

UJI DAYA HAMBAT ENZIM PAPAIN TERHADAP
Staphylococcus aureus



ANDI NUR AISYAH
H 511 03 742



27-2-08
Fide. Formi
1 ek.
H
25

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008

**UJI DAYA HAMBAT ENZIM PAPAIN TERHADAP
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**ANDI NUR AISYAH
H 511 03 742**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**UJI DAYA HAMBAT ENZIM PAPAIN TERHADAP
*Staphylococcus aureus***

ANDI NUR AISYAH
H 511 03 742

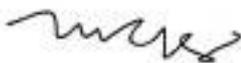
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Dra. Sartini, M.Si., Apt
Nip. 131 696 792

Pembimbing Pertama,



Dr. rer-nat Marianti A. Manggau, Apt
Nip. 132 010 657

Pembimbing Kedua,



Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt
Nip. 131 792 011

Pada Tanggal

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji daya hambat enzim papain terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi enzim papain yang memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan menggunakan pencadangan logam tahan karat terhadap empat konsentrasi yaitu 2.5 %, 5 %, 10 % dan 20 % yang diinkubasi 1 x 24 jam pada 37°C. hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatan *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 13.04 mm untuk konsentrasi 2.5 % b/v 14.52 mm untuk konsentrasi 5 % b/v 17.51 mm untuk konsentrasi 10 % b/v 19.18 mm untuk konsentrasi 20 % b/v.

Kata kunci : enzim papain, efek antibakteri, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

The research concerning about antibacterial activity of papain enzyme. The purpose this research was to know concentration papain enzyme which antibacterial effect toward *Staphylococcus aureus*. This research used agar diffusion method using the stainless steel with four concentrations i.e 2.5 %, 5 %, 10 % and 20 % w/v that was incubated 1 x 24 hours at 37°C. The measurement of diameter of zone inhibition the *Staphylococcus aureus* were obtained 13.04 mm to concentration 2.5 % b/v 14.52 mm to concentration 5 % b/v 17.51 mm to concentration 10 % b/v 19.18 mm to concentration 20 % b/v.

Key Words : papain enzyme, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil Alamin, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Semoga shalawat dan salam dilimpahkan kepada Rasulullah, keluarga, sahabat dan segenap yang mengikuti beliau dengan setia hingga akhir zaman.

Mengawali ucapan terima kasih ini, perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus dan sebesar-besarnya kepada Ibu Dra. Sartini, M.Si., Apt selaku pembimbing utama, ibu Dr. rernat Marianti A.Manggau., Apt selaku pembimbing pertama dan Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. selaku pembimbing kedua, dan Ibu Dra. Jeanny Wunas, M.S selaku penasehat akademik atas meluangkan waktu, memberikan petunjuk dan saran, tenaga serta pikiran sejak perencanaan penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi serta Ketua program studi Reguler pagi dan Reguler sore serta segenap staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih yang tulus kepada Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi yang senantiasa memberikan pengetahuan yang begitu ternilai dan berharga bagi penulis

Terima kasih untuk Kepala Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Dr. M. Natsir Djide, M.S., Apt. Atas izin penggunaan fasilitas laboratorium dan segenap staf laboratorium Haslia, Dewi dan Ibu Isriany yang senantiasa membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian ini.

Penulis mengucapkan rasa hormat, terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Ayahanda tercinta Drs. Andi Muh. Rum Tajang, M.Si dan Ibunda tersayang Hj. Andi Masnira, Amk, kakanda Andi Indra Martini, SE, M.Si, dr. Andi Yusnita, adinda Andi Muh Tarich dan Andi Tien Hartini yang selalu memberi semangat, perhatian, kasih sayang terutama bantuan materi dan moril sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Tak ada kata yang pantas atas semua perhatian dan kasih sayangnya selain balasan sayang dan terima kasih penulis haturkan.

Terkhusus lagi kepada sahabatku tercinta, Andi Asrianty, Sri Sundari, Herawati, Febrianti Amlin, Sri Wahyuni, Hasmiaty S, Putu Vidha Prabhawanty, Fitriani Romond, Umrah Alimin, Asmarani, serta teman-temanku khususnya angkatan 2003 yang lain yang tidak dapat kusebutkan satu persatu yang senantiasa menemani dikala sedih maupun senang. Kenangan bersama kalian tidak akan terlupakan sampai akhir kapan pun.

Akhir kata semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi. Amin.....

Makassar, Januari 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1 Uraian Enzim Papain	3
II.1.1 Pembuatan	3
II.1.2 Kandungan Kimia	3
II.1.3 Kegunaan	4
II.1.4 Kelarutan	4
II.2. Uraian Bakteri Uji	4
II.2.1 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	4
II.2.1. Sifat dan Morfologi	4
II.3 Berbagai macam mikroorganisme gram positif dan mikroorganisme gram negatif	5
II.4 Tinjauan Umum Antimikroba.....	7

II.4.1 Antibakteri	8
II.4.2 Antifungi	9
II.4.3 Antivirus	9
II.4.4 Antibiotika	9
II.5 Mekanisme Kerja Antimikroba	10
II.5.1 Menghambat Metabolisme Sel Mikroba	10
II.5.2 Menghambat Dinding Sel Mikroba	11
II.5.3 Mengganggu Keutuhan Dinding Sel Mikroba	12
II.5.4 Mengganggu Sintesis Protein Sel Mikroba	12
II.5.5 Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel Mikroba	13
II.6 Pengujian Secara Mikrobiologis	13
II.6.1 Metode Difusi (Difussional Method)	13
II.6.1.1 Metode Difusi Dengan Silinder Pipih	14
II.6.1.2 Metode Difusi Dengan Mangkok Pipih	14
II.6.1.3 Metode Difusi Dengan Kertas Saring	14
II.6.1.4 Metode Difusi Dengan Cara Kirby-Bauer	14
II.6.1.5 Metode Difusi Dengan Cara Agar Lapis	15
II.6.2 Metode Pengenceran (Dilution Method)	15
II.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba.	16
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	20
III.1 Alat dan Bahan	20
III.2 Metode Kerja	20

III.2.1 Sterilisasi Alat	20
III.2.2 Pembuatan Medium	21
III.2.2.1 Medium NA	21
III.2.2.2 Medium GNA	21
III.2.3 Pengolahan Bahan	21
III.2.3.1 Pembuatan Suspensi Enzim Papain	21
III.2.4 Penyiapan Bakteri Uji	22
III.2.4.1 Peremajaan Kultur murni bakteri uji	22
III.2.4.2 Pembuatan suspensi bakteri Uji	22
III.2.5 Pengujian Daya Hambat Enzim Papain	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
IV. 1 Hasil Penelitian	24
IV.2 Pembahasan	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengujian Diameter Zona Hambatan Enzim Papain Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	31
2. Perhitungan statistik Uji daya hambat enzim papain terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik Diameter Rata-rata Hambatan Enzim Papain Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> pada masa inkubasi 1 x 24 jam.	35
2. Hasil Pengamatan Daerah Hambatan Enzim Papain Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	36

BAB I

PENDAHULUAN

Papain merupakan enzim yang diperoleh dari seluruh bagian tanaman pepaya. Berbagai macam senyawa terdapat dalam enzim papain, diantaranya lebih dari 50 asam amino yaitu asam aspartat, treonin, serin, asam glutamat, prolin, glisin, alanin, valine, isoleusin, leusin, tirosin, fenil alanin, histidin, lysin, arginin, triptofan, dan sistein. Enzim papain ini tergolong dalam enzim proteolitik, dimana enzim ini memiliki kemampuan mengurai ikatan-ikatan dalam molekul protein sehingga protein terurai menjadi dipeptida (1,2).

Dalam dunia perdagangan dikenal dua macam papain, yaitu papain kasar (*Crude papain*) dan papain murni. Papain kasar diperoleh dari getah pepaya yang dikeringkan lalu dihaluskan menjadi bentuk tepung, sedangkan papain murni diperoleh dari hasil pemisahan pemurnian papain kasar menjadi empat Enzim proteolitik. Keempat enzim proteolitik tersebut yaitu papain, chimopapain A, chimopapain B dan papain peptidase A (1,2). Sahelian R (2006), telah melakukan penelitian bahwa getah pepaya memiliki sifat enzimatik berupa daya katalis untuk mengurai atau memecah protein sehingga enzim papain dapat memberikan aktivitas antimikroba (7).

Beberapa penyakit seperti bisul, jerawat, pneumonia, osteomyelitis (radang pada tulang), meningitis, empiema, endokarditis disebabkan oleh mikroba *Staphylococcus aureus* (5,6,9).

Dari uraian di atas timbul masalah apakah enzim papain dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan pada konsentrasi berapakah memberikan efek yang optimal. Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan penelitian uji daya hambat enzim papain terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi enzim papain yang memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uralan Enzim Papain

II.1.1 Pembuatan Enzim Papain

Enzim papain adalah enzim yang terdapat dalam getah pepaya, merupakan jenis enzim proteolitik yaitu enzim yang mengkatalisis ikatan peptida pada protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Papain diperoleh melalui penyadapan getah batang pepaya minimal berumur 3 bulan. Kemudian getah dikeringkan pada suhu 60-70°C selama 12 jam. Setelah itu dimurnikan dengan etanol 95 %, getah mengendap menjadi tepung putih hingga kekuningan dengan rasa dan bau yang khas. Papain yang diproses dengan teknologi *Spray dryer* atau *freeze drying* akan menghasilkan papain yang berkualitas tinggi berwarna putih susu dan dapat berwarna coklat dan dalam 3 hari saja menjadi lebih gelap dan mengeluarkan bau tak sedap (1).

II.1.2 Kandungan Kimia

Berbagai macam senyawa terdapat dalam enzim papain, diantaranya lebih dari 50 asam amino seperti asam aspartat, treonin, serin, asam glutamat, prolin, glisin, alanin, valine, isoleusin, leusin, tirosin, fenil alanin, histidin, lysin, arginin, triptofan, dan sistein. Papain mengandung senyawa karpain yang dapat mencerna protein mikroorganisme (1).

II.1.3 Kegunaan Enzim Papain

Dalam bidang farmasi, enzim papain dapat digunakan dalam pembuatan vaksin, sebagai bahan aktif dalam pembuatan krim pembersih kulit. Ini disebabkan karena papain dapat melarutkan sel-sel mati yang melekat pada kulit dan sukar terlepas dengan cara fisik. Selain itu papain pun sering dijadikan bahan aktif dalam pembuatan pasta gigi. Dalam industri makanan minuman, enzim papain bermanfaat sebagai pelunak daging, penjernih dan penambah rasa pada bir, pembuatan keju. Enzim papain juga dapat digunakan untuk penyamakan kulit, dalam industri tekstil sebagai pelunak wol dan penghapus noda (1,2)

II.1.4 Kelarutan Enzim Papain

Enzim papain larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol, kloroform dan eter (2)

II.2 Uraian Bakteri Uji

II.2.1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* (11, 12, 14, 15, 16)

- Dunia : Procaryotae
- Divisi : Protophyta
- Kelas : Schyzomycetes
- Bangsa : Eubacteriales
- Suku : Eubacteriaceae
- Marga : Staphylococcus
- Jenis : *Staphylococcus aureus*

II.2.1. Sifat dan Morfologi (11,12,14,15,16)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, berbentuk bulat, bergaris tengah 0,5-1,5 mikrometer, terdapat bergerombol seperti buah anggur, satu-satu atau berpasangan, tidak bergerak, tidak tahan asam, di atas pembenihan dapat berupa koloni bulat dengan diameter 1-2 mm, sedikit cembung, amorf dan tidak transparan. Biasanya terdapat di atas permukaan kulit, saluran pernapasan bagian atas, saluran kencing, mulut dan hidung, jaringan kulit bagian dalam dari bisul bernanah, infeksi luka, radang paru-paru dan selaput lendir lainnya, dapat tumbuh pada suhu 10-45°C, pada suhu pertumbuhan optimum 37° C, pada pH 7,0-7,5.

II.3 Berbagai macam mikroorganisme gram positif dan mikroorganisme gram negatif

1. Mikroorganisme gram positif adalah :

Gram positif bulat :

1) *Staphylococcus*, misalnya :

❖ *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus eidermidis*

2) *Streptococcus*

❖ *Streptococcus pyrogenes*

3) *Diplococcus*

❖ *Diplococcus pneumoniae*

2. Mikroorganisme gram negatif adalah:

a) Gram negatif berbentuk bulat

1. *Neisseria*, seperti *Neisseria gonorrhoeae* dan *Neisseria meningitis*
2. *Branhamella*, seperti *Branhamella catanhalis*

b) Gram positif berbentuk batang

1. *Bacillus*, seperti :

- o *Bacillus anthracis*
- o *Bacillus cerens*
- o *Bacillus polymixa*
- o *Bacillus brevis*
- o *Bacillus subtilis*
- o *Bacillus licheniformis*

2. *Clostridium*, seperti :

- o *Clostridium speticum*
- o *Clostridium perfringen (welchii)* dan *Clostridium noviyi*
- o *Clostridium botulinum*
- o *Clostridium sporogenesis*
- o *Clostridium spheroids*

3. *Corynebacterium*, seperti :

- o *Corynebacterium diphtheriae*
- o *Corynebacterium vaginalis (Haemophyllus vaginalis/ Gardnerella vaginalis)*

c) Gram negatif bentuk batang, adalah:

1. *Pseudomonas* : *Pseudomonas aeruginosa*
2. *Vibrio*
 - o *Vibrio cholerae* / *comae* dan *Vibrio parahaemolyticus*
 - o *Francisella tuberculosis* / *Pasteurella tularensis*
3. *Yersinia* dan *Francisella*
 - o *Yersinia pseudotuberculosis* varietas *petis* atau disebut dengan *Pasteurella petis*
 - o *Francisella tuberculosis* / *Pasteurella tularensis*
4. *Bordetella* : *Bordetella pertussis*
5. *Brucella* : *Brucella abortus*
6. *Haemophilus*
 - o *Haemophilus influenzae* dan *Escherichia coli*
7. *Salmonella*
 - o *Salmonella typhosa*
 - o *Salmonella paratyphi*
 - o *Salmonella typhimurium*
 - o *Salmonella enteridis*
8. *Shigella*
 - o *Shigella shiga*
 - o *Shigella flexneri*
 - o *Shigella sonnei* dan *Shigella boydii*

II.4 Tinjauan Umum Antimikroba

Antimikroba adalah suatu zat atau senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa senyawa atau kelompok senyawa tergolong antimikroba adalah antibakteri, antifungi, antivirus, antibiotika yang merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan perbanyakan virus, sedangkan antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan untuk menghambat dan membunuh mikroorganisme lain.

II.4.1 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa atau kelompok senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri

Antibakteri meliputi (16):

- a. Zat bakterisid, yaitu suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat berkhasiat mematikan bakteri yang terkena efek dari bakterisid.
- b. Zat bakteriostatik, yaitu suatu senyawa yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan atau perbanyakan bakteri pada dosis biasa.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Suatu mikroba bersifat bakteriostatik atau bakterisid dapat ditentukan oleh kadar yang diberikan. Antimikroba tertentu yang

II.4 Tinjauan Umum Antimikroba

Antimikroba adalah suatu zat atau senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa senyawa atau kelompok senyawa tergolong antimikroba adalah antibakteri, antifungi, antivirus, antibiotika yang merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan perbanyakan virus, sedangkan antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan untuk menghambat dan membunuh mikroorganisme lain.

II.4.1 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa atau kelompok senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri

Antibakteri meliputi (16):

- a. Zat bakterisid, yaitu suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat berkhasiat mematikan bakteri yang terkena efek dari bakterisid.
- b. Zat bakteriostatik, yaitu suatu senyawa yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan atau perbanyakan bakteri pada dosis biasa.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Suatu mikroba bersifat bakteriostatik atau bakterisid dapat ditentukan oleh kadar yang diberikan. Antimikroba tertentu yang

bersifat bakteristatik dapat bersifat bakterisid bila kadarnya ditingkatkan melebihi KHM. Sebaliknya bila kadar lebih rendah dari KBM maka suatu antimikroba bersifat bakterisid dapat bersifat bakteristatik atau berefek sama sekali(15,17).

Sifat bakteristatik dan bakterisid dapat pula diamati pada kejernihan zona inhibisi disekeliling antimikroba pada medium agar yang diinokulasi dengan mikroba uji tertentu dan inkubasi selama 24 jam lalu dilanjutkan 48 jam inkubasi maka antimikroba yang digunakan bersifat bakterisid. Akan tetapi bila selama 24 jam inkubasi zona inhibisi bening kemudian menjadi keruh setelah 48 jam, maka antimikroba yang digunakan bersifat bakteristatik (17).

II.4.2 Antifungi

Antifungi adalah suatu zat atau senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan atau perbanyakan dari fungi (jamur, kapang dan khamir).

Antifungi dapat digolongkan dalam :

- a. Fungisid, yaitu suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat mematikan fungi.
- b. Fungistatik, yaitu suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat menghambat pertumbuhan dan perbanyakan fungi.

II.4.3 Antivirus

Antivirus adalah senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan multiplikasi dari virus. Contoh senyawa yang tergolong antivirus adalah beberapa senyawa antibiotik.

II.4.4 Antibiotika

Istilah antibiotika bermula dari istilah antibiose yang pada tahun 1889 oleh Willemin mengartikan secara harfiah, yaitu melawan hidup. Dalam konsep biologis antibiose diartikan sebagai suatu organisme yang lain untuk kelangsungan hidupnya sendiri. Menurut Waksman yang disempurnakan oleh Benedict dan Langlyke, antibiotika adalah suatu senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau produk sintetik yang merupakan analog senyawa alam, dalam konsentrasi kecil dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang lain. Menurut Turpin dan Velu, antibiotika adalah semua senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup atau yang diperoleh melalui sintesis yang memiliki indeks khemoterapi tinggi, yang manifestasi aktivitasnya terjadi pada dosis yang sangat rendah secara spesifik melalui inhibisi proses vital tertentu pada virus, mikroorganisme ataupun juga berbagai organisme bersel majemuk.

Contoh senyawa yang termasuk antibiotika adalah penisilin yang berasal dari *Penicillium notatum*, Streptomisin yang dihasilkan oleh

Streptomices grisesus, tetrasiklin yang dihasilkan oleh *Streptomyces* sp.

II.5 Mekanisme Kerja Antimikroba (7,9,11)

II.5.1 Menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, dimana bakteri pathogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA). Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan asam paraamino benzoate (PABA) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Untuk dapat bekerja, dihidrofolat harus diubah menjadi bentuk aktifnya yaitu asam tetrahidrofolat.

II.5.2 Menghambat dinding sel mikroba

Berbeda dengan binatang, mikroba memiliki suatu lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel dinding ini mempertahankan bentuk jasad renik dan menahan sel mikroba, yang memiliki tekanan osmotik dalam yang tinggi. Tekanan dalam mikroba gram positif 3-5kali lebih besar daripada mikroba gram negatif. Dinding sel mengandung suatu zat yang secara kimiawi merupakan polimer kompleks mukopeptida, terdiri dari polisakarida dan suatu polipeptida dengan banyak hubungan silang. Polisakaridanya umumnya mengandung gula-gula amino terikat rantai-rantai pentapeptida. Kekakuan dinding sel ditambah lagi dengan hubungan silang rantai-rantai peptida yaitu melalui ikatan-ikatan



pentaglisin sebagai akibat reaksi transpeptidase yang dikerjakan oleh beberapa enzim. Lapisan peptidoglikan lebih tebal pada dinding sel mikroba gram-positif daripada dinding sel mikroba gram-negatif. Struktur dinding sel mikroba dapat merusak dengan cara menghambat reaksi transpeptidase sehingga sintesis peptidoglikan tertahan. Dengan demikian dapat diketahui bahwa struktur dinding sel mikroba dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah dinding sel tersebut selesai terbentuk.

II.5.3 Mengganggu keutuhan dinding sel mikroba

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran (selaput) sitoplasma yang bekerja sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif dan dengan demikian mengandalkan susunan dalam dari sel. Bila integritas fungsi membran sitoplasma terganggu, nukleotida purin dan pirimidin serta protein akan lolos dari sel dan muncul kerusakan atau kematian sel, akibatnya mikroba akan mati.

II.5.4 Mengganggu sintesis protein sel mikroba

Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein, sintesa protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terbagi atas 2 sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S.

Penghambatan zat antimikroba dapat terjadi dengan beberapa cara, salah satunya adalah:

1. Zat antimikroba berikatan dengan 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba.
2. Dapat pula, zat antimikroba berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida. Akibatnya, rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA-asam amino yang baru.

II.5.5 Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Mekanisme kerja antimikroba terhadap pada asam nukleat ini melalui beberapa cara diantaranya, antimikroba membentuk ikatan-ikatan kompleks dengan DNA melalui ikatan pada residu deoksiganosin. Dengan pembentukan kompleks ini akan menghambat polimerase RNA dan menahan pembentukan mRNA yang sangat tergantung pada DNA. Atau dapat dengan cara antimikroba berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut akibatnya terjadi kerusakan pada sel mikroba (9,11,12).

II.6 Pengujian Secara Mikrobiologis

II.6.1 Metode difusi (*Difussional Method*)

Pada metode ini kemampuan zat antimikroba atau antibiotika ditentukan berdasarkan luas daerah hambatan yang terjadi disebabkan karena adanya zat antimikroba yang berdifusi kedalam medium pembenihan padat. Metode difusi dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa cara :

II.6.1.1 Metode difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk oleh pertumbuhan mikroorganisme dengan luas daerah hambatanyang terjadi oleh larutan pembanding.

II.6.1.2 Metode difusi dengan mangkok pipih

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan silinder pipih. Perbedaannya disini menggunakan alat berupa "Cup Plate" yaitu lubang atau semacam mangkuk yang dibuat langsung pada medium agar.

II.5.1.3 Metode difusi dengan kertas saring

Perbedaan dengan cara-cara di atas yaitu cara ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat bulat dengan diameter 0,7 samapai 0,1 cm, yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan larutan pembanding, kemudian kertas

saring tersebut dikeringkan dan diletakkan di atas medium agar yang telah ditanami dengan mikroba uji. Pengamatan dilakukan setelah waktu inkubasi tertentu dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi.

II.6.1.4 Metode difusi dengan cara Kirby-Bauer

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan cara difusi dengan kertas saring. Perbedaannya adalah pada metode ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm, sehingga dapat langsung diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh

II.6.1.5 Metode difusi dengan cara agar lapis

Cara ini merupakan cara modifikasi dari cara Kirby-Bauer. Perbedaannya, pada cara ini menggunakan dua lapis agar, yaitu lapisan pertama ini tidak mengandung bakteri (*base layer*), sedangkan lapisan kedua mengandung bakteri yang dicampur pada media agar (*Seed layer*) (10,12).

II.6.2 Metode Pengenceran (*Dilution Method*)

Pada metode ini digunakan sejumlah bahan antimikroba dengan tingkat kadar yang berbeda-beda sesuai yang telah ditetapkan. Pengenceran secara seri dalam media kaldu (*Serial Dilution Method in Broth*). Dengan cara menggunakan sejumlah urutan tabung yang berisi media kaldu cair dan sejumlah bahan antimikroba dalam kadar yang

berbeda-beda, kemudian ditanami dengan bakteri uji. Potensi antimikroba atau antibiotik dapat diketahui dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat dari pertumbuhan bakteri uji. Kekeruhan yang terjadi akibat dari pertumbuhan bakteri uji. Kekeruhan akan berbeda-beda sesuai dengan kadar antimikroba. Tingkat kekeruhan akan berbeda-beda sesuai dengan kadar antimikroba. Tingkat kekeruhan dalam medium dapat diukur dengan menggunakan alat fotoelektrik kalorimeter. Kemudian dibandingkan dengan kekeruhan yang terjadi yang disebabkan oleh pertumbuhan mikroorganisme uji pada antimikroba pembanding yang mendapat perlakuan yang sama.

II.7 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba (19)

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan suatu hal penting untuk diketahui. Pengetahuan tentang faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba sangat penting dalam mengendalikan mikroba. Berikut ini faktor-faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba sebagai berikut:

1. Suplai Nutrisi

Mikroba sama dengan makhluk hidup lainnya, memerlukan suplai nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah : Karbon, nitrogen, hidrogen, sulfur, fosfor, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya. Ketiadaan atau kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan

kematian. Kondisi tidak bersih dan higienis pada lingkungan adalah kondisi yang menyediakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba sehingga mikroba dapat tumbuh berkembang di lingkungan seperti ini. Oleh karena itu prinsip dari pada menciptakan lingkungan bersih dan higienis adalah untuk mengelimir dan memanilisir sumber nutrisi bagi mikroba agar pertumbuhannya terkendali.

2. Suhu/Temperatur

Suhu merupakan salah satu fakto penting di dalam mempengaruhi dan pertumbuhan mikroorganisme. Suhu dapat mempengaruhi mikroba dalam dua cara berlawanan:

- 1) Apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu turun, maka kecepatan metabolisme akan menurun dan pertumbuhan dipercepat.
- 2) Apabila suhu naik atau turun secara drastis, tingkat pertumbuhan akan terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan rusak, sehingga sel-sel menjadi mati.

Berdasarkan hal di atas, maka suhu yang berkaitan dengan pertumbuhan mikroorganisme digolongkan menjadi tiga, yaitu:

- 1) Suhu minimum, yaitu suhu yang apabila berada di bawahnya maka pertumbuhan terhenti.

- 2) Suhu optimum, yaitu suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum. Disebut juga suhu inkubasi
- 3) Suhu maksimum, yaitu suhu yang apabila berada di atasnya maka pertumbuhan tidak terjadi..

Sehubungan dengan penggolongan suhu di atas, maka mikroba di golongkan menjadi

Tabel 1 : Penggolongan Bakteri Menurut Suhu

Kelompok	Suhu Minimum	Suhu Optimum	Suhu Maksimum
Psikrofil	- 15° C	10° C	20° C
Psikrotrof	- 1° C	25° C	35° C
Mesofil	5 - 10° C	30 -37° C	40° C
Thermofil	40° C	45 - 55° C	60 - 80° C
Thermotrof	15° C	42 - 46° C	50° C

Berdasarkan ketahanan panas, mikroba dikelompokkan menjadi tiga macam, yaitu:

1. Peka terhadap panas, apabila semua sel rusak apabila dipanaskan pada suhu 60°C selama 10 – 20 menit.
2. Tahan terhadap panas, apabila dibutuhkan suhu 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.
3. Thermodurik, dimana dibutuhkan suhu lebih dari 60°C selama 10 – 20 menit tapi kurang dari 100°C selama 10 menit untuk mematikan sel.

3. Keasaman atau Kebasaan (pH)

Setiap organisme memiliki kisaran antara pH masing-masing dan memiliki pH optimum yang berbeda-beda. Kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6,0 – 8,0 dan nilai pH di luar kisaran 2,0 sampai 10,0 biasanya bersifat merusak.

4. Ketersediaan Oksigen

Mikroorganisme memiliki karakteristik sendiri-sendiri di dalam kebutuhannya akan oksigen. Mikroorganisme dalam hal ini di golongkan menjadi

1. Aerobik : hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas
2. Anaerob : hanya dapat tumbuh bila tidak ada oksigen bebas
3. Anaerob fakultatif : dapat tumbuh dengan baik atau tanpa oksigen bebas
4. Mikroaerifili : dapat tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen bebas

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, botol pengencer, botol semprot, cawan petri, gelas ukur 100 dan 250 ml, inkubator (memmert), jangka sorong(sunlon), kompor gas, Labu erlenmeyer 250 ml (Duran), *laminar Air Flow* (LAF) (Envirco), lampu spiritus, labu takar 25 ml, oven (Fisher), ose bulat, pencadang silinder, pinset, Sendok tanduk, Spektrofotometer, Spoit, Timbangan analitik (O'Haus)

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, aluminium foil, alkohol 70 % (tehnis), biakan murni *Staphylococcus aureus*, enzim papain murni (Merck), kapas, medium NA (*Nutrient Agar*) (Conda), medium GNA (*Glucose Nutrient Agar*) (Conda).

III.2 Metode Kerja

III.2.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang diperlukan dicuci dengan detergen, wadah dengan mulut lebar dibersihkan dengan merendam larutan detergen panas selama 15 sampai 30 menit diikuti dengan pembilasan pertama-tama dengan air bersih dan yang terakhir dengan air suling. Alat-alat yang dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka setelah kering kemudian dibungkus dengan kertas perkamen. Tabung reaksi dan labu erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat gelas disterilkan di oven pada suhu 180 ° C selama 2 jam. Alat suntik dan alat-

alat plastik (tidak tahan pemanasan tinggi) disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 2 atm. Jarum ose disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar selama 30 detik.

III.2.2 Pembuatan Medium

III.2.2.1 Medium NA

Komposisi : ekstrak daging 0,3% , pepton 0,5%, agar 1,5%, air suling 1000 ml.

pH 7,4 ± 0,2.

Cara pembuatan : Bahan – bahan di atas ditimbang untuk 50 ml medium, dimasukkan ke labu erlenmeyer, dilarutkan dengan 50 ml air suling, dipanaskan hingga larut, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C tekanan 2 atmosfer selama 1 jam.

III.2.2.2 Medium GNA

Komposisi : glukosa 1% , ekstrak daging 0,5% , pepton 1% , natrium klorida 0,25% , agar 1,5% , air suling 1000 ml.

pH 7,0.

Cara pembuatan : Bahan – bahan di atas ditimbang untuk 50 ml medium, dimasukkan ke labu erlenmeyer, dilarutkan dengan 50 ml air suling, dipanaskan hingga larut, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C tekanan 2 atmosfer selama 1 jam.

III.2.3 Pengolahan Bahan

III.2.3.1 Pembuatan Larutan Enzim Papain

Enzim papain murni dibuat dalam konsentrasi 2,5 %, 5%, 10%, 20 % b/v. Cara untuk membuat konsentrasi 2,5 % adalah ditimbang enzim papain murni sebanyak 2,5 g kemudian dilarutkan kedalam air suling steril hingga 100 ml. Untuk membuat konsentrasi 5 %, 10 % dan 20 % dengan cara yang sama, dengan menimbang masing-masing 5 g, 10 g, 20 g sampel untuk masing-masing volume 100 ml.

III.2.4 Penyiapan Bakteri Uji

III.2.4.1 Peremajaan kultur murni bakteri uji

Bakteri uji masing-masing diambil 1 ose, kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium NA miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 1 x 24 jam.

III.2.4.2 Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji yang telah diremajakan disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9 % steril dengan menggunakan ose bulat , kemudian diukur transmitannya pada 25 % menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm. Sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9 %.

III.2.5 Pengujian Daya Hambat Enzim Papain

Pengujian dilakukan dengan metode difusi. Sebanyak 10 ml medium GNA steril dituang secara aseptis ke dalam cawan Petri, dibiarkan memadat sebagai *base layer*, kemudian ditambahkan di atasnya campuran 5 ml medium GNA dengan 1 ml suspensi bakteri uji dibiarkan

setengah padat sebagai *seed layer*. Empat buah pencadangan steril diletakkan sedemikian rupa hingga jarak antar pencadangan ± 45 mm. Dimasukkan pengenceran enzim papain yang bervariasi, sebanyak 0,2 ml ke dalam pencadangan secara aseptis. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

III.2.6 Pengamatan dan Pengukuran Diameter Hambatan

Pengamatan dan pengukuran diameter hambatan dilakukan dengan mengukur daerah hambatan setelah masa inkubasi 24 jam pada suhu 37°C.

III.2.7 Analisis Data

Data yang diperoleh setelah pengamatan dan pengukuran diameter hambatan, diolah secara statistik dengan metode Rancangan Acak Lengkap. Terhadap daerah hambatan pertumbuhan yang dihasilkan.

III.2.8 Pembahasan

Pembahasan dirincikan berdasarkan hasil pengamatan dari data pengukuran diameter daerah hambatan suspensi enzim papain terhadap *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. 1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian daya hambat suspensi enzim papain pada konsentrasi 2,5 %; 5 %; 10 %; dan 20 % dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam dengan diameter rata-rata yaitu 13,04 mm, 14,52 mm, 17,51 mm, 19,18 mm

IV.2 Pembahasan

Dalam penelitian ini enzim papain didispersikan dengan beberapa konsentrasi yaitu 2,5%; 5%; 10%; dan 20% b/v, tujuan divariasikan adalah untuk melihat konsentrasi optimal yang dapat memberikan efek daya hambat terhadap bakteri uji.

Berdasarkan hasil pengujian diameter hambatan pertumbuhan bakteri uji dengan masa inkubasi 1 x 24 jam memperlihatkan bahwa enzim papain menghambat pertumbuhan bakteri uji yang digunakan ditandai dengan adanya daerah bening yang tidak ditumbuhi bakteri uji disekeliling pencadangan. Papain dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena papain dapat mencerna protein mikroorganisme yaitu dengan mengkatalisis ikatan peptida pada protein menjadi senyawa- seperti dipeptida dan asam amino(4,8). Enzim papain termasuk golongan enzim protease sulfhidril yang artinya mempunyai residu sulfhidril pada lokasi aktifnya yang bekerja pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri(27). Dari hasil pengukuran diameter zona hambatan diperoleh dari

masing-masing konsentrasi dengan diameter hambatan rata-rata yang dihasilkan adalah 13,04 mm, 14,52 mm, 17,51 mm, 19,18 mm

Dari hasil uji daya hambat di atas terlihat adanya peningkatan yang diikuti dengan peningkatan zona hambatan yang terbentuk. Hal ini karena semakin besar konsentrasi berarti semakin besar pula komponen aktif yang bersifat antibakteri. Konsentrasi zat aktif akan mempengaruhi mikroorganisme, semakin besar konsentrasinya maka akan menyebabkan lebih banyak kematian mikroorganisme. Akan tetapi hal ini tidak selalu terjadi karena ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi seperti kandungan zat aktif, laju pertumbuhan mikroorganisme, kemampuan dan laju difusi zat aktif pada medium, kepekaan mikroorganisme terhadap zat aktif serta ketebalan dalam viskositas medium (24).

Untuk mencegah perbedaan kecepatan difusi tiap enzim papain, maka enzim papain di suspensikan dalam air suling. Karena salah satu faktor yang mempengaruhi uji daya hambat adalah kecepatan difusi bahan aktif dari tiap pencadangan, Hal ini juga dikemukakan oleh Pleczar dan Chan ada beberapa faktor yang mempengaruhi besar kecilnya daya hambat suatu antimikroba adalah konsentrasi senyawa antimikroba, jumlah mikroba, suhu, waktu, spesies (jenis mikroba), pH dan zat atau bahan yang terlarut.

Hasil analisa statistik dengan metode Rancangan Acak Lengkap memperlihatkan perbedaan daya hambat yang sangat signifikan pada jenis bakteri yang digunakan, ini berarti adanya pengaruh jenis bakteri



terhadap pertumbuhan diameter hambatan. Hal ini dilihat dari harga F hitung lebih besar dari harga F tabel pada taraf 1 % dan 5 %. Dengan demikian kepekaan jenis bakteri terhadap potensi suatu zat antibakteri yang terdapat di dalam enzim papain berbeda nyata (signifikan) dan masing-masing konsentrasi memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri uji yang secara statistik berbeda nyata.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang dilakukan terhadap enzim papain maka dapat disimpulkan bahwa enzim papain mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi terbesar 20 % diameter 19,18 mm

V.2 Saran

1. Disarankan untuk melakukan pengujian dengan menggunakan enzim papain dari hasil ekstraksi langsung dari tanaman pepaya.
2. Dicoba pada bakteri gram positif lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

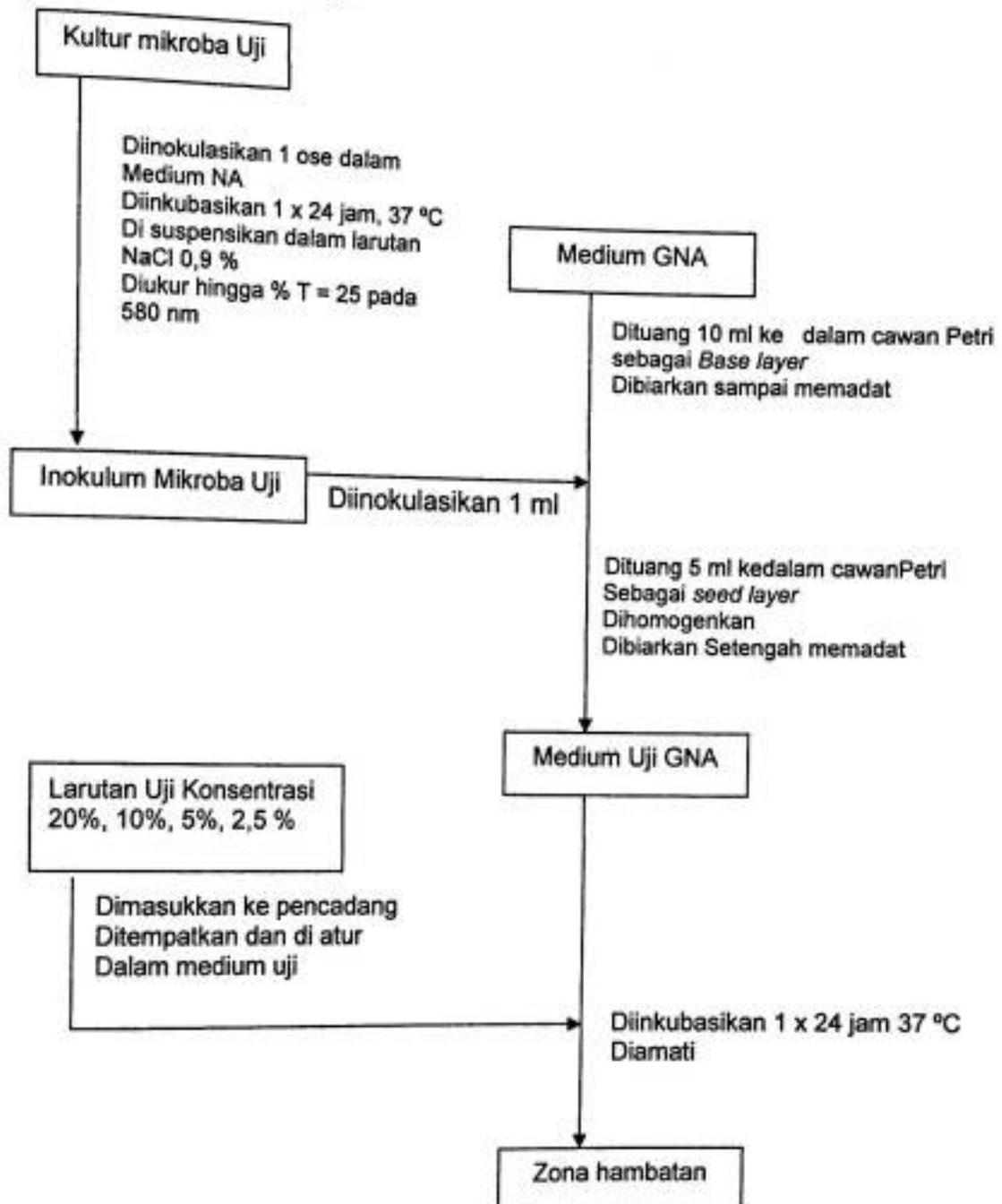
1. Kali Baga M., 2005, *Bertanam Pepaya*, Edisi revisi, Penerbit Swadaya, Jakarta 93-98.
2. Teknologi Pangan dan Gizi-IPB. 2006. *Enzim Papain Dari Papaya*. <http://warintek.ristek.go.id/pangan-kesehatan>, diakses 11 September 2006.
3. Indan, Entjang. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. PT. Citra Aditya Bakti. Bandung 60-64.
4. Fitriani, V. 2006. *Getah Sejuta Manfaat*. <http://www.trubus-online.com/mod.php?mod>, diakses 7 September 2006
5. Djuanda A., 1999, *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*, Edisi III, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta 235-237.
6. Buchanan, R.E. 1974. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. Eight Edition. The William and Wilkins Company. Baltimore 217
7. Sahelian R., 2006, *Papain Enzim*, on line, <http://www.enzymeindia.com>, diakses 12 Agustus 2006
8. Purnomo Yudi. 2006. *Virgin Coconut Oil Versus Papain si Getah Pepaya*. <http://www.kimianet.lipi.go.id>, diakses 7 september 2006
9. Jawets., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi I, Binarupa Aksara, Jakarta 317-319
10. DIFCO., 1998, *Culture Media Handbook*, E.Merck Darmstadt, Federal Republik Germany, 214-215.
11. Djide, M.N., 2004, *Mikrobiologi Farmasi Dasar*. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi UNHAS, Makassar, 165-168
12. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 720.
13. Irianto K., 2006, *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*, Edisi I, Penerbit Yrama Widya, Bandung, 56.

14. Pleczar, M. J dan E.C. S. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Terjemahan Ratnasiri Hsadioetomo, Universitas Indonesia, Press Jakarta. 31- 155
15. Sujudi. , 1993. *Mikrobiologi Kedokteran*. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Binarupa Aksara, Jakarta 262-265, 284-288.
16. Ganiswara. S., 1987. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi III. Bagian Farmakologo Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, jakarta 514-526.
17. Hadioetomo, R.S., 1993, *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek dan Prosedur dalam Laboratorium*, PT. Gramedia, Jakarta 76.
18. Sudjana., 1992, *Metode Statistika*, Edisi V, Tarsito, Bandung 149,299,307,493.
19. Suriawiria, V., 1987, *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa Bandung 29-34.
20. Gibson, J.M., 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta 253.
21. Edberg, S.C., Berger, S.A., 1983, *Antibiotik dan Infeksi*. Terjemahan oleh Sanusi Chandra, EGC Penerbit buku kedokteran, Jakarta 140-141.
22. Fardiaz, S., 1988. *Fisiologi Fermentasi*, Pusat Antar unibersitas Institut Pertanian Bogor bekerjasama dengan Lembaga Sumber Daya Informasi IPB.
23. Watimena., 1995, *Farmakodinamika dan Terapi Antibiotika*. Universitas Airlangga Press Surabaya
24. Volk, WA., dan Wheeler, M.F., 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I* Erlangga, Jakarta 134
25. Louise B H., 2001, *Mikrobiologi dan Penyakit Infeksi*. Penerbit Hipokrates 46-47.
26. Cappucino, J, dan G. Sherman, Natalie, 1978. *Microbiology A Manual*. Third Edition. The Benjamin Comnias Publishing Company, Inc New York, 57-67

Tabel 1. Hasil Pengujian Diameter Zona Hambatan Enzim Papain Terhadap *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Zona Hambatan Dengan Konsentrasi				Jumlah
	2,5 %	5%	10%	20%	
1	13,05 mm	15,09 mm	18,01 mm	19,38 mm	65,53 mm
2	13,02 mm	14,28 mm	17,23 mm	19,09 mm	63,62 mm
3	13,07 mm	14,20 mm	17,30 mm	19,09 mm	63,66 mm
Jumlah	39,14 mm	43,57mm	52,54 mm	57,56 mm	192,81mm
Rata-rata	13,04 mm	14,52 mm	17,51 mm	19,18 mm	64,27mm

Lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Perhitungan statistik Uji Daya Hambat Enzim Papain Terhadap *Staphylococcus aureus*.

Replikasi	Zona Hambatan Dengan Konsentrasi				Jumlah
	2,5 %	5%	10%	20%	
1	13,05mm	15,09 mm	18,01mm	19,38 mm	65,53 mm
2	13,02 mm	14,28 mm	17,23mm	19,09 mm	63,62 mm
3	13,07mm	14,20 mm	17,30mm	19,09mm	63,66 mm
Jumlah	39,14 mm	43,57 mm	52,54 mm	57,56 mm	192,81 mm
Rata-rata	13,04 m m	14,52 mm	17,51 mm	19,18 mm	64,27 mm

$$FK = \frac{(192,81)_2}{12} = \frac{37175,69}{12} = 3097,98$$

$$\begin{aligned} JKT &= [(13,02) + (15,09) + (18,01) + \dots + (19,09)] - 3097,98 \\ &= 3168,83 - 3097,98 \\ &= 70,85 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{\{(39,14) + (43,57) + (52,54) + (57,56)\}}{3} - 3097,98 \\ &= \frac{9503,87}{3} - 3097,98 \\ &= 69,98 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 70,85 - 69,98 \\ &= 0,87 \end{aligned}$$

Keterangan :

FK : Faktor Koreksi

JKG : Jumlah Kuadrat Galat

JKP : Jumlah Kuadrat Perlakuan

JKT : Jumlah Kuadrat Total

Tabel Anava

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. Hitung	F. Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	3	69,98	23,32	233,3	4,07	7,59
Galat	8	0,87	0,10			
Total	11	70,85				

$F_h = 233,2$. $F_{tab} = 4,07$ dan $7,59$. Sangat signifikan artinya ada perbedaan nyata antara khamir uji dan enzim papain terhadap diameter zona hambatan.

Perhitungan Uji Lanjutan Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{Rumus} : t_{DB} \sqrt{\frac{2(KT \text{ galat})}{2}}$$

$$\text{BNT } 5 \% = t(0,05.8) \times \sqrt{\frac{2 \times 0,10}{3}}$$

$$= 2,306 \times 0,2$$

$$= 0,46$$

$$\text{BNT } 1 \% = t(0,01.8) \times \sqrt{\frac{2 \times 0,10}{3}}$$

$$= 3,355 \times 0,2$$

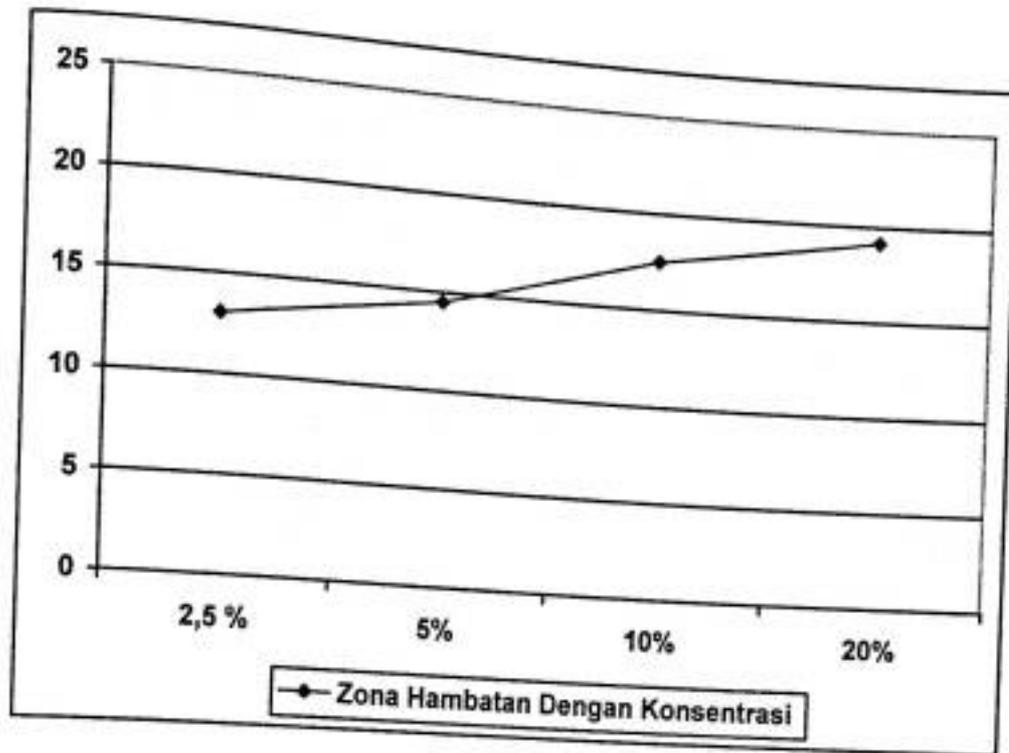
$$= 0,671$$

Perbandingan antar konsentrasi

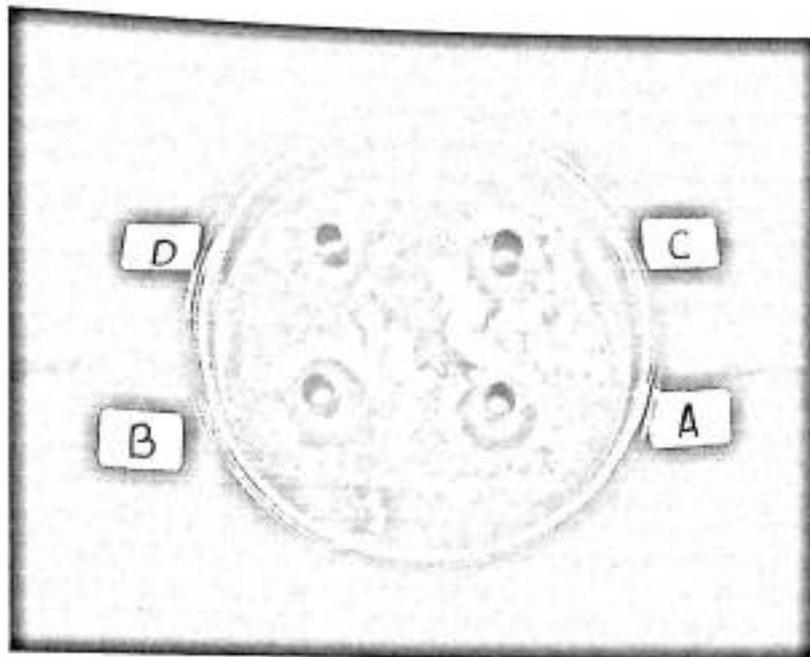
No	Perbandingan	Selisih	BNT Hitung		Keterangan
			5%	1%	
1.	2,5 >< 5	1,48	0,46	0,671	SS
2.	2,5 >< 10	4,47	0,46	0,671	SS
3.	2,5 >< 20	6,14	0,46	0,671	SS
4.	5 >< 10	2,99	0,46	0,671	SS
5.	5 >< 20	4,66	0,46	0,671	SS
6.	10 >< 20	1,67	0,46	0,671	SS

Keterangan :

SS = Sangat signifikan



Gambar 2 Grafik diameter rata-rata hambatan enzim papain terhadap *Staphylococcus aureus* pada masa inkubasi 1 x 24 jam.



Gambar 1. Hasil Pengamatan daerah Hambatan enzim papain terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

- a. Enzim papain konsentrasi 2,5 %
- b. Enzim papain konsentrasi 5 %
- c. Enzim papain konsentrasi 10 %
- d. Enzim papain konsentrasi 20 %