

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica  
papaya L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**(Skripsi)**

**Oleh  
ISAURA DEWI FAUZI  
2118011044**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2025**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN  
*Escherichia coli***

**Oleh:**

**ISAURA DEWI FAUZI**

**2118011044**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada**

**Fakultas Kedokteran  
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2025**

Judul Skripsi : **Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli***

Nama Mahasiswa : **Isaura Dewi Fauzi**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2118011044

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



Pembimbing I

Pembimbing II

  
**Dr. dr. Ety Aprilliana, M.Biomed.**  
NIP. 197804292002122002

  
**Hesti Yuningrum, SKM., MPH**  
NIP. 198306012023212037

Dekan Fakultas Kedokteran

  
**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.**  
NIP. 197601202003122001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua : Dr. dr. Ety Apriliana, M.Biomed.**



**Sekretaris : Hesti Yuningrum, SKM.,MPH**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**  
**NIP. 197601202003122001**

**Tanggal Lulus Ujian : 10 Juni 2025**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 10 Juni 2025

Pembuat Pernyataan,



Isaura Dewi Fauzi

## ABSTRACT

### THE INHIBITORY EFFECT OF PAPAYA LEAF (*Carica papaya L.*) EXTRACT ON THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*

By

Isaura Dewi Fauzi

**Background:** Bacterial infections such as *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) are the main causes of infectious diseases that lead to increased morbidity and mortality. The utilization of natural materials such as papaya leaves (*Carica papaya L.*) which contain active compounds with the potential to be developed into antibiotics.

**Objective:** To determine the inhibitory effect of papaya leaf extract (*Carica papaya L.*) and to understand the inhibitory effect of each concentration on the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria.

**Methods:** This study uses a true experimental post-test only control group design. The samples consisted of ethanol extracts of papaya leaves with concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, as well as a positive control (ciprofloxacin) and a negative control (aquadest). Antibacterial test was conducted using the well diffusion method against *S. aureus* and *E. coli*. Statistical analysis was performed using One Way ANOVA test and the Post Hoc LSD test.

**Results:** The highest average at a 100% concentration against *S. aureus* was 16.68 mm and *E. coli* was 15.7 mm. Positive control (ciprofloxacin) measured 38.1 mm for *S. aureus* and 40.17 mm for *E. coli*, while the negative control (aqua dest) showed no inhibitory effect. The results of the One Way ANOVA test on *S. aureus*  $p = <0,001$  and *E. coli*  $p = <0,001$ . The Post hoc LSD test for both bacteria showed significant differences between several treatment groups.

**Conclusion:** There is an inhibitory effect of papaya leaf extract (*Carica papaya L.*) at concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% against the positive control in inhibiting the growth of *S. aureus* and *E. coli*.

**Keyword:** *Carica papaya L.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibacterial, Well Diffusion

## ABSTRAK

### UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Oleh

Isaura Dewi Fauzi

**Latar Belakang:** Infeksi bakteri seperti *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan penyebab utama penyakit infeksi yang berdampak pada peningkatan morbiditas dan mortalitas. Pemanfaatan bahan alami seperti daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang mengandung senyawa aktif dapat dikembangkan menjadi antibiotik.

**Tujuan Penelitian:** Untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dan mengetahui daya hambat setiap konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

**Metode Penelitian:** Penelitian ini menggunakan rancangan *true experimental post-test only control group*. Sampel berupa ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, serta kontrol positif (ciprofloxacin) dan kontrol negatif (akuades). Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Uji analisis statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* serta uji *Post Hoc LSD*.

**Hasil Penelitian:** Rerata tertinggi pada konsentrasi 100% terhadap *S. aureus* 16,68 mm dan *E. coli* 15,7 mm. Kontrol positif (ciprofloxacin) senilai 38,1 mm terhadap *S. aureus*, *E. coli* 40,17 mm, dan kontrol negatif (akuades) tidak menunjukkan daya hambat. Hasil uji *One Way ANOVA* pada *S. aureus*  $p = <0,001$  dan *E. coli*  $p = <0,001$ . Uji *Post hoc LSD* kedua bakteri menunjukkan perbedaan signifikan antar beberapa kelompok perlakuan.

**Kesimpulan:** Terdapat daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*.

**Kata Kunci:** *Carica papaya L.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibakteri, Difusi Sumuran

## RIWAYAT HIDUP

Penulis skripsi ini adalah Isaura Dewi Fauzi yang lahir di Padang, 13 Juli 2004. Penulis merupakan anak kedua dari pasangan Chandra Nurreza Fauzi dan Siti Andan Dewi, serta memiliki dua saudara kandung yakni Muhammad Andre Fauzi dan Nadya Safira Fauzi. Pendidikan formal pertama yang ditempuh oleh penulis adalah SD Al-Azhar Syifa Budi Pekanbaru pada tahun 2011 dan lulus pada tahun 2016. Kemudian penulis melanjutkan pendidikannya di SMP Islam Al-Bayyinah Pekanbaru dan lulus pada tahun 2019. Penulis melanjutkan pendidikannya ke SMAN 8 Pekanbaru dan lulus pada tahun 2021. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikannya di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur penerimaan Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif berorganisasi di Forum Studi Islam (FSI) sebagai anggota dari divisi Hubungan Masyarakat di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Untuk menyelesaikan pendidikannya di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan memenuhi syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran, penulis melakukan penelitian dengan judul **“Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*”**.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Aku persembahkan seluruh perjalanan ini kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala, yang tidak pernah meninggalkanku. Untuk Mama, Papa, Bang Andre, dan Nadya yang selalu mendo'akan dan mendukungku.

*Cukuplah Allah menjadi penolong kami dan Allah  
adalah sebaik-baik pelindung*

(QS. Ali 'imran: 173)

## SANWACANA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***” sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Selama penyelesaian studi dan penulisan skripsi ini, penulis banyak memperoleh bantuan saran, bimbingan, dan arahan dari berbagai pihak. Maka dengan segala rasa syukur dan kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM., selaku Rektor Universitas Lampung
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
3. Dr. dr. Ety Apriliana, M.Biomed., selaku pembimbing I atas kesediaannya memberikan waktu, ilmu, nasihat, saran, kritik, serta motivasi yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu Hesti Yuningrum, SKM., MPH, selaku pembimbing II atas kesediaannya memberikan waktu, membimbing, memberi pendapat, dan menuntun saya dalam penyusunan skripsi ini.
5. Guru besar Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed, selaku pembahas atas kesediaannya meluangkan waktu, pikiran, dan pendapat yang sangat membangun untuk menyelesaikan skripsi ini.

6. Dr. dr. Anggi Setiorini, M.Sc., selaku pembimbing akademik yang selalu memotivasi dan memberi nasihat selama menjalankan akademik di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
7. Seluruh dosen, staf pengajar, dan karyawan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas kesediaannya memberikan ilmu, wawasan, dan bantuan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
8. Kedua orang tuaku, Mama dan Papa yang selalu ada untuk mendo'akan, menuntun, memberi semangat, dan memberi cinta kasih yang sangat melimpah.
9. Bang Andre dan Nadya yang menjadi sahabatku yang selalu mendengarkan keluh kesah cerita dan tetap memberi semangat dalam menjalankan perkuliahan.
10. Sahabat terbaikku Dela, Enji, dan Depin, terima kasih buat selalu ada disaat aku senang dan susah selama masa perkuliahan ini dan aku berharap semoga kedepannya kita tetap sama-sama sukses.
11. Teman dekatku, Komang Yulia Santhi yang selalu memberi semangat dan masukan dalam menjalani kehidupan perkuliahan.
12. Teman-teman Purin-Pirimidin yang telah mewarnai kehidupan perkuliahan.
13. Kepada diriku sendiri, Isaura, terimakasih karena tetap selalu berpikir positif, bersyukur, bertawakal, dan tetap menjalani ini semua dengan baik dan sehat.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih belum sempurna dan banyak kekurangan. Namun, skripsi ini telah penulis selesaikan dengan penuh semangat dan perjuangan. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat untuk banyak pihak. Semoga kita senantiasa selalu bersyukur dan bertawakal. Amin.

Bandar Lampung, Mei 2025

Penulis,

Isaura Dewi Fauzi

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Bagi Bidang Ilmu Mikrobiologi.....	5
1.4.2 Bagi Peneliti .....	5
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	5
1.4.4 Bagi Peneliti Selanjutnya .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1. <i>Streptococcus aureus</i> .....	7
2.1.1 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
2.1.2 Metode Transmisi.....	9
2.1.3 Morfologi dan Karakteristik Pertumbuhan .....	9
2.1.4 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.1.5 Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
2.2 <i>Escherichia coli</i> .....	15
2.2.1 Morfologi .....	16

2.2.2	Klasifikasi <i>Escherichia coli</i> .....	17
2.2.3	Struktur Antigen <i>Escherichia coli</i> .....	18
2.2.4	Patogenesis <i>Escherichia coli</i> .....	19
2.3	Uji Aktivitas Bakteri .....	25
2.3.1	Metode Difusi.....	25
2.3.2	Metode Dilusi.....	27
2.4	Daun Pepaya.....	27
2.4.1	Klasifikasi Daun Pepaya .....	29
2.4.2	Potensi Antibakteri Tanaman Pepaya .....	29
2.4.3	Gambaran Umum Daun Pepaya.....	30
2.4.4	Manfaat Daun Pepaya .....	30
2.4.5	Kandungan Daun Pepaya .....	33
2.5	Simplisia.....	36
2.6	Ekstraksi .....	37
2.6.1	Metode Ekstrak Maserasi.....	37
2.7	Kerangka Teori.....	39
2.8	Kerangka Konsep .....	40
2.9	Hipotesis Penelitian.....	40
<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>41</b>
3.1	Desain Penelitian.....	41
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian .....	41
3.2.1	Tempat Penelitian.....	41
3.2.2	Waktu Penelitian .....	41
3.3	Bahan Uji dan Bakteri Uji.....	42
3.3.1	Bahan Uji.....	42
3.3.2	Bakteri Uji.....	42
3.3.3	Media Kultur .....	42
3.4	Identifikasi variabel.....	42
3.4.1	Variabel Independen .....	42
3.4.2	Variabel Dependen.....	42
3.5	Definisi Operasional.....	43
3.6	Besar Sampel.....	43

3.7	Prosedur Penelitian.....	44
3.7.1	Persiapan .....	44
3.7.2	Sterilisasi Alat .....	45
3.7.3	Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya.....	45
3.7.4	Uji Fitokimia .....	47
3.7.5	Uji Diameter Zona Hambat .....	47
3.8	Pengolahan dan Analisis Data.....	49
3.8.1	Pengolahan Data.....	49
3.8.2	Analisis univariat.....	51
3.8.3	Analisis bivariat.....	51
3.9	Etika penelitian.....	52
3.10	Alur penelitian.....	53
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>54</b>
4.1.	Hasil penelitian.....	54
4.1.1	Rendemen Ekstrak.....	54
4.1.2	Determinasi Tanaman .....	55
4.1.3	Uji Skrining Fitokimia .....	55
4.1.4	Hasil uji daya hambat antibakteri pada <i>S. aureus</i> .....	55
4.1.5	Hasil uji daya hambat anribakteri pada <i>Escherichia coli</i> .....	59
4.1.6	Analisis Bivariat.....	63
4.2	Pembahasan.....	65
4.2.1	Uji Skrining Fitokimia .....	65
4.2.2	Uji Daya Hambat Antibakteri Ekstrak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	66
4.2.3	Uji Daya Hambat Antibakteri Ekstrak terhadap <i>Escherichia coli</i> .....	66
4.2.4	Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya terhadap Kontrol Positif dalam Menghambat Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	68
4.3	Keterbatasan Penelitian .....	71
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>72</b>
5.1	Kesimpulan.....	72

5.2 Saran.....	72
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>74</b>

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 1.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
<b>Gambar 2.</b> <i>Escherichia coli</i> .....	16
<b>Gambar 3.</b> Daun <i>Carica papaya L.</i> .....	28
<b>Gambar 4.</b> Kerangka Teori Penelitian .....	39
<b>Gambar 5.</b> Kerangka Konsep Penelitian.....	40

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
<b>Tabel 1.</b> Definisi Operasional Variabel Dependen dan Independen Penelitian ...	43
<b>Tabel 2.</b> Jumlah Ekstrak yang Diperlukan .....	46
<b>Tabel 3.</b> Kategori Zona Hambat .....	49
<b>Tabel 4.</b> Diameter Zona Hambat (mm) Ekstrak Daun Pepaya pada <i>Staphylococcus aureus</i> .....	57
<b>Tabel 5.</b> Diameter Zona Hambat (mm) Ekstrak Daun Pepaya pada <i>Escherichia coli</i> .....	61
<b>Tabel 6.</b> Hasil Uji One Way ANOVA Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
<b>Tabel 7.</b> Hasil Uji Post hoc LSD Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> .....	64
<b>Tabel 8.</b> Hasil One Way ANOVA Kelompok <i>Escherichia coli</i> .....	64
<b>Tabel 9.</b> Hasil Uji Post hoc LSD Kelompok <i>Escherichia coli</i> .....	65

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Bakteri merupakan mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan infeksi, mulai dari ringan hingga berat, yang berdampak pada morbiditas dan mortalitas. Infeksi berat sering kali disebabkan oleh faktor virulensi, yaitu kemampuan bakteri dalam menimbulkan penyakit dan dapat mempersulit proses pengobatan (Ikuta dkk, 2022). Prevalensi dan kematian akibat infeksi meningkat secara signifikan di berbagai negara, termasuk Indonesia, dengan tingkat prevalensi tertinggi mencapai 30,4% (Spagnolo dan Maria, 2024; Goh dkk, 2023).

Bakteri yang sering menyebabkan infeksi serius pada manusia, yaitu *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*) dan *E. coli* (*Escherichia coli*). *S. aureus* menyebabkan lebih dari 1 juta kematian di seluruh dunia pada tahun 2019. Begitu pula, *E. coli* yang menyebabkan jumlah kematian yang signifikan. Pada sebuah penelitian menunjukkan bahwa *S. aureus* dan *E. coli* adalah penyebab utama kematian akibat infeksi, terutama dalam kasus infeksi aliran darah dan peritoneum (Ikuta dkk, 2022).

*S. aureus* dikenal sebagai bakteri patogen yang menyebabkan berbagai infeksi kulit serta infeksi invasif serius di seluruh dunia. Bakteri ini merupakan penyebab utama pneumonia, infeksi saluran pernapasan, infeksi pasca operasi, gastroenteritis, serta infeksi terkait perangkat medis. Dalam kondisi normal dengan sistem kekebalan tubuh yang baik, *S. aureus* tidak menyebabkan

infeksi. Namun, ketika sistem kekebalan tubuh menurun dan kemampuan bakteri untuk membentuk biofilm (kumpulan bakteri yang melekat pada suatu permukaan dan dilindungi oleh lapisan matriks yang dikeluarkan oleh bakteri) meningkat, infeksi *S. aureus* menjadi sulit diobati dengan antibiotik (Suarmayasa, 2023).

Infeksi *S. aureus* dapat menyebabkan resistensi terhadap terapi antibiotik, seperti MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*), serta meningkatkan angka kematian, morbiditas, dan durasi rawat inap yang lebih lama dibandingkan infeksi yang masih responsif terhadap antibiotik. Meskipun infeksi MRSA di rumah sakit menurun di beberapa negara, infeksi MRSA masih meningkat di negara-negara berkembang (Cheung dkk, 2021). Di Indonesia, prevalensi MRSA diperkirakan berkisar 25%-50%, dengan data surveilans nasional di delapan rumah sakit rujukan menunjukkan kisaran 25%-65% dan rata-rata 38% (Mandagi dkk, 2022; Dahesihdewi, 2017).

*E. coli* adalah bakteri yang dapat menyebabkan infeksi di luar usus atau ExPEC (*Ekstraintestinal Pathogenic Escherichia coli*) maupun di dalam usus. ExPEC dapat memicu berbagai infeksi, seperti kolesistitis, pielonefritis, dan infeksi saluran kemih. Jika infeksi menyebar secara sistemik, kondisi ini dapat dikenal sebagai IED (*Invasive E. coli Diseases*), yang dapat mengakibatkan sepsis dan bahkan kematian (Doua dkk, 2023). ExPEC merupakan penyebab utama penyakit bakteri invasif di dunia, melampaui patogen lain seperti *S. aureus* dan *Klebsiella*. Sebuah penelitian di Spanyol melaporkan bahwa *E. coli* menyebabkan lebih dari 40% infeksi aliran darah (Crespo dkk, 2021).

Infeksi *E. coli* dapat menyebabkan resistensi terhadap terapi antibiotik yang menimbulkan tantangan dalam pengobatan, terutama sefalosporin (Doua dkk, 2023). Sebagian besar penularan infeksi *E. coli* terjadi melalui rute fekal-oral, yakni melalui makanan atau air yang terkontaminasi tinja, dengan 60% infeksi komunitas *E. coli* yang menghasilkan enzim ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) yang berasal dari penularan antar manusia. Sebuah studi global

menunjukkan prevalensi *E. coli* ESBL di usus sebesar 16,5%, dengan angka tertinggi di Asia Tenggara (Bezabih dkk, 2021). Meskipun sebagian besar strain *E. coli* bersifat non-patogen (tidak menyebabkan penyakit), beberapa strain dapat menyebabkan berbagai penyakit usus. Salah satu, yaitu *Shiga toxin-producing E. coli* (STEC) O157, yang menyebabkan sekitar 3.270 rawat inap dan 30 kematian dan infeksi oleh STEC non-O157 diperkirakan menyebabkan sekitar 169.000 kasus dan 400 rawat inap setiap tahunnya (CDC, 2024). Di Indonesia, penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar kasus diare akut disebabkan oleh *E. coli* patogen (Masyeni dkk, 2017).

Menghadapi tantangan resistensi antibiotik yang terus meningkat, pengembangan obat baru dari bahan alami menjadi pilihan penting untuk menggali potensi antibiotik. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai sumber obat alami adalah pepaya (*Carica papaya L.*). Tumbuhan ini sangat mudah ditemukan dan telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Berbagai bagian dari pepaya, termasuk biji, daun, akar, bunga, kulit kayu, dan lateks, telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit (Sharma dkk, 2022).

Berdasarkan data *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases* (USDA) yang diambil pada *U.S Department of Agriculture, Carica papaya L.* mengandung berbagai senyawa kimia, seperti flavonoid, yang berperan dalam mengurangi permeabilitas sel dengan berinteraksi pada dinding sel bakteri. Konsentrasi flavonoid dalam daun pepaya berkisar antara 0-2000 ppm (*parts per million*), yang cukup signifikan untuk memberikan efek antibakteri. Selain itu, terdapat juga tanin yang menyebabkan koagulasi protein dan pengerutan dinding atau membran sel, sehingga aktivitas hidupnya terhambat dan berpotensi menyebabkan kematian sel. Konsentrasi tanin berkisar antara 5000-6000 ppm (Ambakesari dkk, 2022). Alkaloid, yang juga terdapat dalam daun pepaya, mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk sempurna, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel. Konsentrasi alkaloid berkisar antara 1300-15000

ppm, dengan karpain sebagai turunan utama alkaloid yang memiliki aktivitas biologis signifikan (USDA, 1992-2016).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya memiliki daya hambat paling signifikan dibandingkan biji, kulit buah, dan daging buah. Daya hambat terhadap *S. aureus* mencapai 18,6 mm dan terhadap *E. coli* 18,3 mm dengan metode difusi agar *Kirby-Bauer* pada konsentrasi 100%, dengan metode difusi cakram, daya hambat terhadap *E. coli* tercatat sebesar 14,11 mm pada konsentrasi yang sama. Metode difusi agar *Kirby-Bauer* juga menunjukkan daya hambat sebesar 9,1 mm terhadap *E. coli* dan 13,2 mm terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 200%. Namun, dengan metode difusi sumuran, ekstrak daun pepaya pada konsentrasi yang lebih rendah, yaitu 60%, mampu menghasilkan daya hambat terbesar terhadap *S. aureus*, dengan diameter zona hambat sebesar 16,33 mm (Ambakesari, 2022; Putri dan Trimulyo, 2023). Hasil ini menunjukkan bahwa metode difusi sumuran mampu memberikan hasil yang optimal bahkan pada konsentrasi lebih rendah, sehingga menjadi metode yang dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut.

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dalam berbagai penelitian sebelumnya. Mengingat hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan hasil daya hambat ekstrak daun pepaya pada konsentrasi lebih rendah dengan metode difusi sumuran, peneliti memilih metode sumuran untuk mendapatkan data yang lebih akurat mengenai potensi antibakteri ekstrak daun pepaya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

## 1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang didapat pada penelitian ini adalah:

Apakah ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.
2. Mengetahui daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan *E. coli*.
3. Mengetahui daya hambat antar konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan *S. aureus*.
4. Mengetahui daya hambat antar konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan *E. coli*.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Bagi Bidang Ilmu Mikrobiologi**

Menambahkan referensi mengenai cara penyebaran bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, serta cara kerja ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dalam pemanfaatannya sebagai agen antibakteri. Hal ini dapat menjadi dasar teori dalam pengobatan tradisional untuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

#### **1.4.2 Bagi Peneliti**

Menambah pengetahuan, mengembangkan keterampilan riset, berkontribusi pada ilmu kesehatan melalui publikasi, dan membangun jaringan kolaborasi dengan para ahli di bidang mikrobiologi, farmasi, dan kesehatan masyarakat yang berpotensi membuka peluang penelitian lebih lanjut lagi.

#### **1.4.3 Bagi Masyarakat**

Membantu masyarakat mendapatkan informasi mengenai daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

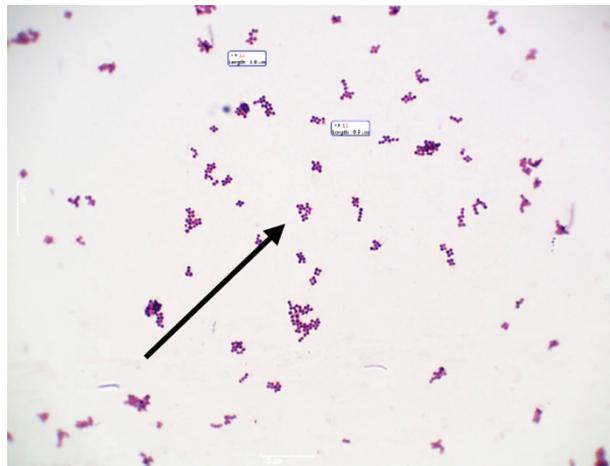
#### **1.4.4 Bagi Peneliti Selanjutnya**

Dapat dijadikan sebagai dasar penelitian untuk dilakukannya penelitian yang serupa dan berkaitan dengan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai agen antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* atau dapat mencari bahan ekstrak lain terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dan terhadap ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) namun menggunakan bakteri lain.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Streptococcus aureus*

*S. aureus* merupakan bakteri Gram-positif berbentuk kokus yang termasuk dalam famili Micrococcaceae, bersama dengan spesies lain yang memiliki kepentingan medis dan veteriner seperti *S. epidermidis*, *S. pseudintermedius*, dan *S. schleiferi*. Bakteri ini bersifat katalase positif dan oksidase negatif, serta umumnya ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan mukosa hidung individu sehat (Bashabsheh dkk, 2024).



**Gambar 1.** *Staphylococcus aureus* (Karimela dkk., 2017).

*S. aureus* sering ditemukan dalam kelompok yang menyerupai anggur ketika diamati di bawah mikroskop setelah pewarnaan Gram. Pengamatan melalui mikroskop elektron menunjukkan sel berbentuk bulat dengan permukaan halus dan diameter berkisar antara 0,5 hingga 1,0  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini aerobik dan anaerob fakultatif, membentuk koloni berwarna kuning atau putih pada media agar yang

kaya nutrisi, dengan warna kuning berasal dari karotenoid yang diproduksi oleh bakteri ini, yang juga menjadi alasan penamaannya "*aureus*" yang berarti emas dalam bahasa Latin. Bakteri ini juga mampu bertahan di media dengan kandungan garam tinggi, seperti *Mannitol Salt Agar* (MSA), yang mengandung 7,5% natrium klorida (Gnanamani dkk, 2017).

*S. aureus* dapat menyebabkan berbagai infeksi saat masuk melalui luka atau celah pada kulit. Bakteri ini dapat menjadi penyebab infeksi yang didapat baik di masyarakat maupun di rumah sakit, seperti furunkel, impetigo, pneumonia, sindrom syok toksik, infeksi tulang, hingga bakteremia. Selain itu, kemampuannya memproduksi berbagai toksin menjadikannya agen penting dalam kasus keracunan makanan (Bashabsheh dkk, 2024).

### 2.1.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* awalnya dianggap sebagai anggota keluarga *Micrococcae*. Namun, berdasarkan analisis molekuler dan filogenetik, stafilokokus tidak lagi dianggap berhubungan erat dengan mikrokokus, sehingga diklasifikasikan ke dalam keluarga yang berbeda, yaitu *Staphylococcaceae*. *S. aureus* termasuk dalam keluarga *Staphylococcaceae* dan genus *Staphylococcus*. Berdasarkan kemampuannya menggumpalkan plasma, stafilokokus dibagi menjadi dua kelompok, yaitu stafilokokus koagulase positif dan stafilokokus koagulase negatif. Stafilokokus koagulase positif terdiri dari *S. aureus* (Pal dan Koliopoulos, 2021).

*S. aureus* diklasifikasikan sebagai berikut, menurut Sasongko (2020):

Kingdom : Bacteria  
Filum : Protophyta  
Kelas : Schizomycetes  
Ordo : Eubacteriales  
Famili : Micrococcaceae  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus* yang disebut *staphylococcus* koagulase positif dapat menyebabkan infeksi yang lebih serius dibandingkan dengan *Staphylococcus* koagulase negatif. *Staphylococcus* koagulase positif menghasilkan berbagai faktor virulensi, termasuk toksin dan enzim, yang membuatnya lebih mudah menyebabkan penyakit, dengan enzim koagulase sebagai salah satu yang paling penting. *S. aureus* adalah contoh yang paling umum dari kelompok ini. Sementara itu, sebagian besar *Staphylococcus* koagulase negatif adalah bakteri yang tidak berbahaya, hidup di sekitar manusia dan hewan tanpa menyebabkan penyakit, dan sering ditemukan pada makanan sebagai saprofit (organisme yang memecah bahan organik mati atau membusuk) (Pal dan Koliopoulos, 2021).

### **2.1.2 Metode Transmisi**

Pada manusia, penularan bisa terjadi melalui konsumsi makanan yang mengandung enterotoksin dan melalui kontak langsung dengan luka bernanah atau dengan pembawa bakteri. Kondisi sanitasi yang buruk dan lingkungan komunitas yang padat meningkatkan paparan terhadap *S. aureus*. Penularan *S. aureus* antara hewan dan manusia diketahui dapat terjadi. Hewan yang terinfeksi dapat menyebarkan strain (subtipe) yang resisten tidak hanya pada manusia, tetapi juga pada bahan makanan mentah yang ditujukan untuk pemrosesan lebih lanjut (Fayisa dan Tuli, 2023).

### **2.1.3 Morfologi dan Karakteristik Pertumbuhan**

*S. aureus* adalah organisme yang tahan terhadap kekeringan dan kondisi osmotik tinggi. Bakteri ini dapat bertahan hidup di lingkungan yang kering dan penuh tekanan, seperti di hidung dan kulit manusia, serta pada permukaan benda mati seperti pakaian dan benda lainnya. Penyebaran luas bakteri ini sebagian disebabkan oleh kemampuannya untuk mendeteksi perubahan kondisi lingkungan dan merespons dengan cara

yang sesuai, beradaptasi dengan berbagai perubahan lingkungan. Meskipun demikian, proses-proses adaptasi fisiologis *S. aureus* terhadap berbagai lingkungan yang tidak menguntungkan masih belum sepenuhnya dipahami (Pal dan Koliopoulos, 2021).

Rentang suhu pertumbuhan untuk *S. aureus* adalah 7–48°C, dengan suhu optimum pada 37°C. *S. aureus* tahan terhadap pembekuan dan dapat bertahan dengan baik pada suhu -20°C. Namun, kelangsungan hidupnya menurun pada suhu -10 hingga 0°C (Fayisa dan Tuli, 2023). Telah terbukti bahwa *S. aureus* dapat beradaptasi, bertahan, dan bahkan berkembang biak pada suhu rendah dan dalam konsentrasi natrium klorida (NaCl) yang tinggi (Pal M dan Koliopoulos, 2021). Pertumbuhan *S. aureus* terjadi pada rentang pH 4,0–10,0, dengan pH optimum 6–7. *S. aureus* termasuk bakteri anaerob fakultatif, sehingga dapat tumbuh baik dalam kondisi aerobik (dengan oksigen) maupun anaerobik (tanpa oksigen). Namun, pertumbuhannya terjadi pada tingkat yang lebih lambat dalam kondisi anaerobik (Fayisa dan Tuli, 2023).

*S. aureus* memiliki banyak protein permukaan yang disebut MSCRAMM (*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*). Protein permukaan ini berperan dalam pembentukan infeksi dengan menempel pada permukaan jaringan inang. Mereka berikatan dengan berbagai komponen seperti fibrinogen, kolagen, dan fibronektin, yang memungkinkannya menempel pada jaringan mukosa atau kulit inang. MSCRAMM sangat penting dalam memulai infeksi pada berbagai bagian tubuh inang, seperti infeksi perangkat prostetik, infeksi endovaskular, dan infeksi sendi serta tulang. Infeksi ini spesifik untuk berbagai jenis strain *S. aureus* karena adanya keragaman dalam komponen MSCRAMM di strain *S. aureus* (Bashabsheh dkk, 2024).

## 2.1.4 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

### 2.1.4.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan karakteristik dinding selnya. Pada pewarnaan Gram, *S. aureus* termasuk bakteri Gram-positif. Hal ini ditunjukkan dengan warna ungu yang muncul setelah pewarnaan. Warna ungu ini muncul karena bakteri mempertahankan pewarna kristal violet yang digunakan pada tahap awal pewarnaan (Hayati dkk, 2019).

Perbedaan hasil pewarnaan antara bakteri Gram-positif dan Gram-negatif disebabkan oleh struktur dinding sel. Pada bakteri Gram-positif, seperti *S. aureus*, dinding sel memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal, sehingga dapat menahan kristal violet. Sebaliknya, bakteri Gram-negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dan tidak dapat mempertahankan warna kristal violet setelah proses pencucian, sehingga warnanya berubah menjadi merah atau merah muda setelah diberi pewarna safranin sebagai pewarna kontras (Hayati dkk, 2019).

### 2.1.4.2 Uji Katalase

Produksi dan aktivitas katalase dapat dideteksi dengan menambahkan substrat  $H_2O_2$  ke kultur yang telah diinkubasi dengan tepat (18 hingga 24 jam). *S. aureus* menghasilkan enzim katalase yang mampu mengubah hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan oksigen, dan produksi  $O_2$  yang dihasilkan akan membentuk gelembung dalam tetesan reagen, menunjukkan uji positif. Organisme yang tidak memiliki sistem sitokrom juga tidak memiliki enzim katalase dan tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi  $O_2$  dan air, sehingga mereka dinyatakan negatif katalase. Aktivitas katalase sangat berguna untuk membedakan antara kelompok bakteri. Misalnya, *Enterococcus* yang secara morfologis mirip (katalase negatif) dan

*Staphylococcus* (katalase positif) dapat dibedakan menggunakan uji katalase (Fayisa dan Tuli, 2023).

#### **2.1.4.3 Uji Koagulase**

Sebagian besar *strain S. aureus* menghasilkan satu atau dua jenis koagulase, yaitu koagulase bebas dan terikat. Koagulase bebas adalah enzim ekstraseluler yang bereaksi dengan protrombin dan turunannya. Koagulase terikat terdapat pada permukaan dinding sel dan bereaksi dengan rantai a- dan B- fibrinogen plasma untuk membentuk koagulan. Koagulase bebas dapat dideteksi dengan uji koagulase dalam tabung, sedangkan koagulase terikat dapat dideteksi menggunakan uji koagulase (Fayisa dan Tuli, 2023).

#### **2.1.4.4 Mueller Hinton Agar (MHA)**

*Mueller Hinton Agar* (MHA) merupakan media padat yang paling umum digunakan dalam uji kepekaan antimikroba, termasuk metode difusi seperti *disk diffusion* atau metode sumuran. Media ini direkomendasikan oleh berbagai badan resmi seperti *World Health Organization* (WHO), *Food and Drug Administration* (FDA), serta *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) karena telah terbukti memberikan hasil yang stabil dan dapat diulang secara konsisten, dalam pengujian berbagai bakteri patogen. MHA memiliki komposisi nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme tanpa mengandung inhibitor tertentu yang dapat memengaruhi aktivitas antibakteri. Media ini memiliki pH netral (7,2-7,4), konsentrasi kation seperti  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  yang telah distandarisasi, serta kadar agar yang memungkinkan difusi senyawa antibakteri secara optimal (Bayot dan Bragg, 2024).

MHA mengandung *beef extract* dan *casein hydrolysate* yang menjadi sumber nitrogen, asam amino, dan vitamin untuk

mendukung pertumbuhan bakteri. Salin itu, kandungan pati dalam MHA mampu menyerap toksin yang mungkin dilepaskan oleh bakteri selama pertumbuhan, sehingga tidak mengganggu aktivitas antibiotik atau senyawa uji lainnya (Marliana dkk, 2022). Dengan parameter yang distandarisasi tersebut, MHA menjadi media yang ideal untuk uji antibakteri karena memungkinkan hasil akurat, konsisten, dan dapat dibandingkan antar penelitian. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan MHA sebagai media sumuran untuk mengukur aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

## **2.1.5 Patogenesis *Staphylococcus aureus***

### **2.1.5.1 Kolonisasi**

*S. aureus* menyebabkan penyakit dengan cara kolonisasi pada permukaan inang. Bakteri ini dapat dengan mudah berkolonisasi pada kulit atau permukaan mukosa manusia dan menyebabkan infeksi parah ketika bersentuhan dengan luka terbuka. Permukaan mukosa seperti rongga hidung, ketiak, selangkangan, tenggorokan, dinding vagina, dan saluran pencernaan adalah habitat umum bagi *S. aureus*. Rongga hidung merupakan tempat yang paling penting untuk kolonisasi. Sekitar 20% individu memiliki kolonisasi nasal dengan strain *S. aureus*, sedangkan 30% individu lainnya memiliki kolonisasi sementara dengan berbagai strain *S. aureus*. Sistem pertahanan dan mikroorganisme yang ada di rongga hidung manusia melindungi dari kolonisasi *S. aureus*. Ketika *S. aureus* bersentuhan dengan epitel hidung, bakteri ini dapat menyerang dan menempel pada sel epitel menggunakan protein yang terikat pada permukaan, seperti molekul MSCRAMM. Selain MSCRAMM, komponen bakteri lainnya juga penting untuk perlekatan dan adhesi pada sel epitel rongga hidung. Komponen sistem imun inang seperti IgA,

laktoferin, lisozim, dan peptida antimikroba melindungi sel inang dari kolonisasi bakteri. Kolonisasi lebih sering terjadi pada pasien dengan diabetes dan HIV serta pada anak-anak yang lebih muda (Bashabsheh dkk, 2024).

#### **2.1.5.2 Patogenesis**

*S. aureus* merupakan bakteri yang dapat menetap pada kulit atau jaringan mukosa dan berkembang biak dengan membentuk biofilm untuk menghindari sistem pertahanan inang. Bakteri ini juga mampu menempel dan bertahan di sel epitel maupun endotel, serta membentuk varian koloni kecil (*small colony variants/SCVs*) yang berperan penting dalam terjadinya infeksi berulang dan persisten. SCVs memiliki kemampuan untuk bersembunyi di dalam jaringan inang tanpa merusak sel, sehingga tetap terlindungi dari sistem imun dan antibiotik. Pada kondisi tertentu, SCVs dapat berubah kembali menjadi fenotipe virulen dan menimbulkan infeksi ulang. *S. aureus* dapat hidup baik di dalam maupun di luar sel inang, dan infeksi umumnya terjadi saat bakteri bersentuhan dengan luka terbuka, yang kemudian mengaktifkan gen virulensi. Saat memasuki jaringan inang, toksin yang dihasilkan *S. aureus* akan memicu cedera jaringan dan mengaktifasi sistem imun. Respon inflamasi pun meningkat, mendorong rekrutmen makrofag dan neutrofil ke lokasi infeksi untuk menelan patogen melalui sistem komplemen dan antibodi yang mengenali bakteri (Bashabsheh dkk, 2024).

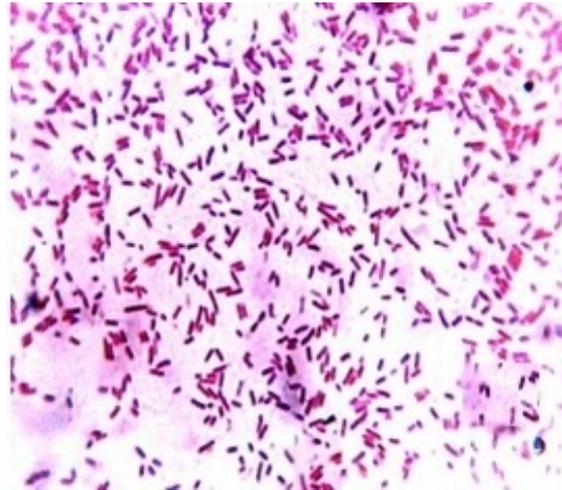
#### **2.1.5.3 Resistensi Antibiotik**

*S. aureus* memiliki berbagai mekanisme untuk menghindari sistem pertahanan tubuh inang. Bakteri ini dapat menghambat kemotaksis neutrofil dengan mengeluarkan protein tertentu, serta menghasilkan toksin yang merusak sel inang dan

membunuh sel leukosit. Selain itu, *S. aureus* mampu menghindari proses fagositosis dengan mencegah opsonisasi oleh sistem imun. Bakteri ini juga menunjukkan resistensi terhadap kerja enzim lisozim, yaitu bagian dari imunitas bawaan yang berfungsi memecah dinding sel bakteri. Lisozim bekerja dengan memutus ikatan glikosidik antara N-asetilmuramat (NAM) dan N-asetilglukosamin (NAG) pada peptidoglikan. Namun, *S. aureus* dapat menghambat aksi ini dengan memodifikasi gugus hidroksil C6 dari asam muramat melalui enzim O-asetiltransferase yang terikat membran. Modifikasi ini mencegah lisozim memutus ikatan NAM-NAG, sehingga bakteri menjadi resisten terhadap mekanisme pertahanan tersebut (Bashabsheh dkk, 2024).

## **2.2 *Escherichia coli***

*E. coli* adalah bakteri yang ditemukan oleh dokter anak asal Jerman, Theodor Escherich (1857-1911), yang mengisolasinya dari tinja bayi pada tahun 1885. *E. coli* merupakan bakteri Gram-negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, bersifat anaerob fakultatif, dan termasuk dalam kelompok koliform, yaitu bakteri indikator yang menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi fekal melalui kemampuan memfermentasi laktosa membentuk gas dari genus *Escherichia*. Bakteri ini umumnya ditemukan di lingkungan, makanan, dan di saluran pencernaan hewan berdarah panas. *E. coli* dapat bertahan lama di dalam tinja, tanah, dan air, serta sering digunakan sebagai indikator kontaminasi air. Dalam kondisi aerobik, bakteri ini berkembang biak dengan cepat dalam tinja segar selama 2-3 hari, tetapi jumlahnya akan menurun secara bertahap setelah itu (Basavaraju dan Gunashree, 2023).



**Gambar 2.** *Escherichia coli* (Yonis AE, 2017).

### 2.2.1 Morfologi

*E. coli* biasanya berbentuk batang lurus dengan ukuran 1-3  $\mu\text{m}$  x 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  dan memiliki flagela peritrik (flagella yang tersebar di seluruh permukaan tubuh) sehingga dapat bergerak, meskipun beberapa strain tidak bergerak. Pertumbuhan optimal *E. coli* terjadi pada suhu 37°C, namun beberapa strain laboratorium dapat berkembang pada suhu hingga 49°C. Dalam kondisi yang menguntungkan, *E. coli* dapat bereproduksi dalam waktu 20 menit. Beberapa strain memiliki fimbria (struktur seperti rambut halus yang membantu bakteri menempel) dan dapat bersifat motil (bergerak sendiri) atau non-motil (tidak dapat bergerak). Beberapa strain *E. coli* yang diisolasi dari infeksi ekstraintestinal memiliki kapsul polisakarida (lapisan pelindung dari molekul gula di luar dinding sel bakteri), yang dapat terlihat jelas dengan prosedur pewarnaan negatif (Basavaraju dan Gunashree, 2023).

Beberapa strain *E. coli* telah diidentifikasi sebagai probiotik yang baik. Meskipun sebagian besar strain *E. coli* aman, beberapa serotipe dapat menyebabkan diare ketika dikonsumsi melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, sementara yang lain dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, anemia, serta infeksi pernapasan atau ginjal. Beberapa strain *E. coli* telah berkembang menjadi patogen dengan memperoleh

faktor virulensi melalui plasmid (DNA melingkar kecil yang membawa gen tambahan), transposon (elemen genetik yang dapat berpindah di dalam genom), bakteriofag (virus yang menginfeksi bakteri), dan patogenisitas (kemampuan organisme menyebabkan penyakit) (Basavaraju dan Gunashree, 2023).

### 2.2.2 Klasifikasi *Escherichia coli*

*E. coli* diklasifikasikan sebagai berikut, menurut Mascellino (2020):

Kingdom : Bacteria  
Filum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma probacteria  
Ordo : Enterobacteriales  
Famili : Enterobacteriaceae  
Genus : *Escherichia*  
Spesies : *Escherichia coli*

*E. coli* adalah bakteri berbentuk batang dan Gram-negatif, yang memiliki fimbriae perekat serta dinding sel yang terdiri dari membran luar yang mengandung lipopolisakarida, ruang periplasmik dengan lapisan peptidoglikan, dan membran dalam yang sitoplasmik. Beberapa strain memiliki pilus dan mampu menerima serta mentransfer plasmid dari dan ke bakteri lain. Kemampuan ini memungkinkan *E. coli* bertahan dalam kondisi buruk atau stres. Meskipun memiliki struktur sel yang sangat sederhana, hanya dengan satu DNA kromosom dan satu plasmid, *E. coli* dapat melakukan metabolisme yang kompleks untuk menjaga pertumbuhan dan pembelahan sel. *E. coli* dapat menghasilkan oligomer amiloid yang larut dan mengendapkannya sebagai kurli (jenis serat amiloid sebagai biofilm) karena memiliki mesin nukleasi-pengendapan yang spesifik. Jaringan serat ini dapat mengikat *E. coli* ke sel inangnya. Namun, pentingnya keberadaan amiloid dalam *E. coli* masih belum diketahui (Mueller dkk, 2023).

### 2.2.3 Struktur Antigen *Escherichia coli*

Metode klasifikasi yang dikembangkan pada tahun 1970-an berdasarkan sifat dari 181 antigen O (komponen lipopolisakarida permukaan), 53 antigen H (yang menunjukkan kandungan protein flagela bakteri, sering dikodekan oleh gen *fliC*), dan 80 antigen K berbasis kapsul dari *E. Coli* (Geurtsen dkk, 2022).

#### 1. Antigen O

Antigen O merupakan komponen penting dari lipopolisakarida (LPS) yang terdapat pada membran luar bakteri Gram-negatif, termasuk *E. coli*. LPS sendiri terdiri dari tiga bagian utama: lipid A yang bersifat hidrofobik, oligosakarida inti yang tidak berulang, dan polisakarida yang terdiri dari beberapa unit oligosakarida berulang (*O-units*) yang masing-masing mengandung dua hingga delapan residu monosakarida. Bagian polisakarida inilah yang dikenal sebagai antigen O. Antigen O berperan sebagai faktor virulensi yang penting dalam *E. coli*, yang mempengaruhi kemampuan bakteri untuk bertahan hidup, menyerang, dan menimbulkan penyakit. Variabilitas dalam antigen O memberikan dasar bagi skema antigenik banyak bakteri Gram-negatif, dan beberapa bentuk antigen O secara tidak proporsional terdapat pada klon patogenik (Wang dkk, 2023).

#### 2. Antigen K

Antigen K atau kapsul polisakarida merupakan struktur permukaan penting pada *E. coli* yang berperan sebagai faktor virulensi utama. Kapsul ini membantu bakteri bertahan hidup di berbagai lingkungan tubuh manusia, menghindari sistem imun, serta menekan fagositosis dan kerusakan oleh peptida antimikroba, dengan meniru struktur polisakarida jaringan manusia, kapsul bersifat non-immunogenik, sehingga mendukung kolonisasi dan infeksi. Terdapat sekitar 80 tipe kapsular, tetapi hanya beberapa yang dikaitkan dengan infeksi invasif, seperti K1,

K4, dan K5, yang umum ditemukan pada *E. coli* patogen ekstraintestinal (ExPEC) penyebab infeksi aliran darah, pielonefritis, dan meningitis (Alonso dkk, 2023).

### 3. Antigen H

Antigen H, atau antigen flagelar, adalah protein yang terkait dengan flagela pada bakteri, termasuk *E. coli*. Antigen ini berperan penting dalam motilitas bakteri, memungkinkan mereka bergerak menuju lingkungan yang menguntungkan dan menjauh dari kondisi berbahaya. Dalam pengklasifikasian *E. coli*, antigen H digunakan untuk serotipe bakteri, membedakan berbagai strain berdasarkan variasi antigen ini, dan membantu dalam memahami epidemiologinya. Variabilitas antigen H di antara strain *E. coli* mempengaruhi respons imun tubuh, dengan struktur flagelar yang bervariasi menyebabkan perbedaan dalam serotipe. Antigen H juga berinteraksi dengan antigen permukaan lain seperti antigen O dan antigen K, mempengaruhi virulensi dan patogenesis bakteri. Studi tentang antigen H penting untuk pengembangan vaksin dan strategi melawan infeksi yang disebabkan oleh *E. coli*. Antigen, mempengaruhi virulensi dan patogenesis bakteri. Studi tentang antigen H penting untuk pengembangan vaksin dan strategi melawan infeksi yang disebabkan oleh *E. Coli* (Rai dan Mitchell, 2020).

#### 2.2.4 Patogenesis *Escherichia coli*

Strain patogen *E. coli* bertanggung jawab atas tiga jenis infeksi pada manusia: infeksi saluran kemih (ISK), meningitis neonatal, dan penyakit usus (gastroenteritis). Penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* dapat dibagi berdasarkan lokasi infeksi yang terbagi atas 2 yaitu infeksi ekstraintestinal dan intraintestinal (Sora dkk, 2021).

#### 2.2.4.1 Infeksi Ekstraintestinal

*Extraintestinal pathogenic Escherichia coli* (ExPEC) adalah bakteri yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, aliran darah, dan infeksi lain di luar saluran usus. ExPEC biasanya berada di dalam mikrobiota usus manusia (dan hewan) dan dapat menyebabkan infeksi ekstraintestinal dari reservoir ini. ExPEC didefinisikan berdasarkan jumlah dan susunan gen virulensi yang dimiliki ("definisi patogenisitas khusus") dan berdasarkan garis keturunan dominan di usus sebelum menyebabkan infeksi ekstraintestinal (Manges dkk, 2019).

1. *Escherichia coli uropatogenik* (UPEC)

*Escherichia coli uropatogenik* (UPEC) merupakan penyebab sebagian besar terjadinya infeksi saluran kemih, yang menyumbang sekitar 75% dari kasus yang tidak rumit dan dapat menyebabkan komplikasi serius, terutama pada populasi rentan. UPEC memulai infeksi melalui invasi periuretra, menggunakan fimbriae dan adhesin untuk berkolonisasi dan naik ke kandung kemih, yang mengakibatkan kerusakan jaringan dan potensi komplikasi seperti bakteremia. Patogenisitas UPEC ditingkatkan oleh kemampuannya untuk membentuk biofilm dan komunitas bakteri intraseluler (IBC), yang melindunginya dari respons imun inang dan pengobatan antibiotik (Zhou dkk, 2023).

2. *Neonatal Meningitis E. coli* (NMEC)

*Meningitis-causing Escherichia coli* (MNEC) adalah tipe patogen ExPEC yang terkait dengan kasus meningitis, terutama pada neonatus. Sekitar 80% isolat dari meningitis neonatal mengandung polisakarida kapsuler K1 yang memiliki sifat antifagosit. Infeksi oleh MNEC dimulai dengan translokasi bakteri ke dalam sistem peredaran darah, dan setelah mencapai konsentrasi tertentu, MNEC dapat

menembus penghalang darah-otak (BBB). MNEC umumnya memproduksi adhesin fimbria S yang berperan dalam pengikatan pada sel endotelial otak serta protein membran luar NlpI yang juga dapat membantu invasi ke sel endotelial otak. Selain itu, kapsul polisakarida K1 berperan dalam resistensi serum, sifat antiphagocytic, dan kelangsungan hidup intraseluler, menjadikannya faktor virulensi penting pada sebagian besar strain MNEC (Pokharel dkk, 2023).

### 3. *Septicemia Associated E. coli* (SEPEC)

Dalam sepsis, bakteri yang paling umum menyebabkan konsekuensi klinis serius adalah *S. aureus* dan *E. coli*. Infeksi *E. coli* biasanya menyebabkan penyakit usus, seperti diare berair atau berdarah, tetapi studi yang meneliti infeksi sistemik seperti sepsis dari *E. coli* masih jarang. Kolonisasi dan infeksi lokasi ekstraintestinal oleh *E. coli* adalah penyebab utama sepsis di rumah sakit dan komunitas. Molekul yang terkait dengan patogen dapat berinteraksi dengan reseptor pengenalan pola yang ada pada sel imun. Oleh karena itu, sel imun dalam darah pasien yang terinfeksi mungkin memiliki tanda transkripsi spesifik patogen. *E. coli* adalah penyebab umum *bakteremia*, dan infeksi sepsis oleh *E. coli* dapat menyebabkan gejala seperti demam tinggi, kedinginan, takikardia, hipotensi, dan sindrom disfungsi organ *multiple*. Masalah pembekuan darah dan respons inflamasi setelah infeksi juga dapat menyebabkan gejala seperti perdarahan dan ruam (Shao dkk, 2023).

#### 2.2.4.2 Infeksi Intraintestinal

##### 1. *Enteropathogenic E. coli* (EPEC)

Merupakan salah satu serotipe *E. coli* yang paling tua dan dikenal sebagai penyebab diare. Karakteristik utamanya

adalah kemampuannya untuk menempel pada sel-sel usus. Infeksi EPEC sering disertai dengan muntah dan suhu tubuh yang rendah, selain diare berair. Infeksi ini dapat terjadi pada bayi, dan wabah dapat muncul di unit perawatan neonatal. EPEC dapat menular antar manusia, dan jarang juga dapat menyebar melalui makanan dan air yang terkontaminasi. EPEC dikenal karena kemampuannya untuk menghasilkan lesi penempelan dan penghapusan (A/E) pada mikrovilus, yang menyebabkan kerusakan parah pada membran sel inang. Penempelan ini dimediasi oleh protein membran luar yang disebut intimin (Ekici dan Dumen, 2019). EPEC menyebabkan diare akut atau persisten, terutama pada anak-anak di bawah usia dua tahun, sering disertai dengan demam, muntah, dan dehidrasi. Gejala muncul dengan cepat setelah beberapa jam konsumsi bakteri, dan infeksi EPEC dapat berkembang menjadi diare persisten lebih dari dua minggu dengan komplikasi seperti dehidrasi dan malnutrisi. Meskipun EPEC sering ditemukan dalam infeksi usus campuran, deteksi tanpa ada gejala juga telah dilaporkan (Mare, 2021).

## 2. *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC)

*Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC) atau *Shiga toxin-producing E. coli* (STEC) menghasilkan diare berdarah akibat kemampuannya memproduksi racun *Shiga* 1 (Stx1) dan/atau *Shiga* 2 (Stx2). Stx1 dan Stx2 mirip dengan racun *Shiga* yang diproduksi oleh *Shigella dysenteriae*. EHEC/STEC yang memproduksi Stx2 menyebabkan diare berdarah dan mungkin juga memproduksi Stx1, sementara bakteri yang tidak memproduksi Stx2 tidak menyebabkan diare berdarah. EHEC/STEC juga mengkodekan intimin sebagai *adhesin* utamanya dan memiliki *plasmid* (pO157) yang memproduksi racun pembentuk pori yang disebut *EHEC-hemolisin*. Setelah

EHEC/STEC menempel dan menyebabkan kerusakan usus lokal, racun Stx memasuki tubuh dan menuju sel epitel organ target. Sel epitel glomerulus mengalami kerusakan serupa dengan sel enterosit, yang menyebabkan kematian sel dan pelepasan dari membran glomerulus. Kondisi inflamasi ini mengakibatkan trombosis dan aktivasi kaskade koagulasi, yang mengarah pada trombositopenia, anemia, dan kerusakan ginjal, dikenal sebagai triad HUS (*Hemolytic Uremic Syndrome*) (Mueller dkk, 2023).

### 3. *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC)

*Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) adalah patogen enterik utama yang menyebabkan diare, terutama pada anak-anak dan pelancong di negara berkembang. ETEC dikenal karena kemampuannya memproduksi faktor virulensi, termasuk faktor kolonisasi (CFs) dan *enterotoksin*, yang mengikat reseptor spesifik pada sel epitel dan memicu diare. Gejala infeksi ETEC terutama adalah diare, yang disebabkan oleh aksi *enterotoksin heat-labile* (LT) dan/atau *heat-stable* (ST) yang meningkatkan sintesis *nukleotida siklik*, menyebabkan kehilangan elektrolit dan air (Zhang dkk, 2022).

### 4. *Enteraggregative E. coli* (EAEC)

EAEC (*Enteraggregative Escherichia coli*) adalah patogen yang menyebabkan diare akut dan persisten (lebih dari 14 hari) terutama pada bayi. EAEC memiliki kemampuan khas untuk membentuk pola *adhesi* "tumpukan bata" pada sel epitel. Untuk infeksi, EAEC menggunakan beberapa *adhesin* (*fimbria adhesi agregatif*) untuk menempel pada enterosit dan membentuk biofilm. EAEC juga mengeluarkan *enterotoksin* serta sitotoksin yang menyebabkan sekresi elektrolit dan peradangan mukosa. Mekanisme patogenesis EAEC meliputi

adhesi terhadap mukosa usus, diikuti oleh produksi dan sekresi berbagai toksin seperti enterotoksin dan sitotoksin yang memicu diare sekretorik. Infeksi EAEC ditandai dengan diare *watery* dan kadang-kadang diare mukoid. Anak-anak yang terinfeksi EAEC sering mengalami gangguan pertumbuhan terlepas dari adanya diare. Di negara berkembang, EAEC sering dikaitkan dengan diare, namun ada juga kasus di mana EAEC ditemukan pada individu yang sehat. Keberagaman gen virulensi yang luas menjadikan pemantauan internasional dan pendekatan terapeutik menjadi tantangan (Dias dkk, 2020).

5. *Diffusely Adherent E. coli* (DAEC)

*Enterogastric Escherichia coli* (EAEC) adalah penyebab beberapa wabah diare di seluruh dunia, terutama terkait dengan diare inflamasi ringan pada anak-anak muda (<2 tahun) dan anak-anak yang kekurangan gizi, diare persisten pada orang dewasa dan anak-anak yang terinfeksi HIV, serta diare akut pada pelancong di negara berkembang dan negara industri. Selain menyebabkan diare pada anak-anak, dewasa, dan lansia, DAEC juga diketahui terkait dengan infeksi saluran kemih, komplikasi kehamilan, dan infeksi usus asimtomatik pada anak-anak dan dewasa (Pokharel dkk, 2023).

6. *Enteroinvasive E. coli* (EIEC)

*Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) menyebabkan diare inflamasi dengan cara menginvasi dan membunuh *enterosit kolon*. Mereka mirip dengan *Shigella* dalam hal antigen O, tidak bergerak, dan memiliki gen patogenik serupa pada *plasmid* besar yang mengkodekan protein permukaan yang memediasi invasi ke dalam sel. Infeksi EIEC jarang terjadi pada anak-anak di bawah usia 1 tahun tetapi dapat menjadi penyebab diare pada pelancong. Gejala klinis infeksi EIEC

mirip dengan infeksi *Shigella*. Diagnosis dilakukan melalui kultur tinja dan deteksi gen patogenik EIEC menggunakan amplifikasi PCR. (Baker S, 2024).

#### 7. *Adherent-Invasive E. coli* (AIEC)

*Escherichia coli* yang *adherent-invasif* (AIEC) dalam patogenesis penyakit radang usus (IBD), khususnya penyakit Crohn dan kolitis ulserativa. AIEC diketahui memiliki kemampuan untuk menempel dan menginvasi sel-sel epitelial usus, yang menyebabkan peradangan kronis dan respons imun yang memperburuk IBD. AIEC diakui sebagai patogen potensial dalam IBD dengan tingkat kolonisasi yang lebih tinggi pada mukosa usus pasien IBD dibandingkan dengan penyakit pencernaan lainnya, dan terkait dengan keparahan penyakit *Crohn*. AIEC menginvasi sel-sel epitelial usus dan dapat bertahan serta berkembang biak dalam makrofag, menyebabkan peradangan persisten dan aktivasi respons imun seperti sekresi TNF- $\alpha$  yang dapat menyebabkan pembentukan granuloma (Zheng dkk, 2022).

## 2.3 Uji Aktivitas Bakteri

### 2.3.1 Metode Difusi

#### 1. *Cup-plate technique*

*Cup-plate technique* atau *well diffusion* (difusi sumuran) dilakukan untuk menentukan daya hambat suatu antimikroba. Kemudian dibuat sumuran pada permukaan media MHA (*Mueller-Hinton Agar*) yang telah di isolasi mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut dan akan diamati dengan melihat zona bening yang terinduksi oleh antimikroba. Metode ini yang paling umum digunakan untuk mengukur potensi dan bioaktivitas antibiotik. Pertumbuhan mikroorganisme spesifik yang diinokulasi ke dalam agar dicegah di area atau zona melingkar di sekitar silinder yang mengandung

antibiotik. Prinsip dari uji ini adalah membandingkan seberapa banyak sampel yang diuji menghasilkan efek biologis yang serupa dengan jumlah tertentu dari persiapan standar. Metode difusi agar mengaitkan ukuran zona hambatan dengan dosis antibiotik yang diuji. Hubungan antara diameter zona hambatan dan konsentrasi antibiotik dalam larutan yang diaplikasikan di dalam cawan telah dipertimbangkan secara teoretis (Dafale dkk, 2016).

## 2. Tes *Kirby dan Baur*

Metode *Kirby-Bauer* adalah teknik difusi cakram yang digunakan untuk menilai sensitivitas atau resistensi bakteri patogen aerobik dan anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antimikroba. Mikroorganisme ditumbuhkan pada media agar dengan cakram kertas yang diresapi antimikroba. Tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme di sekitar cakram menunjukkan potensi senyawa antimikroba tersebut. Selain itu, metode pengenceran kaldu dan pengenceran agar digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dari agen antimikroba. Pengenceran kaldu menggunakan berbagai konsentrasi agen dalam kaldu, sementara pengenceran agar melibatkan memasukkan agen antimikroba ke dalam medium agar padat. Kedua metode ini bertujuan untuk mengidentifikasi konsentrasi terendah di mana agen antimikroba dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme (Dafale dkk, 2016).

## 3. *Epsilometer test (E-test)*

*Epsilometer test (E-test)* adalah metode kuantitatif untuk pengujian kepekaan antimikroba. Dalam E-test, sebuah strip pembawa tipis yang mengandung agen antimikroba ditempatkan pada piring agar yang telah diinokulasi. Setelah inkubasi, terbentuk *elips* hambatan yang tidak simetris. Titik perpotongan antara tepi zona hambatan dan strip pembawa yang terkalibrasi menunjukkan nilai konsentrasi hambat

minimum (KHM) dalam rentang konsentrasi yang luas (Dafale dkk, 2016).

### 2.3.2 Metode Dilusi

#### 1. Dilusi Perbenihan Cair (*Broth Dilution Test*)

Metode dilusi cair digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) suatu bahan uji terhadap bakteri. Metode ini lebih sensitif dibandingkan metode difusi dan memastikan homogenitas bahan uji, suspensi bakteri, dan media. Dalam metode ini, suspensi bakteri tersebar merata dalam cairan sehingga bahan uji dapat berinteraksi dengan bakteri secara optimal. *Broth dilution* membantu mengetahui konsentrasi minimum bahan uji yang mampu menghambat bakteri. Larutan yang ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) akan dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri, dan akan diinkubasi selama paling lama 24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi akan ditetapkan sebagai KHM (Pamudi dkk, 2023).

#### 2. Dilusi Perbenihan Padat (*Solid Dilution Test*)

Metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang telah dicampur dengan agen antibakteri. Setiap konsentrasi obat dicampurkan ke dalam media agar, kemudian bakteri ditanam dan diinkubasi. Keunggulan dari metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa jenis bakteri sekaligus untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Fitriana dkk, 2019).

## 2.4 Daun Pepaya

Daun pepaya (*Carica papaya L.*) termasuk dalam keluarga Caricaceae. Beberapa spesies dari keluarga Caricaceae telah digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit (Nisa, dkk, 2019). Tanaman pepaya adalah sumber nutrisi yang kaya akan vitamin A, B, dan C, serta memiliki kandungan kalsium dan

zat besi yang cukup baik. Pepaya mengandung enzim papain yang membantu pencernaan dan digunakan untuk mengobati luka serta beberapa penyakit mikroba, khususnya dapat melawan bakteri Gram-negatif pada dosis tinggi. Pepaya juga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, yang berfungsi untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah patogenesis. Getah pepaya mengandung berbagai enzim penting seperti papain, glycyyl endopeptidase, chymopapain, dan karikain, dengan jumlah yang bervariasi pada bagian-bagian tanaman (Singh dkk, 2020).



**Gambar 3.** Daun *Carica papaya L.* (Wadekar dkk, 2021)

Dalam beberapa tahun terakhir, banyak penelitian telah mengeksplorasi penggunaan terapeutik daun pepaya (*Carica papaya L.*). Daun pepaya (*Carica papaya L.*) telah digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit seperti demam, asma, kolik, beri-beri, dan penyakit kuning. Saat ini, berbagai metode digunakan untuk menyiapkan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*), dengan yang paling umum adalah ekstrak air, etanol, metanol, dan jus daun pepaya beku-kering untuk pencegahan berbagai penyakit. Daun pepaya (*Carica papaya L.*) mengandung karbohidrat, vitamin, lipid, dan protein, sehingga dapat digunakan sebagai agen nutrisi. Penelitian fitokimia menunjukkan bahwa daun muda pepaya mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan glikosida, yang memberikan sifat terapeutik seperti antibakteri, antiinflamasi, antivirus, hipoglikemik, dan antitumor (Singh dkk, 2020).

### 2.4.1 Klasifikasi Daun Pepaya

Klasifikasi menurut Wadekar (2021):

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Kelas	: Magnoliopsida
Subclass	: Dilleniidae
Filum	: Steptophyta
Ordo	: Brassicales
famili	: Caricaceae
Genus	: Carica
Spesies	: <i>Carica papaya</i> Linn.

### 2.4.2 Potensi Antibakteri Tanaman Pepaya

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari berbagai bagian tanaman dengan menggunakan pelarut etanol dan metode difusi. Sebagian besar studi menggunakan ekstrak dari daun atau biji dengan konsentrasi dan metode yang bervariasi.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pada konsentrasi 30% menggunakan difusi cakram didapatkan daya hambat 11,22 mm dan pada konsentrasi 20% didapatkan 14,4 mm dengan menggunakan bagian daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *S. aureus* (As'ad, 2024; Wulandari, 2021). Penelitian sebelumnya yang menggunakan bagian lain, seperti biji dengan 500 mg/ml ekstrak didapatkan 16,5 terhadap *S. aureus* dan 15,7 mm terhadap *E. coli* (Ginting, 2021). Menggunakan kombinasi kulit dan biji didapatkan daya hambat 15,6 mm terhadap *S. aureus* dan 14,9 terhadap *E. coli* (Ginting, 2023).

Pada fraksi polar daun, didapat daya hambat terhadap *S. aureus* sebesar 14,75 mm dan terhadap *E. coli* sebesar 11,53 mm, menunjukkan efektivitas ekstrak terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif (Kurniasari dkk, 2022). Penelitian lain, oleh Rahayu dkk (2019) dan

Satyarsa (2022), menunjukkan hasil serupa dengan zona hambat mencapai 17 mm dan 11,67 mm pada ekstrak biji dengan konsentrasi 100%. Secara keseluruhan, hampir seluruh penelitian menunjukkan kategori daya hambat kuat dari variasi bagian tanaman, konsentrasi ekstrak, dan metode uji yang digunakan.

### 2.4.3 Gambaran Umum Daun Pepaya

*Carica papaya L.* memiliki batang berbentuk silinder dengan diameter 10-30 cm, berongga, dan tanaman pepaya adalah herbal mirip pohon yang selalu hijau, dengan tinggi 2-10 m. Biasanya tidak bercabang, meskipun kadang-kadang memiliki bekas luka daun yang menonjol serta jaringan yang berserabut. Tanaman ini memiliki sistem perakaran yang luas. Daunnya tersusun spiral dan berkumpul di dekat puncak batang; tangkai daun bisa mencapai 1 m panjangnya, berongga, berwarna hijau atau hijau keunguan. Lamina daun berbentuk bundar, berdiameter 25-75 cm, berbentuk seperti telapak tangan, dengan 7 lobus yang dalam, permukaan halus, dan berurat menonjol; lobus daunnya bergerigi dalam dan lebar (Wadekar dkk, 2021).

### 2.4.4 Manfaat Daun Pepaya

#### 1. Antioksidan

Daun pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antioksidan yang bervariasi tergantung pada jenis daun, tingkat kematangan, dan jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun pepaya matang yang diekstraksi dengan air memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Enzim PaMsrB1 dari pepaya, yang diuji secara rekombinan menggunakan *E. coli*, menunjukkan aktivitas sebagai reduktase terhadap metionin sulfoksida. Protein ini berperan dalam mekanisme pertahanan terhadap stres oksidatif, yang diidentifikasi melalui kromatografi afinitas dan LC-MS/MS (Wadekar dkk, 2021).

## 2. Antibakteri

Ekstrak daun pepaya mengandung komponen antimikroba, seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin. Flavonoid yang bersifat lipofilik yang dapat merusak membran, meningkatkan permeabilitas, dan mengganggu metabolisme bakteri. Alkaloid dapat menghambat pembentukan peptidoglikan pada bakteri, yang menyebabkan pembentukan lapisan dinding sel tidak sempurna dan kematian bakteri. Efek antimikroba dari tanin dapat menonaktifkan adhesi mikroba, menonaktifkan enzim hidrolitik seperti protease dan karbohidrat, serta menghambat enzim dalam transpor protein pada membran sel, sehingga senyawa dalam ekstrak daun pepaya dapat mempengaruhi atau menghambat pertumbuhan koloni bakteri (Zaini WS dkk, 2023).

Ekstrak kloroform dan aseton dari daun pepaya mentah dan matang menunjukkan aktivitas antidiare terhadap patogen yang ditemukan di usus dengan menghambat aktivitas patogenik. Dalam penelitian sebelumnya, ekstrak daun pepaya matang menghambat aktivitas *pleisiomonas shigelloides* dengan nilai MIC dan MBC antara 100-0,39 Mg/ml. Dalam eksperimen terpisah dari penelitian ini, 200 Mg/kg ekstrak yang diperoleh dari daun pepaya (*Carica papaya L.*) menunjukkan aktivitas antidiare yang baik pada tikus percobaan. Hasil ini menunjukkan keamanan dan efek terapeutik dari daun pepaya (*Carica papaya L.*) (Ugbogu dkk, 2023).

## 3. Antiviral

Beberapa penelitian dan laporan kasus menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dapat meningkatkan jumlah trombosit secara cepat, diduga melalui stabilisasi membran sel darah merah. Dalam studi laboratorium, ekstrak ini menunjukkan aktivitas antivirus terhadap virus dengue (DENV), dengan menurunkan ekspresi protein virus, mengurangi jumlah virus, dan meningkatkan

produksi interferon tipe I (IFN-  $\alpha$ ). Pada model tikus, ekstrak juga memengaruhi gen yang terkait dengan permeabilitas pembuluh darah di hati. Meskipun mekanisme pastinya belum sepenuhnya dipahami, efek antivirus terhadap DENV telah dilaporkan, namun hasilnya masih bervariasi. Sementara itu, bukti efektivitas terhadap virus chikungunya (CHIKV) masih terbatas dan membutuhkan metode pengujian yang lebih valid (Patil P, dkk.2022).

#### 4. Antidiabetes

Penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun pepaya mengandung saponin, flavonoid, terpenoid, tanin, dan alkaloid yang memiliki efek hipoglikemik (gula darah terlalu rendah). Flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin berperan sebagai *antioksidan*, mengurangi stres oksidatif akibat *alloxan*. Alkaloid dan *saponin* merangsang sekresi insulin, sementara *terpenoid* meningkatkan penyerapan glukosa dengan meniru aksi insulin (Ugbogu dkk, 2023).

#### 5. Antikanker

Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak air dari daun pepaya (*Carica papaya L.*) pada konsentrasi  $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  dapat menghambat proliferasi sel tumor padat dalam uji *in vitro*, misalnya pada kanker serviks (Hela), adenokarsinoma payudara (MCF-7), karsinoma hepatoseluler (HepG2), adenokarsinoma paru-paru (PC14), karsinoma pankreas (Panc-1), dan mesothelioma (H2452) dengan cara yang bergantung pada dosis. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aksi anti-tumor. Untuk menentukan apakah penghambatan proliferasi ini berkaitan dengan penurunan viabilitas sel, ekstrak air daun pepaya juga terbukti menghambat proliferasi strain sel hematopoietik, termasuk limfoma sel T (Jurkat), leukemia sel plasma (ARH77), limfoma Burkitt (Raji), dan limfoma anaplastik sel besar (Karpas-299). Selain itu, ekstrak daun pepaya menunjukkan

aktivitas imunomodulator pada sel mononuklear darah tepi manusia (Santana, 2019).

#### 2.4.5 Kandungan Daun Pepaya

Daun pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan fenol. Sedangkan pucuknya mengandung berbagai mineral seperti Ca (kalsium), Fe (besi), Mg (magnesium), K (kalium), Zn (seng), Mn (mangan), dan lain-lain. Enzim seperti papain dan chymopapain terdapat pada buah yang belum matang. Buah pepaya juga mengandung karotenoid seperti  $\beta$ -karoten dan kriptoksantin. Komposisi kimia pada akar menunjukkan adanya benzyl isothiocyanate dan glukosinolat-karposida (Wadekar dkk, 2021). Ekstrak daun pepaya juga mengandung berbagai senyawa aktif seperti asam protokatekuat, asam p-kumarat, 5,7-dimetoksikumarina, asam kafeat, kaempferol, kuersetin, dan asam klorogenat. Senyawa-senyawa ini dikenal memiliki efek antimikroba yang potensial. Di samping itu, senyawa alkaloid carpaine dan turunannya seperti pseudocarpaine dan dehidrocarpaine I dan II juga ditemukan, yang diketahui memiliki efek terhadap mikroorganisme patogen, terutama yang memengaruhi saluran pencernaan. Kandungan lain yang juga ditemukan meliputi kolin, karposida, serta vitamin C dan E, yang memberikan efek antioksidan tambahan (Dwivedi dkk, 2020).

Berikut penjelasan alur dan mekanisme hambat senyawa aktif daun pepaya pada fungsi sel bakteri:

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa alami yang terdapat di hampir semua jenis tumbuhan dan berfungsi sebagai antibakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri. Senyawa ini dapat mengganggu komponen peptidoglikan, yang merupakan struktur penting yang memberikan kekuatan pada dinding sel bakteri, sehingga dinding sel tidak dapat terbentuk dengan sempurna (Maghfira SI dkk, 2023). Selain itu, alkaloid bekerja dengan menyisip ke sisi

hidrofobik protein di permukaan bakteri. Hidrofobik yang berarti sifat suatu molekul yang menolak air dan interaksi ini menyebabkan protein bakteri menggumpal dan kehilangan sifat hidrofobiknya. Akibatnya, bakteri tidak dapat menempel dengan baik pada sel inang, yang dikenal sebagai proses adhesi. Ketika adhesi terhambat, bakteri kehilangan kemampuan untuk menginfeksi, metabolismenya terganggu, dan pada akhirnya dapat menyebabkan kelemahan atau kematian sel bakteri (Pratiwi dkk, 2015).

## 2. Flavonoid

Salah satu antibakteri daun pepaya diduga berasal dari senyawa fenolik, yang mampu bereaksi dengan protein dan membentuk senyawa larut air yang stabil. Interaksi ini dapat merusak membran sel bakteri secara langsung dan menghambat pertumbuhannya. Di antara kelompok senyawa fenolik, flavonoid menonjol karena sifat antivirus, antimikroba, dan spasmolitiknya (Hariono dkk, 2021).

Flavonoid adalah senyawa aktif yang memiliki peran penting dalam melawan bakteri. Flavonoid yang bersifat lipofilik dapat berfungsi sebagai inhibitor enzim topoisomerase II, yang mencegah replikasi dan transkripsi DNA bakteri, menghambat pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri. Selain itu, flavonoid dapat berkaitan dengan protein di dinding bakteri dan melarutkan struktur dinding sel sehingga dapat merusak perlindungan bakteri (Ulhaq dkk, 2019).

Mekanisme kerja flavonoid berbeda untuk bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Pada bakteri Gram-positif, flavonoid biasanya menyerang membran sel, menyebabkan kebocoran komponen penting dan gangguan fungsi. Pada bakteri Gram-negatif,

flavonoid dapat menghambat enzim DNA girase yang esensial bagi replikasi DNA, meskipun efeknya pada membran tidak sekuat pada bakteri Gram-positif. Flavonoid juga dapat mengganggu rantai respirasi bakteri dengan menghambat kelompok kuinon, yang berperan dalam metabolisme energi bakteri. Daya hambat flavonoid dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri, sehingga mereka bekerja dengan cara yang beragam dan berpengaruh terhadap berbagai bakteri (Yan dkk, 2024).

### 3. Tanin

Tanin adalah senyawa alami yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak struktur dinding dan membran sel bakteri. Pada bakteri Gram-negatif seperti *E. coli*, tanin dapat lebih mudah menembus dinding sel yang lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram-positif. Tanin bekerja dengan menargetkan protein yang menjadi komponen penting dari dinding sel dan membran plasma bakteri. Ketika tanin berikatan dengan protein ini, mereka dapat menyebabkan kerusakan atau denaturasi, yang mengganggu metabolisme bakteri. Selain itu, tanin membentuk ikatan hidrogen dengan protein dalam sel bakteri, yang mengakibatkan denaturasi protein dan menghambat fungsi-fungsi vital, termasuk enzim metabolisme. Tanin juga berinteraksi dengan membran sel bakteri, bereaksi dengan protein dan fosfolipid di membran. Hal ini mengakibatkan kerusakan pada membran, yang membuat komponen penting di dalam sel, seperti ion dan molekul kecil bocor. Akibatnya, proses metabolisme terganggu, bakteri tidak dapat menyerap nutrisi dengan baik, dan sistem enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan energi menjadi tidak aktif. Semua gangguan ini menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, tanin dianggap memiliki potensi untuk digunakan sebagai agen antibiofilm, yang dapat merusak struktur biofilm yang melibatkan berbagai bakteri dan jamur seperti

*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, dan *Candida albicans*. Tanin merusak matriks esktraseluler biofilm yang merupakan penghalang pelindung bagi mikroba (Cahyani dkk, 2019).

#### 4. Saponin

Saponin adalah senyawa alami yang ditemukan dalam tumbuhan dan memiliki berbagai manfaat biologis, termasuk sebagai antibakteri, anti-inflamasi, antijamur, dan antivirus. Mekanisme utama saponin dalam melawan bakteri melibatkan interaksi dengan kolesterol yang ada di membran sel. Saponin dapat mengikat kolesterol dan membentuk kompleks saponin-kolesterol, yang menyebabkan membran sel rusak dan sel mengalami lisis atau pecah. Saponin juga dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dengan menempel pada bagian luar membran. Kerusakan membran ini dapat diukur dengan adanya kebocoran enzim *alkaline phosphatase* (AKP), yang berada di antara dinding sel dan membran sel. Jika AKP bocor keluar dari sel, itu menandakan kerusakan serius pada dinding sel. Semakin banyak kebocoran AKP, semakin parah kerusakan yang terjadi. Penelitian menunjukkan bahwa saponin dapat menyebabkan kebocoran AKP yang signifikan pada *S. aureus* yang menunjukkan adanya lisis dinding sel bakteri. Selain itu, konsentrasi protein larut dalam medium juga meningkat saat konsentrasi saponin bertambah, menandakan pelepasan protein dari dalam sel akibat kerusakan membran (Khan dkk, 2018).

### 2.5 Simplisia

Simplisia adalah bahan baku untuk pembuatan obat yang biasanya merupakan tumbuhan obat yang belum diolah, kecuali melalui proses pengeringan. Pengeringan simplisia bertujuan untuk menjaga keawetan, mempertahankan kualitas, serta mengurangi kadar air dan suhu pengeringan tidak melebihi 60°C. Simplisia nabati yang sudah kering lebih awet karena tidak mudah ditumbuhi

kapang dan jamur, sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama. Istilah simplisia tidak hanya merujuk pada bahan baku obat tradisional dari tumbuhan, tetapi juga dari hewan dan mineral, dan bukan berupa bahan kimia murni (BPOM RI, 2023; Evifania dkk, 2020).

## **2.6 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan zat berdasarkan perbedaan kelarutan dalam dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya berupa air dan pelarut organik (Badaring dkk, 2020). Prinsip yang digunakan dalam metode ekstraksi adalah prinsip "*like dissolve like*," di mana pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar (Syamsul dkk, 2020). Tujuan ekstraksi adalah untuk mengambil komponen kimia atau zat aktif dari sampel. Pemilihan pelarut didasarkan pada polaritas yang besar atau sifat semipolar, sehingga mampu melarutkan berbagai komponen kimia, baik yang bersifat polar maupun non-polar, dalam jumlah maksimal (Handoyo, 2020).

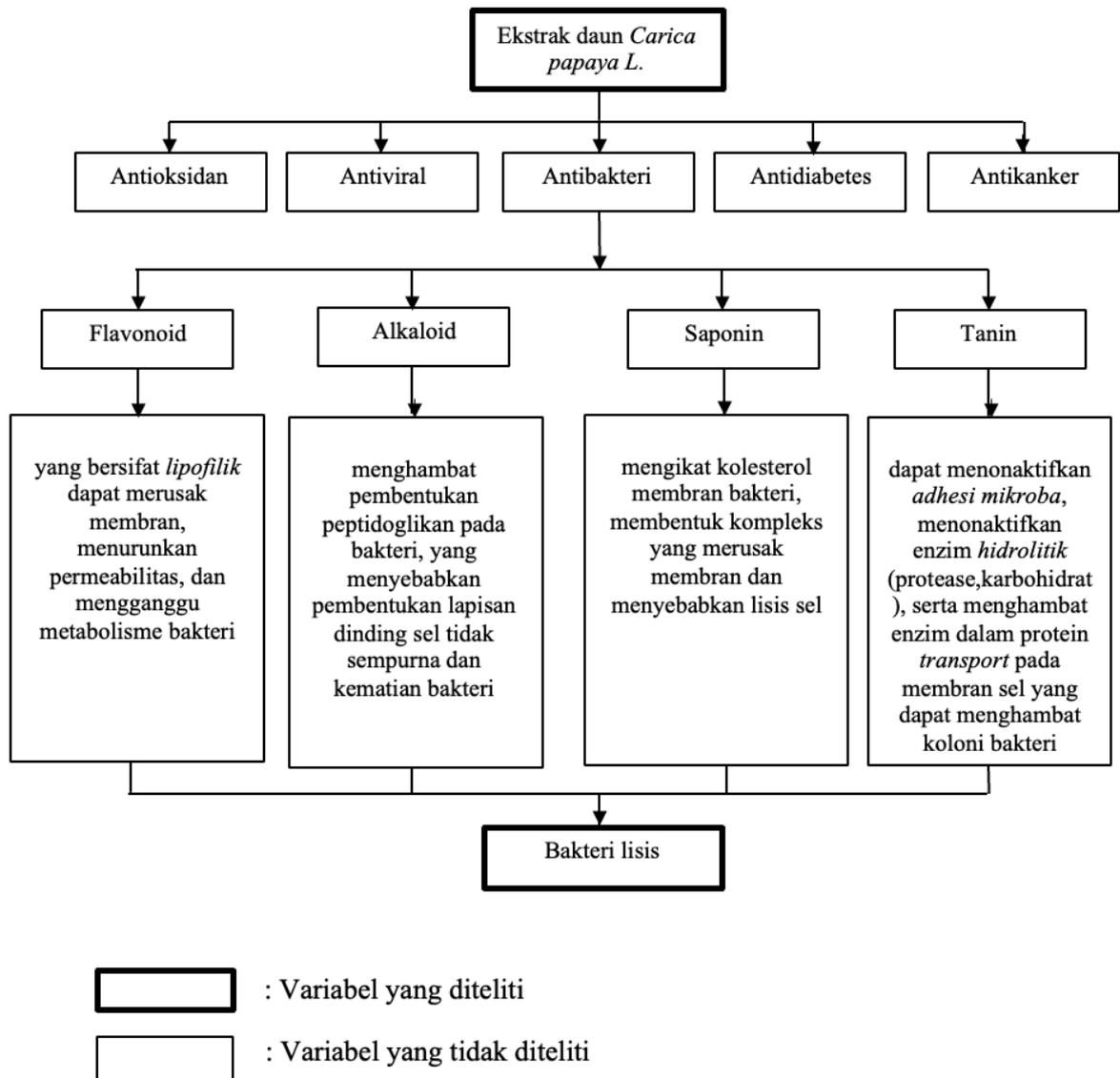
### **2.6.1 Metode Ekstrak Maserasi**

Maserasi adalah teknik ekstraksi paling sederhana, yang hanya melibatkan perendaman bahan tanaman atau serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai. Prinsip kerjanya berdasarkan kemampuan pelarut untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung berbagai komponen aktif. Zat aktif kemudian larut dalam pelarut. Perbedaan konsentrasi antara pelarut di dalam dan di luar sel menyebabkan komponen aktif terdorong keluar hingga tercapai titik keseimbangan. Proses ini terjadi berulang-ulang sampai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel tercapai. Metode maserasi bekerja dengan mendistribusikan zat terlarut berdasarkan perbandingan dua jenis pelarut yang tidak bercampur. Ekstraksi dengan maserasi memerlukan pengadukan beberapa kali pada suhu ruang, sehingga metode ini lebih mudah dibandingkan metode ekstraksi lainnya dan tidak memerlukan pemanasan. Ini bermanfaat untuk bahan alam yang mengandung komponen aktif yang mudah rusak jika terkena panas.

Durasi perendaman dalam maserasi memungkinkan lebih banyak komponen senyawa yang dapat larut dalam pelarut yang digunakan (Handoyo, 2020).

Terdapat beberapa kekurangan dari metode maserasi ini, yaitu prosesnya memakan waktu, membutuhkan banyak pelarut, dan ada kemungkinan beberapa senyawa hilang. Di sisi lain, maserasi juga dapat menghindari risiko kerusakan pada senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas (Badaring dkk, 2020). Teknik ini memerlukan pengadukan berulang untuk mempercepat proses ekstraksi oleh pelarut. Teknik ini cocok untuk simplisia atau bahan alam yang tidak tahan panas, guna menghindari kerusakan atau degradasi senyawa kimia aktif. Pemilihan pelarut didasarkan pada kelarutan dan polaritasnya, sehingga mempermudah pemisahan komponen senyawa aktif dalam sampel. Banyaknya senyawa yang dapat diekstraksi juga bergantung pada lamanya waktu perendaman simplisia (Handoyo, 2020).

## 2.7 Kerangka Teori



**Gambar 4.** Kerangka Teori Penelitian

(Zaini WS dkk, 2023; Ambakesari dkk, 2022; Khan dkk, 2018)



## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan *true experimental design* dengan rancangan *post-test only control group design*. Desain ini merupakan salah satu bentuk penelitian eksperimental yang kuat karena melibatkan pengelompokan sampel secara acak dan adanya kelompok kontrol sebagai pembanding. Pada rancangan ini, pengukurannya hanya dilakukan setelah pemberian perlakuan, tanpa adanya pengukuran awal (*pre-test*). Pada penelitian ini, terdapat kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) dalam berbagai konsentrasi, serta dua kelompok kontrol, yaitu kontrol negatif (akuades) dan kontrol positif (ciprofloxacin). Pendekatan ini bertujuan untuk mengevaluasi daya hambat ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan cara membandingkan hasil pengukuran zona hambat antar kelompok setelah intervensi.

### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

#### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium FMIPA Kimia dan UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

#### **3.2.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - Mei 2025.

### **3.3 Bahan Uji dan Bakteri Uji**

#### **3.3.1 Bahan Uji**

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang berwarna hijau muda yang dibersihkan terlebih dahulu dan dikeringkan. Daun pepaya diperoleh dari perkebunan pepaya yang berada di Bandar Lampung, kemudian daun pepaya dibawa ke Laboratorium FMIPA Kimia Universitas Lampung untuk di ekstrak.

#### **3.3.2 Bakteri Uji**

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri Gram-positif (+) yaitu *S. aureus* dan bakteri Gram-negatif (-) *E. coli*. Bakteri Gram-positif dan negatif didapatkan dari UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

#### **3.3.3 Media Kultur**

Media kultur yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Muller Hinton Agar* (MHA).

### **3.4 Identifikasi variabel**

Dalam penelitian ini digunakan dua variabel, yaitu variabel independen dan dependen.

#### **3.4.1 Variabel Independen**

Variabel independen atau variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dalam berbagai tingkat konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80% dan 100%).

#### **3.4.2 Variabel Dependen**

Variabel dependen atau variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

### 3.5 Definisi Operasional

**Tabel 1.** Definisi Operasional Variabel Dependen dan Independen Penelitian

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil ukur	Skala
Variabel Independen					
1.	Ekstrak daun pepaya ( <i>Carica papaya L.</i> )	Ekstrak daun pepaya yang diperoleh dengan metode maserasi dengan etanol dan dinyatakan dalam persen (%) di mana masing-masing konsentrasi dibuat dengan cara pengenceran	Menggunakan persamaan; $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ Keterangan $M_1$ = Volume awal $M_2$ = konsentrasi akhir $V_2$ = Volume akhir $V_1$ = Volume yang diperlukan	Ekstrak daun pepaya dengan konsentrasi : 1= 20% 2= 40% 3= 60% 4= 80% 5= 100%	Kate- gorik
Variabel Dependen					
2.	Daya hambat pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	Di mana area tidak terdapat pertumbuhan mikroba dikarenakan adanya pengaruh ekstrak daun pepaya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur diameter terluar zona bening di sekitar sumuran	Rerata dan standar deviasi	Rasio

### 3.6 Besar Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dalam berbagai konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80% dan 100%), kontrol positif dan negatif serta kontrol media. Rumus yang digunakan untuk menentukan besar sampel adalah rumus Federer.

$$(n - 1) (k - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) (8 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) 7 \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$n \geq 3,14$$

Keterangan

n = banyaknya sampel (pengulangan)

k = banyaknya perlakuan

Perhitungan di atas menunjukkan ukuran sampel yang diperoleh adalah 3,14. Untuk menghindari kesalahan, nilai tersebut dibulatkan ke bawah menjadi 3. Ukuran sampel ini dijadikan acuan untuk menentukan jumlah pengulangan pada MHA (*Mueller-Hinton Agar*).

### **3.7 Prosedur Penelitian**

#### **3.7.1 Persiapan**

##### **1. Alat Penelitian**

- a. *Handscoon* dan masker
- b. Rak dan tabung reaksi
- c. Alat gelas (beaker, labu ukur, gelas ukur, dll)
- d. Inkubator
- e. Autoklaf
- f. Mikropipet dan tips
- g. *Waterbath*
- h. Pipet ukur atau pipet tetes
- i. *Vortex mixer*
- j. Neraca analitik
- k. Cawan petri
- l. Kertas lebel
- m. Spidol
- n. Mistar

##### **2. Bahan Penelitian**

1. Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang diperoleh dari ekstraksi daun pepaya. Proses pengekstrakan dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
2. Kontrol yang digunakan sebagai pembanding bahan uji adalah kontrol positif (ciprofloxacin) dan kontrol negatif (akuades).

3. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. aureus* dan *E. coli*. Bakteri diperoleh dari UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.
4. Media uji digunakan adalah MHA (*Mueller-Hinton Agar*).

### 3.7.2 Sterilisasi Alat

Alat dan bahan penelitian disterilisasi, kecuali ekstrak daun pepaya dan suspensi kuman, agar terhindar dari senyawa atau mikroorganisme lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121° C selama 15–20 menit. Alat – alat yang digunakan ditunggu sehingga mencapai suhu kamar dan kering.

### 3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya

Daun pepaya (*Carica papaya L.*) dibersihkan dan dibawa ke Laboratorium FMIPA Unila. Untuk memastikan bahwa daun yang digunakan dalam penelitian berasal dari *Carica papaya L.* dan bukan dari tanaman lain yang mirip maka dilakukan uji determinasi terlebih dahulu. Daun pepaya kemudian dikeringkan menggunakan alat pengering dengan suhu 40° selama 48 jam. Daun pepaya yang telah kering dihaluskan menjadi serbuk dengan alat *disk mill* yaitu alat untuk membuat tepung. Daun pepaya yang telah halus kemudian di maserasi yaitu daun pepaya dimasukkan ke dalam wadah tertutup, lalu dituang etanol 96% ke dalam wadah tertutup tersebut, setelah itu dikocok, kemudian didiamkan selama dua sampai tiga hari, setelah itu disaring ke dalam elenmeyer vakum menggunakan corong *buchner* dan pompa vakum. Setelahnya disaring menggunakan kertas saringan. Larutan hasil penyaringan tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak yang pekat dengan konsentrasi 100%. Ekstrak daun pepaya terbentuk (kadar konsentrasi 100%) dengan menggunakan akuades steril dengan lima konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40% dan 20% menggunakan rumus berikut:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

$M_1$  = Konsentrasi awal (100%)

$V_1$  = Volume larutan yang diperlukan (ml)

$M_2$  = Konsentrasi yang diinginkan (%)

$V_2$  = Volume akhir larutan(ml)

Volume yang dibutuhkan untuk mengisi setiap tabung reaksi adalah 5 ml. Ekstrak daun pepaya di masing-masing konsentrasi sehingga jumlah ekstrak yang diperlukan dapat dilihat dalam **tabel 2** di bawah ini.

**Tabel 2.** Jumlah Ekstrak yang Diperlukan

M1	V2	M2	$V_2 = M_2 \times V_2 / M_1$ (ekstrak)	V pengencer = $V_2 - V$ (akuades)
100%	5 ml	20%	1 ml	4 ml
100%	5 ml	40%	2 ml	3 ml
100%	5 ml	60%	3 ml	2 ml
100%	5 ml	80%	4 ml	1 ml
100%	5 ml	100%	5 ml	0 ml (tetap)

Dari **tabel 2** didapatkan bahwa:

1. Konsentrasi 20% disiapkan dengan menambahkan akuades 4 ml ke dalam larutan ekstrak daun pepaya 1 ml
2. Konsentrasi 40% disiapkan dengan menambahkan akuades 3 ml ke dalam larutan ekstrak daun pepaya 2 ml
3. Konsentrasi 60% disiapkan dengan menambahkan akuades 2 ml ke dalam larutan ekstrak daun pepaya 3 ml
4. Konsentrasi 80% disiapkan dengan menambahkan akuades 1 ml ke dalam larutan ekstrak daun pepaya 4 ml
5. Konsentrasi 100% disiapkan dengan menambahkan akuades 0 ml ke dalam larutan ekstrak daun pepaya 5 ml

Pada penelitian ini, ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif untuk menguji daya hambat ekstrak daun pepaya terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Ciprofloxacin yang digunakan berasal dari sediaan tablet dengan dosis 500 mg per tablet. Untuk mendapatkan larutan ciprofloxacin dengan konsentrasi 10 mg/ml, tablet terlebih dahulu dihancurkan menggunakan *mortar* dan *pestle* hingga menjadi serbuk halus. Setelah itu, 100 mg serbuk ciprofloxacin ditimbang menggunakan timbangan analitik, kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades steril. Larutan diaduk hingga homogen menggunakan *stirrer* magnetik atau *vortex*. Larutan disaring menggunakan filter steril untuk memastikan hanya larutan ciprofloxacin yang digunakan.

Ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif, larutan stok ciprofloxacin 10 mg/ml diteteskan langsung ke dalam sumuran pada media agar (*Mueller-Hinton Agar*) sebanyak 50  $\mu$ l per sumur. Volume ini disesuaikan dengan volume sumur uji yang sama untuk perlakuan ekstrak. Masing-masing cawan uji yang digunakan untuk bakteri *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing memiliki satu sumur kontrol positif yang diisi dengan ciprofloxacin, satu sumur kontrol negatif (akuades steril), dan lima sumur berisi ekstrak daun pepaya dengan konsentrasi berbeda. Larutan ciprofloxacin yang telah disiapkan disimpan dalam wadah steril pada suhu 4°C dan digunakan dalam waktu maksimal 1 minggu untuk menjaga kestabilan aktivitas antibakterinya.

### **3.7.4 Uji Fitokimia**

Penapisan fitokimia dilakukan untuk melihat kandungan golongan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*).

### **3.7.5 Uji Diameter Zona Hambat**

#### **1. Inokulasi Bakteri pada media agar miring**

Proses inokulasi dilakukan dengan menggunakan jarum ose yang telah di fiksasi pada api bunsen. Jarum ose yang sudah dipanaskan

kemudian ditempatkan pada isolat murni, dan digunakan untuk menggoreskan isolat secara zig-zag pada permukaan agar. Setelah itu, tabung reaksi ditutup dengan *plastic wrap* untuk mengurangi risiko kontaminasi dari lingkungan luar. Langkah selanjutnya adalah inkubasi selama 24 jam. Penggunaan media agar miring dipilih untuk mempermudah penggoresan isolat koloni. Media digunakan agar area permukaan yang ditumbuhi oleh koloni akan lebih luas, sehingga memfasilitasi pertumbuhan bakteri dengan lebih baik.

## 2. Pembuatan standar kekeruhan larutan

Standar kekeruhan dengan tingkat 0,5 unit Mc Farland dibuat melalui pencampuran 9,95 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dan 0,05 ml larutan NaCl 1%. Larutan standar Mc Farland digunakan sebagai rujukan untuk membandingkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dalam medium cair pada pengujian daya antibakteri. Hal ini berguna untuk mengevaluasi efek antibakteri terhadap kumpulan koloni bakteri pada tingkat kepadatan tertentu.

## 3. Pembuatan suspensi bakteri uji

Suspensi bakteri disiapkan dengan mengambil sejumlah volume bakteri menggunakan alat ukur, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL larutan NaCl fisiologis 0,9%. Biakan murni bakteri juga terdapat dalam tabung tersebut, kemudian campuran dikocok hingga merata dan homogen. Selanjutnya, kepekatan suspensi bakteri disesuaikan dengan standar McFarland.

## 4. Pembuatan media uji

Proses pembuatan media uji dimulai dengan menimbang 19 g MHA, lalu dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 500 mL dalam erlenmeyer. Setelah itu, larutan dihomogenkan dengan cara dipanaskan menggunakan *hot plate*. Setelah merata, media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15

menit. Media steril kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga mengeras.

#### 5. Uji aktivitas antibakteri

Masing-masing suspensi bakteri uji diinokulasikan ke dalam media MHA sebanyak 0,1 mL, lalu diratakan menggunakan *hockey stick*. Setelah permukaan mengering, sumuran dibuat dengan melubangi media menggunakan ujung tip steril. Selanjutnya, larutan ekstrak etanol daun pepaya dengan berbagai konsentrasi, serta kontrol negatif dan positif, diteteskan ke dalam sumuran yang berbeda sebanyak 40  $\mu$ L. Media kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

#### 6. Pengamatan dan pengukuran zona hambat

Setelah proses inkubasi selesai, zona hambat akibat aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari daun pepaya diamati dengan mengukur diameter area bening di sekitar sumuran uji. Pengukuran dilakukan menggunakan mikrometer, lalu nilai yang diperoleh dikurangi dengan diameter sumuran untuk mendapatkan hasil akhir. Zona hambat kemudian dikategorikan berdasarkan ukurannya sesuai dengan tabel referensi.

**Tabel 3.** Kategori Zona Hambat (Datta dkk, 2019)

Diameter (mm)	Kategori Zona Hambat
< 5	Lemah
6-10	Sedang
11-20	Kuat
> 20	Sangat Kuat

### 3.8 Pengolahan dan Analisis Data

#### 3.8.1 Pengolahan Data

Proses pengolahan data dilakukan menggunakan perangkat lunak statistik dan melalui beberapa tahapan sebagai berikut:

### 1. Pengolahan data (*Editing*)

Langkah ini dilakukan untuk meninjau kembali data yang telah diperoleh guna memastikan tidak terdapat kesalahan atau ketidaksesuaian dalam pengisian. Saat *editing* semua data lengkap dengan mengecek kembali lembar kerja hasil pengukuran zona hambat bakteri dari tiap kelompok (kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 10%-100%).

### 2. Pemberian kode (*Coding*)

Setiap data diberi tanda atau kode tertentu.

Pada *S. aureus*:

- a. 1 = SK-
- b. 2 = S20
- c. 3 = S40
- d. 4 = S60
- e. 5 = S80
- f. 6 = S100
- g. 7 = SK+

Pada *E. coli*:

- a. 1 = EK-
- b. 2 = E20
- c. 3 = E40
- d. 4 = E60
- e. 5 = E80
- f. 6 = E100
- g. 7 = EK+

### 3. Pemasukan data (*Entry data*)

Data yang telah dikodekan kemudian dimasukkan ke dalam sistem atau program statistik sebagai persiapan untuk analisis lebih lanjut dengan menginput data diameter (mm) dari masing-masing

kelompok ke perangkat lunak statistik dengan pengaturan variabel sesuai struktur analisis.

#### 4. Penyusunan tabel (Tabulasi)

Seluruh data yang telah dimasukkan disusun bentuk tabel agar lebih sistematis dan siap untuk dianalisis sesuai dengan tujuan penelitian dengan menampilkan tabel perbandingan rata-rata zona hambat dari masing-masing konsentrasi ekstrak kontrol positif dan negatif.

#### 5. *Cleaning data*

Membersihkan data dari kesalahan input, outlier ekstrem, atau duplikasi. Juga termasuk menghapus data jika ada pengulangan yang gagal, misalnya sumuran bocor atau terkontaminasi dan menghapus data ulangan ke-2 dari perlakuan konsentrasi dan menggantinya dengan ulangan baru.

### 3.8.2 Analisis univariat

Analisis univariat dilakukan untuk mendeskripsikan karakteristik setiap variabel yang diteliti, yaitu diameter zona hambat dari ekstrak daun pepaya pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Bentuk analisis disesuaikan dengan jenis data yang diperoleh. Data bersifat numerik, maka dilakukan perhitungan nilai rata-rata (*mean*) dan deviasi standar (*standard deviation*).

### 3.8.3 Analisis bivariat

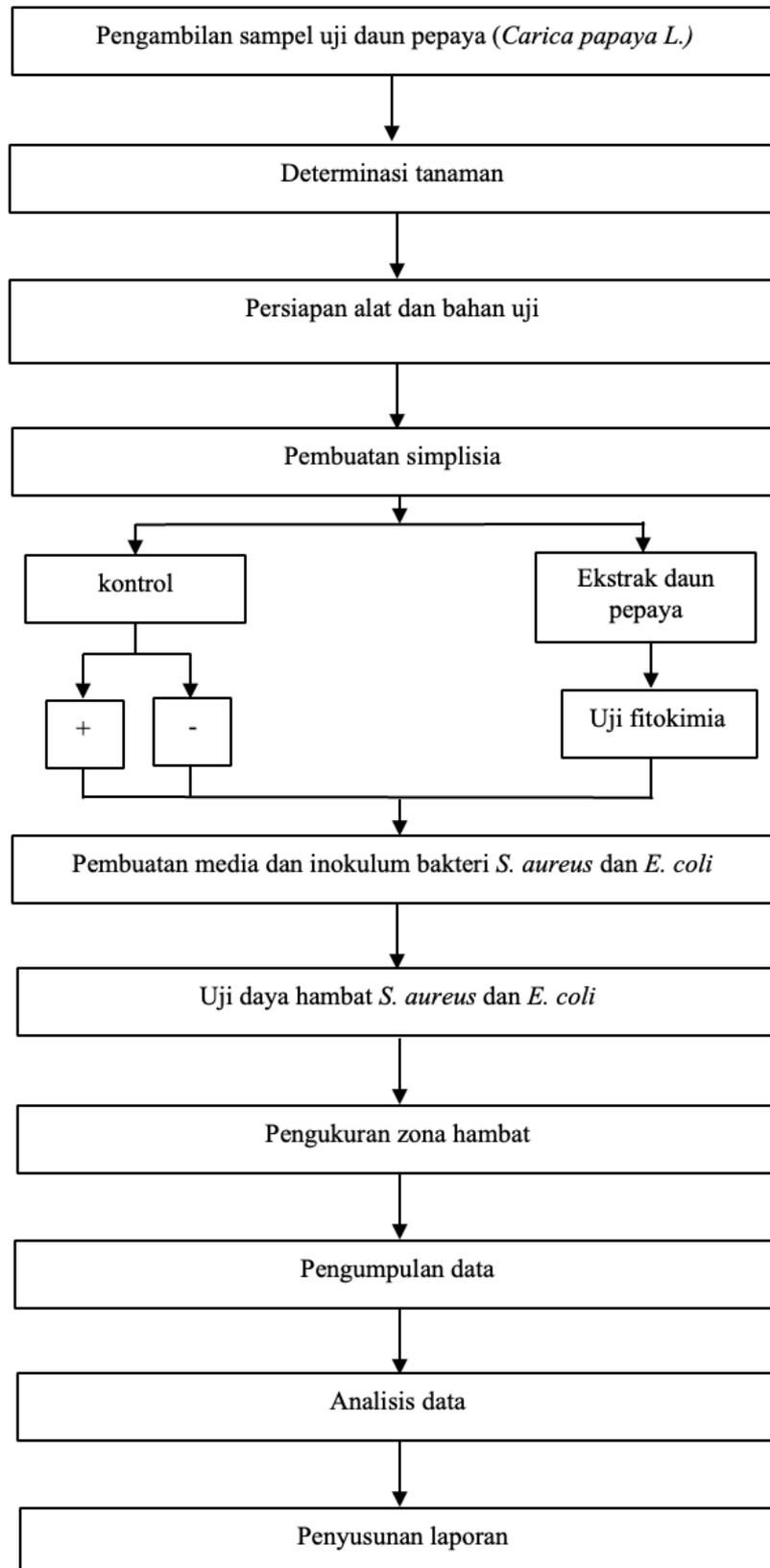
Analisis bivariat dalam penelitian ini diawali dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Hasil uji menunjukkan bahwa data pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Uji homogenitas varians kemudian dilakukan menggunakan *Levene's Test*, dengan hasil menunjukkan bahwa data *S. aureus* dan *E. coli* homogen ( $p > 0,05$ ).

Data *S. aureus* dan *E. coli* berdistribusi normal dan homogen, maka digunakan uji parametrik *One Way ANOVA* sebagai uji komparatif antar kelompok konsentrasi. Hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ), sehingga dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD*. Hasil uji ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara beberapa konsentrasi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil uji komparatif dan *post hoc LSD* pada kedua bakteri menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, sehingga hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak dan hipotesis alternatif ( $H_a$ ) diterima untuk kedua bakteri uji.

### **3.9 Etika penelitian**

Etika dalam penelitian uji antibakteri memiliki peran krusial dalam memastikan bahwa penelitian dilakukan dengan integritas, ketelitian, serta menghormati hak-hak semua pihak yang terlibat. Penelitian ini mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai institusi tempat penelitian dilakukan, dengan nomor: 43/UN26.18/PP.05.02.00/2024.

### 3.10 Alur penelitian



**Gambar 6.** Alur Penelitian

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian uji daya hambat metode difusi sumuran ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Terdapat daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.
2. Terdapat daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.
3. Terdapat daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.
4. Terdapat daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

#### **5.2 Saran**

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan isolasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*), seperti flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Untuk mengevaluasi secara spesifik kontribusi masing-masing senyawa terhadap aktivitas antibakteri. Pendekatan ini memungkinkan penentuan senyawa mana yang memiliki potensi paling dominan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, serta dapat membuka

peluang pengembangan agen antibakteri berbasis fitokimia yang lebih terarah dan efisien.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abed SN dan Faja OM. 2022. The Efficacy of Carica papaya leaf Extract Against Some Bacteria Wich Isolated from Cow Milk. *International Journal of Health Sciences*. 6(3): 12229-38.
- Alonso SA, Hunter GB, Fu Z, Gladstone RA, Salom AF, Loraine J dkk. 2023. Evolutionary And Functional History of The Escherichia coli K1 Capsule. *Nature Communications*. 14(3294): 1-17.
- Alzanado R, Yusuf M, dan Tutik. 2022. Analisis Kadar Senyawa Alkaloid Dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica papaya L.) Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 5(1): 108-120.
- Ambakesari NMW, Ewiantini NLPW, Ewintiani NKW, Hani GGJ, Waruwu ADZ, dan Sari NKY. 2022. Potensi Antibakteri Tanaman Pepaya (Carica papaya L.) Terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare. *Seminar Ilmiah Nasional Teknologi, Sains, dan Sosial Humaniora*. 5: 95-110.
- Atta S, Waseem D, Fatima H, Naz I, Rasheed F, dan Kanwal N. 2023. Antibacterial Potential and Synergistic Interaction Between Natural Polyphenolic Extract and Synthetic Antibiotic on Clinical Isolates. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 30(3): 1-14.
- Badaring DR, Sari SPM, Nurhabiba S, Wulan W, dan Lembang SAR. 2020. Uji Ekstrak Daun Maja (Aegle marmelos L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*. 6(1): 16-26.
- Baker S. 2024. Bacterial Enteropathogens. Dalam: Farrar J, Garcia P, Hotez P, Junghanss T, Kang G, Lallo D dan White N. Manson's Tropical Diseases. Edisi ke-24. *Elsevier Inc*. hlm. 365-80.

- Basavaraju M dan Gunashree BS. 2023. *Escherichia coli: An Overview of Main Characteristics*. *IntechOpen* [Online Journal] [diunduh 15 Januari 2025]. Tersedia dari: <https://www.intechopen.com/chapters/84764>.
- Bashabsheh RHF, Fawares OA, Natsheh I, Bdeir R, Khreshieh ROA, Bashabsheh HHF. 2024. Staphylococcus aureus Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations and Application of Nano-Therapeutics as A Promising Approach to Combat Methicillin Resistant Staphylococcus aureus. *Pathogens and Global Health*. 188(3): 209-231.
- Bayot ML dan Bragg BN. 2024. Antibiotic Sensitivity Testing. *NCBI Bookshelf* [Online Journal] [diunduh 8 Juni 2025]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539714/>.
- Bezabih YM, Sabiiti W, Alamneh E, Bezabih A, Peterson GM, Bezabhe WM, dkk. 2021. The Global Prevalence and Trend of Human Intestinal Carriage of ESBL-Producing *Escherichia coli* in The Community. *J Antimicrob Chermother*. 76:22-29.
- BPOM RI. 2023. Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat dan Makanan. *BPOM RI*.
- Cahyani RK, Susilowati A, dan Sari SLA. 2019. Tannins Inhibition of Tea Leaves (*Camellia sintesis*) Against *Escherichia coli* Diarrhea-causing Bacteria. *Bioteknologi*. 16(2): 48-52.
- CDC. 2024. Technical Information: *E. coli* (*Escherichia coli*) Infection. *U. S. Department of Health & Human Services* [Online] [diunduh 17 Februari 2025]. Tersedia dari: <https://www.cdc.gov/ecoli/php/technical-info/index.html>.
- Cheung GYC, Bae JS, dan Otto M. 2021. Ethogenicity and Virulance of *Staphylococcus aureus*. *Virulance*. 12(1): 547-569.
- Crespo PMMP, Garcia JFL, Ferrer BJ, Bulnes MLC, Dominguez AS, dan Aguirre JG. 2021. Revisiting The Epidemiology of Bloodstream Infections and Healthcare-Associates Episodes: Result From A Multicentre Prospective Cohort in Spain (PRO-BAC Study). *International Journal Antimicrobe Agents* [Online Journal] [diunduh 10 Maret 2025]. Tersedia dari: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33961992/>.

- Dafale NA, Semwal UP, Rajput R, dan Singh GN. 2016. Selection of Appropriate Analytical Tools to Determinate The Potency and Bioactivity of Antibiotics and Antibiotic Resistance. *J Pharm Anal.* 6(4): 207-213.
- Dahesihdewi A, Mulyono B dan Wibarti S. 2017. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Colonization and Screening Method Effectiveness for Patients Admitted to The Intensive Care. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory.* 24(1): 12-8.
- Datta Fu, Daki An, Benu I, Detha Air, Foeh Ndfk, Dan Ndaong Na. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Cairan Rumen Terhadap Pertumbuhan Salmonella Enteritidis, Bacillus Cereus, Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Menggunakan Metode Difusi Sumur Agar. *Prosiding Seminar Nasional ke-7.* 66-85.
- Dewi MK, Ratnasari E, dan Trimulyono G. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (Crrecentia kujute) terhadap Pertumbuhan Bakteri Ralstonia solanacearum Penyebab Penyakit Layu. *LenteraBio.* 3(1): 51-57.
- Dias RCB, Tanabe RHS, Vieira MA, Cergole-Novella MC, dos Santos LF, Gomes TAT dkk. 2020. Analysis of the Virulence Profile and Phenotypic Features of Typical and Atypical Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC) Isolated From Diarrheal Patients in Brazil. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 10: 1-10.
- Doua J, Geurtsen J, Bano JR, Cornely OA, Go O, Grage AG, dkk. 2023. Epidemiology, Clinical Features, and Antimicrobial Resistance of Invasive Escherichia coli Disease in Patients Admitted in Tertiary Care Hospitals. *Oxford University Press on behalf of Infectious Diseases Society of America.* 10(2): 1-11.
- Dwivedi MK, Sonter S, Mishra S, Patel DK, dan Singh PK. 2020. Antioxidant, Antibacterial Activity, and Phytochemical Characterization of Carica papaya Flowers. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences.* 9(23): 1-11.
- Ekici G dan Dumen E. 2019. Escherichia coli and Food Safety. Dalam: Erjavec MS, penyunting. The Universe of Escherichia coli. London: *IntechOpen.*

- Evifania RD, Apridamayanti, dan Sari R. 2020. Uji Parameter dan Nonspesifik Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Cerebellum*. 6(1):17-20.
- Fayisa WO dan Tuli NF. 2023. Review on *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Nursing Care and Research*. 1: 1-8.
- Fillet AS, Opande GT, dan Musyimi DM. 2020. Comparative Studies of Phytochemical and Antimicrobial Activity of *Carica papaya* L. Extracts Against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Archives of Ecotoxicology*. 2(3): 35-42.
- Fitriana YAN, Fatimah VAN, dan Fitri AS. 2019. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. 16(2).
- Geurtsen J, Been MD, Weerdenburg, Zomer A, McNally A, dan Poolman J. 2022. Genomics and Pathotypes of Many Feces of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Rev*. 46(6): 31.
- Ginting I, Rudang SN, Andry M, Sari M, dan Nasution MA. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Kulit dan Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*. 6(4): 1606-15.
- Ginting OS. 2021. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Forte Journal*. 1(1): 19-25.
- Gnamami A, Hariharan P, dan Satyaseela P. 2017. *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. Dalam: *Frontiers in Staphylococcus aureus*. London: *InTech*. hlm. 1-12.
- Goh LPW, Harbawi H, Goh SM, Asis AKBA, dan Gansau JA. 2023. The Prevalences of Hospital-acquired Infections In South Asia (1990-2022). *Emerging Problems In Infectious Diseases*. 17(2): 139-146.
- Handoyo DL. 2020. Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*). *Jurnal Farmasi Tinctura*. 2(1): 34-41.

- Harefa K, Aritonang B dan Ritonga AH. 2022. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Purple Passion Fruit Peel (*Passiflora Edulis Sims*) on *Propionibacterium Acnes* Bacterial. *Jurnal Multidisiplin Madani*. 2(6): 2743-58.
- Hariono M, Julianus J, Djunarko I, Hidayat I, Adelya L, Indayani F dkk. 2021. The Future of *Carica papaya* Leaf Extract as an Herbal Medicine Products. *Molecules*. 26(22): 1-20.
- Hayati LN, Tyasningsih W, Praja RN, Chusniati S, Yunita MN, dan Wibawati PA. 2019. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Suhu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*. 2(2): 76-82.
- Ikuta KS, Swetschinski LR, Aguilar GR, Sharara F, Mestrovic T, Gray AP, dkk. 2022. Global Mortality Associated With 33 Bacterial Pathogens in 2019: a Systematic Analysis for Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 400(10378): 2221-48.
- Kapadia P, Newell A, Cunningham J, Roberts MR dan Hardy JG. 2022. Extaction of High-Value Chemicals from Plants for Technical and Medical Applications. *International Journal of Molecular Sciences* [Online Journal] [diunduh 9 Mei 2025]. Tersedia dari: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36142238/>.
- Karimela EJ, Ijong FG, dan Dien HA. 2017. Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang Di Isolasi Dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *JPHPI*. 20(1): 188-98.
- Khan MI, Ahmed AA, Shin JH, Baek JS, Kim MY, dan Kim JD. 2018. Green Tea Seed Isolated Saponins Exerts Antibacterial Effects against Various Strains of Gram Positive and Gram Negative Bacteria, a Comprehensive Study In Vitro and In Vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [Online Journal] [diunduh 11 Maret 2025]. Tersedia dari: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2018/3486106>.
- Kurniasari M, Sari K, dan Purnamaningsih N. 2022. Antibacterial Activities of Polar Fraction of Papaya Leaf Ethanolic Extract (*Carica papaya L.*) Against

- Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Jurnal Penelitian Saintek*. 2(10): 119-24.
- Maghfira SI, Biworo A, Budiarti LY, Wydiamala E, dan Joharman. 2023. Kadar Hambat Minimal Dan Kadar Bunuh Minimal Ekstrak Kulit Batang *Xylocarpus granatum* Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Homeostasis: Jurnal Mahasiswa Pendidikan Dokter* [Online Journal] [diunduh 6 Januari 2025]. Tersedia dari: <https://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/hms/article/view/10006>.
- Mandagi SC, Rumangkang JC, Prakarsa CP, Gobel SA, Wawo AE, Kalalo MJ, dan Edy HJ. 2022. Potensi Senyawa Bioaktif Dari Gedi Hijau (*Abelmoschus Manihot*) Sebagai Inhibitor Terhadap Bakteri Resisten Antibiotik. *Pharmacon*. 11(2): 1417-21.
- Manges AR, Geum HM, Guo A, Edens TJ, Fibke CD, Pitout. 2019. Global Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (EsPEC) Lineages. *Clinical Microbiology Reviews*. 32(3): 1-25.
- Mare AD, Ciurea CN, Man A, Tudor B, Moldovan V, Decean L, dkk. 2021. Enteropathogenic *Escherichia coli*-A Summary of The Literature. *Gastroenterol Insights*. 12(1): 28-40.
- Marliana N, Kurniati Lis, Patria C, Dermawan A dan Mulia YS. 2022. Uji Kepekaan Antibiotika *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada Media Tahu Pengganti Mueller Hinton Agar. *Jurnal Riset Kesehatan*. 14(2): 319-24.
- Mascellino MT. 2020. Prologue: *Escherichia coli*, *Listeria*, and *Salmonella*. Dalam: Ranjbar M, Nojomi M, Mascellino MT, penyunting. *New Insight into Brucella Infection and Foodborne Diseases*. London: *IntechOpen*. hlm. 1-9.
- Masyeni S, Sukmawati H, Paramasatiari L, Aryastuti SA, Somia KA, Kambayana G, dkk. 2017. Diarrhea Among International Travelers in Bali-Indonesia: Clinical and Microbiological Finding. *International Journal Travel Medical Global Health*. 5(3):84-88.
- Mueller M, Christopher R, dan Tainer R. 2023. *Escherichia coli* Infection. Dalam: *StatPearls* [Online Journal] [diunduh 23 Januari 2025]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>.

- Nisa FZ, Astuti M, Haryana SM, dan Murdiati A. 2019. Antioxidant Activity and Total Flavoid of *Carica papaya* L. Leaves with Different Varieties, Maturity and Solvent. *Journal Article*. 39(1):54-9.
- Nor TA, Indriarini D, dan Koamesah SMJ. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Perumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Cendana Medical Journal*. 15(3): 327-37.
- Pal M dan Koliopoulos. 2021. *Staphylococcus aureus*, An Important Pathogen of Public Health and Economic Importance: A Comprehensive review. *J Emerging Enviromental Technologies and Health Protection*. 4(2): 2623-4874.
- Pamudi BF, Munira, Zakiah N, dan Nasir M. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jamblang dari Kawasan Geonatal: Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). *Jurnal SAGO: Gizi dan Kesehatan*. 5(1): 246-52.
- Patil P, Alagarasu K, Chowdhury D, Kakade M, Cherian S, Kaushik S dkk. 2022. In-vitro Antiviral Activity of *Carica papaya* Formulations Against Dengue Virus Type 2 and Chikungunya Virus. *Heliyon*. 8(12): 1-9.
- Pokharel P, Dhakal S, dan Dozois CM. 2023. The Diversity of *Escherichia coli* Pathotypes and Vaccination Strategies Against This Versatile Bacterial Pathogen. *Microorganisms*. 11(2): 1-54.
- Pratiwi EW, Praharani D, dan Arina YMD. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil (Inhibition of Papaya (*Carica papaya* L.) Leaves Extract on Adhesi of *Porphyromonas gingivalis* Bacteria of Neutrophils). *e-Journal Pustaka Kesehatan*. 3(2): 193-8.
- Putri DIH dan Trimulyo G. 2023. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *LenteraBio*. 12(2): 172-178.
- Rahayu PDS, Artini GA, dan Mahendra AN. 2019. Uji Efektivitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara In Vitro. *E-Jurnal Medika Udayana* [Online

- Journal] [diunduh 2 Februari 2025]. Tersedia dari: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum/article/view/54224>.
- Rai AK dan Mitchell AM. 2020. Enterobacterial Common Antigen: Synthesis and Function of an Anigmatic Molecule. *mBio*. 11(4): 1914-20.
- Santana LF, Inada AC, Santo BLSDE, Filiu WFO, Pott A, Alves FM dkk. 2019. Nutraceutical Potential of Carica papaya in Metaboloc Syndrome. *Nutrients* [Online Journal] [diunduh 17 Februari 2025]. Tersedia dari: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31315213/>.
- Sasongko. 2020. Uji Pendahuluan Potensi Senyawa Anti Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus dari Ekstrak Teripang Pasir (Holothuria Atra) di Perairan Pulau Tunda, Kabupaten Serang. *Jurnal Kemitraan: Indonesia Journal Of Maritime*. 1(1): 33-8.
- Satyarsa ABS. 2022. Efek Anti-Bakteri Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923 Secara In Vitro. *E-Jurnal Medika Udayana*. 11(11): 16-21.
- Shao Q, Chen D, Chen S, Ru X, dan Ye Q. 2023. Escherichia coli Infection Sepsis: Analisis of Specifically Expressed Genes and Clinical Indicators. *Diagnostics*. 13(23): 1-15.
- Shariati A, Arshadi M, Khosrojerdi MA, Abedinzadeh M, Ganjalishashi M, Maleki A dkk. 2022. The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enchancing the efficacy of this antibiotic. *Frontiers Public Health* [Online Journal] [diunduh 18 Februari 2025]. Tersedia dari: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36620240/>.
- Sharma A, Sharma R, Sharma M, Kumar M, Barbhai MD, Lorenzo JM, dkk. 2022. Carica papaya L. Leaves: Deciphering Its Antioxidant Bioactives, Biological Activities, Innovative Products, and Safety Aspects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [Online Journal] [diunduh 26 Maret 2025]. Tersedia dari: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9203216/>.
- Singh SP, Kumar S, Mathan SV, Tomar MS, Singh RK, Verma PK dkk. 2020. Therapeutic Application of Carica papaya Leaf Extract in The Management of Human Diseases. *DARU Journal of Pharmaceutic Sciences*. 28(2): 735-744.

- Sizar O, Leslie SW, dan Unakal CG. 2023. Bakteri Gram Positif. *StatPearls* [Online Journal] [diunduh 3 Maret 2025]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470553/>.
- Sofyana NR, Herlinawati, Musyarrafah dan Adyana IGA. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 11(4): 668-78.
- Soliman MM, Elsaba YM, dan Ahmed. 2024. Composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus Offcinalis* L. and *Artemisia monosperma* L. leaf essential oils and methanolic extract from plants grown in normal and saline habitats in Egypt. *Scientific Reports* [Online Journal] [diunduh 26 Mei 2025]. Tersedia dari: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-57301-w>.
- Sora VM, Meroni G, Martino PA, Soggiu A, Bonizzi L dan Zecconi A. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. *Pathogens* [Online Journal] [diunduh 26 Maret 2025]. Tersedia dari: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/11/1355>.
- Spagnolo dan Maria A. 2024. Bacterial Infections: Surveillance, Prevention and Control. *Pathogens*. 13(2): 181.
- Suarmayasa IM. 2023. Pola Kuman Pada Manset Sphygmomanometer: Studi Deskriptif Di RSD Mangusada. *Jurnal Riset Kesehatan Nasional*. 7(2): 163-8.
- Syamsul ES, Amanda NA, dan Lestari D. 2020. Perbandingan Ekstrak Lumur *Aquilaria malaccensis* Dengan Metode Maserasi dan Refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2(2): 97-104.
- Ugbogu EA, Dike ED, Uche ME, dan Etumnu LR. 2023. Ethnomedicinal Uses, Nutritional Composition, Phytochemistry and Potential Health Benefits of *Carica papaya*. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine* [Online Journal] [diunduh 6 Maret 2025]. Tersedia dari: [https://www.researchgate.net/publication/370961360\\_Ethnomedicinal\\_Uses\\_Nutritional\\_Composition\\_Phytochemistry\\_and\\_Potential\\_Health\\_Benefits\\_of\\_Carica\\_papaya](https://www.researchgate.net/publication/370961360_Ethnomedicinal_Uses_Nutritional_Composition_Phytochemistry_and_Potential_Health_Benefits_of_Carica_papaya).

- Ulhaq LZ, Masria S, dan Ismawati. 2019. Antibacterial Power of Papaya Leaf Ethanol Extract (*Carica papaya* Linn) Against *Streptococcus pyogenes* bacteria. *Prosiding Pendidikan Dokter*. 5(2): 265-70.
- USDA. 1992-2016. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. U. S. *Department of Agriculture, Agriculture Research Service* [Online Journal] [diunduh 16 Januari 2025]. Tersedia dari: <https://phytochem.nal.usda.gov>.
- Wadekar AB, Nimbawar MG, Panchale WA, Gudalwar BR, Manwar JV, dan Bakal RL. 2021. Morphology, Phytochemistry and Pharmacological Aspects of *Carica papaya*, An Review. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 14(3):234-248.
- Wang J, Qin C, Xu Y, Yin J, Hu J, dan Guo X. 2023. Structural and Genetics Identification of the O-Antigen From An *Escherichia coli* Isolate, SD2019180, Representing A Novel Serogroup. *International Journal of Molekular Sciences* [Online Journal] [diunduh 13 April 2025]. Tersedia dari: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37894721/>.
- Waruwu NS, Sandhika IMGS, dan Lestari NKD. 2021. Perbandingan Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) di Daratan Rendah dan Daratan Tinggi. *Jurnal Media Sains*. 5(2): 29-36.
- Wulandari DR, Syafitri A, Musa IM, Sodikah Y, dan Gayatri SR. 2022. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Fakumi Medical Journal*. 2(10): 733-9.
- Yan Y, Xia X, Fatima A, Zhang L, Yuan G, Lian F dan Wang Y. 2024. Antibacterial Activity and Mechanisms of Plant Flavonoids against Gram-Negative Bacteria Based on the Antibacterial Statistical Model. *Pharmaceuticals*. 17(3):292.
- Yonis EA, Sallam AA, dan Garamoun SEAK. 2017. Some Studies on Immunoglobulin A, Complement 3 and Nitric Oxide on The Level of *Escherichia coli* Enteritis in Boiler with Pathological Changes In Bohera Province. *Animal Health Research Journal*. 5(4): 184-95.

- Zaini WS, Kurniati N, Khayan K, Ihsan BM, Puspita WL, dan Hanif MI. 2023. The Potential Antibacterial Effect of Papaya Leaf Extract (*Carica papaya* L.) and Miana Leaf Extract (*Coleus scutellarioides* L) as Adjuvant Therapy for Rifampicin-Resistant Tuberculosis. *Poltekita : Jurnal Ilmu Kesehatan*. 17(1):182-189.
- Zhang Y, Tan P, dan Ma X. 2022. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: Intestinal Pathogenesis Mechanisms and Colonization Resistance by Gut Microbiota. *Gut Microbes* [Online Journal] [diunduh 27 Maret 2025]. Tersedia dari: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8973357/>.
- Zheng L, Duan SL, Dai YC, dan Wu SC. 2022. Role of Adherent Invasive *Escherichia coli* in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *World J journal of Clinical Cases* [Online Journal] [diunduh 15 Januari 2025]. Tersedia dari: <https://www.wjgnet.com/2307-8960/full/v10/i32/11671.htm>.
- Zhou Y, Zhou Z, Zheng L, Gong Z, Li Y, Jin Y dkk. 2023. Urinary Tract Infections Caused by Uropathogenic *Escherichia coli*: Mechanism of Infection and Treatment Options. *International Journal of Molekular Sciences*. 24(13): 1-33.