

AKTIVITAS ANTIBIOFILM EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Mira Andam Dewi*, Anggi Gumilar, Wisma Sari Indah

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani

*Email: miraandamdewi.91@gmail.com

Received: 23/01/2024, Revised: 16/02/2024, Accepted: 28/05/2024, Published: 29/05/2024

ABSTRAK

Daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung alkaloid, tanin, steroid, flavonoid dan papain yang dapat menghambat perlekatan sel dan pertumbuhan *Actinomyces*. Tujuan penelitian ini untuk melihat aktivitas antibiofilm ekstrak daun pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*, bakteri penyebab infeksi dan resisten terhadap beberapa antibiotik. *Staphylococcus aureus* memiliki resistensi antibiotik yang lebih tinggi dalam bentuk biofilm dibandingkan dalam bentuk plankton. Uji turbidimetri dilakukan pada 96 well plate dengan penambahan kristal violet. Metode maserasi dilakukan dengan pelarut air steril digunakan untuk mengekstraksi pada simplisia daun pepaya. Selanjutnya dibuat ekstrak kental daun pepaya diencerkan sehingga diperoleh dengan sepuluh konsentrasi berbeda dengan interval konsentrasi 9,76 – 5000 µg/mL. Tetrasiklin HCl dengan konsentrasi yang sama dengan ekstrak uji digunakan sebagai antibiotik pembanding. Uji aktivitas antibiofilm pada *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antibiofilm pada konsentrasi 625, 1250, 2500, dan 5000 µg/mL serta dapat menghambat pembentukan biofilm dengan nilai MBIC dari 625 g/mL.

Kata kunci : antibiofilm, daun pepaya (*Carica papaya* L.), biofilm, *Staphylococcus aureus*, MBIC

ABSTRACT

Papaya leaves (*Carica papaya* L.) contain alkaloids, tannins, steroids, flavonoids and papain which can inhibit cell attachment and growth of *Actinomyces*. The aim of this research was to examine the anti-biofilm activity of papaya leaf extract against *Staphylococcus aureus*, a bacteria that causes infection and is resistant to several antibiotics. *Staphylococcus aureus* has higher antibiotic resistance in the biofilm form than in the plankton form. Turbidimetric tests were carried out on 96 well plates with the addition of crystal violet. The maceration method is carried out with sterile water as a solvent used to extract papaya leaf simplicia. Next, a thick extract of papaya leaves was made and diluted to obtain ten different concentrations with a concentration interval of 9.76 – 5000 µg/mL. Tetracycline HCl with the same concentration as the test extract was used as a comparative antibiotic. The antibiofilm activity test on *Staphylococcus aureus* showed that papaya leaf extract had antibiofilm activity at concentrations of 625, 1250, 2500, and 5000 µg/mL and could inhibit biofilm formation with an MBIC value of 625 g/mL.

Keywords: antibiofilm, papaya leaves (*Carica papaya* L.), biofilm, *Staphylococcus aureus*, MBIC

PENDAHULUAN

Biofilm merupakan hasil interaksi dari masing-masing mikroorganisme dengan *quorum sensing* (QS) (Irie & Parsek, 2008). Bakteri gram negatif mengeluarkan sinyal AHL (*Acyl Homoserine Lactones*), sinyal peptida dihasilkan oleh bakteri gram positif, dan jamur menghasilkan senyawa farnesol atau tirosol yang berperan dalam sistem *quorum sensing* antar sel (Kalia, 2013); (Kim et al., 2015). Bakteri akan menghasilkan *Extracellular Polymeric Substance* (EPS) sebagai pelindung yang kuat setelah menerima sinyal QS, setelah itu bakteri membentuk suatu koloni untuk mensintesis biofilm (Brock et al., 2003). Antibiotik, desinfektan, dan bahkan sistem kekebalan inang tidak dapat menghentikan bakteri dalam biofilm (Oliveira et al., 2006); (Melchior & Vaarkamp, 2006).

Pada umumnya terapi antibiotik hanya akan membunuh sel bakteri planktonik, sedangkan bakteri yang terdapat dalam biofilm akan bertahan dan berkembang. Pembentukan biofilm dapat melindungi bakteri dari efektor sistem imun inang. (Davey & Toole, 2000); (Kim et al., 2015).

Senyawa terpen, steroid, karotenoid, fenolik, furanon, alkaloid, peptida, dan lakton telah diidentifikasi sebagai produk alami dengan potensi anti-biofilm (Viju et

al., 2013). Banyak senyawa aktif biologis dapat ditemukan di *Carica papaya L.* (Ashaye & Fasoyiro, 2014). Menurut penelitian (Alvita, 2015) ekstrak daun pepaya mengandung alkaloid, tanin, steroid, dan flavonoid yang dapat menghambat perlekatan sel, pertumbuhan sel, dan mendegradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Menurut penelitian Mugita dkk., 2017, papain yang terdapat pada daun pepaya dapat menghambat pembentukan biofilm *Actinomyces* oral (Mugita et al., 2017).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang sering menjadi penyebab infeksi, dan telah banyak resisten terhadap beberapa antibiotik (Mohammed et al., 2018)); ((Ko et al., 2019). Sebagai pertahanan diri, bakteri membentuk suatu lapisan lendir yang disebut dengan biofilm. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antibiofilm ekstrak air daun pepaya terhadap biofilm *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *microplates 96-well*, autoklaf, oven, inkubator, dan alat-alat gelas yang mendukung penelitian.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pepaya, etil alkohol 96%, air suling, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, FeCl₃, HCl, aseton P, asam borat, asam oksalat, eter P, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan *Mueller Hinton Broth* (MHB), larutan besi(III) klorida, *Phosphat Buffer Saline*, kristal violet.

Jalannya Penelitian

1. Persiapan sampel

Daun dicuci dan ditiriskan di bawah air mengalir. Selanjutnya proses pengeringan diangin-anginkan dan berlangsung kurang lebih 7 hari. Blender kemudian digunakan untuk menghancurkan daun kering. Sebanyak 5 g sampel dimaserasi dalam 50 ml air steril dan dikocok pada suhu ruang selama 24 jam sebelum disaring dan dipekatkan dalam penangas air hingga kering (Antibiofilm, Air, Pepaya, & Bakteri, 2016); (Gomashe, Sharma, & Kasulkar, 2014). Ekstrak kering daun pepaya dibuat dengan sepuluh konsentrasi larutan uji yang berbeda dengan interval 9,76 – 5000 µg/mL.

2. Analisis fitokimia

2.1 Alkaloid

Sebanyak 2 g serbuk simplisia dibasahi dengan 5 mL amonia dan digerus dalam mortar. Kloroform sebanyak 20 mL

ditambahkan ke dalam mortar dan digerus kuat-kuat. Campuran disaring, filtrat yang diperoleh diteteskan pada kertas saring dan diberi beberapa tetes pereaksi Dragendorff. Reaksi positif ditunjukkan oleh pembentukan warna merah atau jingga. Sisa filtrat diekstraksi dua kali dengan asam klorida 10% (1:2) dan fraksi asam diambil. Fraksi asam dibagi menjadi dua tabung masing-masing 5 mL. Tabung pertama ditetesi pereaksi Dragendorff, positif alkaloid bila terbentuk endapan merah bata. Tabung kedua ditetesi pereaksi Mayer dan reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih (Farnsworth, 1966).

2.2 Flavonoid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air suling, kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebanyak 5 mL filtrat ditambahkan serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida 2N. Campuran dididihkan diatas penangas air selama 5 menit dan disaring dengan kertas saring. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 mL amil alkohol, kemudian dikocok kuat. Terbentuknya warna kuning hingga merah pada lapisan amil alkohol (lapisan atas) menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Farnsworth, 1966).

2.3 Polifenol

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 20

mL air suling, kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat ditambahkan 2-3 tetes pereaksi besi (III) klorida. Terbentuknya warna hijau-biru hingga hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol(Farnsworth, 1966).

2.4 Kuinon

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 20 mL air suling, kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat ditambahkan 2-3 tetes kalium hidroksida (KOH) 5%. Terbentuknya warna kuning hingga merah menunjukkan adanya senyawa kuinon (Farnsworth, 1966).

2.5 Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak digerus dengan 20 mL eter, kemudian disaring. Filtrat diuapkan pada cawan penguap hingga kering. Pada residu kering ditetaskan 2-3 tetes larutan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat atau vanilin 10% dalam asam sulfat pekat. Terbentuknya warna-warna (ungu, coklat, merah) menunjukkan adanya senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid (Farnsworth, 1966).

2.6 Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak digerus dengan 20 mL eter, kemudian disaring. Filtrat diuapkan pada cawan penguap hingga kering. Pada residu

kering ditetaskan 2-3 tetes pereaksi Liebermann-Bouchardat. Terbentuknya warna ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dan warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa steroid (Farnsworth, 1966).

2.7 Saponin

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air suling, kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat dikocok kuat-kuat selama 30 detik, kemudian diamati pembentukan busa atau buih. Adanya senyawa saponin dalam simplisia ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1 cm sampai 10 cm dan stabil selama 5 sampai 10 menit serta tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes larutan asam klorida 2 N (Farnsworth, 1966).

2.8 Tanin

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 5 mL air suling, kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat dibagi dalam dua tabung reaksi. Tabung reaksi pertama dimasukkan 1 mL filtrat dan ditambahkan 5 tetes larutan gelatin 1%. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya senyawa tanin. Tabung reaksi kedua dimasukkan 1 mL filtrat dan ditambahkan 5 tetes pereaksi Steasny. Terbentuknya endapan berwarna merah muda

menunjukkan adanya senyawa tanin (Farnsworth, 1966).

3. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Biofilm *Staphylococcus aureus*

Pengujian dilakukan menggunakan metode turbidimetri menggunakan kristal violet sebagai berikut:

3.1 Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri dari *S. aureus* diinokulasikan ke dalam media MHB dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Suspensi bakteri diencerkan hingga kekeruhannya sama dengan 0,5 McFarland.

3.2 Uji Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Biofilm *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian ini, dibuat kontrol positif sebanyak 100 μL media MHB steril dan 100 μL suspensi bakteri dan kontrol negatif hanya 200 μL media MHB steril. Supernatan secara perlahan dituang dari sumur untuk memisahkannya dari sedimen.

Pada larutan uji, ditambahkan 100 μL ekstrak daun pepaya dan 100 μL media pada masing-masing sumuran sehingga diperoleh 10 seri konsentrasi dengan interval 9,76 – 5000 $\mu\text{g/mL}$, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap supernatan pada sumur didekantasi untuk memisahkannya dari endapan. Dengan menggunakan agar semi-padat, endapan

didasar sumur diuji untuk memastikan daya bunuh biofilm *S. aureus*. Endapan pada dasar sumur diuji menggunakan media MHA untuk mengetahui pertumbuhan bakteri.

Endapan dibilas dua kali dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Endapan yang terbentuk dipanaskan dengan oven pada suhu 60°C selama 1 jam untuk memfiksasi endapan. Kristal violet ditambahkan sebanyak 100 μL ke tiap sumur dan didiamkan selama dua menit, kemudian dibilas dengan air steril hingga air bilasan jernih. Setelah cairan di dalam sumur dibuang, dilihat ada atau tidaknya pembentukan biofilm pada dasar sumur. Hal ini ditandai oleh adanya lapisan warna kristal violet pada dasar sumur yang dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Prinsip maserasi adalah cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa tersebut akan larut dan dengan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa di dalam dengan di luar sel menyebabkan larutan keluar hingga terjadi

keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dengan di luar sel (K.R.Markham, 1988). Pemekatan ekstrak dilakukan sampai kering bertujuan untuk menguapkan air dari ekstrak. Ekstrak kering yang didapatkan kemudian dihitung rendemennya dengan cara membandingkan antara bobot ekstrak kering yang diperoleh dengan simplisia yang digunakan dalam proses ekstraksi. Rendemen ekstrak yang didapatkan yaitu 14,0745%. Nilai rendemen tersebut menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang tersari dalam air cukup besar.

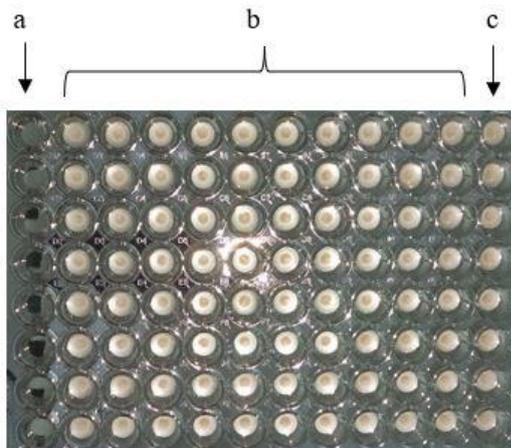
Penapisan fitokimia yang dilakukan dimaksudkan untuk mengidentifikasi metabolit yang terdapat pada ekstrak dan simplisia. Penapisan fitokimia ekstrak dan simplisia daun pepaya mengungkapkan adanya alkaloid, flavonoid, polifenol, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid. Adanya alkaloid, flavonoid, dan polifenol pada simplisia dan ekstrak menunjukkan bahwa daun pepaya (*Carica papaya* L) berpotensi sebagai antibiofilm. Alkaloid berperan penting dalam menghambat pembentukan biofilm karena dapat menghambat aktivitas komunikasi sel. Flavonoid telah terbukti menghambat ekspresi gen pembentuk biofilm *icaA* dan *icaD*. Salah satu faktor penting dalam pembentukan biofilm adalah *Polysaccharide Intercellular Adhesion* (PIA) yang disintesis oleh gen *icaA* dan *icaD* (Rohde et al., 2010).

Polifenol dapat mendenaturasi protein bakteri.

Pada uji aktivitas antibiofilm diuji menggunakan metode turbidimetri dengan pewarnaan kristal violet. Sampel yang diuji adalah ekstrak kering daun pepaya sebagai sampel uji dan tetrasiklin HCl sebagai sampel pembanding. Menurut penelitian sebelumnya, ekstrak air daun pepaya yang mengandung alkaloid, tanin, steroid, dan flavonoid dapat menghambat adhesi sel, dan menghambat pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Tetrasiklin HCl dipilih sebagai pembanding karena merupakan antibiotik spektrum luas dengan cara mengganggu sintesis protein.

Ekstrak uji dan pembanding dibuat menjadi sepuluh konsentrasi DMSO yang berbeda. Ekstrak uji dan konsentrasi referensi yang digunakan dalam pengujian memiliki rentang konsentrasi antara 9,76 – 5000 µg/mL. Karena dapat melarutkan ekstrak maka dipilih dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai pelarut dalam pembuatan larutan uji (Pratiwi, 2008).

Pada kontrol negatif tidak terbentuk endapan karena tidak ditambahkan suspensi bakteri. Hasil proses pembentukan biofilm dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pembentukan biofilm pada dasar sumur 96 well plate.

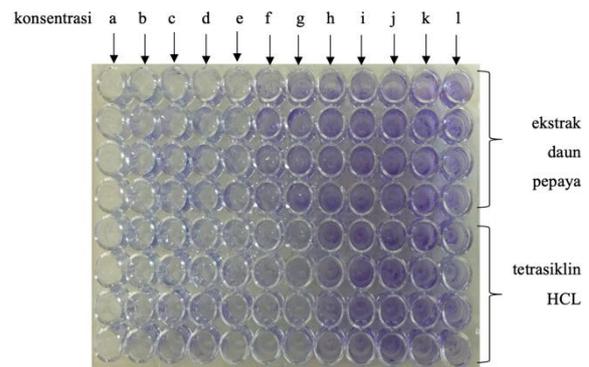
Keterangan :

a= kontrol negatif biofilm

b= pembentukan biofilm oleh bakteri *Staphylococcus aureus*

c= kontrol positif biofilm

Berdasarkan hasil pengujian pada tabel 1 terjadi penghambatan pertumbuhan biofilm pada konsentrasi ekstrak 625, 1250, 2500, dan 5000 $\mu\text{g/mL}$ jika dibandingkan dengan kontrol positif yang berwarna biru seperti tertera pada gambar 2. Konsentrasi ekstrak daun pepaya berbanding lurus dengan kemampuannya dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil pengujian yang tertera pada tabel 2, pertumbuhan biofilm terhambat pada konsentrasi larutan pembanding 156,25 – 5000 $\mu\text{g/mL}$. Gambar 2 menggambarkan hasil uji ekstrak daun pepaya dan tetrasiklin HCl dalam menghambat pertumbuhan biofilm *Staphylococcus aureus*.



Gambar 2. Hasil uji ekstrak daun pepaya dan tetrasiklin HCl sebagai antibiofilm *Staphylococcus aureus*

Keterangan:

A = Kontrol negatif

B = 5000 $\mu\text{g/mL}$

C = 2500 $\mu\text{g/mL}$

D = 1250 $\mu\text{g/mL}$

E = 625 $\mu\text{g/mL}$

F = 312,5 $\mu\text{g/mL}$

G = 156,25 $\mu\text{g/mL}$

H = 78,12 $\mu\text{g/mL}$

I = 39,06 $\mu\text{g/mL}$

J = 19,53 $\mu\text{g/mL}$

K = 9,76 $\mu\text{g/mL}$

L = Kontrol positif

Sumur berwarna ungu terlihat sebagai hasil dari pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada kontrol positif. Pembentukan warna ungu pada biofilm *Staphylococcus aureus* yang menempel pada dasar sumuran sama dengan mekanisme pewarnaan Gram pada umumnya (Kawarai et al., 2016). Kemampuan senyawa menembus biofilm yang terbentuk, yaitu dapat menembus lapisan EPS bakteri. Banyak senyawa antimikroba tidak dapat menembus biofilm. Sebagai alternatif, senyawa yang mampu mengurai komponen biofilm dengan cara menghilangkan EPS.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Daun Pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Ekstrak Daun Pepaya (µg/mL)	Endapan Terwarnai Kristal Violet
5000	-
2500	-
1250	-
625	-
312,5	+
156,25	+
78,12	+
39,06	+
19,53	+
9,765	+

Keterangan:

+ = tidak ada aktivitas biofilm

- = ada aktivitas biofilm

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antibiofilm Tetrasiklin HCl terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Tetrasiklin HCl (Pemanding) (µg/mL)	Endapan Terwarnai Kristal Violet
5000	-
2500	-
1250	-
625	-
312,5	-
156,25	-
78,12	+
39,06	+
19,53	+
9,765 µg/mL.	+

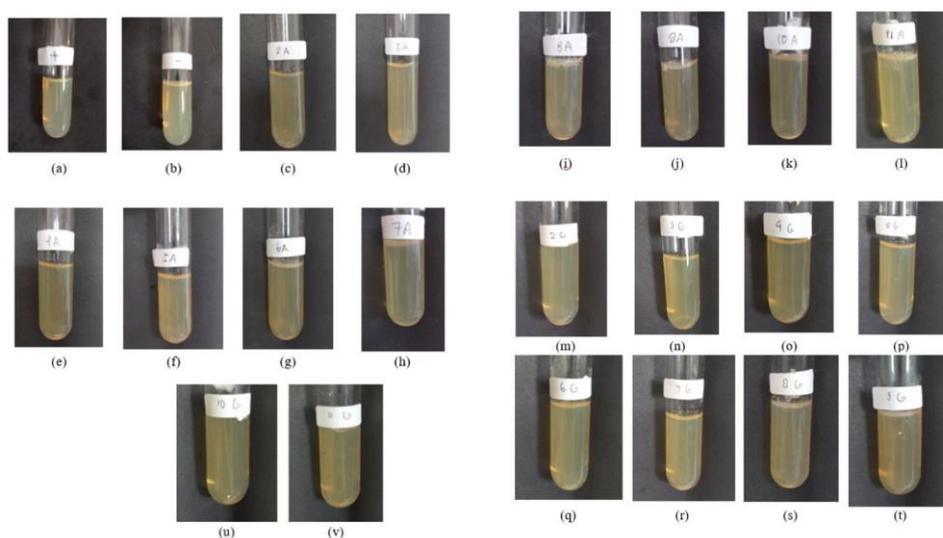
Keterangan:

(+) = tidak ada aktivitas antibiofilm

(-) = ada aktivitas antibiofilm

µg/mL jika dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Larutan pembanding tetrasiklin HCl memiliki aktivitas antibiofilm pada konsentrasi 156,25; 312,5; 625; 1250; 2500; dan 5000 µg/mL. Hasil uji antibiofilm dibandingkan dengan hasil uji konfirmasi biofilm *Staphylococcus aureus* pada media agar yang ditunjukkan pada Gambar 3 dan Tabel 3 dan 4.

Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 625, 1250, 2500, dan 5000



Gambar 3. Hasil Uji Konfirmasi Aktivitas Ekstrak Daun Pepaya dan Tetrasiklin HCL terhadap Biofilm *Staphylococcus aureus* pada Media Agar

Keterangan :

a = kontrol positif b = kontrol negatif c = ekstrak 5000 µg/mL d = ekstrak 2500 µg/mL
 e = ekstrak 1250 µg/mL f = ekstrak 625 µg/mL g = ekstrak 312,5 µg/mL h = ekstrak 156,25 µg/mL
 i = ekstrak 78,12 µg/mL j = ekstrak 39,06 µg/mL k = ekstrak 19,53 µg/mL l = ekstrak 9,765 µg/mL
 m = tetrasiklin 5000 µg/mL n = tetrasiklin 2500 µg/mL
 o = tetrasiklin 1250 µg/mL
 p = tetrasiklin 625 µg/mL q = tetrasiklin 312,5 µg/mL r = tetrasiklin 156,25 µg/mL
 s = tetrasiklin 78,12 µg/mL t = tetrasiklin 39,06 µg/mL
 u = tetrasiklin 19,53 µg/mL
 v = tetrasiklin HCl 9,765 µg/mL

Tabel 3. Hasil Uji Konfirmasi Aktivitas Tetrasiklin HCl terhadap pada Media Agar

Konsentrasi Tetrasiklin HCl (Pembanding) (µg/mL)	Pertumbuhan pada Media Agar
5000	-
2500	-
1250	-
625	-
312,5	-
156,25	-
78,12	+
39,06	+
19,53	+
9,765	+

Keterangan:

+ = ada pertumbuhan bakteri
 - = tidak ada pertumbuhan bakteri

Tidak terdapat pertumbuhan mikroba pada hasil uji konfirmasi daya bunuh terhadap *Staphylococcus aureus*, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pepaya pada konsentrasi 625, 1250, 2500, dan 5000 µg/mL memiliki aktivitas anti-biofilm. Larutan pembanding memiliki aktivitas pada konsentrasi 156,25; 312,5; 625; 1250; 2500; dan 5000 µg/mL. Konsentrasi hambat biofilm minimum (MBIC) adalah konsentrasi bahan antibiofilm terendah yang menghambat pembentukan biofilm. Dengan nilai MBIC sebesar 625 µg/mL pada ekstrak daun

pepaya dan nilai MBIC 156,25 µg/mL, dapat menghambat pembentukan biofilm dan tidak ada pertumbuhan mikroba pada hasil uji konfirmasi daya bunuh terhadap *Staphylococcus aureus*. Kandungan enzim papain ekstrak dapat mendegradasi biofilm dengan melemahkan strukturnya yaitu menghidrolisis molekul protein dan mengubahnya menjadi unit yang lebih kecil.

Tabel 4 Hasil Uji Konfirmasi Aktivitas Ekstrak Daun Pepaya terhadap Pembentukan Biofilm *Staphylococcus aureus* pada Media Agar

Konsentrasi Ekstrak Daun Pepaya (µg/mL)	Pertumbuhan pada Media Agar
5000	-
2500	-
1250	-
625	-
312,5	+
156,25	+
78,12	+
39,06	+
19,53	+
9,765	+

Keterangan:

+ = ada pertumbuhan bakteri

- = tidak ada pertumbuhan bakteri

KESIMPULAN

Uji aktivitas antibiofilm pada *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antibiofilm pada konsentrasi 625, 1250, 2500, dan 5000 µg/mL dengan nilai MBIC sebesar 625 g/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvita, L. R. (2015). *Aktivitas Antibiofilm Dari Bakteri Escherichia Coli Oleh Ekstrak Air Daun Singkong, Pepaya Dan Melinjo Secara In Vitro*. 1–45.
- Antibiofilm, A., Air, E., Pepaya, D., & Bakteri, L. (2016). *The In Vitro Antibiofilm Activity of Water Leaf Extract of Papaya (Carica papaya L .) against Pseudomonas aeruginosa*. 2(3), 150–163.
- Ashaye, O., & Fasoyiro, S. (2014). *Chemical and Organoleptic Characterization of Pawpaw and Guava Leathers Chemical and Organoleptic Characterization of Pawpaw and Guava Leathers*. June, 5–7.
- Brock 1926-2021 (viaf)108182990, T. D., Madigan, M. T. (viaf)27221308, Martinko, J. M. (viaf)24825109, & Parker, J. (viaf)115234898. (2003). *Brock biology of microorganisms* (10th ed.). Upper Saddle River (N.J.): Prentice-Hall.
- Davey, M. E., & Toole, G. A. O. (2000). *Microbial Biofilms : from Ecology to Molecular Genetics*. 64(4), 847–867.
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), 225–276.

- Gomashe, A. V, Sharma, A. A. and, & Kasulkar, A. (2014). Original Research Article Investigation of Biofilm Inhibition Activity and Antibacterial Activity of Psidium guajava Plant Extracts against Streptococcus mutans Causing Dental Plaque. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(9), 335–351.
- Irie, Y., & Parsek, M. R. (2008). *Quorum Sensing and Microbial Biofilms* (pp. 67–84).
- Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors : An overview. *Biotechnology Advances*, 31(2), 224–245.
- Kawarai, T., Narisawa, N., Yoneda, S., Tsutsumi, Y., Ishikawa, J., Hoshino, Y., & Senpuku, H. (2016). Inhibition of Streptococcus mutans biofilm formation using extracts from Assam tea compared to green tea. *Archives of Oral Biology*, 68, 73–82.
- Kim, H., Lee, S., Byun, Y., & Park, H. (2015). *virulence via quorum sensing inhibition*.
- Ko, S. J., Kang, N. H., Kim, M. K., Park, J., Park, E., Park, G. H., Kang, T. W., Na, D. E., Park, J. B., Yi, Y. E., Jeon, S. H., & Park, Y. (2019). Antibacterial and anti-biofilm activity, and mechanism of action of pleurocidin against drug resistant Staphylococcus aureus. *Microbial Pathogenesis*, 127, 70–78.
- K.R.Markham. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavanoid*. ITB Press.
- Melchior, M. B., & Vaarkamp, H. (2006). *The Veterinary Journal*. 171, 398–407.
- Mohammed, Y. H. E., Manukumar, H. M., Rakesh, K. P., Karthik, C. S., Mallu, P., & Qin, H. L. (2018). Vision for medicine: Staphylococcus aureus biofilm war and unlocking key's for anti-biofilm drug development. *Microbial Pathogenesis*, 123, 339–347.
- Mugita, N., Nambu, T., Takahashi, K., Wang, P. L., & Komasa, Y. (2017). Proteases, actinidin, papain and trypsin reduce oral biofilm on the tongue in elderly subjects and in vitro. *Archives of Oral Biology*, 82, 233–240.
- Oliveira, M., Bexiga, R., Nunes, S. F., Carneiro, C., Cavaco, L. M., Bernardo, F., & Vilela, C. L. (2006). *Biofilm-forming ability profiling of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis mastitis isolates*. 118, 133–140.
- Rohde, H., Frankenberger, S., Zähringer, U., & Mack, D. (2010). Structure, function and contribution of

polysaccharide intercellular adhesin (PIA) to *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and pathogenesis of biomaterial-associated infections. *European Journal of Cell Biology*, 89(1), 103–111.

Viju, N., Satheesh, S., & Vincent, S. G. P. (2013). Antibiofilm activity of coconut (*Cocos nucifera* Linn.) husk fibre extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(1), 85–91.