

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

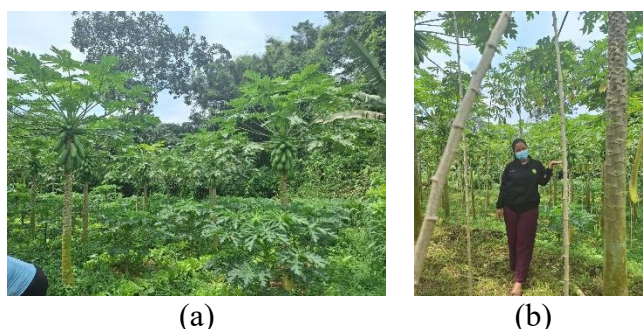
1. Kondisi lokasi pengambilan sampel biji buah pepaya (*Carica papaya L.*)

Biji buah pepaya dalam penelitian ini diambil dari kebun buah pepaya di Desa Babahan, Penebel, Tabanan. Desa Babahan merupakan desa yang terletak pada ketinggian 550 meter diatas permukaan laut. Sebagai desa yang berada diwilayah dataran tinggi atau pegunungan menyebabkan banyak penduduk desa yang bekerja pada sektor pertanian. Kondisi areal pertanian di Desa Babahan yang dilalui oleh saluran irigasi primer sepanjang 900 meter, saluran sekunder 1.600 meter dan saluran tersier 3000 meter mendukung berkembangnya sektor pertanian di Desa Babahan. Tanah yang terdapat di areal Desa Babahan merupakan tanah yang cukup subur dengan ciri-ciri tanah memiliki warna coklat kekuning-kuningan, daya resap air cukup baik dan lapisan tanah cukup tebal.

Salah satu tanaman yang di budidayakan di Desa Babahan adalah buah pepaya. Kondisi kebun pepaya yang ada di Desa Babahan terletak di lahan terbuka yang terkena akses sinar matahari secara langsung, disamping itu kebun buah pepaya memiliki sistem drainase yang baik. Hal ini mendukung pohon pepaya dapat tumbuh dengan subur dan menghasilkan buah dengan kualitas yang baik.

Kondisi tempat pohon pepaya tumbuh dapat mempengaruhi kualitas biji buah pepaya terutama dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder biji buah pepaya. Menurut Ap *et al* (2022) menyatakan bahwa kandungan metabolit sekunder sebuah tanaman dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang dapat mempengaruhinya adalah faktor genetik. Sementara pada faktor

eksternal yang dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder adalah intensitas cahaya matahari, suhu lingkungan, kelembaban, pH tanah, kandungan unsur hara dalam tanah dan ketinggian tempat. Dalam hal ini faktor ketinggian tempat adalah salah satu faktor yang paling berpengaruh terhadap proses pertumbuhan tanaman. Hal ini secara otomatis akan mempengaruhi proses metabolisme dalam tanaman dan dapat mempengaruhi senyawa yang dihasilkan dari proses metabolisme tersebut. Ketinggian tempat juga akan berpengaruh pada suhu lingkungan yang berdampak pada proses biokimia pada tumbuhan. Oleh karena itu kebun yang berada di wilayah dataran tinggi umumnya akan memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih sedikit dibanding tanaman yang ditanam pada wilayah dataran rendah.



(a) (b)
Gambar 6. (a),(b) Kebun Buah Pepaya Di Desa Babahan, Penebel, Tabanan

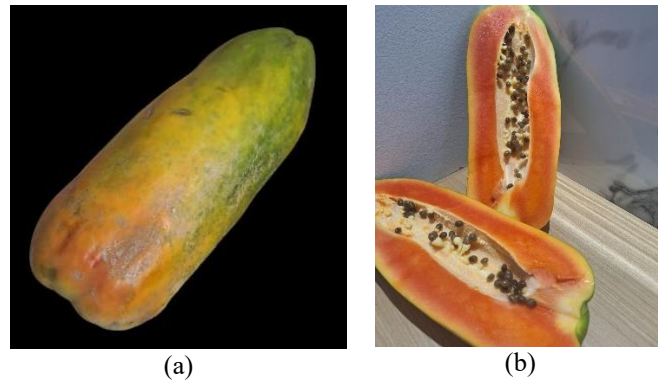
2. Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder

Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu :

a. Pengumpulan sampel

Objek yang digunakan pada penelitian ini adalah biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) *California* yang sudah masak, berwarna coklat-kehitaman, berbentuk

bulat-oval, tidak berjamur dan sampel diambil dari kebun buah pepaya di Desa Babahan, Penebel, Tabanan.



Gambar 7. (a) Buah Pepaya *California* Masak ; (b) Bagian Dalam Buah Pepaya *California* masak

b. Pengolahan simplisia

Pembuatan simplisia biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) menggunakan biji buah pepaya yang telah dipisahkan dari daging buah dan selaput lendir yang melapisi biji. Biji pepaya yang telah bersih memiliki berat basah yaitu tiga kilogram. Biji buah pepaya selanjutnya dikeringkan pada suhu 40°C selama tiga hari. Berat kering simplisia yang diperoleh setelah proses pengeringan menyusut menjadi 400 gram. Standarisasi simplisia dilakukan dengan perhitungan kadar air dan diperoleh hasil kadar air simplisia sebesar 6,443% ($\leq 10\%$).



Gambar 8. Biji buah pepaya kering

c. Pembuatan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*)

Pembuatan ekstrak biji buah pepaya dilakukan dengan metode maserasi menggunakan tiga jenis pelarut diantaranya etanol 96%, etil asetat dan n-heksana. Simplisia yang digunakan dalam proses ekstraksi masing-masing pelarut sebanyak 120 gram dengan jumlah pelarut yaitu 600 ml dan dilakukan remaserasi sebanyak tiga kali. Jumlah ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut yaitu ekstrak etanol 96% sebanyak 45 gram, ekstrak etil asetat sebanyak 40 gram dan ekstrak n-heksana sebanyak 35 gram. Hasil pengukuran nilai rendemen pada ekstrak etanol 96% diperoleh sebesar 37,5%, ekstrak etil asetat sebesar 33% dan ekstrak n-heksana sebesar 29%.

d. Uji fitokimia

Dalam uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) diperoleh hasil sesuai pada tabel 3.

Tabel 3
Hasil Uji Fitokimia Ekstrak

Jenis Uji	Hasil Uji Fitokimia					
	Ekstrak Etanol 96%	Keterangan	Ekstrak Etil asetat	keterangan	Ekstrak N-Heksana	Keterangan
Uji Alkaloid	+++	warna jingga pekat	++	warna jingga	-	Tidak berwarna
Uji Flavonoid	+	Warna kuning	-	Warna coklat muda	-	Warna kehijauan
Uji Tanin	++	Warna hijau	++	Warna hijau	-	Warna putih keruh
Uji Terpenoid	-	Warna putih kekuningan	-	Warna putih keruh	++	Warna jingga
Uji Saponin	-	Tidak terbentuk busa stabil	-	Tidak terbentuk busa stabil	-	Tidak terbentuk busa stabil

Keterangan : (+) positif, (-) Negatif

Berdasarkan tabel 3 dinyatakan bahwa ekstrak etanol 96% biji buah pepaya mengandung senyawa alkaloid , flavonoid dan tanin. Ekstrak etil asetat biji buah pepaya mengandung alkaloid dan tanin. Sementara ekstrak n-heksana biji buah pepaya ditemukan hanya mengandung senyawa terpenoid.

3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) dengan pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-heksana

Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ekstrak biji buah pepaya dengan perbedaan jenis pelarut ekstrak yaitu etanol 96%, etil asetat dan n-heksana yang masing-masing dengan konsentrasi 20% dan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali, dilakukan dengan mengukur diameter luas zona hambat yang timbul disekitar cakram disk. Dari hasil pengukuran diperoleh rerata luas zona hambat ekstrak etanol 96% sebesar 18,09 mm, rerata luas zona hambat ekstrak etil asetat sebesar 7,93 mm dan rerata luas zona hambat ekstrak n-heksana sebesar 0,00 mm.

Hasil luas zona hambat masing-masing ekstrak biji buah pepaya dinyatakan dalam tabel 4.

Tabel 4
Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Jenis Sampel Ekstrak Biji Buah Pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	Zona Hambat (mm)				Rata - Rata	Kategori
	Pengulangan					
	1	2	3	4		
Kontrol Positif	20,74	19,81	20,42	19,55	20,13	Sangat kuat
Kontrol Negatif Etanol 96%	0	0	0	0	0	Tidak terbentuk zona hambat
Kontrol Negatif Etil Asetat	0	0	0	0	0	Tidak terbentuk zona hambat
Kontrol Negatif N- Heksana	0	0	0	0	0	Tidak terbentuk zona hambat
Ekstrak Etanol 96%	18,54	19,21	17,33	17,28	18,09	Kuat
Ekstrak Etil Asetat	7,38	7,55	8,34	8,45	7,93	Sedang
Ekstrak N-Heksana	1,12	0,23	0,10	0	0,36	Lemah

4. Hasil analisis data

a. Uji normalitas

Uji normalitas data pada penelitian ini dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan diperoleh hasil sesuai dengan tabel 5.

Tabel 5
Uji Normalitas Data

Variabel	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Statistic	df	Sig.
Kontrol positif	0,944	4	0,681
Ekstrak etanol 96	0,867	4	0,288
Ekstrak etil asetat	0,849	4	0,221
Ekstrak n-heksana	0,791	4	0,087

Berdasarkan tabel 5 diperoleh hasil uji normalitas dengan nilai probabilitas kontrol positif (p) = 0,686, ekstrak etanol 96% (p) = 0,288, ekstrak etil asetat (p) = 0,221 dan ekstrak n-heksana (p) = 0,087. Jika dibandingkan dengan nilai $\text{sig} = (0,05)$, maka $p > \alpha$ yang menunjukkan data berdistribusi normal.

b. Uji homogenitas

Tabel 6
Uji Homogenitas Data

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.	Keterangan
2,859	3	12	0,081	Homogen

Berdasarkan tabel 6 uji homogenitas *Levene Statistic* dan diperoleh nilai probabilitas (p) = 0,081. Hasil uji homogenitas menunjukan nilai (p) $> \alpha$ ($0,081 > 0,05$), maka data dinyatakan varian data antar kelompok homogen.

c. Uji *One Way Anova*

Tabel 7
Hasil Uji *One Way Anova*

Variabel	Sig.
Diameter Luas Zona Hambat Anti Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana biji buah pepaya	0,000

Berdasarkan tabel 7 diperoleh nilai probabilitas (p) = 0,000 ($< \alpha = 0,05$) yang berarti ada perbedaan signifikan zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing ekstrak biji buah pepaya dengan perbedaan pelarut secara simultan.

d. Uji *Post Hoc* Tukey

Tabel 8
Hasil Uji *Post Hoc* Tukey

Perlakuan (I)	Perlakuan (J)	<i>p</i>	Keterangan
Kontrol Positif	Esktrak etanol 96%	0,004*	$p < \alpha$ (0,05)
	Ekstrak etil asetat	0,000*	
	Esktrak n-heksana	0,000*	
Ekstrak Etanol 96%	Ekstrak etil asetat	0,000*	$p < \alpha$ (0,05)
	Esktrak n-heksana	0,000*	
Esktrak Etil Asetat	Esktrak n-heksana	0,000*	$p < \alpha$ (0,05)

Berdasarkan tabel 8 pada uji *Tukey* diperoleh hasil kontrol positif kloramfenikol dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% memperoleh nilai $p = 0,004$, kontrol positif dengan ekstrak etil asetat $p = 0,000$ dan kontrol positif dengan ekstrak n-heksana didapatkan hasil $p = 0,000$. Hasil menunjukkan nilai $p < \alpha$ (0,05) yang artinya ada perbedaan yang bermakna pada luas zona hambat antibakteri *Staphylococcus aureus* antara kontrol positif dengan ekstrak etanol 96%, kontrol positif dengan ekstrak etil asetat dan kontrol positif dengan ekstrak n-heksana.

Ekstrak etanol 96% biji buah pepaya dibandingkan dengan ekstrak etil asetat diperoleh nilai $p = 0,000$ dan ekstrak etanol 96% dengan ekstrak n-heksana didapatkan hasil $p = 0,000$. Kedua hasil menunjukkan nilai $p < \alpha$ (0,05) yang artinya ada perbedaan yang bermakna pada luas zona hambat antibakteri *Staphylococcus aureus* antara ekstrak etanol 96% dengan ekstrak etil asetat dan antara ekstrak etanol 96% dan ekstrak n-heksana.

Ekstrak etil asetat biji buah pepaya dibandingkan dengan ekstrak n-heksana didapatkan hasil $p = 0,000$ ($< \alpha$ (0,05)) yang artinya ada perbedaan yang bermakna pada luas zona hambat antibakteri *Staphylococcus aureus* antara ekstrak etil asetat dengan ekstrak n-heksana.

B. Pembahasan

1. Identifikasi kandungan metabolit sekunder ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*)

a. Ekstraksi biji buah pepaya (*Carica papaya L.*)

Dalam penelitian ini digunakan biji buah pepaya tua yang berasal dari buah pepaya *California* masak, memiliki warna coklat-kehitaman, berbentuk bulat-oval dan tidak berjamur. Biji pepaya diambil dari kebun buah pepaya di Desa Babahan, Penebel, Tabanan dan dipilih hanya buah pepaya yang telah masak dan tidak membusuk. Pembuatan ekstrak biji buah pepaya diawali dengan pembuatan simplisia. Proses pembuatan simplisia terdiri dari beberapa tahap yang diawali dengan melakukan sortasi basah. Setelah melakukan sortasi basah didapatkan sampel biji buah pepaya tua yang berwarna coklat-kehitaman dan tidak berjamur.

Biji pepaya selanjutnya dicuci dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C dan untuk mencapai biji pepaya yang kering dengan baik diperlukan waktu pengeringan selama tiga hari. Dalam proses pengeringan perlu diperhatikan suhu pengeringan yang digunakan, sebab suhu pengeringan akan berpengaruh terhadap kadar air dan kandungan senyawa metabolit sekunder pada biji pepaya. Pengeringan dengan suhu 40°C adalah yang direkomendasikan untuk memperoleh serbuk simplisia dengan aktivitas kandungan senyawa metabolit sekunder terbaik (Warnis, Aprilina dan Maryanti, 2020). Dalam pembuatan simplisia biji pepaya diperoleh berat basah biji pepaya sebesar tiga kilogram, setelah dikeringkan dan dihaluskan berat biji pepaya mengalami penyusutan menjadi 400 gram.

Simplisia yang telah dihaluskan dilakukan penetapan tingkat kadar air. Uji kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat pada simplisia,

dimana kelebihan kadar air dapat menyebabkan simplisia menjadi lembab dan rawan terkontaminasi mikroba yang dapat merusak kualitas simplisia. Metode yang digunakan pada tahap pengujian kadar air adalah metode temogravimetri, yaitu dengan memanaskan simplisia pada suhu 105°C selama 4 jam, kemudian didinginkan pada desikator dan ditimbang pada neraca analitik. Persentase kadar air simplisia biji buah pepaya diperoleh sebesar 6,443% dimana batas maksimum kadar air adalah maksimal 10% ($\leq 10\%$) (BPOM RI, 2019).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan tiga jenis pelarut yaitu etanol 96%, etil asetat dan n-heksana. Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi didasarkan pada prinsip "*like dissolve like*" dimana senyawa akan larut dalam pelarut yang memiliki tingkat polaritas yang sama, dalam hal ini etanol 96% memiliki sifat polar, etil asetat memiliki sifat semi polar dan n-heksana bersifat non-polar. Etanol 96% merupakan pelarut yang paling sering digunakan dalam proses ekstraksi, sebab etanol 96% memiliki tingkat polaritas tinggi dengan nilai momen dipol 1,8D, sehingga senyawa aktif yang dapat diekstraksi akan lebih banyak. Umumnya etanol 96% dapat menarik senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, steroid dan flavonoid. Etil asetat merupakan pelarut golongan semi polar, hal ini dapat memungkinkan etil asetat dapat mengekstrak atau menarik senyawa polar maupun non polar. Disamping itu etil asetat juga merupakan pelarut semi polar dengan nilai momen dipol 1,78D, dengan tingkat toksisitas yang rendah dan mudah diuapkan (volatil). Pelarut n-heksana merupakan senyawa non polar dengan momen dipol 0,08D dan cenderung dapat menarik senyawa aktif seperti senyawa kimia lipid, steroid, dan minyak yang volatile (Sumitriasih, Ridhay dan

Indriani, 2019). Perbandingan rasio antara sampel dengan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1:5, dimana semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin besar perbedaan konsentrasi antar senyawa pada sampel dengan pelarut, akan tetapi peningkatan lebih lanjut dapat menurunkan hasil ekstraksi (Widyastutik *et al.*, 2022).

Pada penelitian ini diperoleh ekstrak etanol 96% kental sebanyak 45 gram, ekstrak etil asetat kental sebanyak 40 gram dan ekstrak n-heksana kental sebanyak 35 gram. Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai rendemen ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana secara berturut-turut yaitu 37,5%, 33% dan 29%. Perhitungan nilai rendemen ekstrak bertujuan untuk mengetahui banyak ekstrak yang didapatkan dalam proses ekstraksi, nilai rendemen ekstrak juga berhubungan dengan jumlah senyawa aktif yang diekstrak, dimana semakin tinggi nilai rendemen maka semakin tinggi jumlah senyawa aktif yang mampu diekstrak (Hasnaeni, Wisdawati dan Usman, 2019).

b. Identifikasi senyawa fitokimia

Identifikasi senyawa fitokimia pada ekstrak biji buah pepaya bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat mendukung kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid pada masing-masing ekstrak biji buah pepaya.

Berdasarkan tabel 3 diketahui bahwa masing-masing ekstrak dengan pelarut berbeda memiliki jenis senyawa metabolit sekunder yang berbeda pula. Dimana ekstrak etanol 96% mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin, ekstrak etil asetat mengandung alkaloid dan tanin sementara pada ekstrak n-heksana hanya

ditemukan mengandung senyawa terpenoid. Perbedaan jenis kandungan senyawa metabolit sekunder dapat disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut ekstraksi. Etanol 96% sebagai senyawa paling polar maka dapat menarik lebih banyak senyawa aktif terutama yang memiliki sifat sama-sama polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dimana pelarut dapat mengikat senyawa polar maupun non-polar, dan n-heksana sebagai senyawa non polar akan mengikat hanya senyawa dengan tingkat polaritas non-polar saja.

Alkaloid adalah senyawa aktif yang banyak dijumpai pada bagian tumbuhan salah satunya adalah pada bagian biji buah. Alkaloid memiliki sifat polar dan memiliki kemampuan sebagai zat antibakteri dengan mempengaruhi komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat proses sintesis protein bakteri yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terganggu. Uji alkaloid dilakukan reagen *dragendorff*, dimana reagen akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan jingga (Habibah *et al.*, 2023). Hasil uji alkaloid ekstrak biji buah pepaya dengan pelarut etanol 96% dan etil asetat menunjukkan terbentuknya warna jingga, namun pada ekstrak n-heksana tidak ditemukan adanya endapan jingga. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat positif mengandung alkaloid sementara ekstrak n-heksana tidak mengandung alkaloid.

Flavonoid merupakan senyawa polar dari golongan fenol yang banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional karena memiliki kandungan salah satunya sebagai zat antibakteri alami. Penambahan NaOH 2% dan HCl dapat bereaksi dengan kandungan flavonoid pada ekstrak dan membentuk warna kuning atau jingga hingga merah sebagai ciri adanya flavonoid (Makalalag AK, Sangi M dan Kumaunang M., 2019). Dalam penelitian ini ditemukan hanya ekstrak etanol

96% biji buah pepaya yang bereaksi dengan NaOH 2% dan HCl sehingga terbentuk warna kuning. Pada ekstrak etil asetat dan n-heksana tidak ditemukan adanya perubahan warna menjadi kuning, jingga atau merah.

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman berkeping dua (dikotil) (Hersila *et al.*, 2023). Hasil penelitian uji tanin menunjukkan pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat terjadi perubahan warna menjadi hijau yang menunjukkan ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat mengandung senyawa tanin. Hal ini menunjukkan adanya reaksi antara larutan besi (III) klorida (FeCl_3) dengan salah satu gugus hidroksil milik senyawa tanin. Sementara pada ekstrak n-heksana tidak ditemukan adanya perubahan warna menjadi hijau (Habibah *et al.*, 2023).

Terpenoid merupakan senyawa non-polar yang memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Dalam penelitian ini uji terpenoid dilakukan dengan metode *Lebermann-Bucchard* yaitu dengan menambahkan kloroform dan asam sulfat pekat yang akan menyebabkan terjadinya reaksi antara reagen dan senyawa terpenoid pada ekstrak biji buah pepaya (Makalalag AK, Sangi M dan Kumaunang M., 2019). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh adanya perubahan warna menjadi jingga pada ekstrak n-heksana. Sementara pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat tidak ditemukan adanya perubahan warna. Hal ini kemungkinan penyebabnya adalah karena senyawa terpenoid memiliki tingkat polaritas yang sama dengan pelarut n-heksana yakni sama-sama non-polar.

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional. Uji saponin dilakukan dengan menambahkan distilled water dan dikocok hingga timbul busa. Hasil positif akan menunjukkan busa

yang stabil saat ditambahkan HCl 2N. Busa yang timbul menunjukkan adanya kandungan glikosida yang larut dalam air dan menimbulkan adanya buih/busa. Pada penelitian ini uji saponin ekstrak biji buah pepaya dengan pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-heksana seluruhnya memperoleh hasil negatif atau tidak mengandung senyawa saponin, dibuktikan dengan tidak adanya busa stabil saat ditambahkan HCl 2N (Habibah *et al.*, 2023).

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana sejalan dengan penelitian Sumitriasih, Ridhay dan Indriani (2019) tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% kulit batang kayu eboni terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dimana ekstrak n-heksan ditemukan hanya mengandung steroid, ekstrak etanol 96% mengandung flavonoid, alkaloid dan tanin, sementara ekstrak etil asetat mengandung alkaloid dan tanin.

2. Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*)

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode difusi cakram merupakan metode pengujian aktivitas antibakteri yang paling sederhana dan banyak digunakan sebab pengujian dapat dilakukan dalam satu kali percobaan, disamping itu biaya yang diperlukan juga lebih sedikit dibandingkan dengan metode lain (Haryati dkk, 2017).

a. Diameter zona hambat kontrol positif

Dalam penelitian ini digunakan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas akan tetapi memiliki sifat beracun (toksik). Kloramfenikol umumnya digunakan dalam pengobatan infeksi mata superfisial seperti infeksi bakteri. Kloramfenikol adalah

antibiotik yang termasuk dalam golongan antimikroba dengan menghambat sintesis proterin (Oong dan Tadi, 2023). Sehingga diharapkan pada kontrol positif tidak terjadi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* disekitar cakram disk.

Kloramfenikol yang digunakan dalam penelitian ini berberntuk kertas cakram yang telah mengandung antibiotik kloramfenikol. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif untuk memastikan kelayakan bakteri yang digunakan dalam pengujian, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening sebagai zona hambat disekitar kertas cakram dengan antibiotik kloramfenikol. Pada penelitian ini ditemukan antibiotik kloramfenikol mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata luas zona hambat adalah 20,13 mm yang tergolong kategori sangat kuat. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Aisy, Putri dan Yuliana (2022) yang menyatakan bahwa kloramfenikol sebagai kontrol positif mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rerata luas zona hambat adalah 15,17 mm yang tergolong kategori kuat.

b. Diameter zona hambat kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96%, etil asetat dan n-heksana. Penggunaan ketiga pelarut tersebut sebagai kontrol negatif bertujuan untuk mengetahui apakah penggunaan pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-heksana dalam kondisi tanpa dicampur dengan sampel dapat memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan pada setiap ekstrak etanol 96%, etil asetat dan n-heksana biji buah pepaya (*Carica papaya L.*). Sehingga diharapkan terdapat pertumbuhan bakteri disekitar cakram disk pada kontrol negatif.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diameter zona hambat yang pada masing-masing pelarut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 0 mm disetiap pengulangan yang dilakukan. Hasil penelitian sejalan dengan hasil penelitian Aisy, Putri dan Yuliana (2022) yang menyatakan bahwa etanol 96%, etil asetat dan n-heksana sebagai kontrol negatif tidak dapat membentuk zona hambat antibakteri dengan perolehan diameter zona hambat masing-masing pelarut yaitu 0 mm.

Tidak terbentuknya zona hambat pada kontrol negatif etanol 96%, etil asetat dan n-heksana menandakan tidak adanya kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri uji, sehingga etanol 96%, etil asetat dan n-heksana sebagai pelarut tidak mempengaruhi terbentuknya zona hambat antibakteri dari masing-masing perlakuan pada ekstrak biji buah pepaya. Kondisi ini diakibatkan oleh etanol 96%, etil asetat dan n-heksana memiliki sifat yang mudah menguap dan short acting.

c. Diameter zona hambat perlakuan

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak empat kali dengan konsentrasi masing-masing 20% didapatkan adanya perbedaan luas zona hambat pada masing-masing ekstrak etanol 96%, etil asetat dan n-heksana. Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 4 menunjukan rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol 96% adalah 18,09 mm tergolong kategori kuat, ekstrak etil asetat sebesar 7,93 mm yang tergolong kategori sedang dan pada ekstrak n-heksana diperoleh rata-rata luas zona hambat hanya sebesar 0,36 mm yang tergolong kategori lemah. Hasil tersebut membuktikan bahwa semakin

polar pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi maka akan semakin besar diameter zona hambat antibakteri yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Semakin besar diameter zona hambat antibakteri yang dihasilkan oleh suatu ekstrak maka ekstrak tersebut akan dianggap semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang menyatakan bahwa semakin tinggi tingkat polaritas sebuah pelarut yang digunakan pada tahap ekstraksi maka semakin besar zona hambat antibakteri yang dapat ditimbulkan.

Polaritas pelarut dapat mempengaruhi jenis senyawa aktif yang dikandung dalam sebuah ekstrak. Tingkat polaritas pelarut dapat menentukan jenis senyawa metabolit sekunder yang dapat diisolasi sesuai dengan konsep like dissolve like dimana senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non-polar akan larut dalam pelarut non-polar. Dalam penelitian ini etanol 96% memiliki tingkat polaritas yang paling tinggi dimana ekstrak etanol 96% ditemukan mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan tanin dimana senyawa ini memiliki sifat polaritas yang sama seperti etanol 96% sehingga dapat dengan mudah untuk diisolasi. Banyaknya kandungan senyawa aktif pada ekstrak etanol 96% biji buah pepaya menyebabkan ekstrak mampu memberikan luas zona hambat antibakteri paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Etil asetat sebagai senyawa semi polar dapat mengikat senyawa aktif baik yang bersifat polar maupun non-polar.

Dalam penelitian ini ditemukan ekstrak etil asetat biji buah pepaya mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid dan tanin. Kondisi ini

dapat memberikan kemampuan terhadap ekstrak etil asetat biji buah pepaya dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. N-heksana sebagai pelarut non-polar yang digunakan dalam penelitian ini ditemukan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, hal ini dikarenakan sifat non-polar n-heksana hanya dapat mengikat senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat sama-sama non-polar. Dalam penelitian ini berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan ekstrak n-heksana hanya mengandung senyawa metabolit sekunder terpenoid. Terpenoid merupakan metabolit sekunder dari golongan senyawa non-polar yang berfungsi sebagai antioksidan dan zat pencegahan terhadap kanker.

Pada penelitian ini hasil uji aktivitas antibakteri tertinggi diperoleh oleh ekstrak etanol 96% biji buah pepaya dengan rata-rata luas zona hambat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 18,09 mm. Selanjutnya disusul oleh ekstrak etil asetat dengan zona hambat sebesar 7,93 mm dan ekstrak n-heksana dengan zona hambat sebesar 0,36 mm. Ekstrak etanol 96% biji buah pepaya mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid dan tanin. Sementara pada ekstrak etil asetat biji buah pepaya terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid dan tanin. Pada ekstrak etanol biji buah pepaya hanya ditemukan mengandung terpenoid.

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan dibagian tumbuhan salah satunya adalah pada bagian biji. Alkaloid bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu komponen penyusun sel bakteri yang berakibat pada sel bakteri yang rentan terhadap kematian (Peter *et al.*, 2014). Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder dengan tingkat polaritas

polar, sehingga alkaloid mudah ditarik oleh senyawa yang bersifat polar atau semi polar.

Flavonoid merupakan senyawa dari golongan fenol yang terdapat dalam tumbuhan yang memiliki sifat sebagai senyawa yang mudah larut pada pelarut polar salah satunya seperti etanol 96% (Parwata, 2016). Flavonoid memiliki kandungan sebagai senyawa antibakteri, dimana flavonoid bekerja dengan memecah protein pada sel bakteri dan merusak membrane sel yang berakibat pada sel yang lisis sehingga terjadi kerusakan yang menyebabkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri (Rahmawatiani, Mayasari dan Narsa, 2020). Selain itu, keberadaan flavonoid juga dapat menghambat kerja dari enzim reduktase pada tahap transfer electron bakteri yang menyebabkan terganggunya pertumbuhan bakteri (Parwata, 2016). Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dengan sifat polaritas polar. Hal ini menyebabkan senyawa flavonoid dapat diekstraksi oleh pelarut polar dan semi polar, seperti etanol 96% sebagai pelarut polar dan etil asetat sebagai pelarut non polar.

Senyawa tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan menonaktifkan adhesin sel mikroba , menonaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan sel bakteri (Peter *et al.*, 2014). Senyawa tanin dapat mengganggu sintesa peptidoglikan yang menyebabkan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara sempurna dan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terganggu hingga menyebabkan kematian pada bakteri (Sumitriasih, Ridhay dan Indriani, 2019). Tanin memiliki tingkat polaritas polar sehingga sesuai dengan prinsip *like dissolve like* senyawa tanin akan

dengan mudah ditarik atau diisolasi oleh senyawa dengan tingkat polaritas yang sama yaitu polar atau semi polar.

Ekstrak n-heksana biji buah pepaya memiliki diameter zona hambat antibakteri yang paling lemah diantara ekstrak lainnya, dimana luas zona hambat hanya 0,36 mm dan tergolong kategori lemah. Hal ini dapat disebabkan oleh sedikitnya senyawa aktif yang dapat diisolasi oleh pelarut-nheksana saat proses ekstraksi. Dibuktikan dengan hasil uji fitokimia ekstrak n-heksana dimana hanya ditemukan kandungan senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid. Terpenoid adalah senyawa non polar yang larut dalam pelarut yang bersifat non polar seperti n-heksana. Terpenoid memiliki potensi sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan polimer dengan porin (protein yang terdapat pada membrane luar bakteri gram negatif) yang mengakibatkan adanya kerusakan pada porin. Kerusakan porin ini akan mengakibatkan sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Ode, Ramli dan Sahidin, 2019).

Ekstrak etanol 96% biji buah pepaya konsentrasi 20% memiliki rata-rata luas zona hambat sebesar 18,09 mm dengan kategori kuat, luas zona hambat pada penelitian ini lebih besar bila dibandingkan dengan penelitian Ahmad, Jangga dan Hasnaeni (2023) tentang pemanfaatan ekstrak biji pepaya sebagai antiacne dalam bentuk sediaan masker *peel-off*, dimana dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak biji pepaya pada konsentrasi 20% dengan rata-rata luas zona hambat sebesar 16,6 mm dan tergolong kategori kuat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dimana bakteri ini berasal dari golongan yang sama dengan *Staphylococcus aureus* yaitu dari gram positif.

Dalam penelitian ini ekstrak etil asetat memiliki rata-rata luas zona hambat masing-masing sebesar 7,93 mm. Dimana luas zona hambat ekstrak etil asetat biji buah pepaya digolongkan dalam kategori sedang. Dalam penelitian Fauzan, Lasmini dan Marietta (2017) tentang uji efektivitas daya hambat ekstrak etil asetat biji pepaya (*Carica papaya L.*) dengan kloramfenikol dan amoxicillin terhadap pertumbuhan *Salmonella sp.* Dan *Escherichia coli*, diperoleh hasil ekstrak etil asetat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* pada konsentrasi 75% dengan luas zona hambat 27,86 mm. Dimana ekstrak etil asetat biji pepaya dengan konsentrasi 75% memiliki efektivitas yang hampir setara dengan kloramfenikol (28,55 mm). Bila dibandingkan dengan ekstrak etil asetat biji buah pepaya konsentrasi 20% memiliki luas zona hambat yang lebih kecil dan lebih lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Dalam penelitian ini, ekstrak n-heksana biji buah pepaya menghasilkan rata-rata luas zona hambat paling kecil yaitu 0,36 mm. Kemampuan ekstrak n-heksana sebagai senyawa nonpolar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan oleh Lingga, Pato dan Rossi (2015) yang mengekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa Horan*) didapatkan hasil ekstrak n-heksana batang kecombrang mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100% dengan luas zona hambat 1,8 mm dengan kategori lemah.

Perbedaan zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti toksisitas bahan uji, sensitivitas mikroorganisme terhadap bahan uji, konsentrasi bahan uji, sensitivitas mikroorganisme terhadap zat uji dan kondisi lingkungan. Beberapa faktor teknis yang juga dapat menghambat aktivitas antibakteri, seperti

komponen media, konsentrasi zat antibakteri, ketebalan media, jarak antar kertas cakram, cara kerja yang aseptis dan steril, suhu dan jenis bakteri yang dihambat (Candrasari, Romas dan Astuti, 2011).

3. Analisis perbedaan luas zona hambat antibakteri ekstrak biji buah pepaya

Perbedaan zona hambat ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana dapat diketahui melalui uji statistik. Dalam hal ini uji statistik dilakukan melalui aplikasi software *Statistical Program for Socian Science* (SPSS). Untuk mengetahui apakah data hasil uji berdistribusi normal atau tidak dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk*, uji ini dipilih karena jumlah sampel kurang dari 50 sampel. Hasil uji normalitas didapatkan nilai probabilitas kontrol positif adalah $(p) = 0,686$, ekstrak etanol $p = 0,288$, ekstrak etil asetat dengan nilai $p = 0,221$ dan ekstrak n-heksana dengan nilai $p = 0,087$. Dimana hasil uji normalitas pada kontrol positif, ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana jika dibandingkan dengan nilai $\text{sig} = 0,05$, maka seluruhnya memiliki nilai $p > \text{sig}$ yang menunjukan bahwa data berdistribusi normal.

Untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada setiap perlakuan ekstrak biji buah pepaya dilakukan dengan uji *One Way Anova*, uji ini dipilih karena data yang diperoleh berdistribusi normal. Pada uji *One Way Anova* diperoleh hasil dengan nilai probabilitas $(p) = 0,000$. Apabila dibandingkan dengan nilai $\alpha = (0,05)$ maka nilai $p < \alpha$ ($0,000 < 0,05$) jadi hasil uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai perlakuan ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) secara simultan.

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada setiap perlakuan ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) dilakukan dengan uji *Post Hoc*, namun sebelumnya perlu dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui jenis uji yang akan digunakan. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai $p = 0,081$ ($p > \alpha (0,05)$) yang menunjukkan data homogen. Maka uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji *Tukey*. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan ada perbedaan yang bermakna terhadap luas zona hambat antibakteri *Staphylococcus aureus* ($p < 0,05$) pada kontrol positif dengan ekstrak etanol 96%, kontrol positif dengan ekstrak etil asetat, kontrol positif dengan ekstrak n-heksana, ekstrak etanol 96% dengan ekstrak etil asetat, ekstrak etanol 96% dengan n-heksana dan ekstrak etil asetat dengan ekstrak n-heksana.