

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (*CARICA PAPAYA L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SECARA *IN VITRO*

Rasyidia Laksmi Putri¹, YL Aryoko Widodo S², V Rizke Ciptaningtyas³

¹Mahasiswa Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf pengajar Kimia, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

³Staf pengajar Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang: *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri yang sering menjadi penyebab dalam infeksi pada ulkus diabetikum. Pengobatan infeksi *P. aeruginosa* adalah dengan antibiotik kombinasi yang mempunyai kemampuan bakterisidal. Zat alamiah tertentu juga mempunyai kemampuan bakterisidal, salah satunya adalah daun pepaya (*Carica papaya L.*).

Tujuan: Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap bakteri *P. aeruginosa* secara *in vitro*.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Terdapat 9 beda perlakuan yaitu dengan memberi 6 dosis (5%, 20%, 35%, 50%, 65%, 80%) dan kelompok kontrol. Sumuran dibuat pada media MH, kemudian diteteskan ekstrak daun pepaya dan diinkubasikan selama 18-24 jam dalam suhu 35°. Diameter hambat pada media MH dihitung dengan menggunakan jangka sorong.

Hasil: Rata-rata perhitungan diameter hambat pada kelompok kontrol adalah 29,5 mm untuk antibiotik ciprofloxacin dan 32,5 mm untuk antibiotik ceftazidime. Diameter hambat pada 6 kelompok perlakuan seluruhnya adalah 0 mm.

Kesimpulan: Tidak terdapat aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak daun pepaya, *Carica papaya L.*

ABSTRACT

THE EFFECT OF PAPAYA LEAF EXTRACT (*CARICA PAPAYA L.*) AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* BACTERIA GROWTH *IN VITRO*

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is a common cause of infection in diabetic ulcer. Treatment for *P. aeruginosa* infection is antibiotic combination which has bactericidal feature. Several natural substance also has a bactericidal feature, in this case is papaya leaf (*Carica papaya L.*)

Aim: To find out how papaya leaf extract effects *P. aeruginosa*

Method: This research is an experimental study. This research has 9 different treatments, there are 6 different concentrations (5%, 20%, 35%, 50%, 65%, 80%) and control group. A well made in Mueller Hinton agar media, then drops the papaya leaf extract inside the well. After that, Mueller Hinton agar media incubated in 18-24 hours in 35°C. In the end, measure inhibitory diameter in Mueller Hinton agar media by using vernier caliper.

Result: Average diameter of inhibition in controls are 29,5 mm for ciprofloxacin and 32,5 mm for ceftazidime. The 6 diameter of inhibition of the treatment group has 0 mm diameter.

Conclusion: Papaya leaf extract did not have any antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, papaya leaf extract, *Carica papaya* L.

PENDAHULUAN

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri patogen oportunistik yang menyebabkan infeksi nosokomial akut maupun kronik pada pasien immunokompromis, pemasangan kateter, otitis eksterna ringan pada perenang, ulkus diabetikum, dan infeksi pada luka bakar terutama *grade* II dan III.^{1,2}

Berdasarkan penelitian Turhan dan Mutluoglu dinyatakan bahwa terjadi kenaikan insidensi infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif. *P. aeruginosa* menjadi bakteri penyebab infeksi terbesar dalam penelitian tersebut, yaitu sebanyak 29,81%.³

Prinsip pengobatan infeksi oleh *P. aeruginosa* adalah antibiotik. Antibiotik merupakan obat yang mempunyai aktivitas menghambat (bakteriostatik) atau membunuh bakteri (bakterisidal), khususnya bakteri yang merugikan manusia. Selain antibiotik, bahan-bahan alami juga mempunyai aktivitas antibakteri untuk membunuh bakteri. Salah satunya adalah ekstrak daun buah pepaya (*Carica papaya* L.). Berdasarkan penelitian yang dilakukan P.B. Ayoola & A. Adeyeye, daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung berbagai macam senyawa kimia, antara lain tannin, saponin, *cardiac glycoside* dan alkaloid. Alkaloid yang terkandung dalam daun pepaya menurut penelitian Aravind G., dkk adalah carpinine, carpaine, vitamin C dan E. Selain itu ekstrak daun pepaya juga mengandung mineral seperti Ca, K, Mg, Zn, Mn, Fe. Ekstrak daun pepaya mempunyai sifat antibakteri, murah, mudah didapat, dan diharapkan mampu menggantikan antibiotik sebagai obat pada infeksi bakteri *P. aeruginosa*.^{4,5,6}

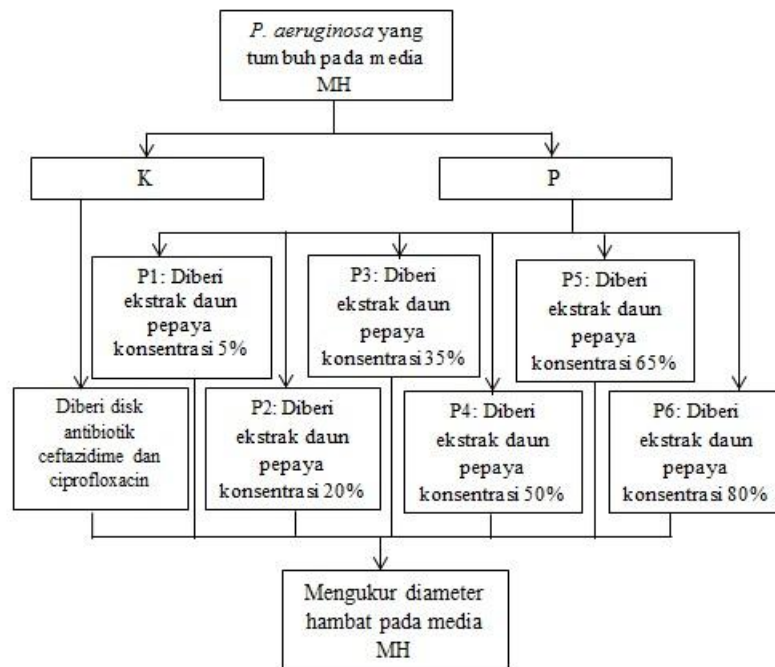
Oleh karena itu, penulis ingin melanjutkan tahap pemilihan ke tahap pengujian farmakodinamik. Penulis memilih untuk menggunakan cara *in vitro* karena penelitian terhadap ekstrak daun pepaya dengan menggunakan ekstrak daun pepaya dengan dosis yang lebih rendah belum pernah dilakukan.^{6,8}

METODE

Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* yang dilakukan pada media Mueller Hinton (MH) yang ditanami bakteri *P. aeruginosa*. Kriteria inklusi penelitian ini adalah koloni *P. aeruginosa* yang tumbuh pada media Mueller Hinton (OXOID, CM0337) setelah dipaparkan dengan perlakuan dan diinkubasi pada lingkungan aerob pada suhu 35° C selama 18-24 jam. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah koloni *P. aeruginosa* yang tumbuh pada media MH dengan disertai pertumbuhan jamur atau kontaminan lain.

Pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Sampel pada penelitian ini adalah biakan bakteri *P. aeruginosa* di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Nasional Diponegoro Semarang. Pada penelitian ini akan dilakukan 4 kali replikasi terhadap masing masing konsentrasi dan kelompok kontrol. Maka, banyak sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 36.

Pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol setelah diberi perlakuan diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong.



Gambar 1. Alur Penelitian

HASIL

Karakteristik Sampel Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan terhadap sampel penelitian meliputi koloni *P. aeruginosa* yang dikultur kembali dari Laboratorium Mikrobiologi RSND Semarang. Bakteri yang sudah dikultur kemudian ditanam di media Mueller Hinton (MH) dimana sudah dibuat sumuran pada masing-masing petri. Setelah itu ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang sudah dibuat dengan berbagai konsentrasi diteteskan pada masing-masing sumuran. Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok perlakuan dan 3 kontrol. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

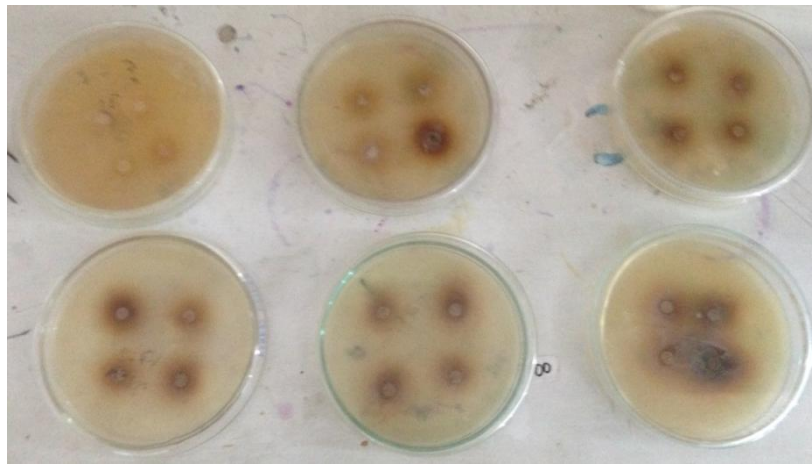
Hasil Uji Kadar Hambat Minimal

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang sudah dibuat dalam beberapa konsentrasi diteteskan pada sumuran di media MH yang sudah ditanam bakteri *P. aeruginosa*. Sediaan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yang terdiri dari 6 konsentrasi berbeda, yaitu 5%, 20%, 35%, 50%, 65% dan 80% yang dilarutkan dalam aquades serta kelompok kontrol. Bakteri *P. aeruginosa* ditanam pada masing-masing kelompok kecuali kontrol kerja. Media MH tersebut kemudian diinkubasi dengan suhu 35°C selama 18-24 jam, kemudian diamati dan dibandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Ekstrak dengan konsentrasi yang mampu menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* dinyatakan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM)/*Minimum Inhiibitory Concentration* (MIC). Hal ini ditandai dengan zona hambat pada media yang diukur dengan mistar atau jangka sorong.

Tabel 1. Kadar Hambat Minimum Ekstrak Aquades Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Agar Well-Diffusion (dalam mm)

Percobaan n	P1 (5%)	P2 (20%)	P3 (35%)	P4 (50%)	P5 (65%)	P6 (80%)	Kontrol	
							Ciproflox acine	Cefta zidime
I	0	0	0	0	0	0	29	33
II	0	0	0	0	0	0	30	32
III	0	0	0	0	0	0	29	34
IV	0	0	0	0	0	0	30	33

Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa dari perlakuan yang telah dilakukan tidak didapatkan zona hambat pada media.



Gambar 2. Hasil Penelitian Metode Agar *Well-Diffusion* dengan Ekstrak CMC Daun Pepaya

Kemudian dilakukan perlakuan yang sama dengan metode sumuran, namun pelarut yang digunakan untuk membuat konsentrasi berbeda. Pelarut yang digunakan kali ini adalah *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC). CMC berdasarkan sifat dan fungsinya dapat digunakan sebagai pengental dan pengikat zat.⁹ Fungsi CMC diharapkan dapat mengikat dan mengentalkan ekstrak sehingga tidak mudah menguap dan ekstrak yang bekerja lebih banyak dan efektif. Sebelum CMC dilarutkan dengan ekstrak untuk pembuatan konsentrasi, sebanyak 1 gr CMC terlebih dahulu dilarutkan dalam 100 ml aquades steril, setelah itu dilarutkan dengan ekstrak dengan konsentrasi berbeda.

Tabel 2. Kadar Hambat Minimum Ekstrak CMC Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Agar *Well-Diffusion*

Percobaan	P1 (5%)	P2 (20%)	P3 (35%)	P4 (50%)	P5 (65%)	P6 (80%)	Kontrol	
							Ciprofl oxacine	Cefta zidime
I	0	0	0	0	0	0	28	32
II	0	0	0	0	0	0	30	33
III	0	0	0	0	0	0	29	31
IV	0	0	0	0	0	0	29	33

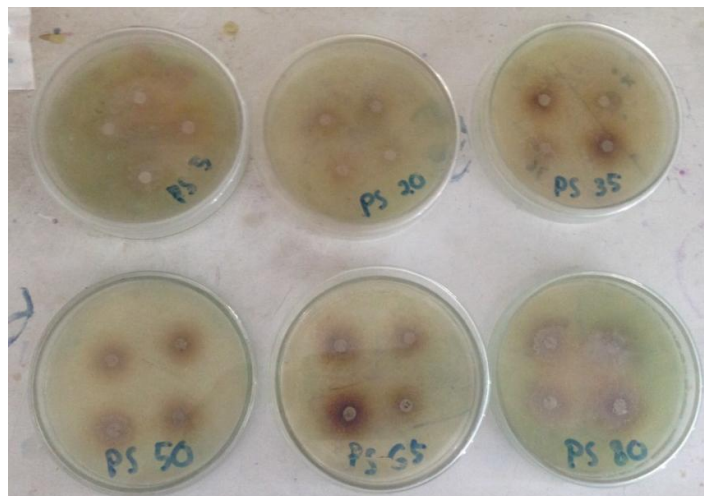
Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa perlakuan ini pun, tidak didapatkan zona hambat. Kemudian metode diganti menggunakan metode *disk-diffusion*. Pada metode ini disk dibuat dari kertas saring yang dibentuk bulat kemudian disterilkan menggunakan *autoclave* dengan

suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian kertas saring tersebut direndam pada masing-masing konsentrasi ekstrak yang sudah dilarutkan dengan aquades steril selama 24 jam. Setelah itu, disk ekstrak tersebut diletakan di media MH yang sudah ditanami oleh bakteri *P. aeruginosa* dan diinkubasi pada suhu 35°C dalam 24 jam.

Tabel 3. Kadar Hambat Minimum Ekstrak Aquades Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode *Disk-Diffusion* (dalam mm)

Percobaan	P1 (5%)	P2 (20%)	P3 (35%)	P4 (50%)	P5 (65%)	P6 (80%)	Kontrol Negatif	
							Ciproflox acine	Cefta zidime
I	0	0	0	0	0	0	30	31
II	0	0	0	0	0	0	29	33
III	0	0	0	0	0	0	30	33
IV	0	0	0	0	0	0	31	32

Pada metode ini tidak didapatkan zona hambat pada media tanam. Maka disimpulkan bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) tidak mempunyai efek antibakteri pada pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*.



Gambar 3. Hasil Penelitian Metode Agar *Disk-Diffusion* Dengan Ekstrak Aquades Daun Pepaya

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data primer, dengan data pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang dinyatakan dalam data rasio, serta data konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dinyatakan dalam data rasio. Data tidak dilanjutkan diolah menggunakan program *SPSS for windows 23*, karena berdasarkan hasil yang didapat sudah menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya tidak mempunyai pengaruh yang bermakna terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh S. Aruljothi, C. Uma, P. Sivagurunathan, dan M. Bhuvaneswari yang menyatakan bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) mempunyai efek antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, dan *P. aeruginosa*.⁷ Penelitian tersebut menggunakan metode difusi agar. Ekstrak yang sudah diencerkan dengan konsentrasi 25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml, 100 mg/ml dengan masing-masing pelarut, kemudian diteteskan pada sumuran dengan diameter 5 mm yang sebelumnya sudah dibuat pada media Mueller Hinton yang sudah ditanami oleh bakteri. Untuk melihat efektivitas antibakteri ekstrak, media tersebut diinkubasi selama 24 jam. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) mempunyai aktivitas antibakteri dengan menghambat multiplikasi bakteri penyebab infeksi luka seperti *P. aeruginosa*.

Berdasarkan hasil penelitian yang kami lakukan dengan menggunakan metode agar *well-diffusion* didapatkan bahwa tidak terdapat efek antibakteri pada ekstrak aquades dan CMC daun pepaya (*Carica papaya L.*) pada konsentrasi 5%, 20%, 35%, 50%, 65%, dan 80% terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Kemudian penelitian dilanjutkan dengan metode *disk-diffusion* dengan pelarut aquades. Hasil yang didapatkan pada perlakuan dengan metode *disk-diffusion* adalah tetap tidak ditemukan diameter hambat pada media.

Hasil penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Arini Dyah Setyawati didapatkan hasil bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Dari 30 sampel *S. aureus* positif, 1 sampel dinyatakan tidak tumbuh, sedangkan 29 lainnya tumbuh.¹⁰ Pada hasil penelitian ini uji Kadar Hambat Minimum (KHM) masih didapatkan adanya pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* pada media MH. Keterbatasan dalam penelitian ini adalah sulitnya menghomogenkan antara pelarut dan ekstrak karena terlalu kental.

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas maka dapat disimpulkan bahwa *crude* ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan konsentrasi 5%, 20%, 35%, 50%, 65%, 80% tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian kami, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan konsentrasi 5%, 20%, 35%, 50%, 65%, 80% tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* yang didahului dengan sterilisasi ekstrak menggunakan *membrane filter* atau menggunakan radiasi sinar gamma untuk mencegah kontaminasi serta menggunakan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Japoni A, Farshad S, Alborzi A. *Pseudomonas aeruginosa*: Burn infection, treatment and antibacterial resistance. *Iran Red Crescent Med J*. 2009.
2. Mayasari E. *Pseudomonas aeruginosa*; Karakteristik, Infeksi dan Penanganan. 2006.
3. Turhan V, Mutluoglu M, Acar A, et al. Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. *J Infect Dev Ctries*. 2013.
4. Fever in the Burn Patient - Infectious Disease and Antimicrobial Agents. <http://www.antimicrobe.org/e44.asp>. Accessed January 24, 2016.
5. Ayoola PB, Adeyeye a, State O. Phytochemical and nutrient evaluation of *Carica papaya* (pawpaw) leaves. *Int J Res Revise Appl Sci*. 2010.
6. Aravind G, Bhowmik D, Duraivel S, Harish G. Traditional and Medicinal Uses of *Carica papaya*. *J Med Plants Stud*. 2013.
7. Aruljothi S, Uma C, Sivagurunathan P, Bhuvanewari M. Investigation on Antibacterial Activity of *Carica Papaya* Leaf Extracts against Wound Infection-Causing Bacteria. *Int J Res Stud Biosci*. 2014
8. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 761/Menkes/Sk/Ix/1992 Tentang Pedoman Fitofarmaka. 1992.
9. Kamal N. Pengaruh Bahan Aditif CMC (Carboxyl Methyl Cellulose) terhadap Beberapa Parameter pada Larutan Sukrosa. 2010;I:78-85.
10. Setyowati AD. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Pioderma. *Univ Diponegoro*. 2011.
11. Peter JK, Kumar Y, Pandey P, Masih H. Antibacterial Activity of Seed and Leaf Extract of *Carica Papaya* var . Pusa dwarf Linn. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2014