

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik objek penelitian

Daun pepaya segar yang berwarna hijau dan tidak berlubang dikumpulkan dari Desa Tegalwangi, Kabupaten Klungkung. Daun yang dipilih berasal dari tangkai ketiga hingga kelima dari pucuk tanaman. Sebanyak 5 kg daun tersebut kemudian dikeringkan dengan dianginkan agar kadar airnya bisa berkurang. Setelah proses pengeringan, daun dihancurkan menjadi serbuk simplisia, menghasilkan sekitar 393 gram serbuk kering. Untuk memperoleh ekstrak pekat, sebanyak 300 gram serbuk simplisia direndam dalam etanol 96% dengan pelarut berbanding 1:7. Proses maserasi ini selama 3 hari dalam temperatur ruang, dengan pengadukan beberapa kali agar memastikan homogenitas. Setelah periode perendaman, campuran disaring untuk memisahkan cairan dari ampasnya. Filtrat yang dihasilkan selanjutnya diuap dengan bantuan alat rotary evaporator dengan suhu 40°C sampai menghasilkan ekstrak pekat seberat 56,68 gram.

Selanjutnya dilakukan perhitungan rendemen dan uji organoleptis pada tabel sebagai berikut :

Tabel 3
Karakteristik Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* Linn)

Ekstrak	Berat Simplisia	Berat Ekstrak Kental	Hasil rendemen	Warna	Bau	Rasa
Ekstrak daun pepaya	300 gram	56,68 gram	18,89%	Hijau kehitaman	Bau khas aromatis	Pahit

Ekstrak daun pepaya merupakan bahan yang akan diujikan pada bakteri *Shigella dysentriae*. Ekstrak daun pepaya diujikan dalam berbagai konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80% yang diencerkan menggunakan pelarut etanol 96%. Konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% dipilih untuk mencakup rentang yang luas dan memungkinkan peneliti untuk mengevaluasi efek dengan baik.



Gambar 5. Serbuk Daun Pepaya dan Ekstrak Daun Pepaya

2. Skrining fitokimia

Penelitian ini mencakup pengujian awal kandungan fitokimia untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder. Berdasarkan hasil uji tersebut, ekstrak daun pepaya menunjukkan keberadaan keempat senyawa tersebut. Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak memiliki potensi bioaktif dari kelompok metabolit sekunder. Rincian uji fitokimia bisa dicermati dalam Tabel 4.

Tabel 4
Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendrof	Positif (+)
	Mayer	Positif (+)
	Wagner	Positif (+)
Flavonoid	HCl pekat dan Mg	Negatif (-)
Tannin	FeCl ₃	Positif (+)
Saponin	Air panas dan HCl 2N	Positif (+)
Triterpenoid	Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄	Negatif (-)

3. Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

Hasil pengukuran diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5
Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri
Shigella dysenteriae

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				rerata±SD (mm)	Kategori
	I	II	III	IV		
20%	5,8	5,9	6,0	5,8	5,88±0,10	Lemah
40%	6,2	6,3	6,2	6,4	6,28±0,10	Sedang
60%	6,6	6,7	6,8	6,6	6,68±0,10	Sedang
80%	6,9	7,0	7,1	7,0	7,00±0,08	Sedang
Kontrol positif	12,25	15,75	12,75	11,75	13,13±1,80	Kuat
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	Lemah

4. Hasil analisis data

Diameter zona hambat selanjutnya dianalisis melalui pengaplikasian software statistik. Tahapan awal analisis meliputi pengujian normalitas data dengan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil pengujian normalitas tersebut yakni:

Tabel 6
Hasil Uji *Saphiro Wilk*

Konsentrasi Ekstrak Daun Pepaya	Sig.
20%	.200
40%	.146
60%	.200
80%	.198

Berdasarkan hasil pengujian yang tercantum tabel 6, didapatkan nilai Sig. > 0,05 pada seluruh data. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa data diameter zona hambat berdistribusi normal. “Karena data berdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA untuk menganalisis perbedaan zona hambat pada variasi konsentrasi ekstrak daun pepaya dan uji LSD untuk melihat perbedaan diameter zona hambat antar masing-masing variasi konsentrasi ekstrak daun pepaya. Adapun hasil uji dapat di lihat pada tabel berikut:”

Tabel 7
Hasil uji ANOVA dan Uji LSD

LSD			ANOVA
Konsentrasi Ekstrak Daun Pepaya	Konsentrasi Signifikan	Sig.	
20%	40%	.000	.000
	60%	.000	
	80%	.000	
40%	20%	.000	
	60%	.686	
	80%	.088	
60%	20%	.000	
	40%	.686	
	80%	.186	
80%	20%	.000	
	40%	.088	
	60%	.186	

Mengacu tabel 7, diperoleh nilai signifikansi $p < \alpha$ (0,05), yang artinya terdapat perbedaan signifikan antara diameter zona hambat pada masing-masing

variasi konsentrasi. Adapun nilai $p < \alpha$ (0,05) diperoleh pada konsentrasi 20% terhadap konsentrasi 40%, 60%, dan 80%.

Sedangkan konsentrasi 40% dengan konsentrasi 60%, dan 80%, konsentrasi 60% dengan konsentrasi 80% didapatkan nilai $p > \alpha$ (0,05) yang artinya tidak ada perbedaan yang signifikan antara diameter zona hambat pada masing-masing variasi konsentrasi.

B. Pembahasan

1. Skrining fitokimia

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* Linn) menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, tanin, dan saponin, yang masing-masing menunjukkan hasil positif sedangkan flavonoid dan triterpenoid menunjukkan hasil negatif berdasarkan uji pereaksi kualitatif. Alkaloid terdeteksi positif pada ekstrak daun pepaya, yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih saat penambahan pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Wagner (Rosmalena, 2015). Senyawa ini dikenal memiliki aktivitas farmakologis yang luas, antara lain sebagai antibakteri, antimalaria, dan antikanker. Salah satu alkaloid khas pada daun pepaya adalah karpain, yang telah terbukti memiliki efek penghambatan terhadap mikroorganisme patogen (Widiastomo, 2015).

Flavonoid menunjukkan hasil negatif dengan tidak adanya perubahan warna yang khas setelah reaksi dengan serbuk magnesium dan HCl. Flavonoid berperan penting sebagai antioksidan, mampu menangkal radikal bebas, serta menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan antidiabetes (Lisa, 2022). Hasil negatif pada uji flavonoid terhadap ekstrak daun pepaya menunjukkan bahwa senyawa flavonoid

tidak terdeteksi dalam sampel yang diuji. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti rendahnya kandungan flavonoid dalam daun pepaya yang digunakan, metode ekstraksi yang kurang tepat, atau konsentrasi ekstrak yang terlalu rendah sehingga senyawa tidak terdeteksi secara kualitatif. Selain itu, kemungkinan adanya degradasi senyawa flavonoid selama proses ekstraksi atau penyimpanan juga dapat memengaruhi hasil. Tidak menutup kemungkinan pula terjadi kesalahan teknis selama proses uji, seperti penggunaan pereaksi yang tidak sesuai atau kesalahan dalam pengamatan perubahan warna. Oleh karena itu, hasil negatif tidak selalu berarti bahwa flavonoid tidak ada, melainkan bisa jadi berada di bawah ambang deteksi dari metode yang digunakan. Saponin, yang memberikan hasil positif melalui terbentuknya busa stabil, berfungsi sebagai imunostimulan serta memiliki aktivitas antijamur dan antimikroba. Kehadiran saponin juga mendukung peran daun pepaya dalam meningkatkan daya tahan tubuh. Tanin yang memberikan warna hitam kehijauan dengan penambahan FeCl_3 , dikenal sebagai zat astringen dan antimikroba. Kandungan tanin mendukung aktivitas hemostatik dan antibakteri dari daun pepaya, serta digunakan secara tradisional untuk menghentikan pendarahan ringan dan mengobati luka (Christina dan Fara, 2022).

Triterpenoid menunjukkan hasil negatif dengan tidak terbentuknya warna hijau atau biru kehijauan setelah bereaksi dengan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 . Hasil negatif pada uji triterpenoid terhadap ekstrak daun pepaya menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid tidak terdeteksi dalam sampel yang diuji. Biasanya, uji ini dilakukan dengan metode Liebermann-Burchard atau Salkowski, yang memberikan hasil positif berupa perubahan warna khas, seperti merah, ungu, biru, atau hijau. Jika hasilnya negatif, maka tidak terjadi perubahan warna atau larutan

tetap berwarna seperti semula, misalnya kuning pucat atau cokelat muda, tergantung warna ekstrak awal. Hasil negatif ini bisa disebabkan oleh rendahnya kadar triterpenoid dalam sampel, metode ekstraksi yang tidak sesuai, atau konsentrasi ekstrak yang terlalu rendah untuk terdeteksi secara kualitatif. Dengan demikian, hasil negatif belum tentu menunjukkan ketiadaan triterpenoid, tetapi bisa juga karena keterbatasan sensitivitas metode uji yang digunakan (Jati, 2019)

2. Kategori daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

a. Diameter zona hambat kontrol kerja

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol kerja karena termasuk antibiotik spektrum luas. Cara kerja kloramfenikol adalah dengan menghambat sintesis protein dalam sel bakteri (Muntasir dkk, 2022). Penggunaannya bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri uji, dalam hal ini *Shigella dysenteriae*, masih dalam kondisi sensitif, yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram antibiotik. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk oleh kloramfenikol 30 µg terhadap *Shigella dysenteriae* sebesar 13,13 mm. Berdasarkan kriteria dari Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), nilai tersebut dikategorikan sebagai sensitivitas sedang (*intermediate*), meskipun dari segi ukuran zona hambat tergolong kuat. Hal tersebut selaras dengan temuan Afnidar (2015), yang juga menunjukkan kemampuan kloramfenikol dalam menghasilkan zona hambat yang signifikan pada konsentrasi yang sama.

b. Diameter zona hambat kontrol negatif

Blank disk digunakan sebagai kontrol negatif dalam penelitian ini untuk membantu memastikan bahwa bahan dasar cakram tidak memiliki efek antimikroba yang dapat mempengaruhi hasil uji. Kontrol negatif yang digunakan dalam

penelitian ini adalah blank disk. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh blank disk terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* adalah 0 mm pada semua pengulangan.

Apabila setelah inkubasi tidak terbentuk zona hambat di sekitar blank disk, maka dapat disimpulkan bahwa cakram tersebut netral dan tidak memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Hal ini memperkuat validitas data bahwa zona hambat pada cakram perlakuan memang murni disebabkan oleh aktivitas antimikroba dari zat yang diuji. Sebaliknya, apabila blank disk membentuk zona hambat, maka terdapat kemungkinan adanya kontaminasi atau bahwa bahan cakram atau pelarut mengandung komponen antimikroba, sehingga uji harus dievaluasi ulang. Dengan demikian, keberadaan kontrol negatif seperti blank disk dalam uji zona hambat sangat krusial untuk menjamin keandalan hasil dan menghindari kesimpulan yang menyesatkan mengenai efektivitas suatu agen antimikroba (Forbes, 2018).

c. Diameter zona hambat kelompok perlakuan

Hasil penelitian pada Tabel 4, terlihat peningkatan konsentrasi ekstrak daun pepaya dari 20% hingga 80% menghasilkan diameter zona hambat yang juga meningkat, yakni 5,88 mm (kategori lemah), 6,28 mm, 6,68 mm, dan 7,00 mm (masing-masing termasuk kategori sedang). Temuan ini mengindikasikan bahwa Kenaikan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan peningkatan daya hambat terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Pola tersebut memperlihatkan hubungan positif antara kadar ekstrak dan efektivitas antibakterinya. Hal tersebut selaras dengan temuan Oroh et al. (2015), yang menyimpulkan bahwa peningkatan

konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan luas zona hambat, karena konsentrasi senyawa aktif antibakteri yang lebih tinggi.

Efek penghambatan pertumbuhan *Shigella dysenteriae* oleh ekstrak daun pepaya disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif atau metabolit sekundernya. Daun pepaya mengandung berbagai senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin, yang masing-masing memiliki mekanisme tersendiri dalam menghambat bakteri. Aktivitas senyawa-senyawa tersebut memicu terbentuknya zona jernih di sekitar area yang terkena infeksi (Siti dan Eliya, 2019).

Beberapa hal yang dapat berpengaruh terhadap perbedaan diameter zona hambat antara lain kemampuan dan kecepatan difusi bahan uji di media, konsentrasi bahan uji, serta sensitivitas mikroorganisme terhadap zat yang diuji, serta toksisitas bahan uji. Selain itu, kondisi lingkungan mikro in vitro juga berperan, seperti konsentrasi zat antibakteri, ketebalan media, jarak antar cakram, durasi inkubasi, komponen medium, suhu, jenis bakteri, aktivitas metabolik mikroorganisme, serta ukuran dan konsentrasi inokulum (Candrasari, 2012). Astuti dkk, (2014) juga menjelaskan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman bisa berbeda-beda tergantung pada umur dan lokasi tanaman tersebut tumbuh. Meskipun demikian, dalam penelitian ini faktor-faktor tersebut sudah dikontrol sehingga tidak berdampak terhadap zona hambat yang dihasilkan.

3. Perbedaan zona hambat berbagai konsentrasi ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan perbedaan antar konsentrasi ekstrak daun pepaya dalam menekan pertumbuhan bakteri *Shigella*

dysenteriae. Setelah itu, data yang diperoleh dianalisis lebih lanjut menggunakan metode statistik.

Tahap awal dalam analisis adalah melakukan uji normalitas dengan metode *Saphiro Wilk*. Apabila terdistribusi normal, analisis berikutnya yaitu uji perbedaan menggunakan *One Way ANOVA* dan uji *LSD*. Berdasarkan hasil penelitian, data menunjukkan distribusi normal. Selanjutnya, uji *One Way ANOVA* memberikan nilai Sig. (0,00) < (0,05), yang menandakan adanya perbedaan yang signifikan dalam zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada berbagai konsentrasi. Setelah itu, uji *LSD* dilakukan untuk mengidentifikasi perbedaan zona hambat antar konsentrasi, dan hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi 20% memiliki perbedaan signifikan dibandingkan dengan semua konsentrasi lainnya, dengan nilai Sig. (0,00) < (0,05).

Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* di setiap konsentrasi dipengaruhi oleh pengenceran yang dilakukan pada masing-masing seri konsentrasi. Dewi dkk. (2018) dalam penelitiannya menyatakan bahwa semakin tinggi tingkat pengenceran, semakin rendah kandungan senyawa aktif dalam ekstrak, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk menjadi lebih kecil. Oleh karena itu, pada konsentrasi 20%, diameter zona hambat yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi, seperti 40%, 60%, dan 80%.

Namun, perbandingan antara konsentrasi 40% dan 60%, serta antara konsentrasi 60% dan 80%, diketahui tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Faktor yang menyebabkan kondisi tersebut yaitu kekentalan ekstrak pada konsentrasi tersebut yang terlalu pekat, sehingga zat aktif dalam ekstrak sulit untuk

diserap oleh cakram. Akibatnya, penyebaran ekstrak secara merata ke dalam media agar MHA menjadi kurang optimal. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara efektif, yang terlihat dari perbedaan ukuran zona hambat pada tiap konsentrasi. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak daun pepaya memiliki potensi sebagai agen antibakteri yang dapat diteliti lebih lanjut untuk pengembangan di bidang medis.