

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SUSPENSI EKSTRAK BIJI PEPAYA

*(Carica papaya L.) TERHADAP BAKTERI Salmonella typhi*

### *ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF PEPAYA SEED EXTRACT SUSPENSION*

*(Carica papaya L.) AGAINST BACTERIA Salmonella typhi*

Subagja <sup>(1)</sup>

Cecep Budiman <sup>(2)</sup>

Prodi S1Farmasi STF YPIB Cirebon <sup>(1,2)</sup>

*Submitted: 29 Agustus 2019 Reviewed: 30 Agustus 2019 Accepted: 2 September 2019*

#### 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 suspensi ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Salmonella typhi*.

Metode ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dengan cara sumuran. Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisa dengan metode analisa varians satu arah (one way anova).

Data ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 15%, 20% dan 25% 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 lemah terhadap *Salmonella typhi*.

**Kata kunci** : Antibakteri, Pepaya, *Salmonella typhi*.

#### 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 papaya seed extract (Carica papaya L.) on Salmonella typhi.*

*The extraction was done by maceration method using 95% of ethanol. Antibacterial activity test was performing using well agar diffusion method. The results were statistically analyzed using one-way ANOVA.*

*Anova Data show that extract with the concentrations of 15%, 20% and 25% 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 weak category of inhibition against Salmonella typhi.*

**Keywords:** Antibacterial, Papaya, Salmonella typhi.

Korespondensi Penulis :

Subagja

Prodi S1 Sekolah Tinggi Farmasi YPIB Cirebon

Jl. Perjuangan-Majasem

Email: jaja.subagja8@gmail.com

## **PENDAHULUAN**

*Salmonella thypi* adalah bakteri patogen usus halus yang dikenal sebagai penyebab penyakit *typhus*. *Salmonella thypi* basil gram negatif berbentuk batang yang bergerak dengan bulu getar, tidak berspora, berukuran 1,35  $\mu\text{m}$  x 0,5 – 0,8  $\mu\text{m}$ . Besar koloni rata-rata 2 – 4 mm (Karsinah, 1994).

Penyakit yang disebabkan bakteri *Salmonella* dikenal dengan istilah *Salmonellosis*. Penyakit ini ditandai dengan berbagai gejala antara lain diare, demam, kram perut, sakit kepala, muntah-muntah dan

merasa mual yang berkepanjangan. Salah satu yang cukup berbahaya dan menjadi biang penyebab penyakit tipus adalah *Salmonella typhi* (Karsinah, 1994).

Penyakit *thypus abdominalis* adalah penyakit infeksi akut yang biasanya mengenai saluran pernapasan dengan gejala demam lebih dari 7 hari dan lebih banyak menyerang pada anak usia 13 tahun (70% - 80%), pada usia 30-40 tahun (10% -20%) dan diatas usia pada anak 12 – 13 tahun sebanyak (5% - 10%) (Mansjoer, 2000).

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).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) pada konsentrasi 15%, 20%, dan 25% terhadap *Salmonella thypi*.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Farmasi (STF) YPIB Cirebon pada bulan Februari 2018.

Alat-alat yang digunakan ialah : beaker glass, gelas ukur, maserator, tabung reksi, rak tabung, spuit 1 cc, corong, viskometer, mikrometer, objek gelas, timbangan analitik, piknometer, batang pengaduk, mortar, stamper, cawan petri, staining jar, jarum ose, stop watch, inkubator, blender, mikroskop, jangka sorong, pH meter, autoklaf, kain flanel, kertas label, spidol, aluminium foil dan inkubator.

Bahan-bahan yang digunakan ialah : ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.), biakan bakteri uji *Salmonella thypi*, aquades steril, etanol 79%, tablet kloramfenikol, Nutrient agar, CMC, Kristal violet, lugol, safranin, dan 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-

inginkan. Sampel yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk yang halus. Hasilnya dimasukkan ke dalam wadah gelas tertutup (Gunawan, 2004).

### **Pembuatan Ekstrak**

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi yaitu sebanyak 200 gram serbuk simplisia biji buah pepaya dimasukkan ke dalam gelas beker lalu direndam dalam pelarut etanol 70% sebanyak 1.500 ml kemudian wadah ditutup 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 70% sebanyak 500 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.

### **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia dimaksudkan untuk memeriksa adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak. Sebanyak 5 g ekstrak biji pepaya ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 1 ml HCl dan 1 ml alkohol kemudian dikocok secara perlahan.

### **Pembuatan Sediaan**

Pembuatan sediaan suspensi diawali dengan penimbangan bahan-bahan yang diperlukan. Sediaan suspensi yang dibuat sesuai formula dengan variasi konsentrasi ekstrak biji pepaya, kontrol negatif serta kontrol positif. Konsentrasi ekstrak biji pepaya yang dipakai yaitu 15%, 20% dan 25%.

### **Uji Stabilitas Sediaan**

Pemeriksaan stabilitas menggunakan metode *cycling test* dengan cara sediaan suspensi disimpan secara bergantian pada suhu tinggi 40 °C selama 24 jam pertama dan suhu rendah 4°C selama 24 jam berikutnya (1 siklus), pengujian ini dilakukan selama 12 hari (6 siklus) (Anvisa, 2005).

### **Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan cara alat-alat gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit sedangkan untuk kawat ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar dengan pembakaran di atas api langsung (Lay, 1994).

### **Pembuatan Basis Suspensi (Kontrol Negatif)**

Larutan basis suspensi dibuat dengan cara memasukan 1 gram Na-CMC dan 20 ml Aqua Pro CMC sedikit demi sedikit kedalam lumpang, gerus hingga menjadi mucilago lalu tambahkan nipagin 0,1 gram, gerus hingga homogen lalu tambahkan aquadest sampai batas kalibrasi 100 ml.

### **Pembuatan Larutan Kontrol**

#### **Positif**

Kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet kloramfenikol. Satu tablet kloramfenikol digerus, lalu ditimbang dan disetarakan dengan 250 mg. Kemudian serbuk halus kloramfenikol dilarutkan dalam aquades steril untuk memperoleh larutan kloramfenikol 2,5 µg/ml.

### **Pembuatan Media**

- a. Media Agar Miring Nutrient Agar sebanyak 0,56 g dilarutkan dalam 20 mL aquades (28 g/1000 mL) 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 121 °C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit sampai media memadat pada kemiringan ± 30°. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri.
- b. Media Dasar dan Media Pembenihan Nutrient agar (NA) sebanyak 7 g dilarutkan dalam 250 ml aquades (28 g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Sedangkan media pembenihan dibuat dengan cara ditimbang 7 g dilarutkan dalam 250 ml aquades (28 g/1000 ml) 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 121<sup>0</sup>C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu  $\pm$  45-50 <sup>0</sup>C. Media dasar dan media pembedihan 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 37 <sup>0</sup>C 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% lalu dicampurkan dengan 0,5 ml BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 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 pembedihan NA. Setelah itu, dituangkan 75 ml campuran suspensi dan media pembedihan 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 suspensi ekstrak etanol biji pepaya dengan berbagai konsentrasi (15%, 20%, dan 25%); aquades steril sebagai kontrol negatif; larutan kloramfenikol 2,5 µg/ml sebagai kontrol positif, masing-masing diteteskan pada sumur yang berbeda sebanyak 50 µl. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C 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 jangka sorong dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter sumuran 6 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 *Salmonella thypi* dianalisa secara statistik menggunakan analisa varians satu arah (*One Way Anova*) dengan program *Statistical Product Service Solution* dengan taraf kepercayaan 95% atau  $\alpha = 0,05$ .

### **PEMBAHASAN**

#### **Hasil Ekstraksi**

Serbuk biji pepaya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 91,98 g dengan rendemen sebesar 45,99%.

#### **Hasil Skrining Fitokimia**

Hasil skrining fitokimia zat aktif senyawa flavonoid dengan menggunakan metode kualitatif ekstrak kental biji pepaya (*Carica papaya* L.) menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya mengandung Flavonoid.

#### **Hasil Uji Stabilitas Sediaan**

Untuk parameter organoleptis (bau, warna, rasa dan bentuk), hasilnya relatif stabil (tidak terjadi perubahan). Hal yang terjadi untuk parameter pH. Sediaan suspensi yang dibuat memiliki nilai pH 6. Nilai ini

tidak berubah selama pengujian. Namun untuk parameter viskositas dan sedimentasi, terjadi perubahan mulai siklus ke-2 hingga siklus ke-6. Dengan demikian, sediaan yang dibuat tidak stabil selama pengujian.

#### **Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan media Nutrient Agar (NA). Sampel yang digunakan ialah ekstrak kental biji pepaya yang dibuat dalam bentuk sediaan suspensi dengan beberapa seri konsentrasi yaitu 15%, 20% dan 25%. Tujuannya adalah untuk mengetahui apakah ada perbedaan ukuran diameter zona hambat yang akan terbentuk. Sebagai kontrol positif digunakan larutan kloramfenikol 2,5 µg/mL. Kloramfenikol digunakan karena senyawa ini merupakan antibiotika yang direkomendasikan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*; sebagai kontrol negatif digunakan basis sediaan suspensi.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa sediaan suspensi ekstrak etanol biji pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Salmonella*

*typhi*. Diameter zona hambat rata-rata suspensi ekstrak etanol biji pepaya dengan konsentrasi 15% adalah 1,15 ml. Naiknya konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya dalam sediaan suspensi diikuti dengan semakin luasnya diameter zona bening yang terbentuk. Konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya 20% dan 25% memiliki diameter zona bening berturut-turut 1,26 dan 1,33 mm. Bahkan untuk konsentrasi 25%, besarnya zona bening yang terbentuk sama dengan besarnya zona bening yang diberikan oleh kloramfenikol. Hasil uji aktivitas antibakteri suspensi ekstrak etanol biji pepaya dapat dilihat pada tabel berikut.

**Tabel 1. Aktivitas Antibakteri Suspensi Ekstrak Etanol Biji Pepaya**

No.	Formulasi	Diameter Zona Hambat Rata-rata (mm)
1.	Suspensi ekstrak biji pepaya 15%	1,15 ± 0,14
2.	Suspensi ekstrak biji pepaya 20%	1,26 ± 0,24
3.	Suspensi ekstrak biji pepaya 25%	1,33 ± 0,16
4.	Kloramfenikol	1,33 ± 0,16

5.	Basis suspensi	$0,44 \pm 0,09$
----	----------------	-----------------

Selanjutnya data aktivitas antibakteri yang diperoleh tersebut diolah secara statistic menggunakan aplikasi SPSS. Pengolahan data diawali dari uji normalitas. Data berdistribusi normal jika nilai signifikansinya lebih besar dari 0,05. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa semua data berdistribusi normal (nilai sig. > 0,05).

Pengolahan data selanjutnya adalah uji homogenitas. Data dikatakan memiliki variansi yang homogen jika nilai signifikansinya lebih besar dari 0,05. Hasil pengolahan data menunjukkan nilai sig. lebih dari 0,05 (yakni 0,136).

Oleh karena uji normalitas dan homogenitas memenuhi syarat untuk dilakukan uji statistic parametric, maka tahap berikutnya adalah uji Analisis Variansi satu arah. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah suspensi ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki pengaruh terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri *Salmonella typhi*. Hasil uji ANAVA satu arah menunjukkan nilai  $F_{hitung}$  (56,14) yang lebih besar dari

$F_{tabel}$  (2,86). Artinya suspensi ekstrak etanol biji pepaya memiliki pengaruh terhadap aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi*.

Terakhir, dilakukan uji t untuk melihat apakah larutan suspensi ekstrak etanol biji pepaya memiliki aktivitas yang setara atau lebih rendah/besar dibandingkan dengan control positif (kloramfenikol). Jika nilai sig. lebih besar dari 0,05 maka dapat dikatakan bahwa aktivitas antibakteri sediaan uji setara dengan kloramfenikol.

Hasil uji t memperlihatkan bahwa suspensi ekstrak etanol biji pepaya konsentrasi 15%, 20% dan 25% memiliki nilai sig. lebih besar dari 0,05. Nilai sig. ekstrak etanol biji pepaya konsentrasi 15% memiliki nilai sig. sebesar 0,075, ekstrak etanol biji pepaya konsentrasi 20% adalah 0,744 dan nilai sig. ekstrak etanol biji pepaya konsentrasi 25% adalah 0,472. Artinya semua sediaan tersebut memiliki aktivitas yang tidak berbeda secara bermakna dengan kloramfenikol pada tingkat kepercayaan 95%. Di antara ketiga konsentrasi tersebut, konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya konsentrasi

25% memiliki zona hambat yang paling besar (paling efektif).

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 Martiasih 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.

## **PENUTUP**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan

bahwa suspensi ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki aktivitas antibakteri pada setiap seri konsentrasi ekstrak yaitu 15%, 20%, dan 25%. dengan kekuatan tergolong lemah terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Suspensi ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L) konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. Anvisa. 2005. *Cosmetics Products Stability Guide*. Volume 1. Brasilia: ANVISA.
2. Arif, Mansjoer, dkk, 2000 . *Kapita Selekta Kedokteran*. Edisi ke-3. FKUI, Jakarta: Medica Aesculpalus.
3. Davis, W.W., Stout, T.R. 1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. *Microbiology*. 22(4). Halaman 659-665.
4. Djide, Sartini. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lephass.
5. Gunawan, D., dan Mulyani, S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Swadaya.

6. Jaime, A. 2007. *Papaya (Carica papaya L.) Biology and Biotechnology*, Global Science Book, (online), <http://www.globalsciencebook.info> [17 Mei 2019].
7. Karsinah. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta: Binaputra Aksara.
8. Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Edisi 1. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
9. 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*. Yogyakarta: Universitas Atma Jaya.
10. Tietze HW. 2002. *Terapi Pepaya : Sebuah Bentuk Terapi Makanan yang Aman dan Murah*. Cetakan Pertama. Jakarta : PT. Prestasi Pustaka Raya.