang seringkali dijumpai. *Escherichia coli* adalah kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal yang dapat

menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan *travelers diarrhea*, infeksi saluran kemih jalur *ascending*, yang mungkin berkembang dari uretritis menjadi pyelonefritis, pneumonia (karena aspirasi), meningitis pada bayi baru lahir, dan septikemia⁽²⁻⁴⁾.

Pengobatan modern berupa antibiotik untuk melawan infeksi *Escherichia coli* telah berkembang dengan pesat. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional di berbagai bidang ilmu kedokteran merupakan salah satu penyebab timbulnya resistensi yang di dapat⁽⁵⁾.

Resistensi antibiotik yang terjadi semakin mempersulit proses terapi penyembuhan

pada penderita penyakit infeksi yang mengakibatkan peningkatan mortalitas dan morbiditas pada penderita tersebut.

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional dapat menjadi alternatif selain penggunaan antibiotik. Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang dapat diolah menjadi berbagai macam obat. Obat herbal tersebut tidak hanya digunakan dalam fase pengobatan saja, melainkan juga digunakan dalam fase preventif dan rehabilitasi. Ekonomis, efek samping yang relatif rendah, serta keberadaannya yang mudah didapat, membuat obat-obatan herbal banyak digunakan oleh masyarakat luas⁽⁵⁾.

Salah satu tanaman yang sering digunakan menjadi obat-obatan tradisional adalah daun pepaya. Daun pepaya banyak terdapat di NTT dan pemanfaatan daun pepaya sebagai bahan pangan sudah menjadi budaya untuk masyarakat NTT. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif^(2,6-11). Analisis fitokimia membuktikan bahwa daun pepaya mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin.^(7,8,12,13)

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat menyebabkan denaturasi protein yang merupakan substansi penting dalam struktur bakteri.

Apabila komponen sel seperti protein terdenaturasi maka proses metabolisme bakteri akan terganggu dan terjadi lisis yang akan menyebabkan kematian bakteri tersebut^(8,14). Selain itu flavonoid juga berfungsi menghambat DNA gyrase dan menghambat aktivitas enzim ATPase bakteri sehingga bakteri tidak dapat bertumbuh⁽¹⁵⁾. Alkaloid juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut⁽⁵⁾. Senyawa saponin akan

membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel. Senyawa lain yang berperan sebagai antibakteri adalah tanin, efek tanin sebagai antibakteri disebabkan oleh kemampuan tanin untuk membentuk kompleks polisakarida yang dapat merusak dinding sel bakteri. Sebagai akibatnya, metabolisme bakteri terganggu dan menyebabkan kematian bakteri⁽¹⁶⁾. Oleh karena itu, penulis tertarik melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya L*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara *In Vitro*.”

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana. Pada September-November 2017.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik RSUD Prof. DR. W. Z. Johannes Kupang. Penelitian ini menggunakan 10 kelompok, yaitu ekstrak etanol daun pepaya konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, dan 1,56%, kontrol negatif yaitu aquadest steril dan kontrol positif yaitu antibiotik ciprofloxacin dengan 3 kali pengulangan berdasarkan rumus Federer⁽¹⁷⁾.

Cara Kerja

Pembuatan ekstrak daun pepaya Daun pepaya yang telah dicuci bersih kemudian diangin-anginkan selama 3-5 hari hingga kering. Daun pepaya yang telah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk daun pepaya tersebut kemudian dimaserasi, yaitu dengan cara direndam dengan etanol 70% sebanyak

1 liter kemudian diaduk dan ditutup rapat dengan aluminium foil dan tutup toples. Rendaman didiamkan selama 3 x 24 jam, tetapi tetap dilakukan pengadukkan setiap harinya. Setelah itu, lakukan pemisahan ampas dan filtrat dengan cara disaring untuk memperoleh ekstrak cair daun pepaya. Ekstrak cair tersebut kemudian dirotavapor dengan *rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak yang kental (18).

Uji bebas etanol ekstrak daun pepaya

Ekstrak daun pepaya diuji bebas etanol 70 % dengan penambahan 1 mL asam asetat dan 1 mL asam sulfat pekat dibantu dengan pemanasan. Ekstrak dinyatakan bebas etanol bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol. Cara yang kedua yaitu dengan penambahan 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 mL kalium dikromat ke dalam larutan uji. Jika terjadi perubahan warna terbentuknya busa yang tetap satbil dengan penambahan satu tetes asam klorida 1% menunjukkan adanya senyawa saponin di dalam sampel. Uji Flavonoid 20 tetes sampel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L) yang sudah dilarutkan dengan etanol dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dihangatkan dan disaring. Larutan ekstrak kemudian ditambahkan serbuk seng (Zn) dan beberapa tetes HCl pekat. Hasil positif mengandung flavonoid apabila larutan berubah warna menjadi merah muda, orange atau merah keunguan. Uji Tanin Ekstrak dilarutkan dalam 10 ml aquades kemudian disaring. Filtrat ditambah dengan 3 tetes FeCl₃. Apabila pada larutan uji terbentuk warna hijau hitam, biru hitam atau hitam yang kuat maka ekstrak uji tersebut positif mengandung senyawa tanin.

Sterilisasi alat

Alat yang terbuat dari kaca disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang terbuat dari plastik disterilkan dengan

alkohol 70% (22). Pembuatan variabel konsentrasi ekstrak daun pepaya Pengenceran sampel dengan rumus: $\% = b/v$, dengan “b” menyatakan berat atau masa ekstrak dalam gram dan “v” menyatakan volume cairan/pelarut yang ditambahkan dalam mililiter. Ekstrak etanol daun pepaya pertama-tama diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan konsentrasi 100%. Ekstrak dengan konsentrasi 100% selanjutnya dibuat menjadi konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,56% secara manual menggunakan pengenceran bertingkat dengan rumus $M1 \times V1 = M2 \times V2$. Ekstrak disterilisasi menggunakan *syringe filter* 0,2 mikron⁽¹⁷⁾.

Pembuatan media peremajaan bakteri

Nutrien agar sebanyak 2 gram dilarutkan dengan 100 mililiter /aquades menggunakan tabung elenmeyer kemudian dipanaskan dan dituang ke dalam tabung reaksi steril yang ditutup dengan aluminium foil. Media tersebut disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang telah steril dibiarkan pada suhu ruangan selama 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°⁽²³⁾.

Pembuatan larutan *Mc Farland*

Larutan standar *Mc Farland* dibuat dengan cara mencampur 9,95 mL asam sulfur (H₂SO₄) 1% dengan 0,05 mL barium klorida (BaCl₂) 1%. Perbandingan dengan larutan standar ini bertujuan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba dan dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu. Larutan baku 0,5 *McFarland* ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi 1×10^8 CFU/mL⁽²⁴⁾.

Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Escherichia coli* dibiakkan terlebih dahulu pada media Nutrien Agar

(NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan kedalam larutan NaCl 0,9% sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 *McFarland* atau sebanding dengan jumlah bakteri 10⁸ (CFU)/mL. Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu : 10⁵ – 10⁸ CFU/mL^(14, 25).

Pembuatan media uji

Sebanyak 25 gram nutrisi agar ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan menggunakan aquades steril sebanyak 1.250 mL. Agar tersebut kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai bahan larut dengan sempurna. Kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121°C⁽⁵⁾.

Uji aktivitas anti bakteri

Media nutrisi agar sebanyak 20 mL dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat kemudian dimasukkan 1 mL suspensi bakteri *Escherichia coli* dan disebarkan menggunakan kapas lidi steril agar suspensi tersebar merata pada media dan didiamkan selama 10 menit agar suspensi terserap pada media. Kemudian cawan petri tersebut diletakkan 1 buah kertas cakram berdiameter 6 mm dengan pinset steril. Kertas cakram tersebut sebelumnya telah dicelupkan ke dalam setiap konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L) selama 10 hingga 15 menit. Selanjutnya semua media diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam⁽⁶⁾.

Tahap pengamatan

Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dilakukan pengamatan pada cawan petri yaitu dengan cara menghitung diameter zona hambat pertumbuhan pada masing-masing zona di sekitar cakram disk. Pengukuran dapat

menggunakan jangka sorong atau penggaris.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun pepaya

Proses ekstraksi bahan uji dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode maserasi ini dikarenakan maserasi merupakan cara ekstraksi yang menggunakan prosedur dan peralatan yang sederhana. Keuntungan lain dari metode ekstraksi maserasi adalah prosedurnya tidak menggunakan teknik pemanasan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut ekstraksi dalam suhu kamar^(37,38).

Pelarut yang digunakan untuk merendam serbuk simplisia adalah etanol 70%. Maserasi menggunakan pelarut etanol 70 % karena sampel yang digunakan adalah sampel kering, oleh karena itu dibutuhkan air untuk membasahi sampel sehingga sel-sel akan mengembang dan pelarut akan lebih mudah berpenetrasi untuk mengikat senyawa-senyawa yang terkandung didalam sampel. Etanol efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal disebabkan karena sifatnya yang mudah melarutkan senyawa zat aktif baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar (pelarut universal). Penggunaan Etanol sebagai pelarut dipilih atas dasar bahwa etanol lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih rendah, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam konsentrasi alkohol lebih dari 20% sehingga dapat mencegah tumbuhnya jamur pada ekstrak^(26,27).

Daun pepaya yang digunakan dipetik langsung dari pohon yang diperoleh di dalam kawasan Kota Kupang. Berat bahan mentah yang diperoleh sebanyak 2.500 gram. Setelah melalui proses pengeringan

dan penghalusan, diperoleh serbuk daun pepaya sebanyak 500 gram yang selanjutnya direndam menggunakan etanol 70% sebanyak 2.200 mL. Hasil maserasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* agar terjadi pemisahan antara zat aktif dan pelarut dan diperoleh 56 gram ekstrak kental daun pepaya. Proses pemekatan menggunakan suhu rendah 55°C agar tidak mempengaruhi kualitas dari zat aktif⁽²⁸⁾.

Hasil Penapisan Fitokimia dan Uji Bebas Etanol

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun pepaya menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Positif alkaloid ditandai dengan endapan warna coklat untuk pereaksi wagner dan endapan putih kekuningan pada pereaksi meyer. Uji Flavonoid positif apabila terjadi perubahan warna menjadi merah muda, kuning, orange, atau merah keunguan. Uji Tanin positif apabila terbentuk wana hijau hitam, biru hitam atau hitam yang kuat. Uji saponin positif apabila terdapat busa, stabil dalam 10 menit dan tetap stabil setelah penambahan HCL 2M.

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak uji tidak mengandung etanol ditandai dengan tidak tercium bau ester pada pemanasan dan tidak terjadi perubahan warna pada ekstrak uji.

Uji Konfirmasi Bakteri

Uji konfirmasi yang dilakukan adalah pewarnaan gram dan uji Biokimia. Hasil pewarnaan gram bakteri uji berwarna

kemerahan berbentuk batang pendek (kokobasil). Uji Gram yang menunjukkan bahwa bakteri uji merupakan bakteri gram negatif. Konfirmasi biokimia yang dilakukan adalah uji Sulfur Indol Motiliti (SIM) dan uji gula-gula. Hasil uji biokimia memperlihatkan SIM positif, sitrat negatif, bakteri uji mampu memfermentasikan glukosa, laktosa, sukrosa dan manitol positif. Hasil uji konfirmasi pewarnaan gram dan biokimia menunjukkan bakteri uji positif *Escherichia coli*⁽²⁹⁾.

Uji Antibakteri

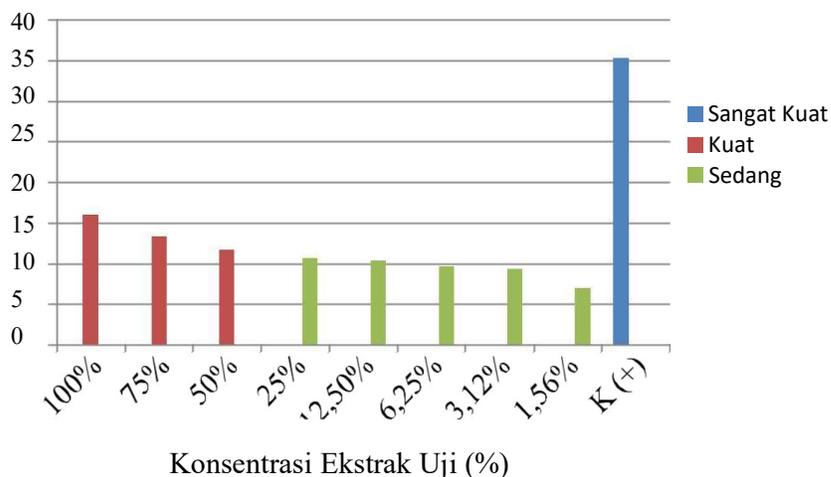
Metode yang digunakan adalah metode difusi menggunakan kertas cakram. Kelebihan metode ini antara lain mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium⁽²⁷⁾⁽³⁰⁾. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat berupa zona bening di sekitar cakram disk yang diukur menggunakan penggaris.

Konsentrasi 100% diperoleh dengan melarutkan 25 gram ekstrak etanol daun pepaya ke dalam 25 ml aquades steril. Selanjutnya dari stok konsentrasi tersebut dibuatlah variasi konsentrasi lainnya dengan rumus pengenceran $M1 \times V1 = M2 \times V1$ ⁽³¹⁾.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Hambat Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun pepaya terhadap *Escherichia coli*

N	Diameter Zona Hambat (mm)									
	K (+)	K (-)	100%	75%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1,56%
I	36	0	14	13	10	11	10	10	10	7
II	40	0	17	13	13	10	11	9	9	7
III	30	0	17	14	12	11	10	10	9	7
Rata-rata	35,33	0,00	16,00	13,33	11,66	10,66	10,33	9,66	9,33	7,00

Grafik 1. Potensi Daun Pepaya Berdasarkan Zona Hambat Yang Terbentuk



Data hasil pengukuran pada tabel 1 di atas menunjukkan bahwa zona hambat terbentuk pada semua konsentrasi ekstrak uji dengan rata-rata diameter zona hambat terbesar ada ekstrak uji tampak pada konsentrasi 100% yaitu 16 mm, diikuti konsentrasi 75% sebesar 13,33mm, konsentrasi 50% sebesar 11,66mm, konsentrasi 25% sebesar 10,66mm, konsentrasi 12,5% sebesar 10,33mm, konsentrasi 6,25% sebesar 9,66mm, konsentrasi 3,125% sebesar 9,33mm, sedangkan diameter zona hambat terkecil terlihat pada konsentrasi 1,56% dengan rata-rata 7,00mm. Hasil ini menunjukkan bahwa ukuran zona hambat yang terbentuk berbeda-beda pada tiap konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka makin besar zona hambat yang terbentuk,

begitu pula sebaliknya, semakin rendah konsentrasi ekstrak maka semakin kecil zona hambat yang terbentuk. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh N. Nirossha (2013), Jyotsna Kiran Peter dan Aruljothi (2014), Maria Tuntun (2016) yang juga meneliti aktivitas antibakteri daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, akan tetapi dalam penelitian-penelitian ini ukuran zona hambat yang terbentuk bervariasi. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan varietas bahan uji, metode ekstraksi, pelarut bahan uji, dan penentuan dosis^(2,32,33). Adapun faktor-faktor teknis yang mempengaruhi ukuran daya hambat pada metode difusi cakram, antara lain: kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi,

ukuran lempeng, ketebalan media agar dan komposisi media^(33,34).

Terbentuknya zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya mempunyai sifat antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini terjadi karena daun pepaya memiliki zat anti bakteri seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada bakteri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid juga menghambat DNA gyrase dan menghambat aktivitas enzim ATPase bakteri sehingga bakteri tidak dapat bertumbuh⁽¹⁵⁾. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan lalu mengikat membrane sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis

karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Selain itu tanin merupakan pengikat ion besi yang kuat. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Pengikatan besi yang kuat oleh tanin ini akan menghambat penyerapan besi oleh sel bakteri^(35,36).

Menurut Yuska Novi Yanti dan Sucia Mitika (2017) apabila zona hambat yang terbentuk sama atau kurang dari 5 mm maka dikategorikan ke dalam kelompok dengan potensi lemah, ukuran 6-10 mm dikategorikan ke dalam potensi sedang, 11-20 mm dikategorikan ke dalam potensi kuat dan jika lebih dari atau sama dengan 21 mm maka dikategorikan ke dalam potensi sangat kuat⁽³⁷⁾. Pada grafik 1 terlihat bahwa potensi antimikroba ekstrak etanol daun pepaya kuat untuk konsentrasi 100%, 75%, 50% dan berpotensi sedang untuk konsentrasi 25% hingga 1,56%. Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan terdapat perbedaan diameter zona hambat. Perbedaan besar diameter zona hambat ini kemungkinan disebabkan adanya perbedaan kecepatan ekstrak berdifusi ke medium agar. Faktor lain yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak tersebut adalah perbedaan konsentrasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak. Ukuran dari zona hambat juga dipengaruhi oleh beberapa hal seperti tingkat sensitifitas dari organisme uji dan kecepatan difusi dari senyawa⁽³⁴⁾.

Pada control positif yang menggunakan antibiotik ciprofloxacin rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 35,33 mm dan tergolong potensi sangat kuat. Rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh kontrol positif lebih besar daripada ekstrak uji. Hal ini menunjukkan bahwa daya antibakteri ciprofloxacin lebih kuat daripada daya antibakteri ekstrak etanol daun pepaya dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang ditandai dengan tidak adanya zona hambat di sekitar kertas cakram. Hal ini berarti aquades steril merupakan pelarut ekstrak yang baik karena dapat melarutkan tanpa memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri uji.

Penelitian ini merupakan penelitian komparatif lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Oleh karena variabel terikat dan variabel bebas di dalam penelitian ini menggunakan skala ordinal maka uji statistik penelitian ini termasuk uji non parametrik. Uji non parametrik untuk penelitian komparatif lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan adalah uji *Kruskal –wallis*⁽³⁸⁾. Hasil uji *kruskal-wallis* diperoleh nilai signifikansi p sebesar 0,001. Oleh karena nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan besar zona hambat antara dua kelompok. Oleh karena $p < 0,05$ maka perlu dilanjutkan dengan analisis *post hoc* dengan uji *mann-whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan zona hambat. Hasil analisis *post hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dengan semua kelompok konsentrasi ekstrak uji mulai dari konsentrasi 100% hingga konsentrasi 1,56%. Perbedaan yang signifikan ini juga terlihat pada kelompok konsentrasi 100%, 75%, 50% dengan kelompok konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%. Sedangkan pada masing-masing konsentrasi antara 100%, 50% 75% tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara ketiganya. Begitu juga pada kelompok konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,56%.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini ekstrak etanol daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter zona hambat ekstrak uji terbesar terlihat pada konsentrasi 100% sebesar 16,00 mm dan diameter terkecil

terlihat pada konsentrasi 1,56% sebesar 7,00 mm. Ekstrak etanol daun pepaya pada konsentrasi 100%, 75%, 50% mempunyai potensi kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1.56% mempunyai potensi sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

SARAN

Saran pada penelitian ini adalah perlu dilakukan uji Fraksinasi untuk mengisolasi dan mengidentifikasi masing-masing golongan senyawa bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pepaya, perlu dilakukan analisis fitokimia secara kuantitatif untuk mengetahui jumlah senyawa bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pepaya, perlu dilakukan uji determinasi bahan uji untuk mengetahui varietas bahan uji, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan daun pepaya yang berbeda varietas dan perlu dilakukan penelitian menggunakan bakteri uji lain yang memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. Harrison, Isselbacher, Wilson, Martin. Penyakit Infeksi. In : Prinsip – Prinsip Ilmu Penyakit Dalam. 6th ed. Jakarta: EGC; 2012. p.540-44.
2. Nirosha N, Mangalanayaki R. *Antibacterial Activity of Leaves and Stem Extract of Caricapapaya L.* International Journal of Advance in Pharmacy, Biology, and Chemistry. 2013;2(3):473-76.
3. Lucky K, Suharto, Mardiasuti. Batang Negatif Gram. In: Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Binarupa Aksara; 2012. p.195–8.
4. Jhonson A, Ziegler R, Fitzgerald T, Lukasewycz O. Mikrobiologi dan

- Imunologi. Jakarta: Binarupa Aksara; 1994. p. 75-.
5. Midun. Uji Aktivitas Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpina purpurata* K. Schum) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode *Disc Diffusion* [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah; 2012.
 6. Krishna KL, Paridhavi M, Patel JA. *Review on nutritional , medicinal and pharmacological properties of Papaya (Carica papaya Linn .)*. Radial Product Radiance.2012;7(4):364–73.
 7. Cimanga KR, Mabanzolele M, Kapanga N, Apers S, Tona, Lutete, et al. *Assessment of Antibacterial , Antiamoebic and Spasmolytic Activities of The Aqueous Extracts , The Ethanol Extracts and Theirs Respective Fractions From The Seeds of Ripe and Unripe Fruits of Carica Papaya L . (Caricaceae) Collected In Kinshasa, Democratic Republic of Congo*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science. 2015;4(12):148–68.
 8. Kayalvizhi K, Cathrine L, Banu KS. *Phytochemical and antibacterial studies on the leaf extracts of female Carica papaya linn*. International Journal of PharmaTech Research. 2015;8(7):166–70.
 9. Tarun Vij, Yash Prashar. *Review On Medicinal Properties Of Carica Papaya Linn*. Asian Pasific Journal of Tropical Disease. 2015;5(1):1–6.
 10. Pers CL, Euphorbia L, MeliaL. *Antimicrobial and Phytochemical Investigation of the Leaves of Carica papaya L . Radial Product*
 11. Wahyu E. *Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus Multiresisten Antibiotik [Skripsi]. Universitas Muhamadiyah Surakarta;2009*
 12. Qurrota A. Laily; *Analisis Fitokimia Daun Papaya (Carica papaya L.) di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi Kendalpayak, Malang; Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Radiance.2008;4:364–73; Malang.2013;134*
 13. Sagnia B, Fedeli D, Casetti R, Montesano C, Falcioni G, Colizzi V. *Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Extracts from Cassia alata Eleusine indica , Eremomastax speciosa , Carica papaya and Polyscias fulva Medicinal Plants Collected in Cameroon*. PLOSE ONE.2014;9(8):1–10.
 14. Soleha TU, Carolina N, Stevan K. *The Inhibition Test of Red Betel Leaves (Piper crocatum) Towards Staphylococcus aureus and Salmonella typhi*. Medical. Faculty of Lampung University. 2015;4:117–22.
 15. Diyan Y, Fajriyah N, Wahyuni D, Murdiyah S. *Pengaruh Kombucha Sari Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Universitas Jember. 2015;XIII(2):32–6.
 16. Nurhalimah H, Wijayanti N, Widyaningsih. *Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea Indica L .) terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Bakteri Salmonella Thypimurium*. Universitas Brawijaya Malang. 2015;3(3):1083–94.
 17. Grandiosa R, Haryani A, Dwi Buwono I, Santika A. *Uji Efektivitas Daun Pepaya (Carica papaya L) untuk Pengobatan Infeksi Bakteri Aeromonas hydrophila pada Ikan Mas Koki*

- (*Carassius auratus*). Perikanan dan Kelautan. 2012;3(3):213–20.
18. Lisa. Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) dalam Menghambat Laju Korosi Kawat Ortodonsi Berbahan Stainless Steel [Skripsi]. Universitas Hasanudin; 2015
 19. Samsumaharto RA, Erlina Y. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol 70 % Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa*L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923[Skripsi]. Universitas Negeri Surakarta; 2014.
 20. Nuraina. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia benthami* Pierre dengan Metode Dilusi[Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta ; 2015.
 21. Rahim O, Iyabu H. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Boalemo[Skripsi]. Universitas Negeri Gorontalo; 2010.
 22. Nur Aida A. Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* secara In Vitro[Skripsi]. Universitas Jember.; 2015.
 23. Warbung YY, Wowor VNS, Posangi J. Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia* sp terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* [Skripsi]. Universitas Sam Ratulangi; 2013.
 24. Anonim. McFarland Standar. Dalynn. 2013
 25. Hermawan A. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L .) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk[Skripsi]. Universitas Airlangga; 2007.
 26. Eriadi A, Arifin H, Nirwanto. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaenodorata* (L) R.M.King & H. Rob) pada Mencit Putih Jantan. Jurnal Farmasi Higea. 2016;8(2):132-122.
 27. Kusumawati E, Apriliana A, Khatimah K. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Manuntung. 2016;2(2):166-172.
 28. Fitria SR. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Vibrio cholera* [Skripsi]. Universitas Tanjungpura; 2016.
 29. Hidayati SN, Darmawi, Rosmaidar, Armansyah T, Dewi M, Jamin F, et al. Pertumbuhan *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Feses Anak Ayam Broiler terhadap Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.). Jurnal Medika Veterinaria. 2016;10 (2):101-104.
 30. Darsana GO, Besung NK, Mahatmi H. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. Indonesia Medicus Veterinus. 2012;1(3):337-351.
 31. Grandiosa R, Haryani A, Dwi Buwono I, Santika A. Uji Efektivitas Daun Pepaya (*Carica papaya* L) untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). Perikanan dan Kelautan. 2012;3(3):213–20.
 32. Peter JK, Kumar Y, Pandey P, Masih H. *Antibacterial Activity of Seed and Leaf Extract of Carica papaya var. Pusa dwarf* Linn. Journal of Pharmacy

- and Biological Science.2014;9(2):29-37.
33. Tuntun M. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Kesehatan Politeknik Kesehatan Tanjung Karang. 2016;VII(3):4 97-502.
 34. Anggraini D, Roza RM, Fitmawati. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonell typhi*[Skripsi]. Universitas Riau;2012.
 35. Rini A, Supriatno, Rahmatan H. Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia Acidissima* L.) dari Daerah Kabupaten Aceh Besar terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. Jurnal Ilmiah UNSYIAH.2017;2(1):1-11.
 36. Pratiwi EW, Praharani D, Arina YM. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil. Jurnal Pustaka Kesehatan Universitas Jember. 2015;3(2):193-198.
 37. Yanti YN, Mitika S. Uji Efektivitas Anti bakteri. Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina.2017;2(1):158-168.
 38. Dahlan, Sopiudin. Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan. 5th ed. Jakarta: Salemba Medika;2013