

**POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)
MENGUNAKAN METODE BIOAUTOGRAFI TERHADAP BAKTERI
*Streptococcus sp***

Tri Puji Lestari Sudarwati
Akademi Farmasi Surabaya
tri.puji.ls@akfarsurabaya.ac.id

ABSTRAK

Penggunaan bahan alam sebagai antibakteri dapat dilakukan terhadap bakteri *Streptococcus sp.* Identifikasi kandungan metabolit sekunder pada tanaman dengan menggunakan bioautografi merupakan salah satu cara yang efisien sehingga menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. . Sampel yang digunakan 50 gram simplisia daun pepaya kering yang telah diserbukkan kemudian dimaserasi dengan 500 mL etanol. Hasil maserasi diuapkan pada evaporator sehingga didapatkan ekstrak murni. Ekstrak murni tersebut dibuat berbagai konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% kemudian ditotolkan diatas lempeng KLT dan dielusikan dalam bejana dengan pelarut *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5) untuk memisahkan senyawa tanin, setelah terelusi sempurna lempeng KLT diamati dibawah sinar UV 366 nm dan menunjukkan 3 pemisahan noda dengan nilai Rf noda pertama 0,46 dengan warna noda hijau kehitaman, nilai Rf noda kedua 0,63 dengan warna noda lembayung dan nilai Rf noda ketiga 0,93 dengan warna noda lembayung. Lempeng KLT ditempelkan diatas permukaan media NA padat yang telah diinokulasi dengan bakteri *Streptococcus sp.* Masing-masing konsentrasi memiliki kategori zona hambat sedang.

Kata kunci: *Carica papaya L*, *Streptococcus sp*, KLT, 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 *Streptococcus sp.* Extract ethanol were obtained by maceration method and were tested using bioautography method. The extracts ethanol leaf of papaya can inhibit growth of *Streptococcus sp* 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*, *Streptococcus sp*, Thin Layer Chromatogram, Bioautography

PENDAHULUAN

Potensi tanaman sebagai antibakteri banyak dieksplorasi saat ini, secara fitokimia tanaman umumnya memiliki sifat antibakteri, hal tersebut disebabkan oleh keberadaan metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman tersebut. Bahkan bukan hanya memiliki sifat antibakteri juga sebagai antifungi, antiseptik dan antiinflamasi misalnya adalah daun pepaya (Tuntun, 2018).

Penggunaan bahan alam sebagai antibakteri dapat dilakukan terhadap bakteri *Streptococcus sp.* Bakteri *Streptococcus sp* merupakan 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 (Baskaran dkk., 2012). Aktivitas bakteri yang merugikan dapat dicegah perkembangannya dengan mengetahui kandungan spesifik pada tanaman obat-obatan.

Identifikasi kandungan metabolit sekunder pada tanaman dengan menggunakan bioautografi merupakan salah satu cara yang efisien sehingga menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisasi aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram (Fatmahan & Yulianti, 2013).

Dengan latar belakang tersebut maka eksplorasi daun pepaya menggunakan metode bioautografi perlu dilakukan untuk menemukan kandungan metabolit sekunder yang spesifik terhadap antibakteri.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu Soxhlet, evaporator, botol vial, LAF dan labu ukur. Pada tahap pengujian yaitu lempeng KLT, cawan petri, kotak UV. Bahan yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu pelarut etanol 96%, aquadest steril. Untuk proses pengujian yaitu asetat glasial, aquadest, media NA, media NB. Adapun cara kerjanya yaitu:

1. Tahap pertama :
 - a. Pada tahap ini ekstrak dibuat dengan cara mengambil 50 gram serbuk daun pepaya dimaserasi menggunakan 500 mL pelarut etanol selama 24 jam. Hasil maserasi tersebut diuapkan menggunakan alat evaporator pada suhu 40°C untuk memisahkan pelarut etanol dengan senyawa aktif dari daun pepaya, sampai diperoleh ekstrak yang pekat dan kental. Ekstrak kental tersebut dimasukkan ke dalam botol vial steril, disimpan dalam ruang LAF dan siap untuk digunakan.
 - b. Ekstrak yang telah di evaporator di encerkan dengan konsentrasi 2% 4% 6% 8% dan 10% dengan cara sebagai berikut:

- Konsentrasi 2% : 0,2 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 4% : 0,4 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 6% : 0,6 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 8% : 0,8 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 10% : 1 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.

2. Tahap Kedua:

- a. Hasil pengenceran di totolkan pada plat KLT sebanyak 2 μ l kemudian dielusi menggunakan eluen n-butanol:asam asetat glasial:aquadest (4:1:5), tunggu sampai terelusi sempurna.
- b. Amati noda yang dihasilkan pada plat KLT kemudian hitung nilai Rf menggunakan penggaris lalu catat hasilnya.
- c. Plat KLT tempelkan pada media agar yang telah terinokulasi dengan bakteri selama \pm 30 menit, angkat lempeng KLT kemudian inkubasi selama 24 jam. Lakukan pengulangan sebanyak 6 kali.
- d. Amati zona hambat yang dihasilkan yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi. Sajikan data dalam bentuk kurva.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan dari proses bioautografi dari daun pepaya terhadap bakteri *Streptococcus sp* maka diperoleh data sebagai berikut:

- a. Berdasarkan KLT Bioautografi diperoleh 3 totolan dengan nilai Rf sebagai berikut:

No.	Warna noda	Rf
1.	Hijau kehitaman	0,46
2.	Lembayung	0,63
3.	Lembayung	0,93

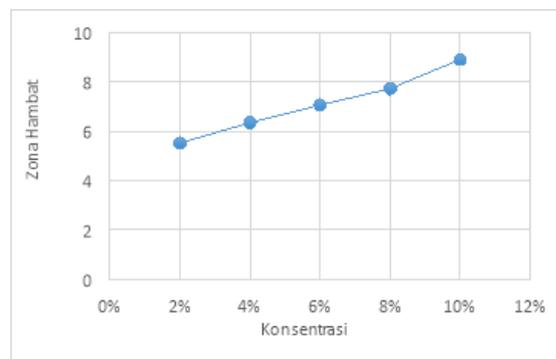
Hasil KLT yang didapatkan pada penelitian diamati dibawah sinar UV 366 nm menunjukkan adanya 3 noda dengan Rf yang berbeda-beda yaitu 0,46 dengan warna noda hijau kehitaman, nilai Rf noda kedua dan ketiga yakni 0,63 dan 0,93 dengan warna noda lembayung. Hasil plat KLT yang telah terelusi lalu tempelkan pada media *Nutrient Agar* selama 15-30 menit, kemudian angkat plat KLT dan inokulasi selama 24 jam.

Berdasarkan nilai Rf diatas menurut Madjid dkk (2020) terbentuk noda berwarna lembayung merupakan senyawa tannin. Hal tersebut disebabkan oleh penggunaan pelarut pada saat ekstraksi merupakan pelarut universal sehingga

dapat melarutkan jenis metabolit sekunder yang terkandung pada daun pepaya dalam pelarut ethanol 96%. Proses KLT yang dilakukan dengan n-butanol : asam asetat glasial : aquadest (4 : 1 : 5) sebagai eluen yang memiliki kemampuan sangat polar. Kepolaran fase diam dan fase gerak hampir sama, tetapi masih lebih polar fase gerak sehingga senyawa yang dipisahkan terangkat mengikuti fase gerak sehingga senyawa tersebut terangkat mengikuti eluennya (Sudarwati, 2011). Kemudian dilakukan uji kualitatif menunjukkan perubahan warna hijau kehitaman pada sampel saat ditetesi dengan FeCl_3 , hasil ini diperkuat dengan penelitian Yuda dkk (2017) yang menunjukkan bahwa hasil identifikasi senyawa positif mengandung tanin mengalami perubahan warna hijau kehitaman saat ditambahkan larutan FeCl_3 .

b. Sifat antibakteri ekstrak terhadap bakteri uji:

Potensi Antibakteri pada bakteri *Streptococcus sp* menggunakan metode bioautografi, dimana totol yang telah diperoleh pada lempeng KLT yang telah diidentifikasi kemudian diinokulasikan pada cawan petri yang telah terdapat media uji NA dan biakan bakteri *Streptococcus sp* yang telah diisolasi selama 24 jam, sehingga diperoleh kurva sebagai berikut:



Gambar 4.1 Kurva Uji Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Pepaya terhadap bakteri *Streptococcus sp*

Hasil penelitian ekstrak daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap bakteri *Streptococcus sp* pada konsentrasi 2% konsentrasi 4%, 6%, 8%, 10% termasuk kategori sedang, Hal ini dikarenakan senyawa antibakteri Tanin berdasarkan mekanisme kerja antibakteri memiliki sifat bakterostatik yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel mikroba, membran atau dinding sel tidak terbentuk (sudarwaati, 2018). Menurut Pelczar (2007) Mekanisme kerja senyawa tanin termasuk senyawa yang dapat merusak dinding sel, penghambatan molekul protein dan asam nukleat serta penghambatan kerja enzim. Maka terjadi kebocoran nutrisi sel sehingga dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

KESIMPULAN

Uji bioautografi yang digunakan terhadap ekstrak Daun pepaya (*Carica papaya*) menghasilkan senyawa terlarut yakni senyawa tanin sebagai antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus sp* dengan kategori sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada seluruh tim peneliti Mikrobiologi Akademi Farmasi Surabaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Tuntun M. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp*. *J Kesehat.* 2018;7(3):497.
- Baskaran C, bai VR, Velu S, Kumaran K. The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method. *Asian Pacific J Trop Dis.* 2012;2(SUPPL2).
- Nur Fatdliyah Eka Yulianti. 2013. Antibakteri A, Bioautografi Etil F.
- Madjid ADR, Rahmawati DA, Fasya AG. Variasi Komposisi Eluen pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucaema cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *Alchemy.* 2020;
- Sudarwati TPL, Fernanda MAHF. Potensi Antimikroba Ekstrak Ethanol *Ganoderma lucidum* Menggunakan Metode Bioautografi terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. 2021;6(1):59–62.
- Yuda PESK, Cahyaningsih E, Winariyanthi NLPY. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Medicamento* [Internet]. 2017;3(2):61–70. Available from: <http://journal.farmasisaraswati.ac.id/index.php/mento/article/view/patikankebo>
- Sudarwati TPL. Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (*Carica papaya*) Menggunakan Pelarut Etanol terhadap Bakteri *Salmonella thypi*. *J Res Technol.* 2018;
- Pelczar MJ. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1. Universitas Indonesia. 2007.