

**PERBANDINGAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
PEPAYA (*Carica papaya* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.)
BESERTA KOMBINASINYA TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Veti Melisa¹, St.Rahmatullah², Dwi Bagus Pambudi³

^{1,2,3}Program Studi S1 Farmasi STIKES Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

¹Email : veti.melisa05@gmail.com

Abstract

*Infectious disease is a disease caused by bacteria. papaya leaves (*Carica papaya* L.) and green betel leaf (*Piper betle* L.) can overcome infections because they contain active compounds that can inhibit the growth of infectious bacteria. This study was conducted to compare the antibacterial activity test of papaya leaves (*Carica papaya* L.) and green betel leaf (*Piper betle* L.) and its combination to the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria. This study used disk diffusion method. The data obtained were analyzed using the One Way Anova test and followed by the Post Hoc Tests. The results obtained on papaya leaf extract (*Cacica papaya* L.) at a concentration of 25%, 50%, and 75% on average were 11.23 ± 0.690 , 11.89 ± 1.057 , and 13.30 ± 0.708 . In the sample of green betel leaf extract (*Piper betle* L.) the concentration was 25%, 50%, and 75%, the average diameter was $15.67 \pm 1,211$, $21.25 \pm 1,733$, and $22.95 \pm 1,790$. In the sample combination ratio of 1: 1, 1: 3, and 3: 1 the average diameter was 16.26 ± 0.860 , 20.52 ± 1.291 , and 13.90 ± 0.556 . The results of the test can be concluded that the extract of green betel leaf (*Piper betle* L.) is stronger than papaya leaf extract (*Carica papaya* L.). If combined in a ratio of 1: 3, it is more effective to inhibit than to be used singly.*

Keywords : Papaya leaf extract (*Carica papaya* L.), Green betel leaf extract (*Piper betle* L.), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Bacteria.

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu jenis penyakit yang banyak diderita oleh penduduk di Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi dapat dikarenakan oleh bakteri. Penyebab utama dari penyakit infeksi di Indonesia adalah karena Indonesia merupakan daerah tropis dengan keadaan yang berdebu, temperatur yang hangat dan udara yang lembab sehingga mikroba dapat tumbuh dengan subur (Zuhri, 2013). Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et.al.*, 2005). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini biasanya muncul dengan gejala-gejala yang khas yaitu peradangan, bakteri nekrosis, terbentuknya abses, serta dapat menyebabkan berbagai macam infeksi lain seperti pada jerawat, bisul, atau nanah (Tuntun, 2016).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif yang mempunyai bentuk bulat. Bakteri ini merupakan bakteri patogen bagi manusia. Bakteri ini pada umumnya dapat menimbulkan penyakit yang bersifat sporadik. Penyakit infeksi dapat diatasi dengan menggunakan obat-obat tradisional yang berasal dari alam yang mempunyai khasiat sebagai antibakteri dan telah dibuktikan secara empiris. Penggunaan obat tradisional dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat-obatan yang berasal dari bahan kimia, disamping itu harga obat tradisional lebih terjangkau. Keuntungan lain penggunaan obat tradisional adalah bahan bakunya yang mudah diperoleh dan terdapat dalam jumlah yang banyak di Indonesia (Aravind *et.al.*, 2013).

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai contoh dari tanaman yang mempunyai khasiat sebagai antibakteri dan keberadaannya tersebar luas di Indonesia. Kedua tanaman ini biasa digunakan oleh masyarakat sebagai antibakteri dalam mengobati infeksi kulit maupun mulut. Tidak banyak dari masyarakat yang mengetahui bahwa dalam daun sirih hijau (*Piper betle* L.) tersebut memiliki khasiat sebagai antibakteri. Senyawa kimia yang bekerja sebagai antibakteri yang terkandung dalam daun sirih hijau (*Piper betle* L.) adalah minyak atsiri 4,2% yang komponen utamanya merupakan senyawa bethel phenol beserta turunannya. Dimana senyawa-senyawa tersebut mempunyai kemampuan dapat mendenaturasi protein sel bakteri (Inayatullah, 2012).

Pada daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat antiseptik, antiinflamasi, antifungal, dan antibakteri (Tuntun, 2016). Senyawa kimia pada daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang bekerja sebagai antibakteri adalah senyawa alkaloid yang merupakan jenis alkaloid karpain yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Syarifah, dkk., 2015).

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai perbandingan uji aktivitas antibakteri pada ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) serta kombinasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan, antara lain: Cawan petri (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), tabung reaksi, *evaporator rotary*, pipet tetes, *autoclaf*, *Laminar Air Flow*, pinset, batang pengaduk, timbangan digital, *vortex*, bunsen, ose, spatula besi, jangka sorong, rak tabung reaksi, pengukur waktu, inkubator, *hot plate*, lidi kapas.

Bahan yang digunakan, antara lain: daun pepaya (*Carica papaya* L.), daun sirih hijau (*Piper betle* L.), pelarut etanol 96%, cakram disk Amoksisilin, Media *Mueller Hinton Agar*, *Nutrient Broth*, NaCl, DMSO, biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, alumunium foil, kasa, cakram uji kosong, tissue, korek api, label.

Prosedur Kerja

Persiapan dan Determinasi Tanaman

Daun pepaya (*Carica papaya* L.) sebanyak 2,5 kg dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebanyak 4 kg diperoleh dari daerah Paninggaran yang dipetik secara langsung. Kemudian kedua tanaman tersebut dideterminasi di Unnes.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang masih segar ditimbang. Kedua bahan tersebut disortasi basah lalu timbang BOA (Bahan Organik Asing) dan bobot bahan setelah disortasi

basah. Kedua bahan tanaman tersebut dicuci sampai bersih. Bila perlu dilakukan perajangan. Keduanya dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam diatasnya, lalu dihaluskan sampai menjadi serbuk menggunakan blender. Serbuk diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 mesh, lalu timbang serbuk yang dihasilkan. Serbuk diambil masing-masing 500 gr, lalu direndam dalam etanol 96% selama 3x24 jam, kemudian disaring dengan kain flanel untuk memperoleh filtrat. Semua filtrat yang dihasilkan diuapkan atau dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh tersebut ditimbang. Kemudian digunakan untuk membuat larutan uji.

Skrinning Fitokimia

1. Fenol
3 tetes ekstrak ditambah metanol, lalu diaduk sampai homogen. Tambahkan FeCl₃. Adanya fenolik ditandai dengan terbentuknya warna hijau, kuning, orange, atau merah.
2. Flavonoid
1 ml ekstrak ditambah 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Tambahkan serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid.
3. Saponin
1 ml ekstrak ditambah 2 ml aquades, lalu dikocok sampai homogen. Panaskan selama 2-3 menit. Dinginkan, setelah dingin kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 detik menunjukkan sampel mengandung saponin.
4. Alkaloid
1 ml ekstrak ditambah 5 tetes amonia pekat, lalu disaring kemudian ditambah 2 ml asam sulfat 2N dan dikocok hingga memberi lapisan atas dan bawah. Larutan dibagi menjadi 2 bagian, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes mayer. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan.
5. Tanin
1 ml ekstrak ditambah 2-3 tetes FeCl₃ 1%, lalu kocok sampai homogen. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman.
6. Minyak Atsiri
1 ml ekstrak lalu diuapkan di atas cawan porselen hingga diperoleh residu. Timbulnya bau khas yang dihasilkan oleh residu tersebut menandakan adanya minyak atsiri.

Pembuatan Larutan Sampel

Larutan sampel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.), serta kombinasi keduanya divariasikan dengan menggunakan pelarut DMSO. Pada sampel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dibuat konsentrasi 25%, 50%, 75% pada masing-masing sampel lalu diukur yang paling efektif dari masing-masing sampel, sedangkan pada sampel kombinasi diambil dari larutan yang paling efektif yang didapatkan dari percobaan sebelumnya dengan perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1. Digunakan kontrol positif berupa cakram disk Amoksisilin dan kontrol negatif berupa DMSO. Sehingga seluruhnya berjumlah 11 variabel.

Pembuatan Media

1. Mueller Hinton Agar (MHA)

Media *Mueller Hinton Agar* ditimbang sebanyak 11,26 gr dan larutkan kedalam 360 ml aquadest. Media tersebut dipanaskan diatas *hot plate* sambil diaduk sampai semua bahan larut dengan sempurna. Sterilkan dengan proses sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan sebesar 1,5 atm. Larutan media *Mueller Hinton Agar* yang sudah steril dituang kedalam cawan petri masing-masing 20 ml. Media disimpan dalam inkubator sampai media memadat.

2. Nutrient Broth (NB)

0,39 gram serbuk *Nutrient Broth* dilarutkan dalam 30 ml aquadest. Panaskan diatas *hot plate* sambil diaduk sampai semua bahan larut dengan sempurna. Kemudian media disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan sebesar 1,5 atm.

Kultur Bakteri

Pembuatan stok bakteri ini dilakukan untuk memperbanyak dan meremajakan bakteri, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ke dalam *Nutrient Broth*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator.

Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri dengan Difusi Disk

Bakteri diencerkan dengan mencampurkan 1 ose suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl. Homogenkan menggunakan vortex dan kekeruhannya distandarisasi dengan konsentrasi 0.5 Mc Farland sehingga jumlah bakteri memenuhi standarisasi untuk uji kepekaan yaitu: 10^5 – 10^8 /ml. Kemudian larutan bakteri yang telah distandarisasi tadi dituangkan pada media pertumbuhan *Mueller Hinton Agar*.

Cakram uji kosong yang telah direndam selama 15 menit di dalam masing-masing stok konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.), dan kombinasi antara keduanya diletakkan di atas permukaan agar secara higienis di dalam *Laminar Air Flow*. Begitu juga dengan kontrol positif berupa cakram disk Amoksisilin dan kontrol negatif berupa DMSO yang digunakan diberi perlakuan yang sama. Kemudian diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, keesokan harinya diukur diameter zona terang (*clear zone*) yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan kebenaran dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian ini. Bagian tanaman yang diamati meliputi daun, akar, batang, biji, buah, serta bunga. Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) dan tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) tersebut di determinasi di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang dengan hasil determinasi yang menyebutkan bahwa tanaman tersebut adalah species *Carica papaya* L. dari familia *Caricaceae* dan species *Piper betle* L. dari familia *Piperaceae*. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman tersebut adalah benar keasliannya.

Daun segar yang diperoleh kemudian dibuat simplisia. Lalu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena metode ini merupakan metode yang sederhana, pengerjaannya mudah dan peralatannya murah (Anonim⁴, 2013). Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil dari ekstraksi didapat ekstrak kental daun pepaya (*Carica papaya* L.)

sebanyak 36,82 gram dan daun sirih hijau (*piper betle* L.) sebanyak 40,78 gram. Ekstrak kental kemudian diuji skrinning fitokimia.

Skrinning fitokimia merupakan suatu cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui pemeriksaan yang tepat, tujuannya yaitu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diuji. Pada metode ini reaksi dapat dilihat dengan pengujian warna menggunakan pereaksi tertentu (Minarno, 2015).

Tabel 4.2. Uji Skrinning Fitokimia Ekstrak

Golongan Senyawa	Ekstrak Daun Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)
Alkaloid	+	-
Flavonoid	+	+
Fenol	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Minyak Atsiri	-	+

Keterangan :

+ (Menunjukkan adanya senyawa/ positif)

- (Menunjukkan tidak adanya senyawa/ negatif)

Pada tabel 4.2. dapat dilihat bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) positif mengandung senyawa alkaloid dengan ditandai terbentuknya endapan setelah ditetesi dengan pereaksi Meyer. Senyawa alkaloid dalam ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan senyawa yang mempunyai aktifitas sebagai antibakteri, dimana senyawa alkaloid tersebut merupakan jenis alkaloid karpain (Syarifah, dkk., 2015). Prinsip dari uji ini adalah terjadinya reaksi pengendapan karena adanya penggantian lignan (A'yun, dkk., 2015). Sedangkan pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) negatif mengandung senyawa alkaloid.

Pada uji kandungan senyawa flavonoid, kedua ekstrak positif mengandung flavonoid dengan ditandai terbentuknya warna orange. Menurut Robinson (1995), warna kuning orange atau merah yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida dan magnesium (A'yun, dkk., 2015). Penambahan etanol pada uji ini digunakan untuk melarutkan ekstrak. Sedangkan penambahan HCl digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya,

yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil (Latifah, 2015).

Senyawa fenol positif terkandung dalam kedua ekstrak dengan ditandai terbentuknya larutan berwarna hijau kehitaman. Senyawa fenol merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.), senyawa fenol tersebut berupa senyawa bethel fenol yang mempunyai kemampuan dapat mendenaturasi protein sel. Adanya suatu senyawa fenol yang merupakan senyawa toksik menyebabkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka menjadi struktur acak tanpa terjadinya kerusakan pada struktur kerangka kovalen (ikatan disulfida). Hal tersebut menyebabkan rantai polipeptida tidak bisa mempertahankan bentuk semulanya, sehingga menyebabkan dinding sel menjadi rusak (Inayatullah, 2012).

Senyawa saponin positif terkandung dalam kedua ekstrak tersebut dengan ditandai adanya buih atau busa yang timbul setelah dikocok dengan aquadest dan busa tersebut stabil setelah 30 detik. Saponin mempunyai glikosil yang mempunyai fungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid dan triterpenoid sebagai non polar. Suatu senyawa yang memiliki gugus tersebut bersifat aktif permukaan sehingga apabila dikocok bersama dengan air, senyawa saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel gugus non polar menghadap ke dalam sedangkan gugus polar menghadap keluar, pada keadaan inilah yang terlihat seperti busa (A'yun, dkk., 2015).

Tanin positif terkandung dalam kedua sampel juga, dimana setelah direaksikan dengan FeCl_3 1% membentuk larutan berwarna hijau kehitaman. Pada saat penambahan FeCl_3 1% mengakibatkan terjadinya suatu reaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Seperti yang telah diketahui, tanin memiliki dua golongan yaitu golongan hidrolisis yang akan memberikan warna biru kehitaman dan golongan kondensasi yang akan menghasilkan warna hijau kehitaman. Pereaksi FeCl_3 1% digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin (A'yun, dkk., 2015).

Minyak atsiri positif terkandung pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yaitu dengan ditandai timbulnya bau khas pada residu yang dihasilkan setelah ekstrak diuapkan. Umumnya bau minyak atsiri yang timbul ini

mewakili bau tanaman asalnya, bau minyak atsiri satu dengan yang lain berbeda-beda, sangat tergantung dari macam dan intensitas bau dari masing-masing komponen penyusunnya (Gunawan, dkk., 2004).

Ekstrak kental yang telah melalui tahap uji skrining fitokimia tersebut kemudian digunakan untuk uji perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode difusi disk. Metode difusi disk menurut Kirby dan Bauer dalam buku Sylvia T. Pratiwi (2008) yaitu untuk menentukan aktivitas agen antimikroba, dengan cara piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar (Pratiwi, 2008).

Media padat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Mueler Hinton Agar*, karena media ini telah direkomendasikan oleh FDA dan WHO untuk uji antibakteri terutama untuk bakteri aerob dan fakultatif anaerob (Wibowo, 2013). Alat-alat yang digunakan pada uji ini haruslah steril, sehingga sebelum digunakan alat-alat tersebut disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan *autoclaf* pada suhu 121°C selama 15 menit. *Autoclaf* merupakan metode sterilisasi basah dengan menggunakan uap air yang jenuh. Panas lembab sangat efektif walaupun suhunya tidak terlalu tinggi, karena pada *autoclaf* uap air berkondensasi pada bahan-bahan yang sedang di sterilkan, panas yang dilepaskan sebanyak 686 kalori per gram uap air pada suhu 121°C . Panas ini merusak protein dari organisme hidup sehingga mematikannya (Pratiwi, 2011).

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang digunakan pada uji ini merupakan bakteri murni yang disimpan pada agar miring dan ditampung di wadah yang sudah steril pada suasana anaerob, lalu wadah tersebut ditutup agar sterilitas tetap terjaga. Kemudian bakteri tersebut dibuat suspensi bakteri dengan cara mencampurkan larutan NaCl dengan 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,

setelah itu samakan dengan standar kekeruhan *Mc Farland* sampai mempunyai kekeruhan yang sama. Jika suspensi kurang keruh tambahkan lagi bakteri, namun jika suspensi terlalu keruh tambahkan larutan NaCl. Larutan *Mc Farland* dibuat dengan cara mencampurkan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml dengan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml, kemudian dikocok sampai homogen.

Untuk mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri masing-masing diuji antibakteri terlebih dahulu dengan konsentrasi masing-masing 25%, 50%, dan 75% dengan menggunakan pelarut DMSO (*Dimethyl Sulfoksida*). Digunakan pelarut DMSO karena pelarut ini merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar (Fadlila, dkk., 2015).

Kontrol positif yang digunakan yaitu berupa cakram disk Amoksisilin. Amoksisilin adalah obat antibakteri dengan spektrum luas sehingga efektif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Amoksisilin merupakan antibiotik turunan penisilin yang mekanisme kerjanya menghambat sintesis dinding sel bakteri (Prima, 2012). Amoksisilin digunakan pada uji antibakteri ini karena pada uji ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*

ATCC 25923 yang merupakan bakteri gram positif, sehingga Amoksisilin dapat secara efektif menghambat bakteri tersebut. Selain itu, pada penelitian sebelumnya juga telah menggunakan obat ini sebagai kontrol positif, seperti pada penelitian Inayatullah (2012). Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui apakah pelarut ekstrak yang digunakan memiliki pengaruh terhadap zona hambat yang terbentuk, oleh karena itu digunakan pelarut DMSO sebagai kontrol negatif karena DMSO tidak menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kertas cakram kosong dengan diameter lingkaran 6 mm direndam dalam sampel dengan masing-masing konsentrasi selama 15 menit sampai jenuh. Setelah itu letakkan diatas media MHA padat yang sudah dituangi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara aseptis dengan cara dituang secara merata diatas media MHA padat tersebut. Kemudian inkubasi selama 24 jam di dalam inkubator dengan posisi cawan terbalik. Pada uji ini, parameter yang digunakan yaitu nilai diameter zona hambat. Diameter zona hambat ini digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh sampel dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dengan cara melihat besar zona bening yang terbentuk disekitar disk.

Tabel 4.3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Sampel	Konsentrasi	Hasil (X±SD)
Ekstrak Daun Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	25%	11,23 ± 0,690
	50%	11,89 ± 1,057
	75%	13,30 ± 0,708
	Kontrol Negatif	-
	Kontrol Positif	9,36 ± 1,223
Ekstrak Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	25%	15,67 ± 1,211
	50%	21,25 ± 1,733
	75%	22,95 ± 1,790
	Kontrol Negatif	-
	Kontrol Positif	9,16 ± 0,190

Tabel 4.3. menunjukkan bahwa kedua sampel tersebut memiliki aktivitas daya hambat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 25% dengan diameter sebesar 11,23 mm dan standar deviasi

0,690, pada konsentrasi 50% berdiameter 11,89 mm dan standar deviasi 1,057, dan pada konsentrasi 75% berdiameter 13,30 mm dan standar deviasi 0,708. Sedangkan pada sampel kontrol positif Amoksisilin berdiameter 9,36 mm dengan standar deviasi 1,223. Jika dikategorikan menurut klasifikasi dari Davis Stout cit Moerfiah dan Supomo (2011),

diameter yang dihasilkan oleh ketiga konsentrasi tersebut termasuk kedalam kategori kuat. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Maria Tuntun (2016), namun diameter yang dihasilkan berbeda, karena pada penelitian Maria Tuntun tersebut menggunakan larutan aquadest steril sebagai pelarut pada pembuatan larutan konsentrasi, sehingga diameter yang dihasilkan lebih kecil. Dari data uji antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat dilihat bahwa konsentrasi hambat minimum pada sampel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) yaitu pada konsentrasi 25% menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) sudah dapat menghambat ditandai dengan terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter 11,23 mm.

Pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% berdiameter 15,67 mm dan standar deviasi 1,211, konsentrasi 50% berdiameter 21,25 mm dan standar deviasi 1,733, konsentrasi 75% berdiameter 22,95 mm dan standar deviasi 1,790. Sedangkan untuk kontrol positif berdiameter 9,16 mm dengan standar deviasi 0,190. Jika dikategorikan menurut klasifikasi dari Davis Stout *cit* Moerfiah dan Supomo (2011), diameter dari sampel konsentrasi 25% termasuk dalam kategori kuat, sedangkan pada konsentrasi 50% dan 75% termasuk kedalam kategori sangat kuat.

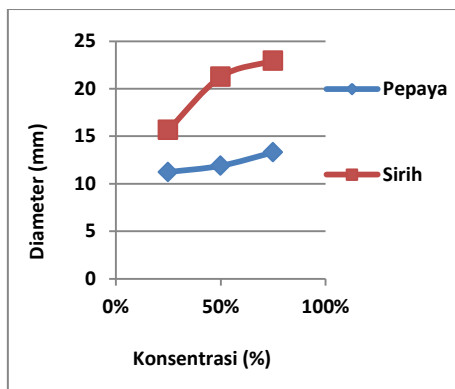
Hasil diatas sesuai dengan penelitian Effa dan Nona Rahmaida Puetri (2015), dimana dalam penelitian tersebut ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam kategori kuat, sedangkan pada penelitian Eko Prayoga (2013), ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam kategori sedang. Perbedaan diameter daya hambat yang dihasilkan tersebut diduga karena pelarut yang digunakan pada larutan konsentrasi berbeda, dimana pada penelitian ini menggunakan pelarut DMSO, pada penelitian Effa dan Nona Rahmaida Puetri (2015) menggunakan pelarut aquadest, dan pada penelitian Eko Prayoga (2013) menggunakan pelarut etanol. Dari hasil yang diperoleh pada

uji antibakteri ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) tersebut dapat dilihat bahwa konsentrasi hambat minimum ditunjukkan pada sampel dengan konsentrasi 25% terbentuk zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter 15,67 mm.

Pada sampel kontrol negatif tidak terbentuk adanya zona hambat, hal tersebut menunjukkan berarti pelarut DMSO yang digunakan sebagai pelarut sampel ekstrak tidak memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang terbentuk pada sampel ekstrak. Jika pelarut DMSO tersebut memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri uji, maka akan mempengaruhi hasil uji karena zona hambat yang terbentuk pada sampel ekstrak tersebut tidak hanya dari ekstrak uji, melainkan juga dari pelarut DMSO yang digunakan.

Dari data yang didapatkan menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi larutan sampel maka akan semakin tinggi pula kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri pada tanaman tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Jawetz *et.al.* (2001), bahwa suatu zat antimikroba menjadi efektif apabila dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai antimikroba semakin meningkat, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikroba juga semakin besar (Effa, dkk., 2015). Sampel dengan konsentrasi hambat minimum tersebut digunakan untuk uji aktivitas antibakteri kombinasi dari ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang kemudian akan dibandingkan dengan masing-masing sampel yang diuji antibakteri secara tunggal dengan konsentrasi hambat minimumnya, yaitu konsentrasi 25%.

Gambar 4.1. Data Kurva Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.).



Dari Gambar 4.1. dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi larutan sampel maka semakin besar pula daya hambat yang terbentuk. Dari kurva tersebut, ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki daya hambat lebih besar. Larutan sampel untuk uji perbandingan diambil dari sampel konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi 25%. Larutan ini dibuat dengan perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 (Pepaya : Sirih).

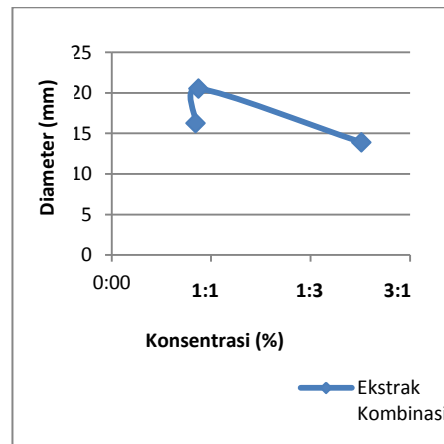
Tabel 4.4. Hasil Uji Kombinasi Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.).

Sampel	Perbandi- ngan (Pepaya : Sirih)	Hasil (X±SD)
Ekstrak Kombi- nasi	1 : 1	16,26±0,860
	1 : 3	20,52±1,291
	3 : 1	13,90±0,556
	Kontrol Negatif	-
	Kontrol Positif	11,04±0,863

Dari tabel 4.4. tersebut dapat dilihat bahwa sampel kombinasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada perbandingan 1:1 (Pepaya : Sirih) menghasilkan diameter 16,26 mm dan standar deviasi 0,860, pada perbandingan 1:3 (Pepaya : Sirih) menghasilkan diameter 20,52 mm dan standar deviasi 1,291, pada perbandingan 3:1 menghasilkan diameter 13,90 mm dan standar deviasi 0,556. Sedangkan untuk kontrol positif berdiameter 11,04 mm dengan standar deviasi 0,863. Jika dikategorikan menurut klasifikasi dari Davis Stout cit Moerfiah dan Supomo (2011), diameter yang dihasilkan oleh larutan sampel dengan perbandingan 1:1 termasuk kedalam kategori kuat, untuk sampel dengan perbandingan 1:3 termasuk kedalam kategori sangat kuat, dan untuk sampel dengan

perbandingan 3:1 termasuk kedalam kategori kuat. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai optimum ditunjukkan pada sampel dengan perbandingan 1:3.

Gambar 4.2. Data Kurva Ekstrak Kombinasi



Dari Gambar 4.2. dapat dilihat bahwa pada ekstrak kombinasi perbandingan 1:3 lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kombinasi perbandingan 1:1 dan 1:3. Dimana pada ekstrak kombinasi perbandingan 1:3 jumlah ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) lebih banyak dari ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.). Sedangkan paling rendah pada ekstrak kombinasi perbandingan 3:1 (Pepaya : Sirih)

Jika nilai optimum yang dihasilkan oleh sampel kombinasi 1:3 tersebut dibandingkan dengan hasil ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan nilai KHM pada konsentrasi 25% yang diuji antibakteri secara tunggal, hasil tersebut lebih besar. Hal tersebut karena pada sampel perbandingan 1:3 (Pepaya : Sirih) tersebut mengandung lebih banyak ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.), yaitu 3 bagian dibandingkan dengan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang hanya 1 bagian saja. Hasil tersebut juga sesuai apabila ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 25% diujikan secara tunggal, diameter dari sampel ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) lebih besar.

Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mempunyai daya hambat antibakteri lebih besar diduga karena kandungan bethel phenol pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 jika

digunakan secara tunggal dibandingkan dengan kandungan alkaloid karpain pada ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) maupun kombinasi keduanya. Menurut penelitian Effa, dkk., daya hambat pertumbuhan bakteri yang kuat dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) diduga karena dalam ekstrak tersebut mengandung suatu senyawa metabolit sekunder.

Hasil dari pengamatan tersebut kemudian diuji *One Way ANOVA* menggunakan program SPSS dengan tingkat nilai signifikan ($p < 0,05$). Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 4.5. Uji *One Way ANOVA*

Ekstrak	Diameter	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Daun Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	Between Groups	338,552	4	84,638	117,820	,000
	Within Groups	7,184	10	,718		
	Total	345,735	14			
Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	Between Groups	1064,145	4	266,036	172,370	,000
	Within Groups	15,434	10	1,543		
	Total	1079,579	14			
Ekstrak Kombinasi	Between Groups	716,361	4	179,090	258,529	,000
	Within Groups	6,927	10	,693		
	Total	723,288	14			

Dari tabel 4.5. dapat dilihat bahwa diameter daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.), dan ekstrak kombinasi keduanya dengan masing-masing konsentrasinya menghasilkan $\text{sig} = 0,000$, yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing konsentrasi. Pada uji *One Way ANOVA* suatu data signifikan apabila $\text{sig} < 0,05$.

4. SIMPULAN

Hasil perbandingan menunjukkan daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% dengan diameter 11,23 mm, 11,89 mm, dan 13,30 mm. Pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% berdiameter 15,67 mm, 21,25 mm, dan 22,95 mm. Jika dikombinasikan perbandingan 1:3 lebih kuat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter 20,52 mm.

5. SARAN

Setelah dilakukan penelitian tentang perbandingan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya* L.) dan daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, maka disarankan untuk dilakukan penelitian selanjutnya :

1. Perlu dilakukan perbandingan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya* L.) dan daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode yang berbeda.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dalam bentuk sediaan farmasi gel sebagai obat antibakteri dengan menggunakan bahan baku ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya* L.) dan daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) maupun kombinasinya karena sudah diteliti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Anonim⁴, 2013, *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume 2*, Direktorat Obat Asli Indonesia Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Aravind.G, Debjit Bhowmik, Duraivel. S, Harish. G, 2013, Traditional and Medicinal Uses of *Carica papaya*, *Journal of Medicinal Plants Studies*, **Volume 1 (1)**, halaman 7 – 15.
- A'yun, Qurrota, Ainun Nikmati Laily, 2015, Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak,

- Malang, A'yun et al., *Analisis Fitokimia Daun Pepaya (Carica papaya L.)*, Malang.
- Fadlila, Wildan Nur, Kiki Mulkiya Yuliawati, Livia Syafnir, 2015, Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dengan Metode Bioautografi Klt Terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia Esculenta (L.) Schott*), *Prosiding Penelitian SPeSIA Unsiba 2015*, Bandung.
- Gunawan, Didik, Sri Mulyani, 2004, *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Inayatullah, Sheila, 2012, Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Jakarta.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg's, 2005, *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Buku 1*, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Latifah, 2015, Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga L.* Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil), *Skripsi*, Malang.
- Minarno, Eko Budi, 2015, Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavonoid Pada Buah *Carica Pubescens Lenne & K. Koch* Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng, *Skrining Fitokimia (73-82)*, **Volume 5, Nomor 2**, Malang.
- Pratiwi, Sylvia T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit Airlangga, Jakarta.
- Prima, Muhamad Irwan, 2012, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Gram Positif dan Gram Negatif, *Skripsi*, Jakarta.
- Syarifah, Reny Siti, Dina Mulyanti, Amila Gadri, 2015, Formulasi Sediaan Masker Gel *Peel Off* Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai Antijerawat dan Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*, *Jurnal Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, Bandung.
- Tuntun, Maria, 2016, Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan*, **Volume VII, Nomor 3**, halaman 497-502, Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.
- Wibowo, Wanda Indriani, 2013, Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Salam (*Syzygium polyanthum [Wight.] Walp.*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi, *Skripsi*, Yogyakarta.
- Zuhri, M. Isnaini, 2013, Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale L.*) dan Tetrasiklin Terhadap *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresisten Antibiotik, *Skripsi*, Surakarta.