

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

*Antibacterial Activity Test of Papaya Seed Methanol Extract (Carica papaya L.) Against
Escherichia coli In Vitro*

Resa Nafi'atul Insani¹, M.G. Isworo Rukmi¹, Widyaningrum Utami^{1*}

¹ Program Studi Farmasi, Universitas Diponegoro

*Corresponding author: widyaningrumutami@lecturer.undip.ac.id

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan bakteri patogen penyebab diare yang dapat diatasi dengan pemberian antibiotik, tetapi penggunaan yang irasional menyebabkan terjadinya resistensi, sehingga perlu dicari antibakteri alternatif untuk mengatasinya. Biji pepaya diketahui mengandung senyawa fitokimia alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, dan steroid yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol 70% biji pepaya terhadap *E. coli* dan konsentrasi ekstrak metanol 70% biji pepaya yang menunjukkan aktivitas antibakteri terbesar terhadap *E. coli*. Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental laboratorium. Biji pepaya diekstraksi menggunakan metode maserasi, sedangkan metode skrining fitokimia dilakukan dengan uji tabung. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi *Kirby-Bauer* pada berbagai konsentrasi, yaitu 20%, 30%, 40%, dan 50% b/v dalam DMSO 10% dan ciprofloxacin 5 µg digunakan sebagai kontrol positif. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak metanol 70% biji pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin. Semua konsentrasi uji ekstrak metanol 70% biji pepaya tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, sedangkan pada kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat kuat, yaitu sebesar $25,6 \pm 0,92$ mm. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui ekstrak metanol 70% biji pepaya tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.

Kata Kunci : Fitokimia, DMSO, difusi, *Kirby-Bauer*

ABSTRACT

Escherichia coli is a pathogenic bacterium causes diarrhea. It can be treated with antibiotics, but irrational use causes resistance, so it's necessary to search alternative antibacterials. Papaya seeds contain alkaloids, flavonoids, tannins, terpenoids, saponins, and steroids as potential antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity of 70% methanol extract of papaya seeds against *E. coli*. The concentration of 70% methanol extract papaya seeds showed the greatest antibacterial activity against *E. coli*. This research includes laboratory experimental research. Papaya seeds were extracted using the maceration method. The phytochemical screening method was carried out by tube testing. The antibacterial activity test was carried out using the *Kirby-Bauer* diffusion method at various concentrations, 20%, 30%, 40%, and 50% w/v in 10% DMSO and ciprofloxacin 5 gram was used as a positive control. Phytochemical screening test results of 70% methanol extract of papaya seeds contain alkaloids, flavonoids, terpenoids, saponins, and tannins. All test concentrations of 70% methanol extract of papaya seeds didn't show antibacterial activity against *E. coli*, while the positive control showed very strong antibacterial activity, which was $25,6 \pm 0,92$ mm.

Based on this, it concluded that 70% methanol extract of papaya seeds didn't have antibacterial activity against *E. coli*.

Keywords : Phytochemical, DMSO, diffusion, Kirby-Bauer

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan flora normal yang ditemukan dalam saluran cerna dan dapat berubah menjadi patogen apabila jumlahnya meningkat. Bakteri *E. coli strain* patogen merupakan penyebab terjadinya penyakit infeksi saluran kemih, diare, dan meningitis (Jawetz *et al.*, 2013). Penyakit diare yang disebabkan oleh *E. coli* di Indonesia menjadi salah satu masalah utama kesehatan karena menjadi penyebab kematian pada semua golongan usia. Berdasarkan data dari Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2016), angka prevalensi kematian yang disebabkan diare di Indonesia adalah sebesar 3,04% (Fitri dan Rahayu, 2018). Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen dapat diatasi dengan antibiotik, tetapi penggunaan yang irasional mengakibatkan terjadinya resistensi (Kemenkes RI, 2011).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dicari antibakteri alternatif yang berasal dari tanaman, salah satunya adalah pepaya. Bagian buah pepaya, yaitu bijinya diketahui mengandung tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, serta steroid yang berpotensi menjadi antibakteri (Prasetya *et al.*, 2018; Ariani *et al.*, 2019). Ekstrak etanol 96% biji pepaya konsentrasi 30% diketahui dapat menghambat *E. coli* dengan diameter zona hambatnya sebesar 16,6 mm (Roni *et al.*, 2019). Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri biji pepaya terhadap *E. coli* dengan pelarut ekstraksi lain, yaitu metanol 70%.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *grinder* HR 3000 (Hangzhou Feiru), maserator, *rotary evaporator* (Boeco), oven (Memmert), jarum ose, pipet ukur, tabung reaksi, *hotplate* (Boeco), krus porselen, *vortex 1 plus* (Boeco), autoklaf (Hirayama), timbangan analitik (Mettler Toledo), cawan petri *disposable* (Labware Charuzu), cawan petri kaca, tabung ulir, jangka sorong, pinset, inkubator (Fisher), kaca preparat, *moisture analyzer* (AND), mikropipet (Socorex), mikroskop (Olympus), botol media (Schott Duran), *magnetic stirrer* (Boeco), dan corong kaca.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 3 kg biji pepaya basah kultivar Bangkok, kertas saring, metanol 70% (p.a, Smartlab), daun waru, daun katuk, eugenol, quercetin, asam tanat, kafein, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, serbuk magnesium, FeCl₃ 1%, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, aquades, n-heksana, HCl pekat, alkohol 70%, kristal violet (p.a, Merck), iodin (p.a, Merck), alkohol 95%, safranin, minyak imersi, media NA (Oxoid), media MHA (Oxoid), *antibiotic sterile blank disc* diameter 6 mm (Oxoid), *disc ciprofloxacin* 5 µg (Oxoid), NaCl 0,9%, DMSO 10%, isolat bakteri *E. coli*, McFarland 0,5 (Himedia), dan *cotton swab* steril (Onemed).

Determinasi Tanaman Pepaya

Determinasi tanaman pepaya dilakukan di Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Semarang.

Penyiapan dan Pengolahan Simplisia Biji Pepaya (*C. papaya* L.)

Biji berasal dari buah pepaya kultivar Bangkok matang dibeli dari pedagang buah di Kecamatan Weleri. Biji pepaya dikeluarkan dari buahnya, kemudian disortasi basah, dicuci dengan air mengalir, dan ditiriskan. Biji pepaya dikeringkan dengan *solar dryer* sambil ditutup menggunakan kain hitam selama 3 hari sampai kering sempurna (Ariani *et al.*, 2019). Biji pepaya yang telah dikeringkan kemudian disortasi kering, lalu diserbuk menggunakan *grinder* sampai halus dengan ukuran seragam, kemudian serbuk disimpan dalam wadah tertutup (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

Penetapan Kadar Air Serbuk Simplisia Biji Pepaya (*C. papaya* L.)

Sebanyak 1 gram serbuk biji pepaya dimasukkan ke dalam *moisture analyzer*, kemudian suhu diatur sampai 105°C dan dibiarkan selama 3 - 5 menit. Nilai kadar air serbuk biji pepaya akan terlihat pada layar dan memenuhi syarat apabila < 10% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

Pembuatan Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya (*C. papaya* L.)

Serbuk biji pepaya sebanyak 300 gram dimaserasi dalam 1200 mL metanol 70% (1:4), didiamkan selama 1 x 24 jam dan diaduk tiap 6 jam sekali, kemudian disaring. Residu hasil penyaringan dimaserasi kembali sebanyak 2 kali dan setiap 1 x 24 jam pelarut diganti dengan metanol 70% baru dan diaduk tiap 6 jam sekali, kemudian disaring kembali. Filtrat

diuapkan dengan *rotary evaporator* suhu 60°C sampai 1/3 volume, kemudian dituang dalam cawan untuk dipiekatkan di atas *hotplate* dan dilakukan perhitungan rendemen (Valentina, 2013; Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Penetapan Susut Pengeringan Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah ditara dengan cara dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit, lalu ditimbang. Krus porselen dimasukkan ke dalam oven suhu 105°C dalam keadaan tutup krus terbuka, kemudian setelah tiap pengeringan dibiarkan dingin pada eksikator hingga mencapai suhu kamar dalam keadaan tutup krus tertutup, kemudian ditimbang dan dikeringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Penetapan Kadar Air Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya

Penetapan ini dilakukan dengan memasukkan ± 10 gram ekstrak pada krus porselen yang telah ditara, kemudian dikeringkan dalam oven suhu 105°C selama 5 jam, lalu ditimbang. Krus porselen sebelum tiap pengeringan dibiarkan mendingin pada eksikator hingga mencapai suhu kamar dalam keadaan tutup krus tertutup, kemudian dikeringkan kembali dan ditimbang pada jarak 1 jam hingga beda antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Tabel 1. Skrining Fitokimia

Senyawa Fitokimia	Standar	Pereaksi	Hasil Positif
Alkaloid (Harborne, 2006)	Kafein	HCl 2N+ Wagner	Endapan coklat
		HCl 2N + Dragendorff	Endapan merah-jingga
Flavonoid (Harborne, 2006)	Quercetin	Serbuk Mg + HCl pekat	Warna merah, kuning, atau jingga
Tanin (Harborne, 2006; Evans, 2009)	Asam tanat	FeCl ₃ 1%	Warna biru kehitaman atau hijau kehitaman
Terpenoid	Eugenol	n-heksana + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat	Cincin kecokelatan/violet
			Warna merah ungu
Triterpenoid (Harborne, 2006)			
Steroid (Evans, 2009)	Daun Katuk	n-heksana + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Warna hijau kebiruan
Saponin (Evans, 2009)	Daun Waru	Air panas	Terbentuk buih setinggi 1-10 cm selama 10 menit
		+ HCl 2N	Terbentuk buih stabil

Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya (*C. papaya L.*)

Metode skrining fitokimia dilakukan dengan pereaksi dan standar yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Sterilisasi Alat

Alat gelas seperti cawan petri, tabung ulir, gelas beker, serta tabung reaksi disterilisasi dalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi jarum ose dan pinset dilakukan dengan pemijaran (Difco and BBL Teams, 2009).

Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)

Sebanyak 0,84 gram *Nutrient Agar* dilarutkan dalam 30 mL aquades steril pada botol media, kemudian dipanaskan di atas *hotplate stirrer* hingga larut sempurna. Campuran kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya dituang ke dalam tabung reaksi

dengan posisi miring secara aseptik dan ditutup dengan kapas, kemudian dibiarkan memadat pada suhu ruang selama 30 menit (Atlas, 2010).

Pembuatan Medium Mueller Hinton Agar (MHA)

Sebanyak 7,6 gram Mueller Hinton Agar dilarutkan dalam 200 mL aquades steril pada botol media, kemudian dipanaskan di atas *hotplate stirrer* hingga larut sempurna. Campuran kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya dituang ke dalam cawan petri steril secara aseptik dan dibiarkan memadat pada suhu ruang selama 30 menit (Atlas, 2010).

Peremajaan Bakteri *E. Coli*

Biakan murni bakteri *E. coli* diambil sebanyak 1 ose dengan jarum ose steril, lalu diremajakan pada media NA miring secara aseptik, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam (Torar *et al.*, 2017).

Tabel 2. Hasil Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya dengan Metode Tabung

No.	Senyawa Fitokimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Keterangan
1.	Alkaloid	HCl 2N + Wagner HCL 2N + Dragendorff	+	Endapan coklat Endapan jingga
2.	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat	+	Perubahan warna kuning
3.	Tanin	FeCl ₃ 1%	+	Biru hitam
4.	Terpenoid		+	Cincin kuning kecokelatan
5.	Triterpenoid	n-heksana + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat	-	Tidak muncul warna merah ungu
6.	Steroid		-	Tidak muncul warna hijau kebiruan
7.	Saponin	Air panas + HCl 2N	+	Terbentuk buih stabil

Pemeriksaan Kemurniaan *E. Coli*

Kemurnian bakteri *E. coli* diperiksa dengan pewarnaan gram. Kaca preparat dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian dipanaskan di atas lampu spiritus. Sebanyak 1 - 2 tetes aquades steril diteteskan pada kaca preparat, lalu diambil 1 ose biakan *E. coli* berumur 24 jam pada media NA miring secara aseptik, kemudian dikeringanginkan dan difiksasi di atas lampu spiritus. Preparat ini lalu ditetesi 2 - 3 tetes kristal violet, didiamkan 1 menit, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringanginkan. Langkah yang sama dilakukan pada iodin, kemudian alkohol 95%, dan safranin. Preparat apusan bakteri diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi (Morello *et al.*, 2003).

Pembuatan Suspensi Bakteri *E. coli*

Bakteri *E. coli* berumur 24 jam dalam media NA miring diambil sebanyak 1 - 3 ose, lalu diinokulasikan ke dalam 5 mL NaCl fisiologis 0,9% steril secara aseptik dan dihomogenkan. Suspensi bakteri disetarakan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 untuk mencapai kerapatan sel 1×10^8 CFU/mL (Coyle, 2005).

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya (*C. papaya L.*)

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan

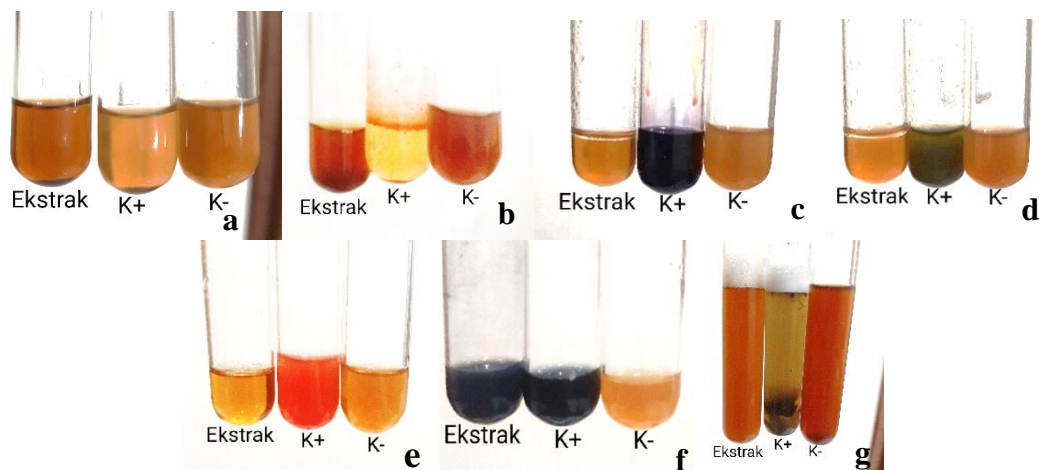
ekstrak kental metanol 70% biji pepaya ke dalam 1 mL DMSO 10% pada berbagai konsentrasi, yaitu 20%, 30%, 40%, dan 50% b/v (Torar *et al.*, 2017).

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya dengan Metode Kirby-Bauer

Suspensi bakteri *E. coli* dengan kerapatan 1×10^8 CFU/mL diinokulasikan di atas permukaan media MHA dan disebar dengan *cotton swab* steril. *Disc* yang telah ditetesi konsentrasi uji ekstrak metanol 70% biji pepaya sebanyak 20 μ L, DMSO 10% serta ciprofloxacin 5 μ g diletakkan secara aseptik pada permukaan MHA menggunakan pinset steril, kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara triplo (Pratiwi, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman pepaya dilakukan di Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Semarang diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar dan sesuai dari spesies *C. papaya L.*



Keterangan: K+ (Standar Uji), K- (Ekstrak Tanpa perlakuan)

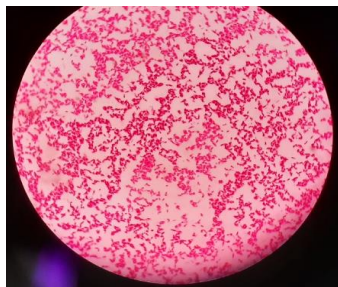
Gambar 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak metanol 70% biji pepaya (a. Alkaloid Wagner; b. Alkaloid Dragendorff; c. Terpenoid/Triterpenoid; d. Steroid; e. Flavonoid; f. Tanin; g. Saponin)

Biji pepaya kering yang diperoleh dari 3 kg sampel basah adalah 422 gram sementara serbuk simplisia biji pepaya yang diperoleh dari 3 kg sampel basah adalah sebanyak 300 gram dengan kadar air 4,63%. Metode pengeringan simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah *solar dryer*. Hal ini dikarenakan *solar dryer* memiliki *collector* yang dapat mengoptimalkan penggunaan sinar matahari dalam proses pengeringannya, yaitu dengan cara mengkonversi energi matahari menjadi energi panas, sehingga waktu pengeringan lebih singkat dan kualitas hasil pengeringan lebih baik (Hutapea *et al.*, 2019). Kadar air serbuk simplisia biji pepaya dalam penelitian ini adalah 4,63%, hasil ini masih memenuhi kriteria kadar air simplisia yang baik dikarenakan tidak lebih dari 10% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

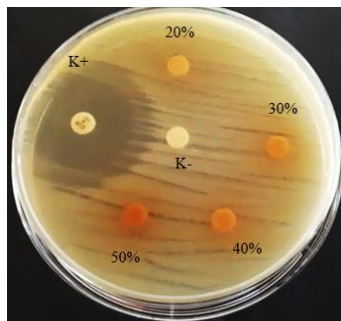
Ekstrak kental biji pepaya yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 22,67 g dengan rendemennya sebesar 7,56%, hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen ekstrak etanol 70% biji pepaya sebesar 5,85% (Fitriyanti *et al.*, 2020). Hasil rendemen yang berbeda kemungkinan disebabkan karena perbedaan jenis pelarut yang digunakan, sehingga akan mempengaruhi jumlah rendemen ekstrak yang diperoleh (Verdiana *et al.*,

2018). Nilai konstanta dielektrik metanol 70% adalah 47,3 lebih besar dari konstanta dielektrik etanol 70%, yaitu 41,1, sehingga rendemen metanol 70% lebih tinggi dikarenakan pelarut ini dapat mengekstrak senyawa yang bersifat polar lebih baik daripada etanol 70% (Sudarmadji, 1989; Verdiana *et al.*, 2018).

Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak metanol 70% biji pepaya diperoleh sebesar 16,63%, sedangkan pada uji kadar air ekstrak adalah sebesar 16,25%. Parameter hasil dari penetapan susut pengeringan ekstrak ini tidak terdapat syarat atau rentang yang diperbolehkan dalam literatur (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008). Hasil penetapan kadar air ekstrak ini masih memenuhi dalam batas kadar air ekstrak kental yang baik, yaitu antara 5 - 30% (Saifuddin *et al.*, 2011). Nilai susut pengeringan dalam penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan kadar air, hal ini menyatakan pada proses penetapan susut pengeringan selain kandungan air yang menguap, terdapat kandungan minyak atsiri yang ikut menguap ketika dipanaskan pada suhu 105°C (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Bakteri *E. coli*



Keterangan: K+ (Ciprofloxacin 5 µg), K- (DMSO 10%)

Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya

Berdasarkan Tabel 2, menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan flavonoid, namun tidak ditemukan steroid serta triterpenoid. Gambar 1 menunjukkan hasil bahwa dalam penelitian ini tidak ditemukan steroid dan triterpenoid, sedangkan pada ekstrak etanol 96% biji pepaya ditemukan steroid (Roni *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian (Sukadana *et al.*, 2008 dalam Adiningrum *et al.*, 2022), dapat diketahui bahwa dalam ekstrak n-heksana biji pepaya ditemukan adanya senyawa terpenoid golongan triterpenoid. Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan karena jenis pelarut yang berbeda, yaitu metanol 70% lebih polar daripada etanol 96% dan n-heksana, sehingga kemungkinan senyawa steroid serta triterpenoid yang bersifat non polar tidak dapat terekstrak sempurna dalam metanol 70% (Harborne, 2006). Senyawa terpenoid kebanyakan bersifat non polar, sehingga dapat terekstrak dengan pelarut non polar maupun semi polar, sedangkan dari jenis monoterpenoid dan

seskuiterpenoid bersifat semi polar masih mampu terlarut dalam metanol (Heliawati, 2018). Triterpenoid merupakan senyawa turunan terpenoid yang tersusun dari 6 unit isoprene yang cenderung bersifat non polar, sehingga dapat terekstrak maksimal dengan pelarut non polar seperti n-heksana (Saifudin, 2014).

Prosedur uji aktivitas antibakteri diawali dengan melakukan pemeriksaan kemurnian bakteri yang telah diremajakan dalam media NA miring. Berdasarkan Gambar 2, menunjukkan hasil pewarnaan gram *E. coli* berwarna merah dengan bentuk batang pendek dan telah sesuai dengan literatur yang menyatakan bakteri *E. coli* termasuk gram negatif yang berbentuk batang pendek (Jawetz *et al.*, 2013). Struktur dinding sel bakteri gram negatif mempunyai konsentrasi lipid tinggi, sehingga mudah terlarut dalam alkohol yang mengakibatkan *E. coli* kehilangan kompleks violet-iodin setelah dilakukan pencucian dengan alkohol 95% dan sewaktu ditambahkan safranin akan tampak berwarna merah (Morello *et al.*, 2003).

Berdasarkan Tabel 3, menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol 70% biji pepaya dimana tidak terdapat aktivitas penghambatan pertumbuhan *E. coli* pada semua variasi konsentrasi uji, walaupun secara kualitatif ekstrak ini mengandung alkaloid, terpenoid, flavonoid, tanin, dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri. Kandungan fitokimia biji pepaya yang memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap *E. coli* adalah triterpenoid. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, yaitu dari isolat triterpenoid ekstrak n-heksana biji pepaya pada konsentrasi 1.000 ppm dapat menghambat *E. coli* sebesar 10 mm (Sukadana *et al.*, 2008 dalam Alfarabi dan Fauziyuningtias, 2017). Hasil uji yang berbeda kemungkinan disebabkan karena dalam ekstrak metanol 70% biji pepaya tidak mengandung triterpenoid yang bersifat non polar, sedangkan dari

ekstrak n-heksana biji pepaya ditemukan senyawa triterpenoid karena kesamaan polaritasnya (Harborne, 2006). Senyawa triterpenoid bersifat non polar, sehingga kemungkinan tidak semua jenis senyawa terpenoid dapat terkestrak dalam metanol 70% (Heliawati, 2018).

Penelitian lain menunjukkan ekstrak etanol 96% biji pepaya pada konsentrasi 20% menunjukkan aktivitas antibakteri *E. coli* sebesar 14,3 mm (Roni et al., 2019), sedangkan dengan konsentrasi yang sama dari ekstrak metanol 70% biji pepaya ternyata tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Perbedaan hasil ini kemungkinan dapat disebabkan karena jenis pelarut yang digunakan berbeda, yang mengakibatkan kandungan fitokimia yang terekstrak berbeda. Ekstrak etanol 96% mengandung steroid dan triterpenoid yang bersifat non polar (Roni et al., 2019), sedangkan dalam ekstrak metanol 70% biji pepaya tidak ditemukan kedua senyawa tersebut. Steroid dan triterpenoid yang bersifat non polar akan lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram negatif, hal ini dikarenakan *E. coli* memiliki kandungan lipid yang tinggi pada lapisan dinding selnya (Jawetz et al., 2013).

Berdasarkan Gambar 3, hasil uji ekstrak metanol 70% biji pepaya konsentrasi 50% terhadap *E. coli* dalam penelitian ini tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, sedangkan dari ekstrak etanol 70% biji pepaya konsentrasi 50% dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* sebesar 8,6 mm (Mauti et al., 2018). Hasil analisis fitokimia dari kedua penelitian ini menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang sama, yaitu saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin (Mauti et al., 2018). Berdasarkan penelitian (Maryam, 2016 dalam Leny et al., 2021) dapat diketahui aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya terhadap *E. coli* berasal dari senyawa flavonoid.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya terhadap *E. coli* dengan Metode Kirby-Bauer

Konsentrasi EMBP (%) b/v	Rata- Rata Diameter Zona Hambat (mm) ± SD (n = 3) <i>E. coli</i>
K ₂₀	0
K ₃₀	0
K ₄₀	0
K ₅₀	0
K ⁺	25,6 ± 0,92
K ⁻	0

Keterangan:

EMBP : Ekstrak Metanol 70% Biji Pepaya

K⁺ : Ciprofloxacin 5 µg

K⁻ : DMSO 10%

Flavonoid yang terdapat dalam biji pepaya diketahui merupakan jenis flavanon dan dihidroflavonol yang bersifat nonpolar. Polaritas etanol 70% lebih rendah dari metanol 70%, sehingga diduga flavonoid jenis tersebut lebih larut dalam etanol 70% (Harborne, 2006). Hal ini dikarenakan *E. coli* memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks, sehingga mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel (Jawetz et al., 2013; Dwicahyani et al., 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol 70% biji pepaya tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan konsentrasi ekstrak yang menunjukkan aktivitas antibakteri terbesar terhadap *E. coli* tidak dapat diketahui, karena tidak terbentuk zona hambat pada semua konsentrasi uji.

DAFTAR PUSTAKA

Adiningrum, V.L., Prayitno, S.B., dan Hastuti, S. (2022) 'Penggunaan Ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica papaya) dalam

- Pengobatan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*', *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 6(2), pp. 273-284. doi: 10.14710/sat.v6i2.15015
- Alfarabi, M. dan Fauziyuningtias. (2017) 'Analisis Nilai Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)', *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 6(2), pp. 153-158. ISSN: 2541-1969.
- Ariani, N., Monalisa, dan Febrianti, D.R. (2019) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*', *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(2), pp.160–166. ISSN 2598-2095.
- Atlas, R.M. (2010) *Handbook of Microbiological Media*. Fourth Edition. New York: CRC Press.
- Coyle, M.B. (2005) *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Washington DC: American Society of Microbiology.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985) *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008) *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Difco and BBL Teams. (2009) *Manual of Microbiological Culture Media*. Second Edition. New York: Becton, Dickinson, and Company.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, dan Rianingsih, L. (2018) 'Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*'. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), pp. 15-24. ISSN: 2442-4145.
- Evans, C.W. (2009) *Pharmacognosy Trease and Evans*. Sixteenth Edition. London: Saunders Elsevier.
- Fitri, W.N. dan Rahayu, D. (2018) 'Review: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan *Melastomataceae* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*', *Farmaka*, 16(2), pp. 69-77. doi: 10.24198/jf.v16i2.17624.
- Fitriyanti, Norhavid, M.F.R., dan Ramadhan, H. (2020) 'Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat', *Pharmacoscript*, 3(2), pp. 143-149. doi:10.36423/pharmacoscript.v3i2.
- Harborne, J.B. (2006) *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Cara Menganalisis Tumbuhan*. Edisi 2. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Heliawati, L. (2018) *Kimia Organik Bahan Alam*. Bogor: Unpak Press.
- Hutapea, G.P., Ambarita, H., Napitupulu, F.H., dan Gultom, M.S. (2019) 'Study Experimental untuk Alat Pengereng Biji

- Kopi Tenaga Surya Sistem Kontinu',
Jurnal Dinamis, 7(4), pp. 47-58. doi:
10.32734/dinamis.v7i4.7227
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A.,
Brooks, G.F., Butel, J.S., et al. (2013)
Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 25.
Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
(2011) Pedoman Umum Penggunaan
Antibiotik. Jakarta: Kementrian
Kesehatan Republik Indonesia.
- Mauti, I.M., Rina, D.I., dan Rante, S.D.T. (2018)
'Uji in vitro Aktivitas Anti Bakteri
Ekstrak Etanol 70% Biji Pepaya (Carica
papaya L.) terhadap Pertumbuhan
Escherichia coli', Cendana Medical
Journal, 6(3), pp. 317-326. doi:
10.35508/cmj.v6i3.661.
- Morello, J.A., Granato, P.A., and Mizer, H.E.
(2003) Laboratory Manual and Workbook
in Microbiology Applications to Patient
Care. Seventh Edition. New York:
McGraw Hill.
- Leny, Fransiska, E., Nababan, H., dan Hafiz I.
(2021) 'Formulasi dan Pengujian
Karakterisasi Sediaan Sabun Mandi Padat
dari Ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica
papaya L.), Media Kesehatan Politeknik
Kesehatan Makassar, 16(2), pp. 238-244.
doi: 10.32382/medkes.v16i2.2428
- Pratiwi, P. (2008) Mikrobiologi Farmasi.
Jakarta: PT. Erlangga.
- Prasetya, A.T., Mursiti, S., Maryan, S., and Jati,
N.K. (2018) 'Isolation and Identification
of Active Compounds from Papaya Plants
and Activities Antimicrobial', IOP
Conference Series: Material Science
Engineering, 1(20), pp.1-6.
doi:10.1088/1757899X/349/1/012007.
- Roni, A., Maesaroh, dan Marliani, L. (2019)
'Aktivitas Antibakteri Biji, Kulit, dan
Daun Pepaya (Carica papaya L.) terhadap
Bakteri Escherichia coli dan
Staphylococcus aureus', Kartika: Jurnal
Ilmiah Farmasi, 6(1), pp. 29-33. doi:
10.26874/kjif.v6i1.134.
- Saifudin, A. (2014) Senyawa Alam Metabolit
Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik
Pemurniaan. Yogyakarta: Deepublish.
- Saifuddin, A., Rahayu, V., dan Yuda, T.H.
(2011) Standardisasi Bahan Obat Alam.
Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sudarmadji, S.B., Haryono, dan Suhardi. (1989)
Analisa Bahan Makanan dan Pertanian.
Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Torar, G.M.J., Lolo, W.A., dan Citraningtyas,
G. (2017) 'Uji Aktivitas Antibakteri
Ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica papaya
L.) terhadap Bakteri Pseudomonas
aeruginosa dan Staphylococcus aureus',
Pharmacon, 6(2), pp. 14-22. doi:
10.35799/pha.6.2017.15833.
- Verdiana, M., Widarta, I.W.R., dan Permana
I.D.G.M. (2018) 'Pengaruh Jenis Pelarut
Menggunakan Gelombang Ultrasonik
terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak
Kulit Buah Lemon (Citrus limon (Linn.)
Burm F.)', Jurnal Ilmu dan Teknologi
Pangan, 7(4), pp. 213-222. doi:
10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08.