

Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*

*(Phytochemical Compounds and Anti-bacterial Test of Silver Nanoparticles Papaya Leaves Extract (*Carica papaya L*) againts *Staphylococcus epidermidis* and *Salmonella typhi*)*

Ni Made Marlin Suarjo Putri^{1)*}, Dwi Sutiningsih²⁾, Mochamad Hadi²⁾

¹⁾Magister Epidemiologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Diponegoro, Semarang

²⁾ Epidemiologi dan Penyakit Tropis, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro, Semarang

³⁾ Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro, Semarang

*Email korespondensi: putrimade62@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri masih sering dijumpai di negara berkembang salah satunya bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. Di Indonesia daun pepaya (*Carica papaya L*) banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa yang bersifat antibakteri. Kombinasi nanopartikel perak dengan daun pepaya berpotensi dapat meningkatkan efektivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas nanopartikel perak ekstrak daun pepaya dalam menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. Metode penelitian ini adalah *true experiment* dengan design *Post-test only with control group*. Hasil penelitian, menunjukkan senyawa metabolit daun pepaya terdiri dari flavonoid, steroid, tanin sedangkan kadar total yang terkandung dalam flavonoid sebanyak 791,209% dan tanin 11,138%. Diameter zona hambat konsentrasi 100, 150, 200, 250 ppm membuktikan ekstrak daun pepaya yang dikombinasi dengan nanopartikel perak memiliki senyawa aktif antibakteri yang baik tetapi lebih kuat membunuh bakteri *Staphylococcus epidermidis* daripada bakteri *Salmonella typhi*.

Kata kunci: Antibakteri; Daun Pepaya; Nanopartikel Perak

ABSTRACT

*Infections caused by bacteria are still common in developing countries, among them *Staphylococcus epidermidis* and *Salmonella typhi*. In Indonesia, papaya leaves (*Carica papaya L.*) are widely used as traditional medicine because they contain compounds that are antibacterial. The combination of silver nanoparticles with papaya leaves has the potential to increase antibacterial effectiveness. The purpose of this study was to determine the effectiveness of papaya leaf extract silver nanoparticles in inhibiting *Staphylococcus epidermidis* and *Salmonella typhi* bacteria. This research method is a *true experiment* with a *post-test only* design with a control group. The results showed that papaya leaf metabolites consisted of flavonoids, steroids, and tannins, while the total levels contained in flavonoids 791.209%, and tannins 11.138%. The diameter of the inhibition zone concentrations of 100, 150, 200, and 250 ppm proved that papaya leaf extract combined with silver nanoparticles had good antibacterial active compounds but was more powerful in killing *Staphylococcus epidermidis* bacteria than *Salmonella typhi* bacteria.*

Keywords: Antibacterial; Papaya Leaf; Silver Nanoparticles

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih sering terjadi sehingga menjadi permasalahan kesehatan di dunia termasuk di negara berkembang yaitu Indonesia, tercatat kasus

yang menyebabkan kematian mencapai 39,5 juta lebih dari 25%. Penyebab infeksi dikarenakan kontaminasi bakteri patogen yaitu bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri ini adalah bakteri gram positif terdapat pada kulit dan jika pertumbuhan bakteri melebihi batas normal maka dapat menimbulkan infeksi kulit seperti jerawat, lesi bernanah, bisul, bahkan infeksi serius seperti saluran kemih dan meningitis. Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, kasus penyakit kulit dan jaringan subkutan di seluruh rumah sakit Indonesia menempati peringkat ketiga dari 10 penyakit terbanyak diderita. Selain itu bakteri *Salmonella typhi* juga menjadi pemicu dan mencetuskan kasus di negara berkembang penyebab demam tifoid. Bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif berkembang biak dalam makanan yang kurang higienis dan sering menginfeksi saluran pencernaan (Zulkoni, 2011).

Di Indonesia, kasus demam tifoid masih tinggi dan menempati urutan ketiga di dunia (Tandigorang, 2015). Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang cukup besar untuk dikembangkan menjadi obat tradisional. Berbagai macam penemuan obat tradisional sudah diteliti kandungan senyawa metabolit serta khasiat yang terkandung didalam tanaman tersebut (Agustina et al., 2016). Skrining fitokimia merupakan pengujian tahap awal yang menganalisis kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman.

Pepaya merupakan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional. Bagian yang sering digunakan adalah daunnya karena mengandung enzim papain, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin yang bersifat antibakteri (Verma et al., 2017). Senyawa metabolit dalam daun pepaya memiliki zat aktif antibakteri yang telah diuji terhadap beberapa bakteri seperti, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Rai et al., 2009). Selain itu nanopartikel perak juga memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik terhadap organisme patogen seperti *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella paratyphi*, *Candida albicans*, *Shigella dysenteriae* dan memiliki sifat antiproliferatif (Nilavukkarasi et al., 2020).

Dengan adanya potensi dari daun pepaya dalam menghambat bakteri maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas ekstrak nanopartikel perak daun pepaya dalam menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Samonella typhi*.

METODE

Penelitian ini bersifat true experiment dengan design *Post-test only control group*. Metode penelitian dilakukan secara in vitro dengan menggunakan metode difusi untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun pepaya kombinasi nanopartikel perak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*.

Uji daya hambat menggunakan metode difusi agar yaitu kirby bauer. Dalam penelitian ini menggunakan bahan daun pepaya segar berwarna hijau yang masih utuh.

Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya

Daun pepaya sebanyak 5 kg yang sudah dicuci dan dikeringkan dibuat menjadi serbuk, kemudian di maserasi dengan etanol 96% selama 3 x 24 jam hingga diperoleh filtrat yang jernih. Filtrat yang sudah jernih di evaporasi hingga diperoleh ekstrak kental untuk dilakukan skrining fitokimia.

Skrining Fitokimia Kualitatif

a. Uji Alkaloid

Ekstrak daun pepaya dipakai sebanyak 1 mg. Hasil uji alkaloid yang positif menunjukkan adanya endapan jingga pada pengujian Dragendorff, warna putih pada uji Mayer, dan warna coklat pada uji Wagner.

b. Uji Saponin

Ekstrak daun pepaya 1 mg dicampur 2 mL akuades lalu dipanaskan. Setelah itu diamati. Hasil positif ditandai terbentuknya busa yang stabil selama kurang lebih 15 menit.

c. Uji Flavonoid (*Uji Shinoda's*)

Ekstrak daun pepaya 1 mg di larutkan kedalam etanol 5 mL dan 2 gr bubuk magnesium. Selanjutnya ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna oranye, merah muda atau merah.

d. Uji tanin

Ekstrak daun pepaya 1 mg dilarutkan kedalam air sebanyak 50 mL setelah itu dididihkan. Filtrat diambil sebanyak 5 mL dan dipindahkan pada tabung reaksi, kemudian disaring dan di teteskan FeCl_3 . Hasil positif ditandai dengan perubahan warna biru tua dan hijau-hitam.

e. Uji steroid dan Triterpenoid (*Uji Liebermann-Burchard*)

Ekstrak daun pepaya 1 mg dilarutkan kedalam metanol. Setelah itu pindahkan 5 tetes larutan yang sudah homogen ke dalam tabung reaksi, dan teteskan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Perubahan warna jingga menunjukkan positif triterpenoid. Jika warna biru menandakan adanya steroid.

Skrining Fitokimia Kuantitatif

Ekstrak daun pepaya dalam bentuk kental kemudian dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui kadar total senyawa flavonoid dan tanin.

Pembuatan Kosentrasi Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Pepaya

Konsentrasi 100 ppm dibuat dengan menimbang ekstrak daun pepaya 5 gr kemudian dicampurkan kedalam larutan AgNO_3 sebanyak 12,5 mL dan aquadest 3,75 mL menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit. Selanjutnya konsentrasi

150 ppm dibuat dengan menimbang ekstrak daun pepaya 7,5 gr dicampurkan kedalam AgNO_3 sebanyak 18,7 mL dan aquadest 31,3 mL. Kosentrasi 200 ppm dibuat dengan menimbang ekstrak daun pepaya 10 gr di campurkan kedalam larutan AgNO_3 25 mL dan aquadest 25 mL. Sedangkan kosentrasi 250 ppm dibuat dengan menimbang 12,5 gr ekstrak daun pepaya dan dicampurkan kedalam larutan AgNO_3 31,2 mL dan aquadest 18,8 mL. Selanjutnya karakterisasi PSA (*Particle Size Analyzer*) menggunakan UV-Vis untuk mengetahui ukuran partikel.

Karakterisasi PSA (*Particle Size Analyzer*)

Sampel nanopartikel perak diambil dengan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung setinggi 15 mm, kemudian diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui ukuran partikel.

Peremajaan Bakteri

Alat disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121^0 C selama 15 menit sedangkan alat dari bahan plastik disterilkan menggunakan alkohol 96%. Timbang media agar *Mac conkey* 2,47 gr dicampurkan dengan aquadest 50 mL. Media dituangkan pada petri dish, setelah mengeras biakan murni *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* di goreskan secara zig-zag.

Pembuatan *Mac Farland*

Biakan murni *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* diambil sebanyak 1-2 ose disuspensikan kedalam tabung berisi larutan NaCl 0,9 % fisiologis dan di vortex sampai kosentrasi 0,5 % *Mac Farland*.

Uji Antibakteri

Prosedur uji daya hambat dengan teknik difusi metode kibry bauer dengan cara mengoleskan bakteri pada media Muller Hinton Agar sampai permukaan agar tertutup, lalu diletakkan paper disk yang telah direndam pada larutan ekstrak nanopartikel perak daun pepaya dengan kosentrasi yaitu, 100, 150, 200, 250 ppm. Lalu diinkubasi pada suhu 37^0 C selama 24 jam dalam inkubator. Zona hambat yang terbentuk ditandai munculnya warna bening disekitaran disk. Zona hambat diukur menggunakan klasifikasi kekuatan daya hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Zona Hambat

Diameter Zona Hambat (mm)	Kekuatan Daya Hambat
<5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
>21 mm	Sangat Kuat

HASIL

Hasil analisis fitokimia kualitatif

Analisis ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan metabolit yang terdapat di dalam ekstrak daun pepaya yang menggunakan tes warna dengan beberapa pereaksi. Hasil analisis fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya mengandung senyawa flavonoid, tanin dan steroid yang disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Fitokimia Kualitatif Daun Pepaya

Golongan Senyawa	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	-	Merah, tidak ada endapan
Flavonoid	+	Oranye
Saponin	-	Oranye kekuningan
Tanin	+	Hijau kehitaman
Steroid	+	Biru kehitaman
Terpenoid	-	Hijau

Hasil analisis fitokimia kuantitatif

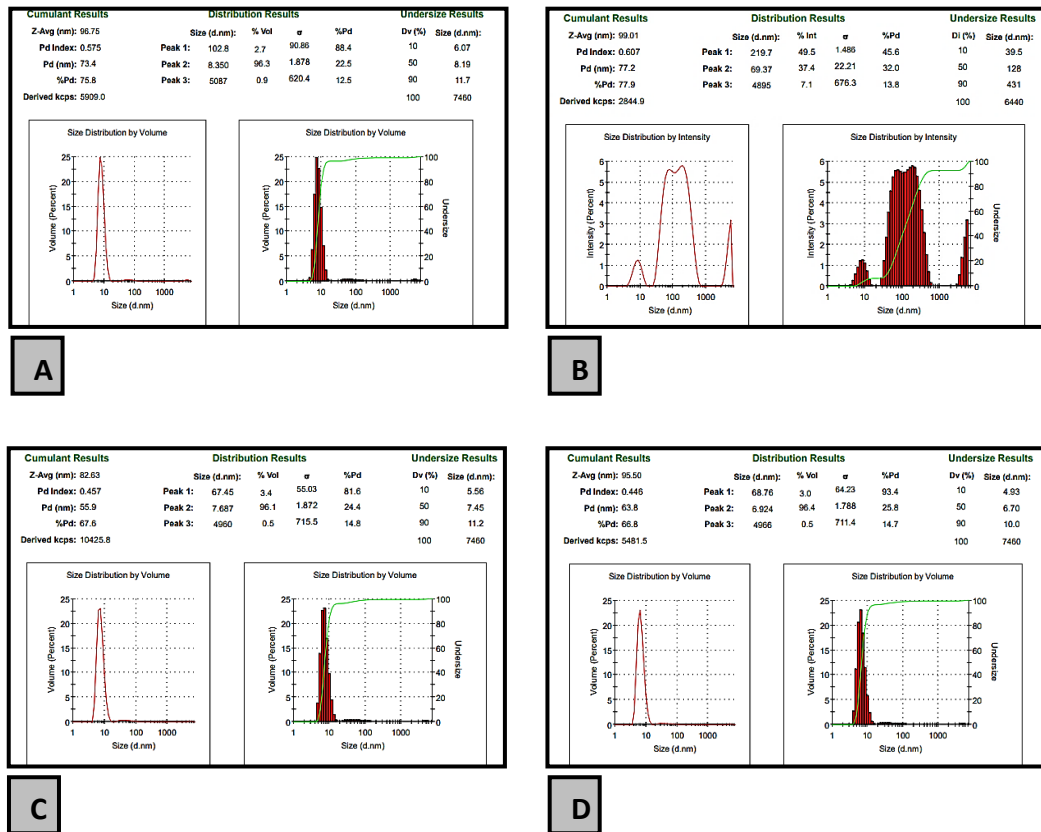
Analisis kuantitatif berguna untuk mengetahui kadar total dari masing-masing senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun pepaya dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar total tertinggi pada ekstrak daun pepaya yaitu flavonoid. Dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Kuantitatif (Kadar Total)

	Flavonoid Mg QE/g ekstrak	Tanin Mg GAE/g ekstrak
Ekstrak Daun Pepaya	791,209	11,138

Hasil uji karakterisasi nanopartikel perak (PSA)

Hasil pengujian PSA menghasilkan ukuran nanopartikel perak ekstrak daun pepaya pada konsentrasi 100 ppm dengan ukuran partikel 99,01 nm, konsentrasi 150 ppm diperoleh ukuran 96,75 nm, konsentrasi 200 ppm sebesar 82,63 nm dan konsentrasi 250 ppm sebesar 95,50 nm. Terbentuknya nanopartikel perak jika ukuran nano berkisar 1-100 nm (Wahyudi *et al.*, 2011). Berdasarkan pernyataan tersebut ukuran partikel ini telah memenuhi syarat. Ukuran nanopartikel perak ekstrak daun pepaya pada beberapa variasi konsentrasi dengan PSA dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. A. 100 ppm; B. 150 ppm; C. 200 ppm; D. 250 ppm

Hasil Uji Antibakteri

Nilai diameter yang diperoleh akan dikategorikan menurut klasifikasi dari David and Stout. Nilai diameter daya hambat disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Diameter Daya Hambat Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Pepaya terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*

Kontrol Positif	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>Salmonella typhi</i>	
	Mean \pm SE	Kategori	Mean \pm SE	Kategori
Amoxilin	14,7 \pm 0,47	Kuat	16,2 \pm 0,14	Kuat
Tetrasiklin	20,6 \pm 0,20	Kuat	22,8 \pm 0,60	Sangat Kuat
Kloramfenicol	20,7 \pm 0,37	Kuat	25,5 \pm 1,32	Sangat Kuat
Nanopartikel ekstrak daun pepaya	Mean \pm SE	Kategori	Mean \pm SE	Kategori
100 ppm	10,8 \pm 0,44	Sedang	11 \pm 0,28	Kuat
150 ppm	12,5 \pm 0,23	Kuat	12,8 \pm 0,83	Kuat
200 ppm	12,5 \pm 0,74	Kuat	12,1 \pm 0,66	Kuat
250 ppm	13,2 \pm 0,43	Kuat	12,9 \pm 0,66	Kuat

Sumber: Data primer, 2022

Keterangan:

Mean : Nilai Rata-rata

SE : Standar Error

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan nilai rata-rata dan standar deviasi zona hambat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* dengan perlakuan tiga kali pengulangan. Antibakteri dikatakan toksik membunuh jika memiliki zona bening yang besar di sekitaran paper disk sehingga perlu dikategorikan menggunakan klasifikasi. Hasil diameter rata-rata zona hambat keempat kosentrasi pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* masuk dalam kategori sedang (5-10 mm)- kuat (11-20 mm) sedangkan pada kontrol positif menunjukkan zona hambat kuat (11-20 mm) – sangat kuat (>21 mm).

PEMBAHASAN

Dalam pengujian fitokimia kualitatif diketahui bahwa ekstrak daun pepaya mengandung senyawa flavonoid, tanin dan steroid (Tabel 2). Menurut Francis (2016), senyawa kimia yang ditemukan pada daun pepaya meliputi alkaloid, fenol, saponin, flavonoid, tanin (Francis and Jose, 2016). Begitu juga dengan dengan hasil kuantitatif daun pepaya pada penelitian ini diperoleh senyawa flavonoid sebesar 791,209% dan tanin 11,138% (Tabel 3), lebih banyak dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang hanya memperoleh kadar flavonoid dan tanin sebesar 11.34% (Fadlilah dan Cahyati, 2017);(Reza *et al.*, 2022).

Perbedaan tersebut dikarenakan oleh faktor-faktor yang berasal dari lingkungan seperti iklim, cahaya, matahari, suhu udara dan ketersediaan air di dalam tanah (Nitisapto, 2005). Menurut penelitian oleh Maria (2016), senyawa daun pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Tuntun, 2016).

Adapun cara kerja senyawa metabolit dalam menghambat bakteri yaitu flavonoid dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Taufiq *et al.*, 2015). Tanin, dapat menginaktivasi enzim dan transport protein (Cowan, 1999) Sedangkan kerja steroid yaitu merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran (Madduluri *et al.*, 2013);(Ahmed, 2007).

KESIMPULAN

Simpulan dari hasil penelitian ini yaitu ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) mengandung senyawa metabolit seperti flavonoid, steroid dan tanin. Serta memiliki kandungan total kadar flavonoid 791,209%, dan tanin 11,138%, yang lebih besar kadarnya daripada penelitian terdahulu. Perbedaan dalam hasil senyawa metabolit dan kadar yang diperoleh diakibatkan oleh faktor lingkungan.

Diameter zona hambat menunjukkan bahwa masing-masing kosentrasi 100, 150, 200, 250 ppm memiliki diameter zona hambat yang tergolong kuat, tetapi lebih efektif membunuh bakteri *Staphylococcus epidermidis* daripada *Salmonella typhi*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Ruslan and Wiraningtyas, A. (2016) Skringing Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima, *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 4(1), pp. 71–76.
- Ahmed, B. (2007) *Chemistry of Natural Produvts*. Edited by Jamia Hamdard. New Delhi: Departemen of Pharmaceutical Chemistry of Science.
- Fadlilah, A. L. N. and Widya Hary Cahyati, R. W. (2017) Uji daya proteksi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) dalam sediaan lotion denga basis PEG 400 sebagai repellent terhadap *Aedes aegypti*, *Jurnal Care*, 5(3), pp. 393–402.
- Francis, E. and Jose, V. (2016) The Antibacterial Effect of Carica papaya L. Extracts and Their Synergistic Effect with Antibiotic and Non-antibiotic Drugs, *British Microbiology Research Journal*, 16(4), pp. 1–11. doi: 10.9734/bmrj/2016/28042.
- Madduluri, S., Babu Rao, K. and Sitaram, B. (2013) In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(SUPPL.4), pp. 679–684.
- Marjorie Murphy Cowan (1999) Plant Products As Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Review*, 12(4), pp. 564–582. doi: 10.3390/curroncol14040004.
- Martien, R. et al. (2012) Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Pengahantaran Obat, *Majalah Farmaseutik*, 8(1), pp. 133–144.
- Nilavukkarasi, M., Vijayakumar, S. and Prathip Kumar, S. (2020) Biological synthesis and characterization of silver nanoparticles with *Capparis zeylanica L*. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, pp. 371–376. doi: 10.1016/j.mset.2020.02.008.
- Nitisapto M, S. A. S. (2005) Evaluasi Kesesuaian Lahan Untuk Pengembangan Jahe pada Beberapa Daerah di Jawa Tengah dan Jawa Timur, *Jurnal ilmu tanah dan lingkungan*, 5(2), pp. 15–19.
- Rahmatika, D. and Oktaria, S. (2021) The Differences In The Antibacterial Power Test Of Ginger (*Officinale Var . Rubrum*) And Onion (*Allium Sativum*) On The Growth Of Bacteri, *Jurnal Kedokteran Ibnu Nafis*, 10(1), pp. 1–8. Available at: <https://ojsfkuisu.com/index.php/ibnunafis> Jurnal.
- Rahmawati, F. and Bintari, S. H. (2014) Studi Aktivitas Antibakteri Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus*

- Dan *Salmonella enteritidis*, *Life Science*, 3(2), pp. 103–111.
- Rai, M., Yadav, A. and Gade, A. (2009) Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnology Advances*, 27(1), pp. 76–83. doi: 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002.
- Reza Alzanado, Mashuri Yusuf, T. (2022) Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Daun Bunga Pepaya (*Carica Papaya L.*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis, *Farmasi Malahayari*, 5(1), pp. 108–120. Available at: <http://librepo.stikesnas.ac.id/40/>.
- Tandigorang N (2015) ‘Demam tifoid’, (Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada).
- Taufiq, S., Yuniarni, U. and Hazar, S. (2015) ‘Uji Aktivitas Ekstrak Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*’, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 110(9), pp. 1689–1699.
- Tuntun, M. (2016) ‘Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Kesehatan*, 7(3), p. 497. doi: 10.26630/jk.v7i3.235.
- Verma, S., Kumar, R. V. and Singh, S. (2017) Medicinal and Pharmacological parts of carica papaya: a review, *Indian Journal of Drugs*, 5(3), pp. 88–93.
- Wahyudi, T., Sugiyana, D. and Helmy, Q. (2011) ‘Sintesis Nanopartikel Perak Dan Uji Aktivitasnya’, *Balai Besar Tekstil*, 26(1), pp. 55–60.
- Zulkoni, A. (2011) *Parasitologi*. Yogyakarta: Nuha Medika.