

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan penyakit yang terus berkembang dan dapat menular. Infeksi merupakan suatu masalah yang sering dijumpai di kehidupan sehari-hari. Kondisi ini disebabkan oleh bakteri patogen. Di negara berkembang termasuk Indonesia infeksi menyebabkan kematian 3 juta penduduk setiap tahun (Tjaniadi *et al.*, 2003). Penyebab terbanyaknya adalah *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare akut, serta penyebab utama infeksi saluran kemih serta *Salmonella typhi* dapat menyebabkan penyakit demam typhus (Jawetz *et al.*, 2005).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* menjadi bakteri patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran cerna meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare (Jawet *et al.*, 1995). Sedangkan *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif yang menyebabkan infeksi saluran gastrointestinal yang mencakup perut, usus halus, usus besar. Infeksi lebih sering dan berat pada pasien yang mengalami penurunan asam lambung (Irianto, 2014).

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi ini biasanya diatasi menggunakan antibiotik. Pemakaian obat sintesis seperti antibiotik ini memiliki banyak efek samping sehingga alternatif yang bisa digunakan untuk menekan angka kejadian infeksi bakteri salah satunya adalah dengan pengembangan antimikroba yang

berasal dari bahan alam. Indonesia sebagai negara beriklim tropis, mempunyai tanaman obat yang sangat beragam (Radji, 2005).

Salah satu bagian tanaman pepaya yang memiliki aktivitas antibakteri adalah biji pepaya (Sukadana *et al.*, 2008). Secara tradisional biji pepaya (*Carica papaya* L.) dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing gelang, gangguan pencernaan, diare, penyakit kulit, bahan baku obat masuk angin (Warisno, 2003). Taufiq (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol biji pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 20% yaitu $1,85 \pm 0,108$ cm dan $1,72 \pm 0,159$ cm.

Berdasarkan hal tersebut terbukti bahwa pelarut etanol dapat menarik senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri baik polar maupun non polar, sehingga perlu dilakukan fraksinasi untuk mengetahui senyawa aktif yang lebih spesifik yang berperan dalam menghambat aktivitas antibakteri. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut etil asetat. Menurut Kurniasari *et al.*, 2007 fraksi etil asetat dapat menarik senyawa alkaloid dan flavonoid.

Senyawa alkaloid dapat bekerja sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat enzim topoisomerase yang mempunyai peran penting dalam proses replikasi, transkripsi, dan rekombinasi DNA dengan cara memotong dan menyambungkan untai tunggal atau untai ganda DNA (Campbell *et al.*, 2010). Senyawa flavonoid diduga dapat mendenaturasi protein sel dan mempengaruhi permeabilitas membran dinding sel

serta membran sitoplasma yang dapat menyebabkan sel menjadi lisis (Pelczar *et al.*, 2008).

Oleh karena itu dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya dimaksudkan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* serta mengidentifikasi golongan kimia senyawa aktifnya.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan masalah :

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* ?
2. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.).

C. Tujuan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan ini bertujuan:

1. Mengetahui adanya aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.).

D. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi tentang kemampuan tanaman obat khususnya fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya untuk dimanfaatkan sebagai alternatif dalam mengurangi penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

E. Tinjauan Pustaka

1. PEPAYA

Pepaya (*Carica papaya* L.) berasal dari family *Caricaceae*.

a. Sistematika

Kedudukan tanaman *Carica papaya* L. atau lebih dikenal di Indonesia dengan sebutan tanaman pepaya (Steenis, 1992) dalam sistematika tumbuhan sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Anak Divisi : Angiosperma

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Cistales

Suku : Caricaceae

Marga : *Carica*

Jenis : *Carica papaya* L.

b. Deskripsi

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang memiliki bentuk batang yang lurus tegak, bulat silindris. Tanaman pepaya umumnya tidak bercabang, tanaman ini dapat tumbuh hingga setinggi 2,5-10 m dengan

daun-daunan yang membentuk serupa spiral pada batang pohon bagian atas, pada permukaan batang pepaya terlihat bekas peletakan daun. Biji pepaya berwarna hitam jika sudah masak (Steenis, 1992). Deskripsi tanaman pepaya dan biji pepaya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Tanaman pepaya (a) dan biji pepaya (b) (Dokumentasi pribadi)

Tangkai daun bulat silindris dengan panjang 25-100 cm, bentuk daun bulat atau bulat telur, bertulang daun menjari, tepi bercangap menjari berbagi menjari, ujung runcing berdiameter 25-75 cm dengan pangkal daun berbentuk jantung, sebelah atas berwarna hijau tua, sebelah bawah hijau muda, memiliki permukaan daun yang licin (Steenis, 1992).

Bunga hampir selalu berkelamin satu atau berumah dua, tetapi kebanyakan dengan berbagai bunga berkelamin dua pada karangan bunga yang jantan. Bunga jantan pada tandan yang serupa malai dan bertangkai panjang, berkelopak sangat kecil. Mahkota berbentuk terompet berwarna putih kekuningan, dengan tepi yang bertaju lima, dan tabung yang panjang, langsing, taju berputar dalam kuncup, kepala sari bertangkai pendek, dan duduk bunga betina kebanyakan berdiri sendiri, daun mahkota lepas atau hampir lepas, putih kekuningan, bakal buah beruang satu, kepala putik lima

duduk, buah berbentuk bulat telur memanjang, biji banyak, dibungkus oleh selaput yang berisi cairan (Steenis, 1992).

c. Kandungan Kimia

Biji pepaya mengandung glikosida tiosianat, alkaloid karpain, pseudokarpain dan saponin sedangkan pada biji terdapat minyak lemak (Hegnauer, 1964). Bagian buah terkandung b-karoten, pektin, d-galaktosa, dan papain, bijinya mengandung alkaloid, fenol, saponin, tannin, dan terpenoid (Ocloo *et al.*, 2012). Dari analisis fitokimia menunjukkan biji pepaya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Taufiq, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Ngozi *et al* (2010) menyatakan bahwa pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, glikosida jantung, antrakuinon, phlobatin, saponin dan antosianosida.

Biji pepaya berwarna putih mengandung senyawa triterpenoid aldehid berdasarkan penelitian (Sukadana *et al.*, 2008). Hasil fitokimia terhadap ekstrak etanol biji pepaya diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid, flavonoid, alkaloid, dan saponin (Warisno, 2003).

2. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Tumbuhan

merupakan matriks kompleks yang memproduksi sejumlah metabolit sekunder dengan gugus fungsi dan polaritas yang berbeda, perbedaan struktur kimia metabolit sekunder yang akan diekstrak mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat dan derajat keasaman (Depkes RI, 1986).

Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan metode ekstraksi (Ansel, 1989). Prosedur ekstraksi yang ideal harus mampu menarik metabolit sebanyak yang diinginkan dan sebanyak mungkin. Proses harus cepat, sederhana, dan *reproducible* jika harus dilakukan berulang kali. Pemilihan metode ekstraksi yang cocok sangat tergantung dengan tujuan ekstraksi dan apakah metabolit yang akan diambil sudah diketahui atau tidak (Seidel, 2006).

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi, yang merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dengan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa

tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes, 1986).

3. Cairan Penyari

Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria seperti murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar. Selain itu cairan penyari harus selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes, 2000). Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagian penyari dalam penyarian adalah air, etanol, etanol-air atau metanol. Penyarian pada perusahaan obat tradisional masih terbatas pada penggunaan cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut. Kecepatan melintasi lapisan batas dipengaruhi oleh faktor yang mempengaruhi pemindahan massa yaitu perbedaan konsentrasi, tebal lapisan batas, serta koefisien difusi. Proses penyarian dapat dipisahkan menjadi: pembuatan serbuk, pembasahan, penyarian, pemekatan. Secara umum jenis teknologi penyarian yaitu infundasi, maserasi, perkolasi, sokhletasi dan destilasi uap (Depkes, 1986).

Cairan penyari non polar sangat cocok digunakan untuk melarutkan sebagian besar senyawa lipofilik (misalnya, alkana, asam lemak, pikmen, lilin, sterol beberapa terpenoid, alkaloid dan kumarin), Cairan penyari semi polar digunakan untuk menarik senyawa aktif dengan polaritas menengah (misalnya, beberapa alkaloid dan flavonoid). Sedangkan cairan penyari polar lebih banyak digunakan untuk menarik senyawa aktif lebih polar (misalnya, glikosida flavonoid, tanin dan beberapa alkaloid). Cairan penyari organik

polar (misalnya, etanol, metanol, atau campuran alkohol-air) sering digunakan dalam mengekstrak senyawa sebanyak mungkin. Hal ini didasarkan pada kemampuan etanol untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel, memfasilitasi ekstrak secara efisien pada sejumlah besar senyawa aktif polar, non polar, dan semi polar (Seidel, 2006).

4. Fraksinasi

Fraksinasi atau sering disebut juga partisi cair-cair adalah metode pemisahan analit dari pengganggu dengan cara melakukan partisi sampel antar dua pelarut yang tidak saling bercampur. Biasanya fase yang digunakan yaitu air dan fase yang lain adalah pelarut organik. Biasanya senyawa-senyawa yang bersifat polar akan tertarik pada fase air. Sementara senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan tertarik pada pelarut organik akan mudah diperoleh kembali menggunakan cara penguapan pelarut (Gandjar dan Rohman, 2010).

Ekstrak difraksinasi dengan teknik partisi cair-cair. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan. Pemisahan secara partisi cair-cair harus memiliki perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut serta kedua pelarut yang digunakan tidak saling campur (Khopkar, 1990).

5. Tinjauan Mikrobiologi

a. Morfologi dan Identifikasi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang bersifat cenderung lebih resisten terhadap senyawa aktif, karena memiliki struktur dinding sel tipis yaitu sekitar 10-15 μm yang terdiri dari tiga lapisan yaitu membran luar, membran dalam dan lapisan peptidoglikan tipis di sebelah dalam dengan kandungan lipid yang tinggi (11-21%). Lapisan bagian luar terdiri dari dua lapisan yaitu lipopolisakarida dan lipoprotein (Hawley, 2003).

1). *Escherichia coli*

Divisio : Protophyta
 Kubdivision : Schizomycetea
 Kelas : Schizomycetes
 Ordo : Eubacteriales
 Familia : Enterobacteriaceae
 Genus : *Escherichia*
 Spesies : *Escherichia coli* (Salle,1961)

Escherichia coli adalah kuman oportunistis yang banyak ditemukan didalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan *travelers diarrhea*, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh yang lain diluar usus. *Escherichia coli* berbentuk batang pendek

(koko basil) gram negatif, ukuran 0,4-0,7 μ m X 1,4 μ m, sebagian gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul (Syahrurachman, 1994). Bentuk bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 2.



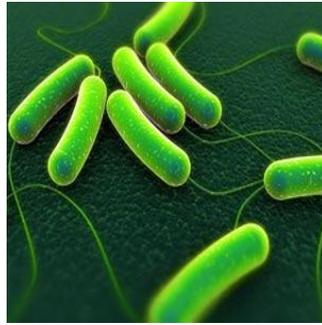
Gambar 2. Bentuk bakteri *Escherichia coli* (Stevens, 2009)

Escherichia coli tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi pada media yang digunakan untuk isolasi kuman enterik, sebagian besar strain *Escherichia coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. *Escherichia coli* bersifat mikroaerofilik. Beberapa strain bila ditanam pada agar darah menunjukkan hemolisis tipe beta (Syahrurachman, 1994).

2). *Salmonella typhi*

Organisme *Salmonella sp* adalah batang pendek, gram negatif, terdapat tunggal, biasanya motil, aerobik, anaerobik fakultatif, tidak berkapsul dan membentuk spora. Pertumbuhan optimum terjadi pada suhu 37°C. Secara morfologis tidak dapat dibedakan dari shigella, tetapi dapat dibedakan berdasarkan

reaksi-reaksi fermentasi dan uji serologis (Irianto, 2014), Bentuk bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Bentuk bakteri *Salmonella typhi* (Hendy, 2015)

Taksonomi *Salmonella typhi* :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Ordo : Gamma Proteobacteria

Class : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Salmonella*

Spesies : *Salmonella typhi* (Jawetz *et al*, 2006).

Salmonellosis adalah infeksi oleh bakteri genus *Salmonella*. *Salmonella* bersifat *host-adapted* pada hewan, dan infeksi pada manusia biasanya menyerang saluran gastrointestinal yang mencakup perut, usus halus, dan usus besar. Infeksi muncul dalam bentuk diare akut yang dapat sembuh sendiri. Pada beberapa kesempatan bakteri ini dapat menyebabkan penyakit yang invasif, meliputi bakteremia dan septisemia yang mengancam jiwa atau osteomielitis. transmisinya melalui fekal-oral, biasanya dari makanan yang terkontaminasi. Infeksi lebih sering dan lebih berat pada pasien yang

mengalami penurunan asam lambung dan pasien *immunocompromised* atau pasien yang mengalami *splenektomi* (Irianto, 2014).

Delapan sampai empat puluh delapan jam setelah mengkonsumsi makan yang tercemar salmonella, timbul rasa sakit perut mendadak dengan diare encer atau berair, kadang-kadang dengan lendir atau darah. Seringkali mual dan muntah, demam dengan suhu 38°C sampai 39°C umum terjadi (Irianto, 2014).

c. Pengujian Daya Antibakteri

Antimikroba adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Zat antimikroba terdiri dari antijamur dan antibakteri. Zat antibakteri adalah zat yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme melalui penghambatan pertumbuhan (Pelczar and Chan 1988).

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode yaitu dilusi dan difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standart untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba (Jawetz *et al.*, 2005).

Ada 2 metode dalam pengukuran aktivitas antibakteri, yaitu (Murray, 1995):

1. Dilusi cair/ dilusi padat

Metode dilusi digunakan untuk menghitung konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk menghambat suatu mikroorganisme. Agen antibakteri yang akan diuji diencerkan dalam berbagai konsentrasi, kemudian diukur konsentrasi terendah yang menghambat atau membunuh mikroorganisme. Pada dilusi cair, agen uji bakteri uji dicampur dengan suspensi bakteri pada media cair, sedangkan pada dilusi padat agen antibakteri dicampur dengan media agar, kemudian ditanami bakteri (Murray, 1995).

2. Difusi

Metode difusi digunakan untuk menentukan apakah suatu bakteri uji bersifat peka, resisten atau intermediet terhadap suatu antibakteri. Agen antibakteri yang diujikan akan berdifusi melalui media agar. Pada metode difusi ini dikenal beberapa cara, antara lain (Murray, 1995).

a. Cara *Kirby Bauer*

Metode yang digunakan untuk mengetahui sensitivitas suatu mikroba terhadap antibiotik tertentu. Agen antibiotik diletakkan pada disk (kertas saring), kemudian disk tersebut diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri, diukur zona hambatan pada sekitar disk (Murray, 1995).

b. Cara sumuran

Agen antibakteri di tentukan pada sumuran dengan diameter yang dibuat pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri, diukur zona hambatan pada sekitar sumuran(Murray, 1995).

c. Cara *pour plate*

Cara ini mirip dengan *Kirby Bauer*, hanya saja media agar yang digunakan dicampur homogen dengan suspensi bakteri uji. Pembacaan hasil pengukuran aktivitas antibakteri dengan metode difusi dikenal 2 macam zona (Jawetz *et al.*, 2005);

1). Zona radikal adalah suatu daerah di sekitar disekitar disk atau sumuran yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal (Jawetz *et al.*, 2005).

2). Zona iradikal adalah suatu daerah di sekitar disk atau sumuran dimana terlihat pertumbuhan bakteri yang kurang subur atau lebih jarang dibandingkan dengan daerah di luar pengaruh agen antibakteri. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan hanya dihambat tetapi tidak mematikan oleh agen antibakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

F. Landasan Teori

Menurut penelitian Sukadana (2008) salah satu bagian tanaman pepaya yang memiliki aktivitas antibakteri adalah biji pepaya. Penelitian yang dilakukan Martiasih *et al* (2014) menyatakan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dengan konsentrasi 10 mg/ml memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 8,5 mm. Sigh dan Ali (2011) membuktikan bahwa ekstrak etanol biji pepaya berkhasiat mengobati penyakit diare. Ekstrak etanol biji pepaya terbukti menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* (Taufiq, 2015).

Taufiq (2015) menyebutkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil KLT pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun pepaya mengandung alkaloid dan flavonoid (Kurniasari *et al.*, 2007). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri berhubungan dengan pembentukan ikatan kompleks. Ikatan kompleks yang telah terbentuk kemudian terurai dan berpenetrasi ke dalam sel sehingga terjadi koagulasi protein dan menyebabkan enzim bakteri tidak aktif. Akibatnya membran sel bakteri tidak terbentuk dengan baik sehingga terjadi kebocoran sel dan bakteri mati (Pelczar and Chan., 2008). Alkaloid diduga dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat enzim topoisomerase yang mempunyai peran sangat penting dalam proses replikasi, transkripsi, dan rekombinasi DNA dengan cara memotong dan menyembuhkan untai tunggal atau untai ganda DNA (Campbell *et al.*, 2010).

G. Hipotesis

1. Fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri spesifik *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.
2. Fraksi etil asetat ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) mengandung golongan senyawa flavonoid dan alkaloid.



