

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
(*Carica papaya L.*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*
DAN *Staphylococcus aureus*

Gabriella M. J. Torar¹⁾, Widya Astuty Lolo¹⁾, Gayatri Citraningtyas¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

*Some of Indonesian plants perform the efficacy as a traditional medicine, which can be benefitted to treat diseases and one of them was papaya which known to have antibacterial properties. This study aims to determine the antibacterial activity with different concentrations of ethanol extract of papaya seeds (*Carica papaya L.*) against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The extraction was done by maceration method using 95% of ethanol. Antibacterial activity test was performing using well agar diffusion method (Kirby and Bauer diffusion modified). The results were statistically analyzed using one-way ANOVA. Anova Data show that extract with the concentrations of 20%, 40%, 60% and 80% had inhibits the growth of test bacteria. The results showed that the antibacterial activity of each series of the concentration of ethanol extract of papaya seeds (*Carica papaya L.*) exhibit antibacterial activity in the middle category of inhibition against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.*

Keywords: Antibacterial, Papaya, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRAK

Beberapa tanaman di Indonesia memiliki khasiat sebagai obat tradisional yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit yang salah satunya ialah pepaya yang diketahui memiliki khasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dengan perbedaan konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby dan Bauer yang dimodifikasi) dengan cara sumuran. Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisa dengan metode analisa varians satu arah (*one way anova*). Data Anova menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60% dan 80% telah memberikan aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa setiap seri konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori daya hambat sedang terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Antibakteri, Pepaya, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Kesehatan adalah keadaan sejahtera dari badan, jiwa, dan sosial yang memungkinkan setiap orang hidup produktif secara sosial dan ekonomis, dimana saat ini tingkat kesehatan menghadapi tantangan yang sangat berat. Hal ini disebabkan oleh tingkat biaya kesehatan yang cenderung meningkat (Nurwidodo, 2006). Salah satu upaya untuk mencapai derajat kesehatan masyarakat yang optimal adalah melalui pengobatan tradisional (Zulkifli, 2004).

Beberapa tanaman di Indonesia memiliki khasiat sebagai obat tradisional yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit, yang salah satunya ialah pepaya. Pepaya merupakan buah yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Seluruh bagian pepaya mulai dari akar sampai ujung daunnya, termasuk bunga, buah dan bijinya memiliki nilai medis yang tinggi (Tietze, 2002).

Biji pepaya diketahui mengandung berbagai senyawa seperti tokoferol, terpenoid, flavonoid, alkaloid seperti karpain, dan berbagai enzim seperti enzim papain dan lisozim. Kandungan terpenoid, karpain, dan flavonoid dalam biji pepaya telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri yang dapat membunuh bakteri dengan merusak integritas membran sel bakteri itu (Martiasih *et al.*, 2012).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Okoye (2011), telah dilakukan uji aktivitas antibakteri dan antijamur dari ekstrak etanol dan ekstrak air biji pepaya. Diperoleh hasil bahwa biji pepaya muda yang berwarna putih memiliki aktivitas antibakteri terhadap

S.aureus, *P.aeruginosa*, *S.typhi*, *E.coli* dan anti jamur terhadap *A.niger*, *P.notatum*, *F.solani*, *C.albican*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) pada konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2015 – Agustus 2016.

Alat-alat yang digunakan ialah : erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, tabung reksi, rak tabung, pipet tetes, penangas air, blender, ayakan *mesh* 200, kaca arloji, timbangan analitik, labu ekstraksi, batang pengaduk, *stirrer*, cawan petri, rotary evaporator, jarum ose, pinset, inkubator, *laminar air flow*, termometer, pencadang, autoklaf, mikropipet, mistar berskala, kertas saring no.1, kertas label, spidol, aluminium foil dan alat fotografi.

Bahan-bahan yang digunakan ialah : biji pepaya (*Carica papaya* L.) tua, biakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, aquades steril, etanol 95%, tablet ciprofloxacin 500 mg, *Nutrient agar* (*Oxoid*), H_2SO_4 , $BaCl_2 \cdot 2H_2O$, $NaCl$ 0.9%.

Persiapan Sampel

Biji pepaya yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kulit arinya, selanjutnya

dicuci di bawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan *blender*, serbuk yang dihasilkan diayak menggunakan ayakan mesh 200 hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam. Hasilnya dimasukkan ke dalam wadah gelas tertutup (Gunawan,2004).

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi yaitu sebanyak 85 gram serbuk simplisia biji buah pepaya dimasukkan ke dalam gelas beker lalu direndam dalam pelarut etanol 95% sebanyak 500 ml kemudian wadah ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 4 hari sambil sesekali diaduk, lalu disaring dengan kertas saring sehingga menghasilkan filtrat dan residu. Residu yang ada kemudian direndam lagi (remaserasi) dengan etanol 95% sebanyak 250 ml, selanjutnya wadah ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 2 hari, sampel disaring sehingga menghasilkan filtrat dan residu. Filtrat 1 dan filtrat 2 dicampurkan menjadi satu lalu dievaporasi menggunakan rotary evaporator, lalu diuapkan menggunakan waterbath sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang telah dihasilkan ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan untuk pengujian.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan cara alat-alat gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C

selama 15 menit sedangkan untuk kawat ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar dengan pembakaran di atas api langsung (Lay,1994).

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan Kontrol Negatif dibuat dari aquades steril sebanyak 50 ml.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg. Satu tablet Ciprofloxacin digerus, lalu ditimbang dan disetarakan dengan 500 mg. Kemudian serbuk halus Ciprofloxacin dilarutkan dalam aquades steril untuk memperoleh larutan Ciprofloxacin 5 μ g/50 μ l.

Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji 20%, 40%, 60% dan 80% b/v dengan cara ditimbang 0,2 g; 0,4 g; 0,6 g; dan 0,8 g ekstrak etanol biji pepaya kemudian masing-masing ditambahkan dalam aquades hingga volume 1 ml.

Pembuatan Media

a. Media Agar Miring

Nutrient agar sebanyak 0,56 g dilarutkan dalam 20 mL aquades (28g/1000mL) menggunakan erlenmeyer. Setelah itu, dihomogenkan dengan *stirrer* diatas penangas air sampai mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 2 tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama \pm 30 menit sampai media memadat pada kemiringan \pm 30⁰. Media

agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri.

b.Media Dasar dan Media Pemberian

Nutrient agar (NA) sebanyak 7 g dilarutkan dalam 250 ml aquades (28g/1000ml) menggunakan erlenmeyer. Sedangkan media pemberian dibuat dengan cara ditimbang 7 g dilarutkan dalam 250 ml aquades (28g/1000ml) menggunakan erlenmeyer. Setelah itu, masing-masing media dihomogenkan dengan *stirrer* diatas penangas air sampai mendidih. Media-media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu ± 45-50⁰C. Media dasar dan media pemberian digunakan dalam pembuatan media pengujian sebagai lapisan dasar dan lapisan kedua.

Inokulasi Bakteri pada Media Agar Miring

Bakteri uji diambil dengan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (larutan *Mc.Farland*)

Diambil sebanyak 9,5 ml larutan H₂SO₄ 1% lalu dicampurkan dengan 0,5 ml BaCl₂.2H₂O 1,175% dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan dikocok sampai terbentuk larutan keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan bakteri (Lay, 1994).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc.Farland. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji (Djide *et al.*,2008).

Pembuatan Media Pengujian

Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan masing-masing 65 ml NA ke dalam enam cawan petri,lalu dibiarkan sampai memadat. Setelah memadat, pada permukaan lapisan dasar diletakkan 6 pencadang baja yang diatur sedemikian rupa jaraknya agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuh. Selanjutnya suspensi bakteri dicampurkan ke dalam media pemberian NA. Setelah itu, dituangkan 75 ml campuran suspensi dan media pemberian tersebut ke dalam tiap cawan petri yang diletakkan pencadang sebagai lapisan kedua. Selanjutnya, pencadang diangkat secara aseptik dari cawan petri, sehingga akhirnya terbentuklah sumur-sumur yang akan digunakan dalam uji antibakteri.

Uji Aktivitas Antibakteri

Larutan uji ekstrak etanol biji pepaya dengan berbagai konsentrasi (20%, 40%, 60% dan 80%); aquades steril sebagai kontrol negatif; larutan Ciprofloxacin 5 μ g/50 μ l sebagai kontrol positif, masing-masing diteteskan pada sumur yang berbeda sebanyak 50 μ l. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 1x24 jam.

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Diamati zona hambat/zona bening yang terbentuk disekitar lubang kemudian diukur diameter zona hambat secara horizontal dan vertikal. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter sumuran 7 mm. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout (1971).

Analisa Data

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L)

terhadap penghambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dianalisa secara statistik menggunakan analisa varians satu arah (*One Way Anova*) dengan program *Statistical Product Service Solution* dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha=0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Serbuk biji pepaya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95% dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 4 g.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	I	II	III	
Kontrol (-)	0,00	0,00	0,00	0,00
Kontrol (+)	17,50	16,50	16,00	17,00
P1	5,00	4,50	4,00	5,00
P2	6,50	6,00	5,50	6,00
P3	6,00	6,50	6,00	6,00
P4	6,00	6,50	6,00	6,00

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	I	II	III	
Kontrol (-)	0,00	0,00	0,00	0,00
Kontrol (+)	16,00	17,50	17,00	17,00
P1	5,50	6,00	5,50	6,00
P2	5,50	6,50	6,00	6,00
P3	7,00	6,50	6,00	6,00
P4	6,00	7,50	8,00	7,00

Pembahasan

Tahap awal proses ekstraksi ialah sampel biji pepaya dibersihkan dibawah air mengalir dengan tujuan untuk membersihkan sampel dari sisa-sisa pengotor dan melepaskan kulit ari/kotiledon yang melekat pada biji pepaya agar senyawa yang didapatkan pada proses ekstraksi merupakan senyawa murni yang terkandung dalam biji pepaya dan bukan dari kulit arinya. Kemudian sampel dihaluskan hingga menjadi simplisia yang halus dan seragam, karena semakin kecil ukuran partikel simplisia maka semakin luas pula permukaan simplisia tersebut, sehingga semakin baik pula pelarut menarik senyawa aktif yang ada pada sampel (Gunawan,2004). Sampel lalu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Setelah diekstraksi, sampel lalu diuapkan dengan tujuan agar pelarut yang digunakan tidak tersisa pada ekstrak sehingga yang ada hanyalah senyawa-senyawa berkhasiat atau zat aktif yang ada pada sampel dalam bentuk ekstrak

kental yang akan digunakan dalam proses pengujian antibakteri (Sastrohamidjojo, 2005).

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan media *Nutrient Agar* (NA). Sampel yang digunakan ialah ekstrak kental biji pepaya yang dibuat dalam beberapa seri konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60% dan 80 %, dengan tujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan ukuran diameter zona hambat yang akan terbentuk. Sebagai kontrol positif digunakan larutan ciprofloxacin 5 μ g/50 μ L, antibiotik ciprofloxacin digunakan karena termasuk dalam antibiotik golongan kuinolon yang berspektrum luas dan tidak resisten terhadap bakteri uji yang digunakan, sebagai kontrol negatif digunakan aquades steril (Ganiswarna,1995).

Data pada tabel kekuatan daya antibakteri menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya dapat menghambat pertumbuhan

bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, yang dimana hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan angka 5,00 mm, 6,00 mm dan 7,00 mm yang tergolong dalam kategori sedang sesuai dengan penggolongan Davis dan Stout (1971).

Pada proses pengujian aktivitas antibakteri didapatkan hasil bahwa efek antibakteri yang terlihat paling baik ada pada konsentrasi tertinggi yaitu pada konsentrasi 80%, dimana pada konsentrasi ini luas zona hambat ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* ialah 7,00 mm. Bahkan pada konsentrasi terendah pun (20%) ekstrak etanol biji pepaya masih dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri.

Perbedaan luas zona hambat pada setiap seri konsentrasi ekstrak menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak memiliki kemampuan antibakteri yang berbeda-beda, hal ini kemungkinan ditimbulkan oleh resistensi dari bakteri terhadap substansi bioaktif dalam hal ini ialah ekstrak biji pepaya, kadar substansi aktif serta jumlah inokulum bakteri atau kepadatan bakteri uji dalam media. Selain itu adanya ekstrak yang kurang efektif dalam menghambat bakteri karena difusi bahan aktif pada media yang berlangsung lambat dan rendahnya konsentrasi kandungan zat aktif, sehingga ekstrak tersebut tidak dapat menghambat bakteri secara optimal (Cappucino *et al.*,1978).

Luas zona hambat ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan dengan

luas zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini berarti aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya lebih peka dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*). Hal ini dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel dari bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif mengandung peptidoglikan yang lebih tebal daripada bakteri Gram negatif. Peptidoglikan merupakan lapisan pada dinding sel bakteri yang bersifat polar sehingga ekstrak etanol biji pepaya yang juga bersifat polar lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram positif, selain itu bakteri Gram negatif juga memiliki dinding sel yang banyak mengandung lipopolisakarida (LPS) yang bersifat nonpolar sehingga ekstrak etanol biji pepaya yang bersifat polar lebih sulit menembus dinding sel bakteri Gram negatif. Oleh karena itu efektivitas antibakteri tampak lebih besar pada bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif.

Biji pepaya memiliki aktivitas antibakteri karena mengandung alkaloid (karpain) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Karpain merupakan alkaloid bercincin laktonat dengan 7 kelompok rantai metilen sehingga ampuh untuk menghambat kinerja beberapa mikroorganisme. Karpain dapat mencerna protein mikroorganisme dan mengubahnya menjadi senyawa turunan bernama pepton. Selain alkaloid biji pepaya juga mengandung senyawa lain yaitu flavonoid (Jaime,2007). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Maria *et al.*,2012, biji pepaya

mengandung senyawa triterpenoid aldehida yang mempunyai potensi antibakteri. Selain itu juga mengandung minyak yang diketahui memiliki asam-asam lemak seperti asam oleat, asam palmitat, asam linoleat dan asam stearat dalam jumlah yang relatif sedikit.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antibakteri pada setiap seri konsentrasi ekstrak yaitu 20%, 40%, 60% dan 80% dengan kekuatan tergolong sedang terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Perlu dilakukan uji pra-klinis dan uji toksitas ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) untuk mengetahui dosis yang tepat dan aman dalam penggunaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J.G., Sherman, N. 1978. *Microbiology A Laboratory Manual*. Rockland Community Collage, New York.
- Davis, W.W.,Stout,T.R. 1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*.*Microbiology*.22(4).Halaman 659-665.
- Djide, Sartini. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi Farmasi*. Lephas, Makassar.
- Ganiswarna, G.S.1995.*Farmakologi dan Terapi*.Edisi IV.Penerbit UI, Jakarta. Halaman 517-518, 571-573, 651-656.
- Gunawan, D.,Mulyani, S. 2004. *Farmakognosi*. Swadaya, Jakarta.
- Jaime, A.2007. Papaya (*Carica papaya L.*) Biology and Biotechnology, *Global Science Book*, (online), <http://www.globalsciencebook.info>[1 7 Januari 2013].
- Lay, B.W.1994.*Analisis Mikroba di Laboratorium* Edisi 1.Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Martiasih Maria, Boy Rahardjo Sidharta, P. Kianto Atmodjo.2012.Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya*, Yogyakarta.
- Nurwidodo. 2006. Pencegahan dan Promosi Kesehatan Secara Tradisional. *Jurnal Humanity*. **1(2)**: 96-105.
- Okoye, E.I.2011. Preliminary Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Seed Of *Carica Papaya*, *Journal Of Basic Physical Research*, Vol.2 No.1, (online), <http://www.jbasicphyress-unizik.org> [13 Maret 2012].
- Sastrohamidjojo,H.2005.*Kimia Dasar* edisi 2.UGM Press, Yogyakarta.
- Tietze HW.2002. *Terapi Pepaya : Sebuah Bentuk Terapi Makanan yang Aman dan Murah*. Cetakan Pertama. PT.Prestasi Pustaka Raya, Jakarta.
- Zulkifli. 2004. Pengobatan Tradisional Sebagai Pengobatan Alternatif harus Dilestarikan. *Karya Ilmiah*. FKM USU, Medan

