

## **Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Secara In Vitro**

**Mia Audina Curnia Safitri\*, Amalia Eka Putri, Dara Pranidya Tilarso**

Program Studi S1 Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa, Tulungagung

\*E-mail: [miaaudinacs@gmail.com](mailto:miaaudinacs@gmail.com)

### **Abstract**

*Escherichia coli* ATCC 25922 is a pathogenic microorganism that causes diarrhea, meningitis, and other infections. The most common treatment for infectious diseases is antibiotics, but there is a lot of resistance to antibiotics caused by improper use. This case of resistance resulted in the need for alternative therapies for antibacterial agents derived from plants that have high potential as antibacterial agents. Papaya stems have the potential as an antibacterial agent against *Escherichia coli* ATCC 25922 bacteria, which are pathogenic bacteria that cause infection in humans. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the papaya stem fraction against *Escherichia coli* ATCC 25922 using the disc diffusion method and to determine the papaya stem fraction which has the highest inhibition zone. The research method used is experimental. The research sample was papaya stems extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent. The extract was then fractionated using the liquid-liquid partition method using n-hexane, dichloromethane, and aquadest as solvents. The papaya stem fraction was carried out by phytochemical screening to determine the compounds contained therein. The positive control used was erythromycin 500 mg tablet and the negative control used was the respective solvent fractions. Each papaya stem fraction is made with a concentration of 1%. Statistical analysis was performed using the Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis, and Mann-Whitney test methods. The results of the papaya stem fraction antibacterial activity test showed that the papaya stem fraction had antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922. The n-hexane, dichloromethane, and aquadest fractions of papaya stem each with a concentration of 1% respectively had an average zone diameter. Inhibition of  $12.57 \pm 0.23$  mm,  $15.33 \pm 0.35$  mm, and  $18.97 \pm 0.58$  mm. Antibacterial activity is thought to come from the activity of flavonoids, tannins, and saponins contained in papaya stem fractions.

**Keywords:** Antibacterial, *Carica papaya* Linn., *Escherichia coli* ATCC 25922, Fractionation

## Abstrak

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan mikroorganisme patogen yang menjadi penyebab terjadinya penyakit diare, meningitis, dan infeksi lainnya. Pengobatan yang umum untuk penyakit infeksi adalah antibiotik, akan tetapi terjadi banyak resistensi terhadap antibiotik yang disebabkan oleh penggunaan yang tidak tepat. Kasus resistensi tersebut mengakibatkan diperlukannya terapi alternatif untuk agen antibakteri yang berasal dari tumbuhan-tumbuhan yang memiliki potensi tinggi sebagai agen antibakteri. Batang pepaya mempunyai potensi sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang merupakan bakteri patogen penyebab infeksi pada manusia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menggunakan metode difusi cakram serta untuk mengetahui fraksi batang pepaya yang memiliki zona hambat paling tinggi. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental. Sampel penelitian adalah batang pepaya yang di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak kemudian difraksinasi dengan menggunakan metode partisi cair – cair menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana, dan aquadestilata. Fraksi batang pepaya dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa yang terkandung didalamnya. Kontrol positif yang digunakan yaitu tablet eritromisin 500 mg dan kontrol negatif yang digunakan yaitu masing-masing pelarut fraksi. Fraksi batang pepaya masing-masing dibuat dengan konsentrasi 1%. Analisa statistik dilakukan dengan menggunakan metode uji Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis, serta Mann-Whitney. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya menunjukkan hasil bahwa fraksi batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Fraksi n-heksana, diklorometana, dan aquadestilata batang pepaya masing-masing dengan konsentrasi 1% secara berurutan mempunyai rata-rata diameter zona hambat sebesar  $12,57 \pm 0,23$  mm,  $15,33 \pm 0,35$  mm, dan  $18,97 \pm 0,58$  mm. Aktivitas antibakteri diperkirakan berasal dari aktivitas senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang terkandung di dalam fraksi batang pepaya.

**Kata Kunci:** Antibakteri, *Carica papaya* Linn., *Escherichia coli* ATCC 25922, Fraksinasi

---

Submitted: 18 Agustus 2020

Accepted: 13 Oktober 2020

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i4.247>

---

## Pendahuluan

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan mikroorganisme patogen yang sering menginfeksi manusia. Bakteri ini merupakan salah satu yang menjadi penyebab terjadinya penyakit diare, infeksi saluran kemih, meningitis, pneumonia, dan infeksi lainnya. Penyebaran bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat melalui kegiatan tangan ke mulut atau dengan cara pemindahan pasif melalui perantara makanan maupun minuman [1]. Pengobatan yang umum

untuk penyakit infeksi dilakukan dengan pemberian obat-obatan antibiotik. Obat-obatan antibiotik yang pada awalnya sensitif terhadap adanya mikroorganisme ini dapat menjadi tidak sensitif, keadaan ini disebut dengan resistensi antibiotik. Terjadinya resistensi obat-obatan antibiotik ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor pemicu seperti penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Timbulnya banyak kasus resistensi terhadap obat-obatan antibiotik ini menyebabkan kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain menjadi meningkat, termasuk obat antibiotik dari

tumbuh-tumbuhan berkhasiat obat [2]. Ekstrak etanol batang pepaya pada konsentrasi 20% dan 25% mempunyai aktivitas sebagai antibakteri secara *in vitro* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu sebesar 10,33 mm dan 10,83 mm yang termasuk dalam kategori sedang [3]. Batang pepaya mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder golongan saponin, tanin, dan flavonoid. Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata*, diklorometana (DCM), dan n-heksana dari ekstrak batang pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang merupakan bakteri Gram negatif.

## ■ Metode Penelitian

### Bahan

Bahan yang digunakan yaitu batang pepaya (*Carica papaya* Linn.) dalam kondisi segar sebanyak 5 kg, pelarut etanol 96% sebanyak 5 L, asam asetat glasial, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) pekat, magnesium (Mg), asam klorida (HCl), asam asetat anhidrat, larutan ferri klorida ( $FeCl_3$ ) 1%, n-heksana, diklorometana (DCM), *aquadestilata*, *Nutrient agar*, *Nutrient broth*, *Escherichia coli* ATCC 25922, hydrogen peroksid, NaCl fisiologis, dan tablet eritromisin 500 mg.

### Alat

Alat yang digunakan yaitu pisau, blender, loyang, oven, ayakan mesh 80, neraca analitik, wadah *stainless steel*, botol maserasi, gelas ukur 50 mL, gelas ukur 500 mL, corong, kertas saring, oven, gelas beker 100 mL, gelas beker 250 mL, kaca arloji, sendok tanduk, botol timbang, cawan porselen, pipet tetes, pipet ukur 1 mL, pipet ukur 5 mL, kapas, stopwatch, corong pisah, batang pengaduk, cawan petri, kertas cakram, autoklaf (GEA YX2808), Erlenmeyer 250 mL, bunsen, tali, aluminium foil, mikropipet, jangka sorong, lampu

spiritus, rak tabung reaksi, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), dan ose.

### Pengambilan sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pepaya (*Carica papaya* Linn.) berumur 9-12 bulan yang terdapat di kabupaten Blitar, Jawa Timur. Sampel penelitian yang telah melewati proses determinasi kemudian dilakukan sortasi kering dan basah. Sampel dipotong kecil-kecil hingga diperoleh ukuran yang sesuai dan dilakukan penimbangan. Pengeringan menggunakan oven dengan suhu sekitar 40-50°C sampai kering membentuk simplisia. Simplisia kemudian *diblender* untuk membentuk menjadi serbuk halus dan diayak dengan ayakan *mesh* 80.

### Metode ekstraksi

Sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak kemudian dipekatkan dan dilanjutkan fraksinasi untuk memisahkan senyawa aktif berdasarkan sifat kepolarnya. Fraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana (non polar), diklorometana (semi polar), *aquadestilata* (polar). Fraksi-fraksi yang didapatkan kemudian dipekatkan.

### Skrining fitokimia

#### Flavonoid

Sampel dilarutkan dengan 3 mL etanol kemudian dipanaskan dan disaring. Filtrat ditambah dengan Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Hasil positif mengandung flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, orange, dan hijau [4].

#### Tanin

Sampel dilarutkan dengan etanol kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes  $FeCl_3$  1%. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau [5].

### Saponin

Sampel dilarutkan dengan 10 mL aquadestilata kemudian dididihkan dalam penangas air. Larutan sampel kemudian dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Hasil positif mengandung saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa stabil (bertahan lama).[6]

### Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri fraksi batang pepaya dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Kertas cakram steril yang telah diresapi fraksi batang pepaya masing-masing dengan konsentrasi 1% ditempatkan pada permukaan media yang telah diinokulasikan *Escherichia coli* ATCC 25922. Kontrol positif menggunakan tablet eritromisin 500 mg dengan konsentrasi 0,001%. Kontrol negatif menggunakan pelarut masing-masing fraksi yaitu n-heksana, diklorometana, dan aquadestilata. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk. Data yang didapatkan kemudian dilakukan analisis statistik.

### ■ Hasil dan Pembahasan

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar batang dari tanaman pepaya (*Carica papaya* Linn.). Uji kadar air pada simplisia batang pepaya mendapatkan hasil yaitu kadar air sebesar 8,7% yang berarti kurang dari 10%. Syarat kadar air pada serbuk simplisia yaitu kurang dari 10% agar reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung sehingga simplisia dapat tahan lama dan zat aktif tidak berubah [7]. Simplisia batang pepaya yang diekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan ekstrak etanol batang pepaya dengan rendemen sebesar 5,76%. Maserat batang pepaya kemudian difraksinasi dengan menggunakan metode partisi cair-cair. Hasil determinasi tanaman, uji kadar air, ekstraksi, dan fraksinasi disajikan pada Tabel 1.

Skrining fitokimia pada fraksi batang pepaya bertujuan untuk mengetahui atau memastikan keberadaan dari senyawa-senyawa metabolit

sekunder yang terkandung di dalam ekstrak dan fraksi tersebut. Batang dari tanaman pepaya mempunyai kandungan kimia antara lain saponin, tanin, dan flavonoid [8]. Hasil dari skrining fitokimia fraksi batang pepaya ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil determinasi tanaman, uji kadar air, ekstraksi, dan fraksinasi

No.	Perlakuan	Sampel	Hasil
1.	Determinasi Tanaman	Batang pepaya	Batang pepaya ( <i>Carica papaya</i> Linn.)
2.	Uji Kadar Air	Serbuk simplisia batang pepaya	8,7%
3.	Rendemen Ekstrak	Ekstrak batang pepaya	5,76%
4.	Rendemen Fraksi	Fraksi n-heksana Fraksi diklorometana Fraksi aquadestilata	29,2% 15,8% 45%

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia fraksi batang pepaya

No.	Nama Fraksi	Skrining Fitokimia		
		Flavonoid	Tanin	Saponin
1.	Fraksi n-Heksana	✓	✓	✓
2.	Fraksi Diklorometana	✓	✓	✓
3.	Fraksi Aquadestilata	✓	✓	✓

Skrining fitokimia senyawa flavonoid, tanin, dan saponin pada fraksi n-Heksana mendapatkan hasil positif disebabkan karena lapisan fraksi aquadestilata ikut terambil pada saat proses pemisahan.

Fraksi batang pepaya kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram digunakan karena pada metode ini proses penggeraan mudah untuk dilakukan serta peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan peralatan khusus [9]. Prinsip dari metode difusi cakram yaitu fraksi dari batang pepaya yang terdapat pada kertas cakram akan berdifusi kedalam media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922, sehingga fraksi dari

batang pepaya akan menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tablet eritromisin 500 mg dengan konsentrasi 0,01% yang memiliki mekanisme kerja menghambat proses sintesis protein bakteri melalui ikatan secara *reversible* dengan ribosom subunit 50 S [10]. Kontrol negatif yang digunakan yaitu pelarut masing-masing fraksi untuk melihat pelarut yang digunakan memiliki aktivitas sebagai antibakteri atau tidak sehingga tidak menyebabkan bias pada hasil penelitian. Fraksi batang pepaya yang akan di uji masing-masing dibuat dengan konsentrasi 1% yang dilarutkan dengan menggunakan pelarut masing-masing fraksi. Hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi batang pepaya ditunjukkan pada Tabel 3, 4, dan 5.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi n-Heksana batang pepaya

No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
1.	Fraksi n-Heksana 1%	12,7	12,3	12,7	12,57 ± 0,23
2.	Kontrol Positif	22,7	22	22,3	22,33 ± 0,35
3.	Kontrol Negatif	0	0	0	0,00 ± 0,00

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi n-Heksana batang pepaya

No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
1.	Fraksi Diklorometana 1%	15,7	15	15,3	15,33 ± 0,35
2.	Kontrol Positif	22	22,7	22,7	22,47 ± 0,40
3.	Kontrol Negatif	0	0	0	0,00 ± 0,00

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi n-Heksana batang pepaya

No.	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
1.	Fraksi Aquadestilata 1%	18,3	19,3	19,3	18,97 ± 0,58
2.	Kontrol Positif	24	23,7	22,3	23,33 ± 0,91
3.	Kontrol Negatif	0	0	0	0,00 ± 0,00

Hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi batang pepaya menunjukkan bahwa fraksi batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa daerah bening disekitar kertas cakram. Hasil diameter zona hambat untuk fraksi *aquadestilata* dengan konsentrasi 1% mempunyai diameter zona hambat rata-rata sebesar  $18,97 \pm 0,58$  mm yang termasuk kedalam kategori kuat. Data hasil uji antibakteri tersebut menunjukkan bahwa fraksi polar yaitu fraksi *aquadestilata* dengan konsentrasi 1% mempunyai diameter zona hambat paling mendekati dengan kontrol positif yaitu eritromisin 500 mg. Hasil tersebut dapat terjadi karena sebagian besar senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 seperti flavonoid, tanin, dan saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar.

Kontrol negatif memberikan hasil diameter zona hambat  $0,00 \pm 0,00$  mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 serta tidak memberikan pengaruh terhadap hasil uji antibakteri dari fraksi batang pepaya. Analisis statistik fraksi batang pepaya dilakukan dengan metode uji *Kruskal-Wallis* dengan hasil signifikansi  $0,001 (<0,05)$  yang berarti ada perbedaan efek antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Analisis statistik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbandingan nilai rata-rata dari dua kelompok perlakuan. Hasil uji menunjukkan hasil secara keseluruhan memiliki signifikansi  $<0,05$  yang berarti bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata yang signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil tersebut sesuai karena dari ketiga fraksi tidak ada yang memiliki aktivitas antibakteri setara dengan kontrol positif.

Aktivitas antibakteri dari fraksi batang pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat timbul dimungkinkan karena adanya

kandungan senyawa aktif di dalam fraksi batang pepaya seperti senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang mempunyai kemampuan sebagai antibakteri. Senyawa metabolit sekunder tersebut merupakan senyawa yang mempunyai sifat polar yang menyebabkan senyawa polar tersebut mempunyai kemampuan menembus barrier dari membran sel bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan mudah [11].

## ■ Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian serta pembahasan, dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* batang pepaya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*. Fraksi batang pepaya yang memiliki zona hambat paling mendekati kontrol positif yaitu fraksi *aquadestilata* 1% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar  $18,97 \pm 0,58$  mm terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

## ■ Daftar Pustaka

- [1] Lestari, L. 2012. Sensitivitas Bakteri *Escherichia coli* Hasil Isolat Urin Penderita ISK di Puskesmas Kecamatan Bobotsari Kabupaten Purbalingga. *Skripsi*. Purwokerto: Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- [2] Tessy, Agus dan Ardayo, Suwanto. 2004. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II*. Jakarta : Balai Penerbit FK UI, 369-376.
- [3] Simbolon, M., Yelmira Z., dan Faizal H. 2018. Pembuatan Sabun Transparan dengan Penambahan Ekstrak Batang Pepaya Sebagai Antibakteri. *Chempublish Journal*, Vol.3, Hal. 57-68.
- [4] Baud, G.S., Sangi, M.S., dan Koleangan, H.S.J. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 14(2). Hal. 106-112.
- [5] Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi Kedua. Bandung : ITB.
- [6] Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- [7] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I. Jakarta : Departemen Kesehatan RI. Hal. 110.
- [8] Warisno. 2003. Budidaya Pepaya. Yogyakata: Kanisius.
- [9] Rahmadani F. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. Jakarta: Jurusan Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah
- [10] Katzung, B.G., Masters, S.B., dan Trevor, A.J. 2014. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Volume 2. Edisi 12. Jakarta : EGC
- [11] Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G. & Kaur H. 2011. Phytochemical Screening And Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Sciencia*. Vol.1 (1), 98-106.