

**AKTIVITAS AIR PERASAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)
PADA BIOFILM BAKTERI PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh

Galuh Putri Maharani

30102000077

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2024

SKRIPSI

**Aktivitas Air Perasan Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Pada Biofilm Bakteri
*Pseudomonas aeruginosa***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Galuh Putri Maharani

30102000077

Telah dipertahankan di depan Dewan
Penguji pada tanggal 18 April 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. Masfiah. Sp.MK., MSi. Med.

Anggota Penguji I



dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si. Med

Pembimbing II



dr. Rahayu., Sp.MK., M.Biomed

Anggota Penguji II



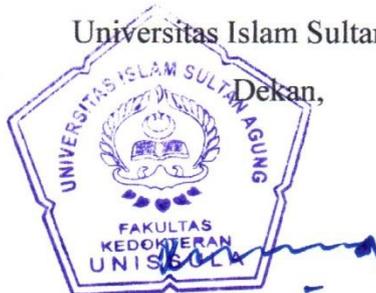
Dina Fatmawati, S.Si., M.Sc

Semarang, April 2024

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp. KF., S.H

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Galuh Putri Maharani

NIM : 30102000077

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

Aktivitas Air Perasan Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Pada Biofilm Bakteri

Pseudomonas aeruginosa

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai aturan yang berlaku.

Semarang, 6 April 2024

Yang menyatakan,



Galuh Putri Maharani

PRAKATA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT berkat limpahan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Aktivitas Air Perasan Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Pada Biofilm Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Selama penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Masfiah. Sp.MK, Msi.Med dan dr. Rahayu., Sp.MK., M.Biomed selaku dosen pembimbing I dan II atas ide, bimbingan, dan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. dr. Hesty Wahyuningsih , M.Si.Med. dan Dina Fatmawati ,S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji I dan II atas masukan dan pengarahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Yufrita Laksitaningtyas, AAK selaku analis laboratorium Mikrobiologi FK Unissula yang telah membantu dan membimbing peneliti dalam melakukan uji.

5. Semua pihak yang telah membantu terselesainya Skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa, berkenan membalas semua kebaikan serta bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna mengingat keterbatasan penulis. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca, civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, masyarakat, dan menjadi salah satu sumbangan untuk dunia keilmiahan dan kedokteran.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh



Semarang, 6 April 2024

Penulis

DAFTAR ISI

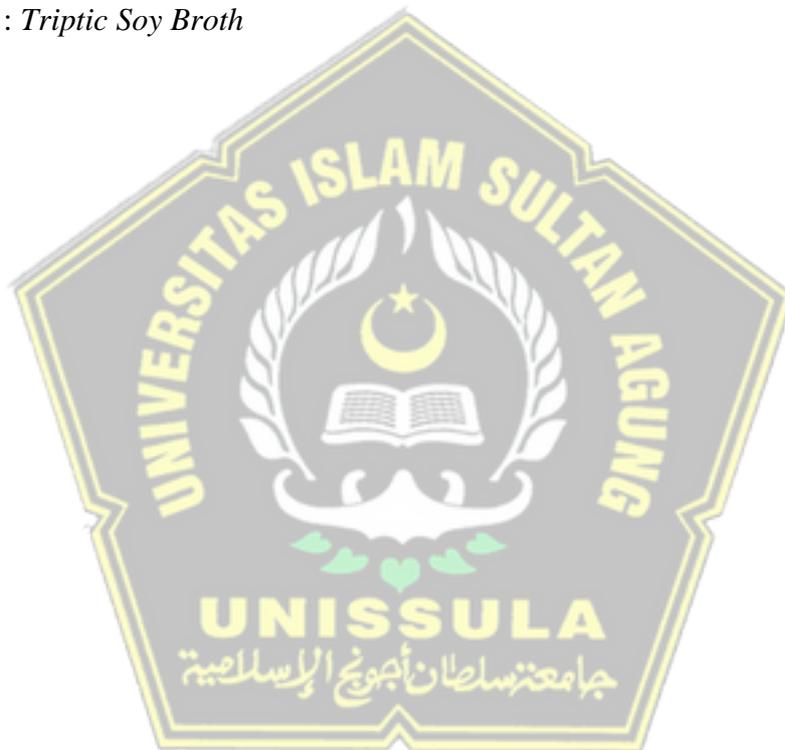
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
2.1.1. Klasifikasi.....	5
2.1.2. Deskripsi.....	5
2.1.3. Morfologi dan Sifat	5
2.1.4. Pertumbuhan dan Pembiakan	7
2.1.5. Patogenesis	8
2.2. Biofilm	8
2.2.1. Tahap Perkembangan Biofilm.....	9
2.2.2. Resistensi Biofilm Terhadap Antibiotik.....	10
2.3. Pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	13
2.3.1. Klasifikasi.....	13

2.3.2. Kandungan Kimia Pepaya.....	13
2.3.3. Mekanisme Kerja Senyawa Daun Pepaya Sebagai Antibiofilm	14
2.4. Kerangka Teori.....	17
2.5. Kerangka Konsep	17
2.6. Hipotesis.....	17
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	18
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	18
3.2.1. Variabel Penelitian	18
3.2.2. Definisi Operasional.....	18
3.3. Populasi dan Sampel	19
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	19
3.4.1. Instrumen Penelitian.....	19
3.4.2. Bahan Penelitian.....	20
3.5. Cara Penelitian	20
3.5.1. Pembuatan Air Perasan Daun Pepaya	20
3.5.2. Pembuatan Biofilm.....	21
3.6. Alur Penelitian	23
3.6.1. Tahap 1	23
3.6.2. Tahap 2	23
3.6.3. Tahap 3	24
3.7. Tempat dan Waktu	25
3.8. Analisis Hasil	25
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1. Hasil Penelitian	26
4.2. Pembahasan.....	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1. Kesimpulan	34
5.2. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	36



DAFTAR SINGKATAN

- CAT : *Catalase*
DNA : *Deoxyribo Nucleic Acid*
EPS : *Extracellular Polymeric Substance*
PBS : *Phosphate Buffer Saline*
SOD : *Superoksida Dismutase*
SOR : *Senyawa Oksigen Reaktif*
TSB : *Tryptic Soy Broth*



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Bentuk Mikroskopik <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
Gambar 2.2. Mekanisme Pembentukan Biofilm	9
Gambar 2.3. Kerangka Teori.....	17
Gambar 2.4. Kerangka Konsep	17
Gambar 3.1. Alur Penelitian.....	24
Gambar 4.1. Rerata Nilai OD.....	26



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Nilai Rerata <i>Optical Density</i>	27
Tabel 4.2. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	30
Tabel 4.3. Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i>	30



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	39
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian.....	40
Lampiran 3. Surat Keabsahan Bakteri	41
Lampiran 4. Hasil Resmi Penelitian	54
Lampiran 5. Analisis Hasil.....	55
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	58
Lampiran 7. Surat Bebas Laboratoirum.....	63
Lampiran 8. Surat Selesai Penelitian	64
Lampiran 9. Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi.....	65



INTISARI

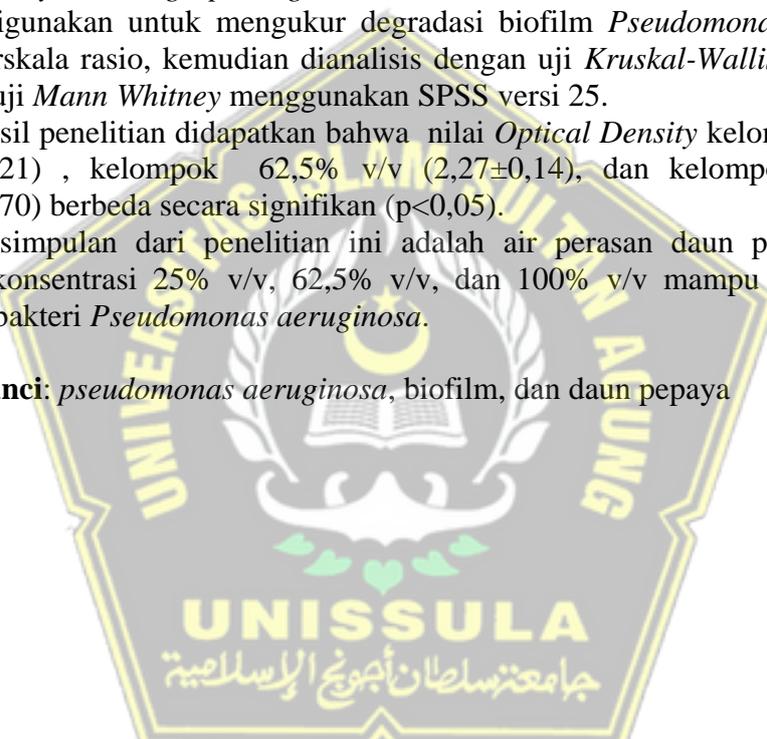
Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat gram negatif, memiliki kemampuan membentuk biofilm di dalam media biakan dan substrat yang dilekatinya. Daun pepaya diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti kaemferol dan myricetin (golongan flavonoid), terpenoid, papain, saponin, dan tanin yang berpotensi sebagai antibiofilm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap degradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni, dengan desain *posttest-only control grup design* secara *in vitro*. Metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* digunakan untuk mengukur degradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Data berskala rasio, kemudian dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis*, dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* menggunakan SPSS versi 25.

Hasil penelitian didapatkan bahwa nilai *Optical Density* kelompok 25% v/v ($2,44 \pm 0,21$), kelompok 62,5% v/v ($2,27 \pm 0,14$), dan kelompok 100% v/v ($1,32 \pm 0,70$) berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).

Kesimpulan dari penelitian ini adalah air perasan daun pepaya dengan variasi konsentrasi 25% v/v, 62,5% v/v, dan 100% v/v mampu mendegradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: *pseudomonas aeruginosa*, biofilm, dan daun pepaya



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pseudomonas aeruginosa memulai infeksi dengan memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernafasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, infeksi tulang dan sendi, infeksi saluran pencernaan dan bermacam-macam infeksi sistemik. *Pseudomonas aeruginosa* sering ditemukan menjadi penyebab infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang di dapatkan seseorang ketika berada di rumah sakit. Kasus tertinggi *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan kistik fibrosis, infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kemih, infeksi pada luka, dan beberapa infeksi lain yang bisa ditemukan pada banyak sampel klinis, antara lain sputum, urin, luka, cairan cerebrospinal, pus, feses, infeksi pasca bedah (Wahyudi *et al.*, 2019; Milanda, 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan di RSUP M. Djamil pada tahun 2012 didapatkan bahwa kuman *Multi Drug Resistant* (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial ketiga setelah *Staphylococcus* dan *E. coli* dengan prevalensi sebesar 11.7% (Rasyid, 2013).

Pseudomonas aeruginosa cenderung membentuk biofilm untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya saat membentuk koloni pada inang. Biofilm yaitu kumpulan koloni sel-sel mikroba yang menempel pada suatu permukaan misalnya kateter yang dipadatkan (agregat) dalam sebuah

matriks cair yang terbentuk dari campuran protein, asam nukleat dan polisakarida berbentuk gel kental di sekeliling bakteri. Biofilm dapat melindungi bakteri dari pertahanan tubuh inang dengan bergabung dengan sistem matriks lainnya, hal ini menyebabkan sel penyusun biofilm lebih sulit untuk ditekan populasinya (Karatan and Watnick, 2014). Kemampuan pembentukan biofilm ini banyak dikaitkan dengan kejadian resistensi terhadap antibiotik (Wahyudi *et al.*, 2019). Fathima, 2020 menyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan antara pembentukan biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa* dengan tingkat resistensi antibiotiknya. Pembentukan biofilm bakteri di dalam tubuh sangat merugikan, karena pengobatan infeksi menjadi lebih rumit. Beberapa kasus infeksi ditemukan bahwa kejadian infeksi bakteri yang disertai pembentukan biofilm semakin banyak ditemukan.

Pencarian alternatif pengendalian bakteri biofilm khususnya untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* saat ini masih terus diupayakan, baik berupa agen bakterisida atau bakteriostatik. Namun selama ini yang digunakan adalah antibiofilm berbahan kimia sintetik yang dapat memberi dampak negatif pada manusia. Sebagian besar produk alam yang berpotensi sebagai antibiofilm diidentifikasi sejauh ini mengandung senyawa terpenoid, steroid, karotenoid, fenolik, furanon, tannin, alkaloid, peptida dan lakton (Viju, Satheesh and Vincent, 2013). Pemilihan daun pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai sampel penelitian didasarkan penelitian Milind, 2016 yang menunjukkan bahwa daun pepaya mengandung senyawa metabolik

sekunder berupa enzim proteolitik papain, saponin, flavonoid, terpenoid dan tannin.

Senyawa metabolik sekunder yang terkandung pada daun pepaya dapat digunakan sebagai alternatif bahan alam yang berpotensi sebagai antibiofilm. Berdasarkan hasil penelitian Kining, Falah and Nurhidayat, 2017 menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya dengan kandungan metabolik sekunder menunjukkan aktivitas degradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian terkait pemanfaatan daun pepaya dalam bentuk air perasan daun pepaya terhadap degradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* sampai saat ini belum pernah dilakukan. Berdasarkan luasnya pemanfaatan daun pepaya, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap degradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perumusan masalah dalam penelitian ini: bagaimana aktivitas air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap degradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui aktivitas air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap degradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui efek antibiofilm air perasan daun pepaya dengan konsentrasi 25 % v/v terhadap kontrol positif.
- b. Untuk mengetahui efek antibiofilm air perasan daun pepaya dengan konsentrasi 62,5 % v/v terhadap kontrol positif.
- c. Untuk mengetahui efek antibiofilm air perasan daun pepaya dengan konsentrasi 100 % v/v terhadap kontrol positif.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini dapat menjadi alternatif sebagai bahan alam yang memiliki aktivitas sebagai antibiofilm terhadap pertumbuhan biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Penelitian ini dapat menjadi bahan menambah wawasan dan pengetahuan penulis dalam bidang eksperimen tentang pemanfaatan air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai antibiofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Penelitian ini dapat menjadi referensi untuk mahasiswa kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang khususnya yang ingin melakukan penelitian tentang aktivitas antibiofilm dari tanaman lain atau bahan lain.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada uraian di bawah ini (Soedarto, 2015):

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Proteobacteria*
Class : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Pseudomonadales*
Family : *Pseudomonadaceae*
Genus : *Pseudomonas*
Species : *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.2. Deskripsi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang bersifat invasif dan toksigenik. Bakteri ini menyebabkan infeksi pada manusia dengan penurunan imunitas dan merupakan patogen nosokomial (Soedarto, 2015)

2.1.3. Morfologi dan Sifat

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang dan terlihat sebagai bentuk tunggal, berpasangan dan terkadang dalam rantai pendek, berukuran lebar 0,5-0,8 mikron

dan panjang 1,5- 3,0 mikron, bergerak aktif dengan satu flagel kutub (*single polar flagellum*), tidak memiliki spora, dapat tumbuh pada suhu 37-42°C dan bila dibiakkan pada medium *blood agar* akan menunjukkan hemolisis beta, serta bersifat oksidase positif. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif karena dapat menggunakan Arginin dan Nitrat (NO₃) sebagai penerima elektron pernapasan (*respiratory electron acceptor*) (Soedarto, 2015).

Tipe koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* beragam berdasarkan asalnya yaitu koloni yang kecil dan kasar berasal dari isolat alami dari tanah atau air, koloni besar dan halus dengan tepi datar berasal dari bahan klinik dan koloni halus, berlendir (*mukoid*) berasal dari sekresi saluran napas dan saluran kemih (Soedarto, 2015). Bentuk koloni yang beragam menunjukkan perbedaan aktivitas biokimia dan enzimatis serta kepekaan terhadap antimikroba (Brooks *et al.*, 2014).

Bentuk mikroskopik *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2.1. Bentuk Mikroskopik *Pseudomonas aeruginosa*
Sumber: Todar (2012)

2.1.4. Pertumbuhan dan Pemiakan

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan cepat pada berbagai jenis media pembiakan, tidak meragikan laktosa, terkadang memproduksi bau manis seperti anggur. Penelitian tingkat laboratorium dapat menggunakan medium paling sederhana untuk pertumbuhannya yang terdiri dari asam asetat (sumber karbon) dan ammonium sulfat (sumber nitrogen) (Todar, 2013). Pada medium *Mac Conkey* membentuk koloni yang jernih. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan pigmen khas *pyocyanin* (biru-hijau) yang larut dalam agar dan didistribusikan ke dalam media perbenihan. Namun, tidak semua *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan *pyocyanin*, beberapa menghasilkan *pyoverdine* (kuning hijau dan berfluorosensi) dan *pyorubin* (merah-coklat) (Soedarto, 2015). *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 42°C yang membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain pada

kelompok *floerens* (Brooks *et al.*, 2014).

2.1.5. Patogenesis

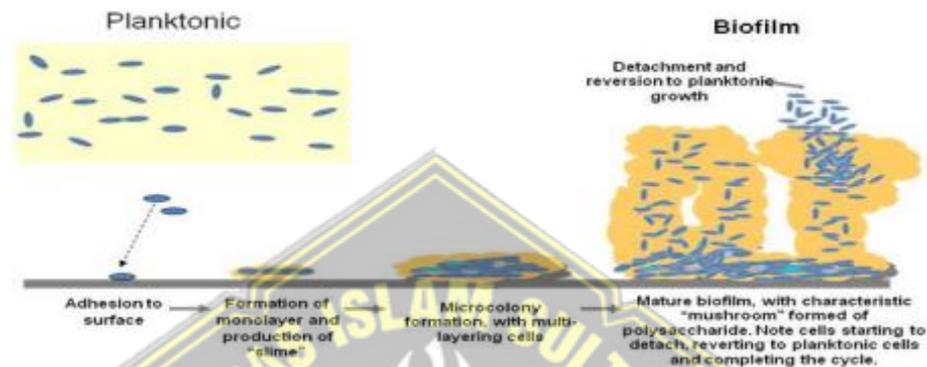
Pseudomonas aeruginosa menjadi patogenik hanya jika mencapai daerah yang tidak memiliki pertahanan normal, misalnya membran mukosa dan kulit yang terluka oleh cedera jaringan langsung, saat penggunaan kateter urin atau intravena, jika terdapat neutropenia, seperti pada kemoterapi kanker. Bakteri melekat dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal, dan menyebabkan penyakit sistemik. Proses tadi dibantu oleh pili, enzim, dan toksin. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas* lain resisten terhadap banyak obat antimikroba sehingga bakteri ini menjadi dominan dan penting ketika bakteri flora normal yang lebih sensitif tertekan (Brooks *et al.*, 2014). Sebagai penyebab infeksi saluran kemih adalah bakteri gram negatif terutama kelompok *Pseudomonas sp.* dan kelompok *Enterobacter* hal ini disebabkan penggunaan kateter kandung kemih (Soekiman, 2016).

2.2. Biofilm

Biofilm merupakan bentuk dari pola hidup multiseluler mikroba dan didefinisikan sebagai komunitas bakteri yang terorganisir, saling berkomunikasi dan melekat pada permukaan inert atau hidup. Mikroorganisme dalam biofilm terdapat di dalam matriks polimer yang

diproduksinya sendiri dengan bahan utamanya eksopolisakarida. Matriks biofilm tersusun atas polisakarida, protein dan DNA yang berasal dari mikroba (Paraje, 2013).

2.2.1. Tahap Perkembangan Biofilm



Gambar 2.2. Mekanisme Pembentukan Biofilm
Sumber: Vasudevan (2014)

1. Perekatan Bakteri ke Permukaan

Bakteri planktonik bebas menuju suatu permukaan dan melekat. Penempelan awal ini didasarkan pada daya tarik fisik dan gaya elektrostatis tetapi belum ada penempelan secara kimia (Paraje, 2013).

2. Perekatan Bakteri Secara Permanen

Beberapa dari sel reversibel yang teradsorpsi ini mulai membuat persiapan untuk penempelan yang lebih kuat dengan membentuk struktur tetap yang kemudian secara permanen mengikat ke permukaan (Paraje, 2013).

3. Pembentukan Koloni

Sel-sel perintis biofilm akan memproduksi dan membuat sel anakan yang akan membentuk mikrokoloni di permukaan beberapa jam kemudian setelah penempelan permanen (Paraje, 2013).

4. Akumulasi Sel Biofilm

Biofilm yang terbentuk akan semakin banyak dan mulai menghasilkan matriks polimer di sekitar mikrokoloni sebagai langkah untuk penempelan yang ireversibel (Paraje, 2013).

5. Pelepasan Biofilm

Pada tahap berikutnya biofilm yang sudah matang akan pecah dan sel-sel bakteri dibebaskan kemudian dapat menyebar ke lokasi lain untuk membentuk biofilm yang baru (Paraje, 2013).

2.2.2. Resistensi Biofilm Terhadap Antibiotik

Satu aspek terpenting dari pembentukan biofilm bakteri adalah peningkatan resistensi mikroba terhadap antibiotik dan stressor lainnya. Sifat struktural dan karakteristik sel biofilm menghasilkan resistensi terhadap agen antimikroba dan stressor lainnya yang berkaitan dengan mekanisme perlindungan dan pertahanan dari kondisi lingkungan yang buruk.

Faktor intrinsik dari resistensi merupakan bagian dari perkembangan biofilm yang disebabkan dari struktur biofilm dan

sifat fisiologi hasil dari perubahan pola hidup biofilm. Pengaruh dari beberapa faktor intrinsik biofilm yang berbeda mempengaruhi resistensi antibiotik telah diidentifikasi. Berikut ini adalah mekanisme pertahanan yang menyebabkan resistensi:

1. Matriks biofilm dapat bertindak sebagai penghalang difusi

Biofilm sebagai penghalang difusi fisik untuk mencegah antibiotik mencapai target. Antibiotik mampu menembus struktur campuran eksopolisakarida, DNA, dan protein untuk mencapai target tetapi tidak mampu mencapai konsentrasi efektif disemua bagian (Paraje, 2013).

2. Pembentukan lingkungan mikro dalam biofilm

Menipisnya jumlah nutrisi dan oksigen di dalam biofilm dapat menyebabkan aktivitas metabolisme diubah dan menyebabkan perlambatan pertumbuhan bakteri (Paraje, 2013).

3. Diferensiasi menjadi sel persister

Persister sel dianggap tidak tumbuh atau tumbuh lambat, dan juga memiliki kerentanan yang sangat berkurang terhadap antibiotik. Dalam teori persister, rute dari subpopulasi kecil bakteri dalam biofilm berdiferensiasi menjadi sel aktif, mampu bertahan terhadap pengobatan antibiotik yang ekstrim karena perubahan genetik yang stabil (Paraje, 2013).

4. Peningkatan produksi tekanan oksidatif

Tekanan oksidatif yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara jumlah oksidan, seperti radikal bebas, peroksida dan oksida nitrat, dengan antioksidannya. Gangguan keseimbangan prooksidan-antioksidan menyebabkan kelebihan produksi senyawa oksigen reaktif (SOR) yang dapat mengakibatkan kerusakan pada komponen seluler, termasuk DNA, protein dan lipid. Bakteri akan membentuk senyawa antioksidan sebagai respon fisiologis terhadap SOR, sehingga bakteri dapat beradaptasi terhadap tekanan oksidatif yang menyebabkan perubahan metabolik yang cepat. Enzim utama yang terlibat dalam system pertahanan antioksidan dan detoksifikasi SOR adalah superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT) (Paraje, 2013).

5. Aksi antagonis antibiotik dan mekanisme degradasi aktif di beberapa bagian biofilm

Microenvironments dapat melawan aksi dari antibiotik dengan mekanisme degradasi aktif di beberapa bagian biofilm. Bakteri saling berkomunikasi dan mengaktifkan gen-gen tertentu sehingga menghasilkan enzim atau toksin yang dapat mendegradasi antibiotik (Paraje, 2013).

2.3. Pepaya (*Carica papaya L.*)

Pepaya (*Carica papaya L.*) adalah tanaman herbal besar dengan batang tunggal yang tegak dan ketinggiannya dapat mencapai hingga 9 m. Batang pepaya berongga, beruas-ruas dan semi kayu. Ruas-ruas batang merupakan tempat melekatnya tangkai daun yang panjang, berbentuk bulat, dan berlubang. Daun pepaya bertulang menjari (*Palminervus*) dengan warna permukaan atas hijau tua, sedangkan warna permukaan bagian bawah tanah hijau muda (Lisa, 2015).

2.3.1. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman pepaya adalah sebagai berikut (Putra, 2016):

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Class : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Cistales*
Family : *Caricaceae*
Genus : *Carica*
Species : *Carica Papaya L*

2.3.2. Kandungan Kimia Pepaya

Daun pepaya (*Carica papaya L.*) mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, enzim papain, sakarosa, dekstrosa, levulosa, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi vitamin A, vitamin B1, vitamin C, air dan kalori (Afrianti, Yenti and Meustika,

2015).

Daun Pepaya juga mengandung enzim papain, alkaloid, saponin, tanin (Lisa, 2015). Menurut Rahayu & Tjitraresmi (2016) daun pepaya memiliki efektivitas anti bakteri karena kandungan papain, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan senyawa fenol dalam tanaman pepaya menyebabkan pepaya memiliki aktivitas antibakteri.

2.3.3. Mekanisme Kerja Senyawa Daun Pepaya Sebagai Antibiofilm

Mekanisme kerja zat aktif sebagai antibakteri dengan cara mencemari protoplasma, merusak dan menembus dinding sel bakteri, selain itu dapat mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenol seperti flavonoid dan alkaloid mampu menginaktivkan enzim esensial di dalam sel bakteri, walaupun dengan konsentrasi rendah. Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan pada dinding sel, yaitu dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel (seperti protein dan fosfolipida) serta larutnya komponen yang berikatan secara hidrofobik yang akan berakibat meningkatnya permeabilitas membran, hal ini menyebabkan kebocoran sehingga keluarnya isi sel. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Suresh *et al.*, 2015).

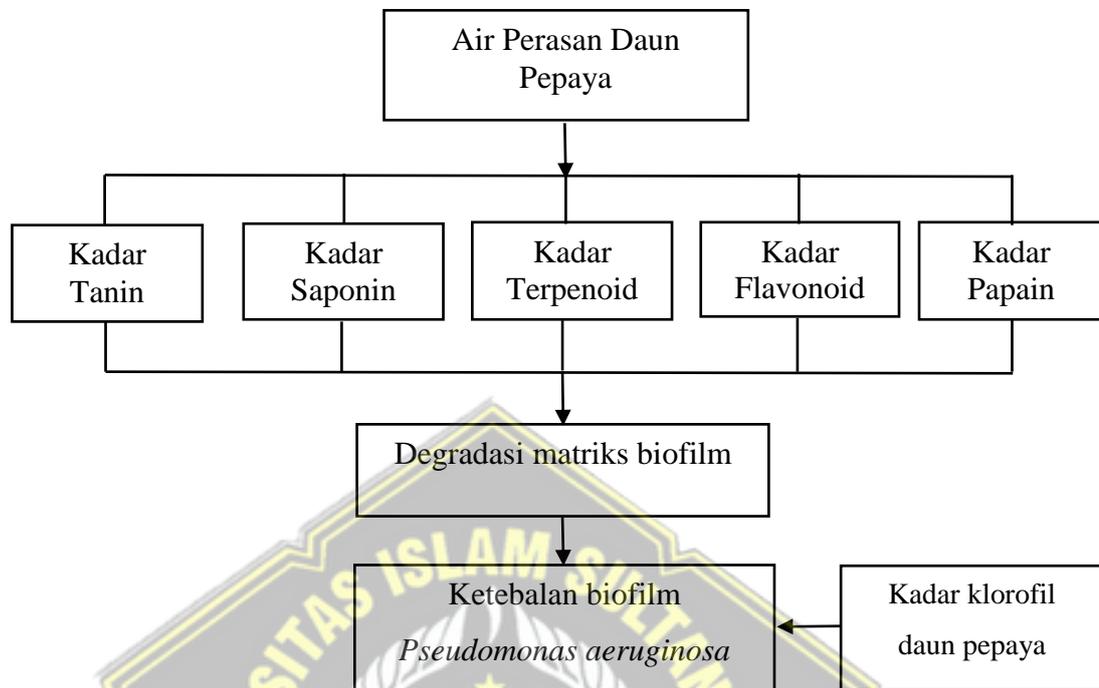
Beberapa mekanisme dalam mendegradasi biofilm diantaranya adalah degradasi matriks biofilm, kematian sel dan kebocoran sel. Kandungan senyawa kimia dalam fraksi air perasan daun pepaya seperti saponin, tanin dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut menghambat dan mendegradasi biofilm karena mempunyai mekanisme yang dapat menyebabkan terjadinya degradasi matriks biofilm, kematian sel dan kebocoran sel. Kemampuan degradasi biofilm dari suatu senyawa terkait dengan kemampuan penetrasi senyawa tersebut ke dalam biofilm yang terbentuk, yakni mampu berpenetrasi pada lapisan *Extracellular Polymeric Substance* (EPS) atau lapisan lendir yang menyelubungi bakteri. Selain itu, kemampuan senyawa dalam mendegradasi biofilm adalah menghilangkan EPS pada biofilm yang sudah terbentuk (Ardani *et al.*, 2014).

Mekanisme saponin dalam merusak biofilm dengan cara mempengaruhi matriks polimer ekstraseluler yang ada dalam matriks biofilm bakteri sehingga zat polimer berkurang dan mengubah integritas membran sel bakteri yang menyebabkan terjadi ketidakstabilan pada dinding sel bakteri. Senyawa terpenoid dalam mendegradasi biofilm dapat mengurangi biofilm yang sudah terbentuk dan membunuh bakteri dalam biofilm (Cosmo Andrade *et al.*, 2019). Papain pada pepaya terdapat dikenal sebagai zat (lebih tepatnya suatu enzim) yang dapat mengurai protein menjadi zat

penyusunnya yaitu peptida dan asam amino melalui proses hidrolisis (Prihatini and Dewi, 2021), hal yang sama terjadi jika papain bereaksi dengan suatu bakteri maka papain akan mengurai protein pada bakteri tersebut sehingga menyebabkan kematian pada bakteri tersebut (Risnawati and Cahyaningrum, 2013).

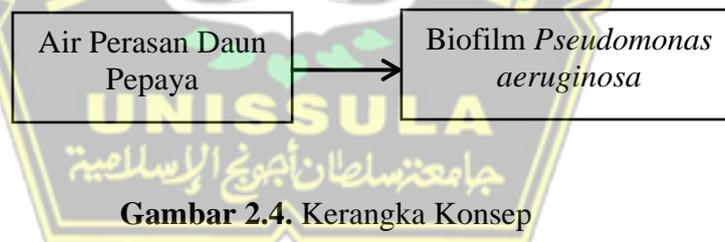
Senyawa tanin dan flavonoid yang berpotensi dapat menghambat intercellular adhesion genes *icaA* dan *icaD* yang menjadi salah satu faktor pembentukan biofilm. Penghambatan ekspresi gen *ica* ini menyebabkan tanin dan flavonoid juga dapat menghambat adhesi sel bakteri, baik perlekatan bakteri dengan permukaan substrat maupun perlekatan antar bakteri, dimana adhesi merupakan faktor utama dalam pembentukan biofilm. Kemampuan penghambatan biofilm dari suatu senyawa terkait dengan kemampuan penetrasi senyawa tersebut ke dalam biofilm yang terbentuk, yakni mampu berpenetrasi pada lapisan Extracellular Polymeric Substance (EPS) atau lapisan lendir yang menyelubungi bakteri (Lee *et al.*, 2013).

2.4. Kerangka Teori



Gambar 2.3. Kerangka Teori

2.5. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka Konsep

2.6. Hipotesis

Terdapat perbedaan aktivitas air perasan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap degradasi biofilm yang dibentuk oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*trueexperimental design*) dengan pendekatan *posttest-only control grup design* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah *Microtiter Plate Biofilm Assay* untuk melihat efek air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) dalam mendegradasi pembentukan biofilm terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan konsentrasi 25 % v/v, 62,5 % v/v, 100 % v/v.

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah biofilm *Pseudomonas aeruginosa*.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Air Perasan Daun Pepaya

Air perasan daun pepaya merupakan hasil produk dari pengambilan zat daun pepaya dengan *juicer*. Air perasan

daun pepaya diencerkan menggunakan pelarut air dengan variasi konsentrasi 25 % v/v, 62.5 % v/v dan 100 % v/v.

Skala data : ordinal.

3.2.2.2. Biofilm *Pseudomonas aeruginosa*

Degradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* diukur dengan menggunakan metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* dan dianalisis berdasarkan nilai *Optical Density*.

Skala data : rasio.

3.3. Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri koleksi Laboratorium Mikrobiologi yang diambil dari isolat klinik pada pasien dengan ulkus diabetikum yang di rawat di RSI Sultan Agung Semarang dan telah diuji menghasilkan biofilm kuat. Sampel yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kepekatan standar *McFarland* 0,5 atau setara dengan kepekatan 3×10^8 CFU/ mL.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

Juicer, shaker, kertas saring, CN membrane filter 0.2 μm, Jarum ose bulat, kertas cakram steril (6 mm), iMark BioRad microplate reader, Microplate, JEOL JSM 5310LV scanning microscope, autoclave, inkubator, biological safety cabinet, bunsen

burner, tabung reaksi, *pipettes* steril, *single-channel pipettes* (2–20 μ l, 20–200 μ l, 100–1.000 μ l), *sterile pipette tips* (20, 200, 1.000 μ l), *sterile 96-well plates* (Costar 3879), *spectrophotometer/Elisa reader*, *inoculation loop*, *vortex mixer* (Fisherbrand Analog Vortex Mixer, cat. no. 02- 215-414), mesin sentrifus, densitometer McFarland

3.4.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

Daun pepaya, isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, akuades steril 100 mL, pelarut air dengan variasi konsentrasi 25 % v/v, 62.5 % v/v dan 100 % v/v, etanol absolut 200 μ L, larutan kristal violet 0,1%, media steril TSB, air steril, PBS (*Phosphate Buffer Saline*).

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pembuatan Air Perasan Daun Pepaya

Daun pepaya yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Desa Kalongan, Kecamatan Ungaran Timur, Kabupaten Semarang. Daun pepaya diambil langsung oleh peneliti kemudian disortir untuk mendapatkan daun yang segar dan tidak busuk.

Cara kerja :

- 1) Daun pepaya dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan dari tanah atau kerikil.
- 2) Proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan.
- 3) Daun diambil sarinya menggunakan *juicer*.

- 4) Air perasan daun pepaya diencerkan menggunakan pelarut air dengan variasi konsentrasi 25 % v/v, 62.5% v/v dan 100% v/v.

3.5.2. Pembuatan Biofilm

Pseudomonas aeruginosa yang digunakan merupakan bakteri koleksi Laboratorium Mikrobiologi FK Unissula yang diambil dari isolat klinik pada pasien dengan ilkus diabetikum yang dirawat di RSI Sultan Agung Semarang dan telah diuji menghasilkan biofilm kuat. Sampel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* disesuaikan dengan kepekatan standar McFarland 0,5 atau setara dengan kepekatan 3×10^8 CFU/ mL.

Cara kerja :

- 1) Piring petri diinkubasi selama 16-20 jam pada 37 °C untuk memperoleh koloni tunggal.
- 2) 3-5 koloni tunggal mikroba diambil kemudian dilarutkan dalam 3mL NaCl dan disesuaikan dengan standar McFarland 0,5 atau setara dengan kepekatan 3×10^8 CFU/ mL dan diukur dengan menggunakan densitometer McFarland.
- 3) 90 µL media cair dimasukkan ke dalam tiap sumuran *microtiter 96 wells plates* pada lajur satu sampai dengan lajur delapan.
- 4) Dalam tiap sumuran dimasukkan 10 µL suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/mL (perbandingan kultur : media = 1:10) pada lajur satu sampai dengan lajur empat.
- 5) Pelat ditutup dan dilapisi dengan parafilm.

- 6) Pelat mikrotiter diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C untuk membentuk biofilm bakteri (Setiap bakteri memerlukan waktu berbeda untuk membentuk biofilm yang matur).
- 7) Air perasan daun pepaya sebanyak 80 µL dengan seri konsentrasi 25 % v/v, 62.5 % v/v, dan 100 % v/v dimasukkan pada lajur satu sampai dengan lajur tiga sebagai kelompok perlakuan dan pada lajur enam sampai dengan delapan sebagai kelompok kontrol negatif.
- 8) Lajur keempat yang berisikan media cair dan suspensi bakteri digunakan sebagai kontrol positif.
- 9) Inkubasi selama 45 menit pada suhu 37 °C.
- 10) Setelah inkubasi, isi sumuran dibuang secara hati-hati dengan bantuan mikropipet *multichannel* tanpa menyentuh bagian dinding atau dasar mikropipet.
- 11) Pelat mikrotiter dicuci dengan 200 µL *Phosphate Buffer Saline* (PBS) sebanyak 2 kali.
- 12) Sebanyak 125 µL larutan kristal violet 0.1% b/v dimasukkan ke setiap sumuran pelat mikrotiter.
- 13) Pelat mikrotiter diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit.
- 14) Pelat mikrotiter dicuci sebanyak 3-4 kali dengan menggunakan air dengan cara merendamnya kedalam bak berisi air atau bisa dengan menggunakan bantuan mikropipet. Balikkan pelat dan

Letakkan pada tumpukan tisu untuk mengeringkan pelat dari semua sisa air dalam posisi terbalik.

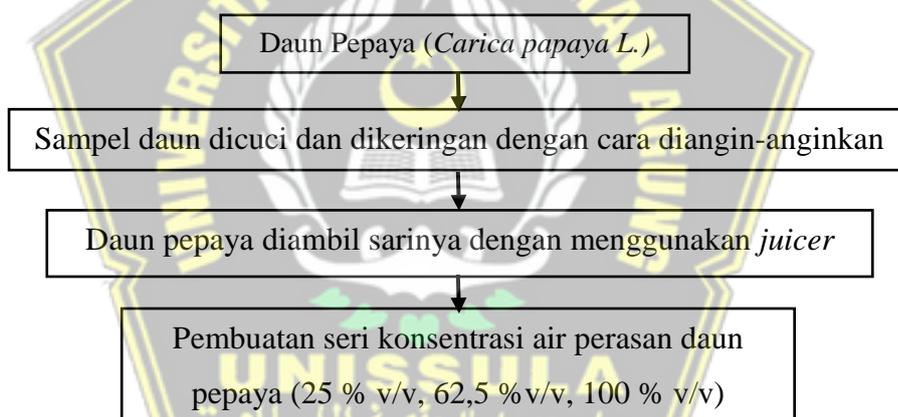
15) Sebanyak 125 μL etanol absolut dimasukkan ke dalam tiap sumuran pelat mikrotiter untuk melarutkan kristal violet.

16) Pelat mikrotiter diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit

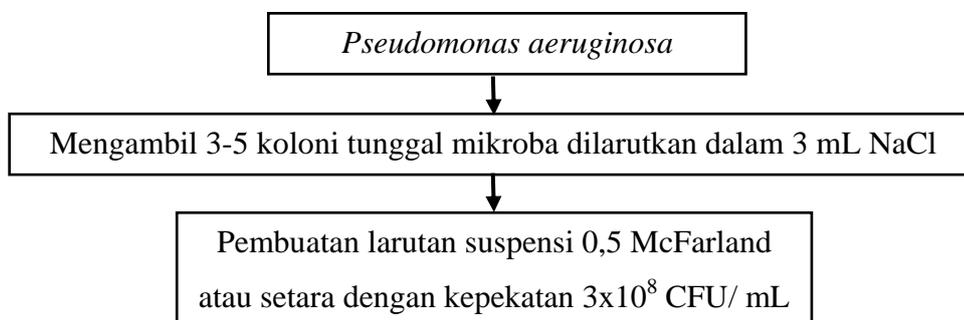
17) Absorbansi dihitung pada *plate reader* dengan panjang gelombang 595 nm.

3.6. Alur Penelitian

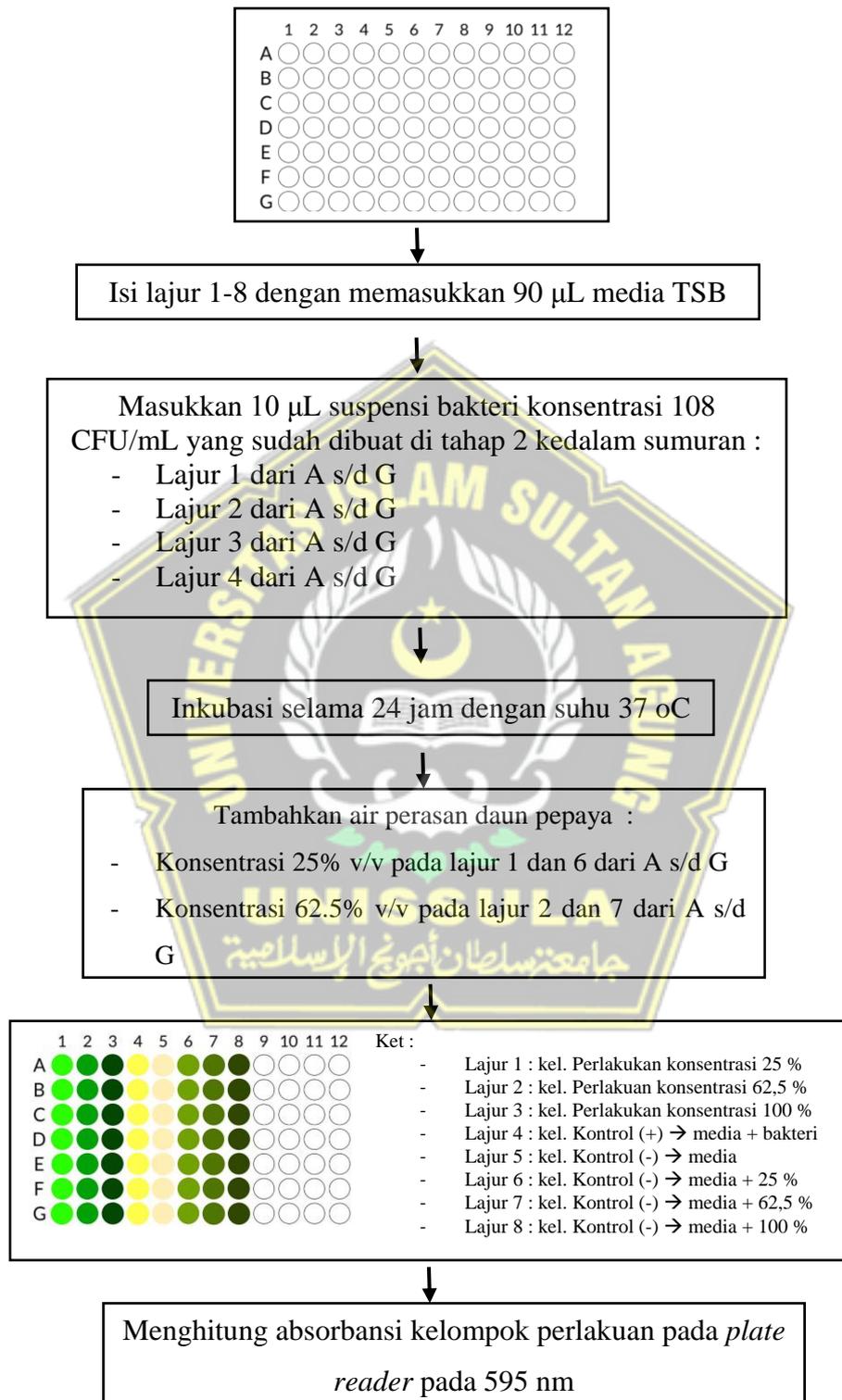
3.6.1. Tahap 1



3.6.2. Tahap 2



3.6.3. Tahap 3



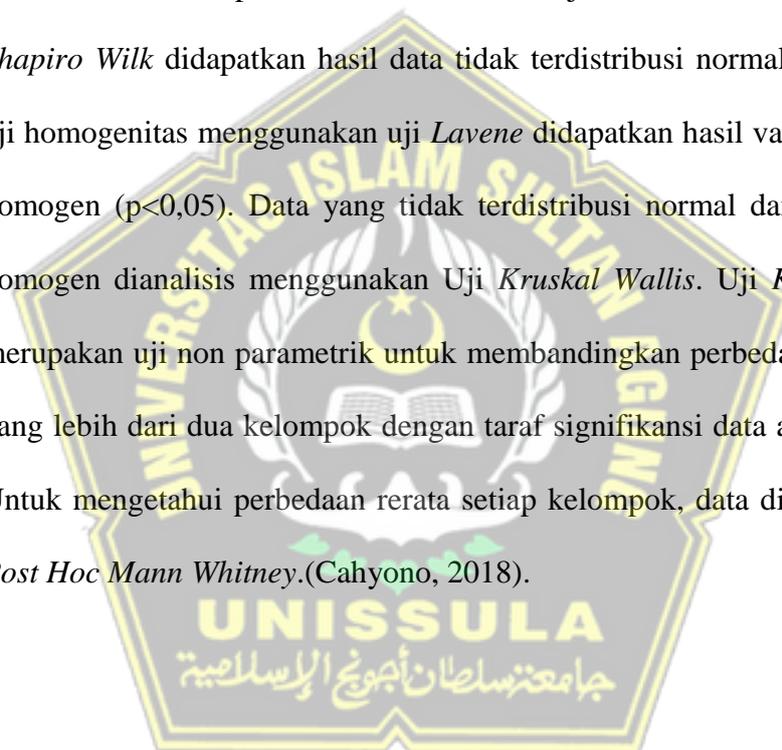
Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2024, yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.8. Analisis Hasil

Analisis data hasil penelitian menggunakan aplikasi *SPSS for windows* versi 25. Data dari penelitian ini dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* didapatkan hasil data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene* didapatkan hasil varian data tidak homogen ($p < 0,05$). Data yang tidak terdistribusi normal dan varian tidak homogen dianalisis menggunakan Uji *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* merupakan uji non parametrik untuk membandingkan perbedaan rerata data yang lebih dari dua kelompok dengan taraf signifikansi data adalah $p < 0,05$. Untuk mengetahui perbedaan rerata setiap kelompok, data diuji dengan uji *Post Hoc Mann Whitney*. (Cahyono, 2018).



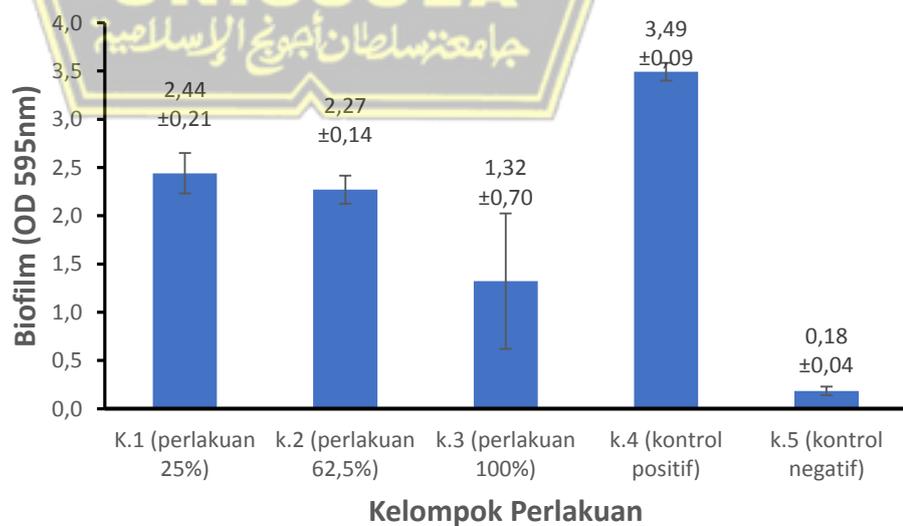
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Hasil penelitian dengan judul aktivitas air perasan daun pepaya pada biofilm *pseudomonas aeruginosa* dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi FK Unissula pada tanggal 3 April 2024. Penelitian ini menggunakan bakteri *pseudomonas aeruginosa* yang merupakan koleksi dari laboratorium mikrobiologi FK Unissula yang diambil dari isolat klinik pada pasien dengan ulkus diabetikum yang di rawat di RSI Sultan Agung Semarang.

Hasil *Optical Density* degradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diukur dengan *microplate reader* setelah diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil rerata nilai *Optical Density* dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Rerata Nilai OD

Hasil rerata nilai OD setelah kelompok perlakuan dikurangi oleh kelompok kontrol dengan masing-masing konsentrasi, didapatkan hasil rerata nilai OD kelompok 1(perlakuan 25% v/v) yaitu $2,44 \pm 0,21$, kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v) $2,27 \pm 0,14$, kelompok 3 (perlakuan 100% v/v) $1,32 \pm 0,70$, kelompok kontrol positif $3,49 \pm 0,70$, dan kelompok kontrol negatif $0,18 \pm 0,04$.

Tabel 4.1. Nilai Rerata *Optical Density*

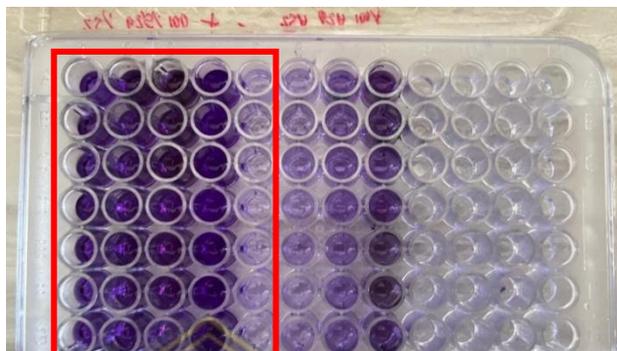
Kelompok	Rerata Nilai <i>Optical Density</i>
Perlakuan 25% v/v	2,44
Perlakuan 62,5% v/v	2,27
Perlakuan 100% v/v	1,32
Kontrol positif	3,49
Kontrol negatif	0,18

Dari hasil di atas diperoleh nilai standar deviasi kelompok kontrol negatif adalah 0,0438. Selanjutnya dihitung nilai ODc yaitu rerata OD kontrol negatif ditambah tiga kali standar deviasi kontrol negatif dan didapatkan nilai ODc adalah 0,3156. setelah menghitung nilai ODc, kemudian dihitung nilai uji biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan cara rerata kontrol positif dibagi ODc dan didapatkan nilai 11,0643. Nilai uji biofilm menunjukkan bahwa bakteri uji memiliki kemampuan membentuk biofilm. Kekuatan bakteri uji dalam membentuk biofilm termasuk kategori pembentuk biofilm kuat karena memenuhi rerata nilai OD $> 4 \times ODc$.

Daun pepaya (*Carica Papaya L*) diperoleh dari daerah Desa Kalongan, Kecamatan Ungaran Timur, Kabupaten Semarang. Daun pepaya yang telah dipetik dibersihkan, dicuci, dan di keringkan dengan cara di

angin anginkan. Setelah dibersihkan, daun pepaya dihaluskan dengan menggunakan juicer untuk diambil sarinya. Sari daun pepaya diencerkan dengan menggunakan pelarut air dengan variasi konsentrasi 25 % v/v, 62.5% v/v dan 100% v/v (80 μ L). Dalam penelitian ini terdapat 8 kelompok yang dibagi menjadi kelompok 1 (perlakuan 25% v/v), kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v), kelompok 3 (perlakuan 100% v/v), kelompok 4 kontrol positif (media dan suspensi bakteri), kelompok 5 kontrol negatif (media), kelompok 6 (kontrol negatif 25% v/v), kelompok 7 (kontrol negatif 62,5% v/v), dan kelompok 8 (kontrol negatif 100% v/v) dengan tujuh kali pengulangan pada masing-masing kelompok. Pada Kelompok 1 (perlakuan 25% v/v), kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v), kelompok 3 (perlakuan 100% v/v) dan kelompok 4 (kontrol positif) merupakan kelompok yang diberikan 90 μ L media cair dan 10 μ L suspensi bakteri, kelompok 5 (kontrol negatif), kelompok 6 (kontrol negatif 25% v/v), kelompok 7 (kontrol negatif 62,5% v/v), dan kelompok 8 (kontrol negatif 100% v/v) diberikan 90 μ L media cair ke dalam tiap sumuran *microtiter 96 wells plates* yang diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah dilakukan inkubasi, kelompok 1 (perlakuan 25% v/v), kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v), kelompok 3 (perlakuan 100% v/v), kelompok 6 (kontrol negatif 25% v/v), kelompok 7 (kontrol negatif 62,5% v/v), dan kelompok 8 (kontrol negatif 100% v/v) diberikan 80 μ L air perasan daun pepaya dengan variasi konsentrasi 25 % v/v, 62.5% v/v dan 100% v/v yang diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 45 menit. Kemudian, pelat mikrotiter dicuci dengan 200 μ L PBS, diberikan 125

μL larutan kristal violet 0.1% diinkubasi 15 menit, 125 μL etanol absolut etanol absolut diinkubasi 15 menit.



Gambar 4.2 *Microtiter 96 Wells Plates*. Garis merah menunjukkan kelompok yang dianalisis.

Setelah selesai perlakuan, *Optical Density* dihitung pada *plate reader* dengan panjang gelombang 595 nm. Nilai OD pada kelompok 1 (perlakuan 25% v/v) dikurangi kelompok 6 (kontrol negatif 25% v/v), kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v) dikurangi kelompok 7 (kontrol negatif 62,5% v/v), dan kelompok 3 (perlakuan 100% v/v) dikurangi kelompok 8 (kontrol negatif 100% v/v). Setelah dilakukan pengurangan, tersisa lima kelompok yang akan dianalisis yaitu kelompok 1 (perlakuan 25% v/v), kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v), kelompok 3 (perlakuan 100% v/v), kelompok 4 kontrol positif (media dan suspensi bakteri), kelompok 5 kontrol negatif (media). Hasil dari perhitungan *Optical Density* kemudian dianalisa normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene's Test*. Dari hasil analisis didapatkan bahwa data tidak terdistribusi normal dan varian data tidak homogen ($p < 0,05$), maka data dianalisis menggunakan uji statistik nonparametrik yaitu uji *Kruskal-*

Wallis. Hasil uji *Kruskal-Wallis* bernilai signifikan pada semua variabel karena nilai $p=0,000$ ($p < 0,05$), memiliki arti bahwa H_0 ditolak, H_1 diterima, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rerata nilai OD atau paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai rerata nilai OD berbeda secara signifikan. Penelitian ini memperlihatkan hasil seperti yang terlihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji *Kruskal-Wallis*

Uji	Kelompok					P-Value
	K.1 (perlakuan 25% v/v)	K.2 (perlakuan 62,5% v/v)	K.3 (perlakuan 100% v/v)	K.4 (kontrol positif)	K.5 (kontrol negatif)	
<i>Shapiro-wilk</i>	0,487	0,455	0,642	0,143	0,041*	
<i>Lavene test</i>						0,001 ⁺
<i>Kruskal-wallis</i>						0,000 [^]

Keterangan: Tanda* menunjukkan distribusi data tidak normal ($p < 0,05$).
Tanda⁺ menunjukkan variasi data tidak homogen ($p < 0,05$).
Tanda[^] menunjukkan perbedaan signifikan untuk uji *kruskal-wallis* ($p < 0,05$).

Kebermaknaan perbedaan rerata nilai OD antar dua kelompok dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, sebagaimana ditampilkan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Hasil Uji *Mann-Whitney*

	Mann whitney				
	Perlakuan 25% v/v	Perlakuan 62,5% v/v	Perlakuan 100% v/v	Kontrol positif	Kontrol negatif
Perlakuan 25% v/v		0.110	0.002*	0.002*	0.002*
Perlakuan 62,5% v/v			0.003*	0.002*	0.002*
Perlakuan 100% v/v				0.002*	0.025*
Kontrol positif					0.002*
Kontrol negatif					

Keterangan : tanda * menunjukkan perbedaan yang signifikan

Dilihat dari hasil uji *Mann-Whitney* pada kelompok 1 (perlakuan 25% v/v), kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v), dan kelompok 3 (perlakuan 100% v/v) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi 25% v/v, 62,5% v/v, dan 100% v/v dapat mendegradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Dilihat dari nilai rata-rata semakin tinggi konsentrasi rata-rata nilai OD semakin berbeda. Rata-rata nilai OD yang paling kecil pada konsentrasi 100% v/v. Diantara kelompok 1 (perlakuan 25% v/v), kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v), dan kelompok 3 (perlakuan 100% v/v) bisa dilihat konsentrasi terkecil yang dapat mendegradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ada pada kelompok 1 (perlakuan 25% v/v). Pada hasil uji *Mann-Whitney* untuk kelompok 1 (perlakuan 25% v/v) dan kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v) berbeda signifikan dengan kelompok 3 (perlakuan 100% v/v), tetapi kelompok 1 (perlakuan 25% v/v) tidak berbeda signifikan dengan kelompok 2 (perlakuan 62,5% v/v).

4.2. Pembahasan

Kemampuan degradasi suatu senyawa dalam mengurangi biofilm berkaitan dengan kemampuannya untuk menembus lapisan *Extracellular Polymeric Substance* (EPS) atau lapisan lendir yang melapisi bakteri dalam biofilm yang terbentuk. Selain itu, kemampuan senyawa dalam mengurangi biofilm melibatkan penghapusan EPS yang terdapat dalam biofilm yang sudah terbentuk (Ardani M, Pratiwi, SUT, 2015). Enzim menghapus biofilm dengan cara menghancurkan EPS dengan melemahkan struktur protein,

karbohidrat, dan lemak. Batang, daun, dan buah yang mengeluarkan getah berwarna putih yang mengandung enzim proteolitik yang disebut papain. Papain adalah jenis enzim proteolitik yang mampu mengurai dan memecah protein dalam (Hutabarat, Rachmawati and Pinandoyo, 2015). Enzim ini dalam daun pepaya diyakini memiliki peran penting dalam proses degradasi lapisan EPS pada biofilm yang terbentuk. Daun pepaya juga mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibiofilm. Gugus hidroksil yang ada dalam struktur flavonoid berinteraksi dengan protein melalui ikatan hidrogen, membentuk senyawa kompleks yang mengubah struktur protein dan asam nukleat. Perubahan ini dapat mengakibatkan denaturasi protein penyusun EPS. Oleh karena itu, daun pepaya dianggap sebagai pilihan terbaik sebagai agen antibiofilm karena kemampuannya dalam mendegradasi biofilm (Sabir, 2017).

Uji degradasi biofilm bertujuan untuk mengetahui kemampuan air perasan daun pepaya dalam mendegradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah terbentuk. Waktu kontak air perasan daun pepaya dan bakteri uji dilakukan selama 45 menit sesuai dengan penelitian (Kining, Falah and Nurhidayat, 2017) yang menyatakan bahwa waktu kontak terbaik air perasan daun pepaya dalam mendegradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* selama 45 menit. Penelitian lainnya (Alvita, Falah and Nurhidayat, 2017) juga menyatakan waktu kontak terbaik air perasan daun pepaya untuk mendegradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* selama 45 menit.

Berdasarkan hasil uji degradasi biofilm, semua konsentrasi air perasan daun pepaya berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Hal tersebut membuktikan bahwa konsentrasi 25% v/v, 62,5% v/v, dan 100% v/v dapat mendegradasi biofilm bakteri uji yang dapat dilihat dari hasil rata-rata nilai OD tiap konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi air perasan daun pepaya rata-rata nilai OD semakin berbeda, konsentrasi 100% v/v memiliki rata-rata nilai OD paling kecil (1,3237) diantara konsentrasi yang lain. Diantara konsentrasi 25% v/v, 62,5% v/v, dan 100% v/v konsentrasi terkecil yang dapat mendegradasi biofilm bakteri uji adalah konsentrasi 25% v/v. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil uji yang menyatakan bahwa kelompok 1 (konsentrasi 25% v/v) dan kelompok 2 (konsentrasi 62,5% v/v) berbeda signifikan dengan kelompok 3 (konsentrasi 100% v/v). tetapi kelompok 1 (konsentrasi 25% v/v) tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok 2 (konsentrasi 62,5% v/v), sehingga konsentrasi 25% v/v yang lebih kecil dari konsentrasi 62,5% v/v memiliki daya yang sama untuk mendegradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Pada penelitian ini, peneliti belum bisa melihat adanya daya degradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi dibawah 25% v/v dan belum bisa menghilangkan kadar klorofil pada air perasan daun pepaya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian terkait aktivitas air perasan daun pepaya (*Carica papaya L.*) pada biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Air perasan daun pepaya mampu mendegradasi biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Air perasan daun pepaya dengan konsentrasi 25% v/v memiliki efek degradasi terhadap biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
3. Air perasan daun pepaya dengan konsentrasi 62,5% v/v memiliki efek degradasi terhadap biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
4. Air perasan daun pepaya dengan konsentrasi 100% v/v memiliki efek degradasi terhadap biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

5.2. Saran

Berikut kesalahan peneliti dan saran untuk melakukan penelitian selanjutnya seperti berikut :

1. Penelitian lebih lanjut diharapkan mampu menghilangkan klorofil pada air perasan daun pepaya agar tidak mempengaruhi hasil perhitungan nilai OD.

2. Penelitian lebih lanjut diharapkan dapat menambahkan konsentrasi dibawah 25% v/v untuk mengetahui daya degradasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa*



DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, R., Yenti, R. and Meustika, D. (2015) 'Uji Aktifitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Mencit Putih Jantan yang di Induksi Asam Asetat 1%', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 1(1), p. 54. doi: 10.29208/jsfk.2014.1.1.12.
- Agustina, A. (2019) 'Pengaruh Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Peningkatan Trombosit pada Pasien Demam Berdarah Dengue', *Jurnal Dunia Farmasi*, 4(1), pp. 34–44. doi: 10.33085/jdf.v4i1.4573.
- Alvita, L. R., Falah, S. and Nurhidayat, N. (2017) 'Water Extract Activity of Papaya Leaf as Antibiofilm against *Escherichia coli*', *Current Biochemistry*, 2(3), pp. 164–175. doi: 10.29244/cb.2.3.164-175.
- Ardani M, Pratiwi, SUT, H. T. (2015) 'Efek campuran minyak atsiri daun cengkeh dan kulit batang kayu manis sebagai antiplak gigi', *Majalah Farmasi Indonesia*, pp. 21(3): 191-200.
- Ardani, M. *et al.* (2014) 'Efek campuran minyak atsiri daun cengkeh dan kulit batang kayu manis sebagai antiplak gigi Effect of cengkeh leaves and kayu manis cortex essential oils blend as anti dental plaque', *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(213), pp. 191–201.
- Brooks, G. F. *et al.* (2014) *Jawetz, Melnick, & Adelbergs's Medical Microbiology*. Edited by H. Eddy Mudihardi. Jakarta: Jakarta : Salemba Medika, 2014.
- Cahyono, T. (2018) *Statistika Terapan & Indikator Kesehatan*. Sleman: Deepublish Publisher.
- Cosmo Andrade, J. *et al.* (2019) 'Control of bacterial and fungal biofilms by natural products of *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae)', *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 65(March), pp. 226–233. doi: 10.1016/j.cimid.2019.06.006.
- Fathima, R. (2020) 'Uji Aktivitas Antibiofilm Minyak Atsiri biji Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L) Gayo Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.ETD Unsyiah.', *Uji Aktivitas Antibiofilm Minyak Atsiri biji Kopi Arabika (Coffea Arabica L) Gayo Terhadap Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.ETD Unsyiah*.
- Hutabarat, G. M., Rachmawati, D. and Pinandoyo (2015) 'PERFORMA PERTUMBUHAN BENIH LOBSTER AIR TAWAR (*Cherax quadricarinatus*) MELALUI PENAMBAHAN ENZIM PAPAIN DALAM PAKAN BUATAN', *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 4(1), pp. 10–18.

- Kamal, S. M. *et al.* (2021) 'Horizontal Transmission of Stress Resistance Genes Shape the Ecology of Beta- and Gamma-Proteobacteria', *Frontiers in Microbiology*, 12(July). doi: 10.3389/fmicb.2021.696522.
- Karatan, E. and Watnick, P. (2014) 'Signals, Regulatory Networks, and Materials That Build and Break Bacterial Biofilms', *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 73(2), pp. 310–347. doi: 10.1128/mubr.00041-08.
- Kining, E., Falah, S. and Nurhidayat, N. (2017) 'The *In Vitro* Antibiofilm Activity of Water Leaf Extract of Papaya (*Carica papaya* L.) against *Pseudomonas aeruginosa*', *Current Biochemistry*, 2(3), pp. 150–163. doi: 10.29244/cb.2.3.150-163.
- Lee, J. H. *et al.* (2013) 'Anti-biofilm activities of quercetin and tannic acid against *Staphylococcus aureus*', *Biofouling*, 29(5), pp. 491–499. doi: 10.1080/08927014.2013.788692.
- Lee, Y. *et al.* (2018) 'Substrate binding protein DppA1 of ABC transporter DppBCDF increases biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* by inhibiting Pf5 prophage lysis', *Frontiers in Microbiology*, 9(JAN), pp. 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2018.00030.
- Lisa (2015) *Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (Carica Papaya L.) Dalam Menghambat Laju Korosi Kawat Ortodonti Berbahan Stainless Steel*. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Milanda, T., Mustikawati, S. and Yohana Chaerunisaa, A. (2021) 'Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Kulit Batang Trengguli (*Cassia fistula* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes* Isolat Klinis dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dalam Sediaan Salep', *Journal of The Indonesian Society of Integrated Chemistry*, 13(1), pp. 1–13. doi: 10.22437/jisic.v13i1.13049.
- Milind, P. (2016) 'Basketful Benefits of Papaya', *Irjp*, 2(7), pp. 6–12. Available at: <http://www.irjponline.com>.
- Paraje, M. G. (2013) 'Antimicrobial Resistance in Biofilm. Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances', *Formatex*, pp. 736–744.
- Prihatini, I. and Dewi, R. K. (2021) 'Kandungan Enzim Papain pada Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Metabolisme Tubuh', *Jurnal Tadris IPA Indonesia*, 1(3), pp. 449–458. doi: 10.21154/jtii.v1i3.312.
- Putra, W. S. (2016) *Kitab Herbal Nusantara: Aneka Resep dan Ramuan Tanaman Obat Untuk Berbagai Gangguan Kesehatan*. Cet.2. Yogyakarta: Yogyakarta Kata Hati.

- Rahayu, S. and Tjitraesmi, A. (2016) 'Review Artikel: Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Manfaatnya dalam Pengobatan', *Jurnal Farmaka*, 14(1), pp. 1–17.
- Rasyid, R. (2013) 'Karakteristik kuman MDR-Pseudomonas aeruginosa penyebab infeksi nosokomial dengan menggunakan pulsed field gel electrophoresis (PFGE).', *Program Hibah Kompetisi Peningkatan Kualitas Pendidikan Dokter (PHK PKPD). Universitas Andalas*.
- Risnawati, M. and Cahyaningrum, S. E. (2013) 'THE ADDITION EFFECT OF THE METAL IONS Ca²⁺ ON THE PAPAIN ACTIVITIES', *UNESA Journal of Chemistry*, 2(1), pp. 76–83.
- Sabir (2017) 'Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp. Terhadap Bakteri Streptococcus mutans (In-Vitro)', *Jurnal Kedokteran Gigi*, p. 38 (3):135.
- Soedarto (2015) *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: CV Sagung Seto.
- Soekiman, S. (2016) *Infeksi Nosokomial Di Rumah Sakit*. Jakarta: Sagung Seto.
- Suresh, K. *et al.* (2015) 'Antimicrobial and Phytochemical Investigation of the Leaves of *Carica papaya* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Euphorbia hirta* L., *Melia azedarach* L. and *Psidium guajava* L.', *Ethnobotanical Leaflets*, 12, pp. 1184–91.
- Todar, K. (2012) *Textbook of bacteriology: Pseudomonas aeruginosa*.
- Todar, K. (2013) *Textbook of Bacteriology: Pseudomonas aeruginosa*. University of Wisconsin. Madison Department of Bacteriology. USA.
- Vasudevan, R. (2014) 'Biofilms: Microbial Cities of Scientific Significance', *Journal of Microbiology & Experimentation*, 1(3), pp. 84–98. doi: 10.15406/jmen.2014.01.00014.
- Viju, N., Satheesh, S. and Vincent, S. G. P. (2013) 'Antibiofilm activity of coconut (*Cocos nucifera* Linn.) husk fibre extract', *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(1), pp. 85–91. doi: 10.1016/j.sjbs.2012.11.002.
- Wahyudi, D. *et al.* (2019) 'Differences among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in their capability of forming biofilms and their susceptibility to antibiotics', *Biodiversitas*, 20(5), pp. 1450–1456. doi: 10.13057/biodiv/d200538.
- Yogiraj, V. *et al.* (2014) 'Carica papaya Linn: an overview.', *International Journal of Herbal Medicine*, 2(5 Part A), pp. 1–8.