

UJI EFEKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK BIJI PEPAYA (*CARICA PAPAYA L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *ESCHERICHIA COLI* SECARA *IN VITRO*

Noor Jaipah¹, Indah Saraswati², Rebriarina Hapsari³

¹Mahasiswa Program Studi S-1 Ilmu Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³ Staf Pengajar Ilmu Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Resistensi antibiotik terhadap *Escherichia coli* mulai meningkat karena menurunnya efektivitas obat antibakteri, sehingga perlu antibakteri alternatif. Penelitian ini menguji efek antibakteri biji pepaya. Senyawa alami ekstrak biji pepaya ini diharapkan mampu mengatasi resistensi antibiotik.

Tujuan : Menguji efektivitas antimikroba ekstrak biji pepaya terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

Metode : Penelitian eksperimental laboratorium dengan *post test only control group design*. Jumlah sampel 35 media MHA yang dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan. Lima kelompok diantaranya diberikan ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi berturut 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, 1 kelompok berupa media MHA dan suspensi *Escherichia coli* (kontrol positif), dan 1 kelompok lain berupa media MHA ditambah ekstrak biji pepaya konsentrasi 50% (kontrol negatif), dilanjutkan dengan menanam *Escherichia coli* 1×10^4 CFU. Sampel diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Analisis statistik menggunakan uji *Kruskal-wallis* dilanjutkan uji *post hoc Mann-whitney*.

Hasil : Pertumbuhan *Escherichia coli* didapatkan pada kelompok 10%, 20% dan kontrol positif dan tidak didapatkan pada kelompok 30%, 40%, 50% dan kontrol negatif. Uji *Kruskal-wallis* dilanjutkan dengan *Mann-whitney* menunjukkan perbedaan bermakna ($p=0,003$) antara kelompok 10%, 20% dan kontrol positif dengan kelompok 30%, 40%, 50% dan kontrol negatif.

Kesimpulan : Ekstrak biji pepaya konsentrasi 30%, 40%, dan 50% memiliki efektivitas antimikroba terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

Kata kunci : Efektivitas antibakteri, ekstrak biji pepaya, *Escherichia coli*

ABSTRACT

THE EFFECTIVENESS OF ANTIMICROBIAL TEST AT PAPAYA SEED EXTRACT (*CARICA PAPAYA L.*) TO *ESCHERICHIA COLI* GROWTH BY *IN VITRO*

Background : Antibiotic resistance of *Escherichia coli* began to rise because reduced effectiveness of antibacterial drugs, so it needs an alternative antibacterial. This study test the antibacterial effect of papaya seeds. Natural compound extract of papaya seeds is expected to overcome antibiotic resistance.

Aim : To test the effectiveness of antimicrobial at papaya seeds extract to *Escherichia coli* growth by *in vitro*.

Methods : An experimental laboratories study with *post test only control group design*. Total of samples 35 MHA media were divided into 7 experimental groups. Five groups of which administered the papaya seeds extract with concentration respectively 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 1 group was MHA media and suspension of *Escherichia coli* (positive control), and 1

other group was MHA media plus 50% concentration of papaya seeds extract (control negative), *Escherichia coli* 1×10^4 CFU was planted on the plate. Samples were incubated for 18-24 hours at 37°C. The statistic analysis method used was Kruskal-Wallis test and continued with post hoc Mann-whitney.

Results : The growth of *Escherichia coli* was found in the group of 10%, 20% and positive control, but not found in the group of 30%, 40%, 50% and negative control. Kruskal-Wallis test, continued with Mann-whitney showed significant difference ($p = 0.003$) between the groups of 10%, 20%, positif control and 30%, 40%, 50%, and negative control.

Conclusions : Papaya seed extract which has concentration 30%, 40%, and 50% have effectiveness of antimicrobial against *Escherichia coli* growth by in vitro.

Keywords : Effectiveness of antibacterial, papaya seed extract, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan obat antimikroba yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri seperti *mycobacterium*, *staphylococcus*, *streptococcus*, *enterococcus* dan sebagainya.¹ Infeksi oleh bakteri sendiri merupakan salah satu masalah kesehatan serius yang banyak dijumpai khususnya di negara berkembang. Hampir 50.000 orang meninggal setiap harinya karena penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri.²

Sejak ditemukan tahun 1943, antibiotik mulai digunakan secara luas dalam bidang kesehatan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik di tahun tersebut secara signifikan berhasil menurunkan angka kesakitan dan kematian akibat infeksi. Namun kemampuan antibiotik untuk mengatasi infeksi bakteri ini mulai menimbulkan masalah 4 tahun kemudian. Hal ini dikarenakan penggunaan yang irasional dan tidak efektif lagi sehingga bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik.^{3,4} Jika tidak segera diatasi, resistensi antibiotik ini akan membahayakan nyawa pasien dan menimbulkan masalah-masalah lain yang merugikan bagi pasien. Masalah-masalah tersebut antara lain infeksi menjadi sulit diobati, kesakitan yang dialami menjadi lebih lama sehingga pasien semakin lama dirawat di rumah sakit yang mengakibatkan lebih tingginya biaya kesehatan yang ditanggung pasien.¹

Salah satu bakteri yang ditemukan mulai resisten terhadap antibiotik adalah *Escherichia coli*. Berdasarkan data yang diperoleh dari *Antimicrobial Resistant in Indonesia* (AMRIN-Study) pada 2494 orang ditemukan bahwa 43% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik antara lain ampisilin (34%), kotrimoksazol (29%), dan kloramfenikol (25%).⁵

Selain bakteri yang mulai resistensi terhadap antibiotik, perubahan flora normal, alergi, imunosupresan, dan gangguan pencernaan menjadi efek samping yang timbul akibat

pemakaian antibiotik.^{6,7} Masalah resistensi antibiotik tersebut menjadi pertimbangan mulai dikembangkannya penelitian untuk mencari sumber antimikroba baru dengan menggunakan bahan alami disekitar kita yang sekaligus berfungsi meminimalisir efek samping pemakaian antibiotik.^{8,9}

Beberapa penelitian yang telah dilakukan *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa banyak tanaman obat yang memiliki kemampuan sama dengan antibiotik atau bahkan melebihi kemampuan antibiotik. Hal tersebut dikemukakan oleh para ilmuwan di Eropa dan Asia.¹⁰ Salah satu bahan alam yang memiliki kemampuan mirip antibiotik adalah biji pepaya (*Carica papaya L.*).^{11,12}

Biji pepaya merupakan salah satu bagian pepaya yang dapat digunakan sebagai antimikroba.^{11,13} Di Indonesia sendiri, tanaman pepaya telah lama digunakan sebagai obat-obatan herbal dan buahnya sering dikonsumsi masyarakat. Saat mengkonsumsi buah pepaya masih utuh kemudian dikupas, biasanya mereka cenderung akan membuang bijinya, salah satunya yaitu biji pepaya yang berwarna hitam karena dianggap tidak bisa dikonsumsi dan tidak bermanfaat.

Berdasarkan referensi yang ada, diketahui bahwa biji pepaya mengandung berbagai senyawa seperti *tocophenol*, terpenoid, flavonoid, alkaloid seperti karpain, dan enzim-enzim seperti papain, enzim khimoprotein, dan lisozim. Hasil penelitian terdahulu menyatakan bahwa kandungan terpenoid, karpain, dan flavonoid berfungsi sebagai antibakteri yang bekerja dengan cara merusak integritas membran sel bakteri.^{8,12,14}

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya memiliki efek antimikroba terhadap pertumbuhan berbagai bakteri.^{11,13,14} Penelitian Lienny (2013) melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya muda dan tua terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian didapatkan bahwa biji pepaya muda dan tua dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.¹⁵ Penelitian Jyotsna *et al* (2014) melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya dan daun pepaya terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi*. Hasil penelitian didapatkan bahwa biji pepaya dan daun pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri tersebut.¹¹

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik meneliti tentang efektivitas antimikroba ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* yang dilakukan secara *in vitro*.

METODE

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Sampel penelitian adalah bakteri *Escherichia coli* strain standart (ATCC 25922) yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Kriteria inklusi penelitian ini adalah koloni *Escherichia coli* yang tumbuh pada media Mueller Hinton Agar dengan perlakuan dan diinkubasi pada lingkungan anerob pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah koloni *Escherichia coli* yang tumbuh pada media Mueller Hinton Agar disertai pertumbuhan jamur atau kontaminan lain.

Pada penelitian ini sampel homogen berupa koloni *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Nasional Diponegoro dan memenuhi kriteria inklusi serta eksklusi, sehingga tidak dilakukan randomisasi. Berdasarkan rumus besar sampel didapatkan total 35 sampel.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* strain ATCC 25922.

Uji efektivitas ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Escherichia coli* dilakukan dengan:

- a. Melakukan inokulasi suspensi bakteri *Escherichia coli* sebesar 1×10^6 CFU dengan mikropipet ukuran 10 mikron (setara dengan 1×10^4 CFU di media MHA) pada kelompok perlakuan dan kontrol positif, dimana 1 media berisi 4 titik inokulasi.
- b. Lalu inkubasi kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif tersebut selama 18-24 jam dalam suhu 37°C.
- c. Kemudian lakukan pembacaan pada daerah yang telah di inokulasi bakteri. Mengamati terdapat pertumbuhan bakteri atau tidak.

Analisis data pada penelitian ini akan menggunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* lalu apabila ditemukan perbedaan bermakna akan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. H_0 (hipotesis yang menyatakan tidak adanya hubungan antara variabel independen (X) dan variabel dependen (Y)) ditolak apabila nilai bermakna adalah $p < 0,05$, pada interval kepercayaan 95%.

HASIL

Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi etanol 96% pada ekstraksi dan ekstrak biji pepaya yang digunakan berbentuk serbuk. Hal tersebut berkaitan dengan kadar etanol yang cukup tinggi pada ekstrak. Kadar etanol pada ekstrak yang cukup tinggi ditakutkan menjadi bias dalam penelitian, karena tidak menutup kemungkinan *Escherichia coli* yang diujikan tidak tumbuh karena kadar etanol yang tersisa di ekstrak cukup tinggi dan mampu membunuh *Escherichia coli*.

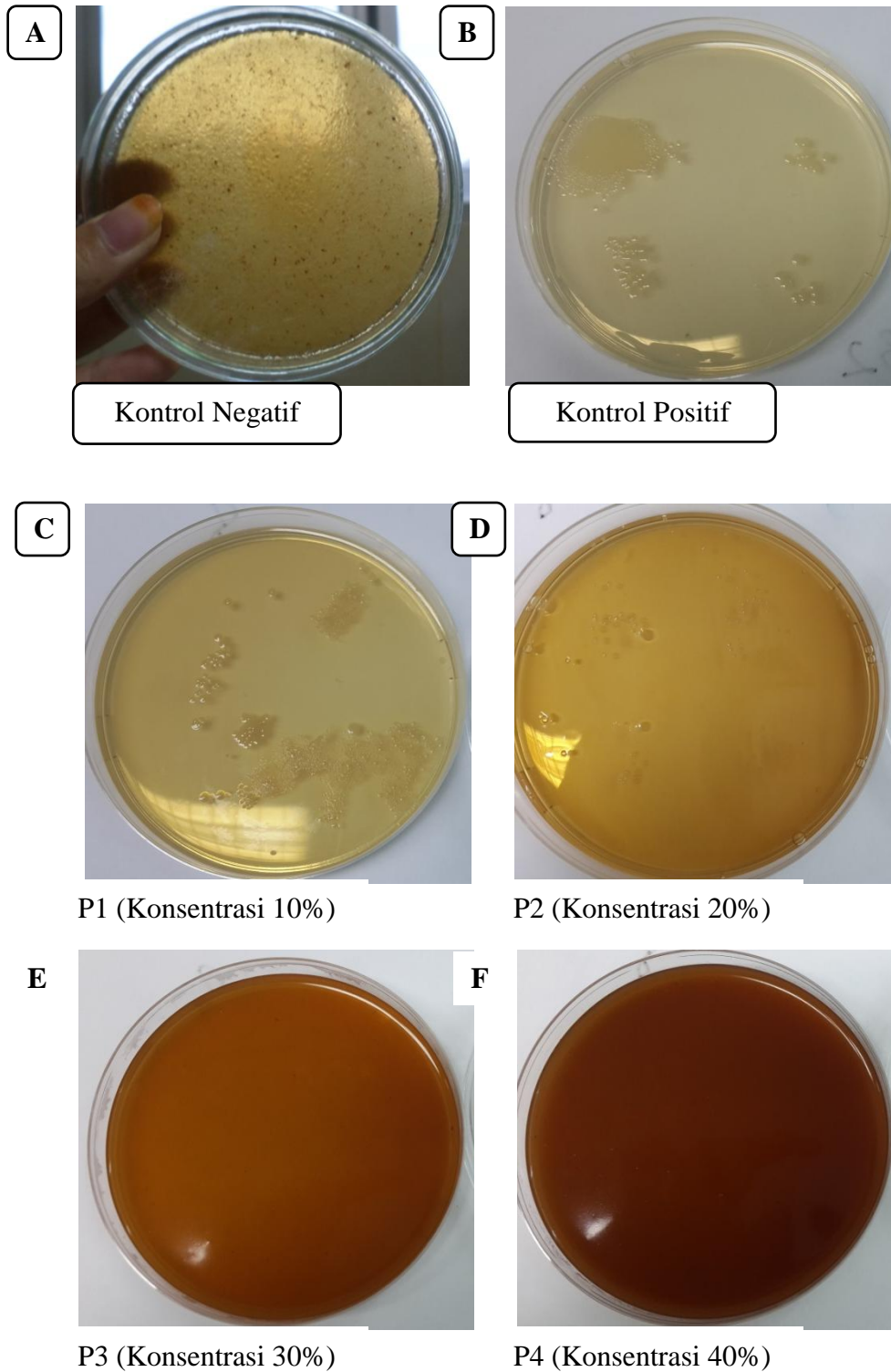
Penelitian ini digunakan 5 kelompok perlakuan yaitu media MHA yang dicampur dengan ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi 50%, 40%, 30%, 20%, dan 10%. Kelima kelompok perlakuan kemudian diinokulasi dengan suspensi *Escherichia coli* 1×10^4 CFU pada 4 titik di media MHA ditambah ekstrak biji pepaya yang merupakan *guideline* modifikasi dari *EUCAST*.¹⁶ Inokulasi 4 titik di media MHA dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak yang diujikan telah tercampur dengan baik pada media. Media MHA tanpa antibakteri yang diinokulasi *Escherichia coli* digunakan sebagai kontrol positif pertumbuhan sedangkan ekstrak biji pepaya konsentrasi 50% yang telah dicampur dengan media MHA yang tidak di inokulasi *Escherichia coli* digunakan sebagai kontrol negatif pertumbuhan.

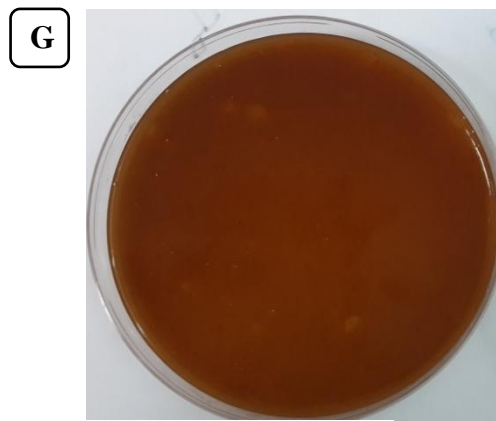
Setelah dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni dengan membandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Dari ke 5 kelompok perlakuan dan 2 kontrol diatas, didapatkan bahwa pada media MHA ditambah ekstrak biji pepaya konsentrasi 10%, 20% dan kontrol positif ada pertumbuhan koloni *Escherichia coli* sedangkan pada media MHA ditambah ekstrak biji pepaya konsentrasi 30%, 40%, 50% dan kontrol negatif tidak ada pertumbuhan koloni *Escherichia coli*. Data pertumbuhan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Pertumbuhan Bakteri pada Media

Konsentrasi Ekstrak Biji Pepaya	Σ Plate dengan Pertumbuhan
K (+)	5 plate
K (-)	0 plate
P 10%	5 plate
P 20%	5 plate
P 30%	0 plate
P 40%	0 plate
P 50%	0 plate

Dokumentasi Hasil Penelitian





P5 (Konsentrasi 50%)

Keterangan:

B, C, D: Didapatkan adanya pertumbuhan *Escherichia coli*

A, E, F, G: Tidak didapatkan adanya pertumbuhan *Escherichia coli*

Data dilakukan uji statistik dengan *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro* yang didapatkan nilai 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa minimal ada 2 kelompok yang berbeda secara bermakna yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna, maka dilakukan analisis lanjutan dengan uji *Mann Whitney* (bermakna $p < 0,05$) antara kontrol (+), kontrol (-) dan semua kelompok perlakuan. Hasil dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Uji *Mann-Whitney*

Variabel	P 10%	P 20%	P 30%	P 40%	P 50%	K (-)
K (+)	1,000	1,000	0,003*	0,003*	0,003*	0,003*
K (-)	0,003*	0,003*	1,000	1,000	1,000	-
P 10%		1,000	0,003*	0,003*	0,003*	0,003*
P 20%			0,003*	0,003*	0,003*	0,003*
P 30%				1,000	1,000	1,000
P 40%					1,000	1,000
P 50%						1,000

Keterangan: * = bermakna, $p < 0,05$

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) dengan konsentrasi 30%, 40% dan 50% dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, dengan kadar hambat minimal pada konsentrasi 30%. Ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*)

konsentrasi 10% dan 20% tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, namun konsentrasi 10% ditemukan pertumbuhan koloni *Escherichia coli* lebih banyak dibandingkan konsentrasi 20%.

Keterbatasan pada penelitian ini, berupa tidak dilakukan uji fitokimia pada ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) untuk mengetahui senyawa kimia apa saja yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 30%, 40% dan 50%. Kadar hambat minimal ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ada pada konsentrasi 30%. Dari penelitian ini didapatkan pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 10% dan 20%, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak biji pepaya maka semakin besar daya hambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

Saran

Setelah melakukan penelitian ini, maka disarankan untuk penelitian selanjutnya:

1. Penelitian mengenai uji efektivitas antimikroba ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi lain antara 20% sampai 50% untuk mengetahui konsentrasi efektif yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.
2. Penelitian ekstrak biji pepaya dengan menggunakan pelarut lain atau metode ekstrak lainnya.
3. Penelitian mengenai uji efektivitas antimikroba ekstrak biji pepaya terhadap pertumbuhan bakteri uji lainnya.
4. Penelitian mengenai uji efektivitas antimikroba ekstrak biji pepaya terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan isolat klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Desrini S, editor. Resistensi Antibiotik, Akankah Dapat Dikendalikan? Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. JKKI. 2015; 6(4):5-7.
2. Nirosha N, Mangalanayaki R. Antibacterial Activity of Leaves and Stem Extract of *Carica papaya L.* Int J Adv Pharmacy, Biol Chem. 2013; 2(3):473-476.

3. Farida H, Herawati, Hapsari MM, Notoatmodjo H, Hardian. Penggunaan Antibiotik Secara Bijak Untuk Mengurangi Resistensi Antibiotik, Studi Intervensi di Bagian Kesehatan Anak RS Dr. Kariadi. *Sari Pediatri*. 2008; 10(1):34-41.
4. World Health Organization (WHO). Antimicrobial Use in Aquaculture and Antimicrobial Resistance *Aeromonas Resist How It Eff Humans*. World Health Organization (WHO); 2006:1-107.
5. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman Umum Pengguna Antibiotik. Jakarta: Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia; 2009:1.
6. Suharmiati, Handayani L. Tanaman Obat dan Ramuan Tradisional Untuk Mengatasi Demam Berdarah Dengue. Jakarta: Agro Media Pustaka; 2007. Hal. 30-31.
7. Tumpa SI, Hossain I, Ishika T. Papaya and Mangifera Indica Against Some Gram Positive and Gram Negative Bacteria. 2015; 3(6):125-129.
8. Warisno. Budidaya Pepaya. Yogyakarta: Kaninus; 2003. Hal. 15-18.
9. Ahmad I, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens [Internet]. 2001 [Cited 16 Januari 2016]; 74:113-123. Available from: <http://www.elsevier.com/locate/jethpharm>
10. Green J. Terapi Herbal Pengobatan Alami Mengatasi Bakteri. Jakarta: Prestasi Pustaka Raya; 2005. Hal. 31-33.
11. Peter JK, Kumar Y, Pandey P, Masih H. Antibacterial Activity of Seed and Leaf Extract of Carica Papaya var. Pusa dwarf Linn. 2014; 9(2):29-37.
12. Okoye EI. Preliminary Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Seeds of Carica Papaya. 2011; 2(1):66-69.
13. Krishna KL, Paridhavi M, Patel JA. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.). 2008; 7(4):364-373.
14. Sukadana I, Santi S, Juliarti N. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya [Internet]. 2008 [Cited 16 Januari 2016]; 1:15-18. Available from: [http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Aktivitas+antibakteri+senyawa+golongan+triterpenoid+dari+biji+pepaya+\(#0\)](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Aktivitas+antibakteri+senyawa+golongan+triterpenoid+dari+biji+pepaya+(#0)).
15. Mulyono LM. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Calyptra*. 2013; 2(2):1-9.
16. Nad L, Agents A. EUCAST Definitive Document E. Def 3.1 Determination of Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) of Antibacterial Agents by Agar Dilution. 2000.