

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI ALAMI EKSTRAK FENOLIK BIJI PEPAYA

Ivonne Christalina, Tiatira Erlona Susanto, Aning Ayucitra*, Setiyadi
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya, Indonesia

ABSTRAK

Kondisi kota-kota besar sangat rawan menebarkan bibit-bibit penyakit atau gangguan pada kesehatan. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya penyakit degeneratif antara lain kanker, aterosklerosis, stroke, rematik dan jantung. Upaya untuk mencegah atau mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aktivitas radikal bebas adalah dengan mengkonsumsi makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan. Pencarian sumber antioksidan alami sangat dibutuhkan untuk menggantikan peran antioksidan sintetis. Biji pepaya mengandung antioksidan yang berfungsi sebagai antioksidan alami.

Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh suhu dan waktu ekstraksi, serta rasio solid/liquid terhadap TPC (Total Phenolic Content), aktivitas antioksidan dan kemampuan antibakteri dari ekstrak biji pepaya. Biji pepaya mengandung senyawa fenolik yang dapat berperan sebagai antioksidan dan antibakteri. Mula-mula biji pepaya dikeringkan di dalam oven untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam biji pepaya. Biji pepaya kemudian dihancurkan sehingga ukurannya berkisar antara -40/+60 mesh, lalu diekstrak dengan pelarut etanol 75%. Proses ekstraksi dilakukan pada berbagai variasi suhu, waktu ekstraksi, serta rasio solid/liquid. Setelah didapatkan ekstrak biji pepaya, ekstrak dianalisa dengan metode Folin Ciocalteu untuk mengetahui TPC dalam biji pepaya dan dengan metode DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak biji pepaya. Aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya dilakukan dengan metode kertas cakram menggunakan bakteri *Escherichia coli* (gram negatif) dan *Bacillus thuringiensis* (gram positif).

Dari hasil penelitian didapatkan hasil TPC terbesar, yaitu 0,3471 mg GAE/mL, pada proses ekstraksi dengan rasio solid/liquid 1:10, suhu 60°C, selama 105 menit; sedangkan pada proses ekstraksi dengan rasio solid/liquid 1:20 didapatkan TPC tertinggi yaitu 0,1965 mg GAE/mL pada suhu 60°C selama 60 menit. Kedua ekstrak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri meski perbedaan diameter zona hambatnya tidak signifikan.

Kata kunci : biji pepaya, ekstraksi, fenolik, antioksidan alami, antibakteri, uji TPC

I. Pendahuluan

Kondisi kota-kota besar sangat rawan menebarkan bibit-bibit penyakit atau gangguan pada kesehatan. Polusi dari kendaraan bermotor, industri, asap rokok, pendingin ruangan, dan makanan yang tidak sehat, merupakan sumber radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh manusia^[1]. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya penyakit degeneratif antara lain kanker, aterosklerosis, stroke, rematik dan jantung. Upaya untuk mencegah atau mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aktivitas radikal bebas adalah dengan mengkonsumsi makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas stabil dan tidak reaktif. Berdasarkan sumbernya, secara umum antioksidan digolongkan dalam dua jenis, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami.

Keuntungan menggunakan antioksidan sintetis adalah aktivitas anti radikalnya yang sangat kuat, namun ternyata terdapat kekurangannya. Antioksidan sintetis BHA dan BHT berpotensi karsinogenik. Untuk itu pencarian sumber antioksidan alami sangat

dibutuhkan untuk menggantikan peran antioksidan sintetis. Antioksidan alami sebenarnya telah lama digunakan secara turun temurun, namun belum banyak diteliti aktivitas dan kandungan bioaktifnya^[2].

Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan, seperti senyawa fenolik, memiliki gugus hidroksil pada struktur molekulnya. Senyawa fenolik dengan gugus hidroksil mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas, dan apabila gugus hidroksil lebih dari pada satu, maka aktivitas antioksidannya akan meningkat^[3].

Berdasarkan hasil analisis fitokimia, ekstrak biji pepaya memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, *arthaquinones*, dan *anthocyanosides*. Dengan adanya kandungan tersebut, biji pepaya ini mempunyai efek hipolipidemia dan antioksidan dalam darah sehingga secara signifikan dapat menurunkan kadar kolesterol dan LDL (lipoprotein densitas rendah), serta meningkatkan kadar HDL^[4].

Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antibakteri termasuk dalam golongan senyawa fenol, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, dan alkaloid. Aktivitas antibakteri masing-masing golongan senyawa tersebut berbeda-beda. Tanin terkondensasi

*corresponding author

E-mail : aayucitra@yahoo.com (Aning Ayucitra)

mempunyai aktivitas antibakteri karena dapat mengikat dinding sel bakteri, menghambat pertumbuhan dan aktivitas protease. Alkaloid juga mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut^[5]. Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan hancurnya bakteri^[6].

Penelitian terkait ekstraksi biji pepaya sebagai sumber antioksidan alami telah dilakukan. Zhou dkk.^[7] mempelajari proses ekstraksi biji pepaya dengan berbagai jenis pelarut seperti n-butanol, etil asetat, etanol, dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan yang diuji dengan beragam metode. Dalam penelitian ini, jenis pelarut yang digunakan difokuskan pada pelarut etanol yang diharapkan dapat mengekstrak senyawa fenolik yang bersifat polar maupun nonpolar. Pelarut etanol juga relatif lebih aman untuk kesehatan dan aplikasinya dalam produk makanan. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh suhu, waktu ekstraksi, dan rasio solid/liquid terhadap kandungan total fenolik (TPC), aktivitas antioksidan, dan aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya.

II. Tinjauan Pustaka

II.1. Biji Pepaya (*Carica papaya L.*)

Salah satu sumber antioksidan alami dapat ditemukan pada tanaman pepaya (*Carica papaya L.*), khususnya biji pepaya. Pepaya banyak dijumpai di Indonesia karena pepaya sangat mudah tumbuh dimana saja. Pemanfaatan biji pepaya sebagai sumber antioksidan alami perlu untuk diteliti mengingat jumlah produksi tanaman pepaya di Indonesia pada tahun 2010 sekitar 675.801 ton, sedangkan pada tahun 2011 mencapai 958.251 ton^[8].

II.2. Senyawa Aktif Biji Pepaya

Biji pepaya terbukti secara signifikan dapat menurunkan kadar kolesterol dan LDL serta meningkatkan kadar HDL yang bermanfaat bagi orang dengan konsumsi jus biji buah pepaya karena berdasarkan analisis fitokimia, ekstrak biji pepaya ini menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, *anthraquinones* dan *anthocyanosides*. Dengan adanya kandungan ekstrak tersebut, biji buah pepaya mempunyai

efek hipolipidemia dan antioksidan^[9]. Biji pepaya segar yang dikeringkan dan dihaluskan kemudian diekstraksi dengan metode ekstraksi pelarut n-heksana didapatkan kualitas antioksidan triterpenoid.

II.3. Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Fenolik memiliki cincin aromatik satu atau lebih gugus hidroksi (OH) dan gugus-gugus lain penyertainya. Senyawa ini diberi nama berdasarkan nama senyawa induknya, fenol. Senyawa fenol kebanyakan memiliki gugus hidroksil lebih dari satu sehingga disebut polifenol.

Senyawa fenolik dari tumbuhan meliputi aneka ragam senyawa yang mempunyai ciri sama, yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus OH. Senyawa fenolik di alam terdapat sangat luas, mempunyai variasi struktur yang luas, mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Senyawa fenolik merupakan contoh ideal dari senyawa yang mudah mendonorkan atom H^[10].

Pada industri makanan dan minuman, senyawa fenolik berperan dalam memberikan aroma yang khas pada produk makanan dan minuman, sebagai zat pewarna makanan dan minuman, dan sebagai antioksidan. Pada industri farmasi dan kesehatan, senyawa ini banyak digunakan sebagai antioksidan, antimikroba, antikanker dan lain-lain, contohnya obat antikanker (podofilotoksan), antimalaria (kuinina) dan obat demam (aspirin). Selain itu, senyawa fenolik sangat penting untuk pertumbuhan dan reproduksi tanaman, dimana diproduksi sebagai respon untuk mempertahankan tanaman dari serangan terhadap patogen^[11].

Analisa TPC dilakukan dengan reagen Folin-Ciocalteu yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal. Reagen *Folin-Ciocalteu* terbuat dari campuran *phosphowolframic acid* (HPW₁₂O₄₀) dan *phosphomolibdic acid* (H₃PMo₁₂O₄₀) dimana, setelah mengoksidasi senyawa fenol, kedua senyawa ini akan tereduksi menjadi (W₈O₂₃) dan *molybdenum oxides* (Mo₈O₂₃) yang menghasilkan kompleks warna biru. Kadar TPC pada ekstrak biji pepaya dinyatakan sebagai Ekuivalen Asam Galat (GAE). GAE digunakan sebagai acuan untuk mengukur jumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan^[12]. Asam galat ini banyak digunakan sebagai standar karena stabil dan dapat diperoleh dalam

bentuk yang murni, serta harganya yang murah dibandingkan dengan jenis senyawa standar yang lain^[13].

II.4. Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat atau mencegah proses oksidasi lipid. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan dari berbagai ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya pada produk pangan karena oksidasi. Antioksidan terdiri dari dua macam, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami^[14].

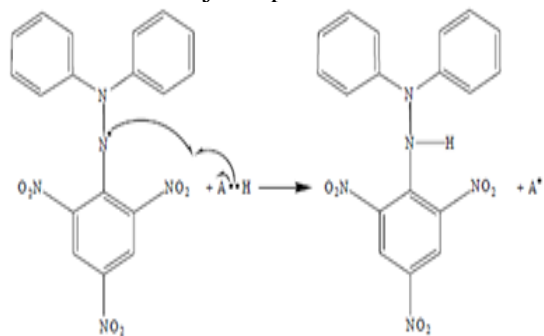
Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, dan katekin. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini bersifat multifungsional dan dapat beraksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pembentuk kompleks logam, dan peredam terbentuknya oksidasi^[15].

Kemampuan bertahan antioksidan terhadap proses pengolahan sangat diperlukan untuk dapat melindungi produk akhir. Antioksidan juga memiliki keterbatasan-keterbatasan yang meliputi: antioksidan tidak dapat memperbaiki rasa lipida yang berkualitas rendah, antioksidan tidak dapat memperbaiki lipida yang sudah tengik, dan antioksidan tidak dapat mencegah kerusakan akibat hidrolisis maupun mikroba^[15].

Aktivitas antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Aktivitas (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hydrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Penambahan antioksidan primer (AH) dengan

konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap insiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru^[16].

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode pengurangan radikal bebas (*free radical*) DPPH (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa selain itu metode ini terbukti akurat, reliable dan praktis. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi^[17]. Mekanisme reaksi metode DPPH disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme Reaksi Metode DPPH^[18]

II.5. Aktivitas Antibakteri

Biji pepaya juga mempunyai daya antiseptik terhadap bakteri penyebab diare, yaitu *Escherichia coli* dan *Vibrio cholera*^[19].

II.6. Ekstraksi Pelarut

Ekstraksi merupakan proses pemisahan berdasarkan perbedaan kemampuan melarutnya komponen-komponen yang ada dalam campuran^[19]. Ekstraksi secara garis besar dibagi menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair adalah

proses pemisahan solut dari padatan yang tidak dapat larut (inert). Mekanisme yang berlangsung selama proses ekstraksi padat-cair dapat diuraikan sebagai berikut^[20]:

- a. Pelarut bercampur dengan padatan inert sehingga permukaan padatan dilapisi oleh pelarut.
- b. Terjadi difusi massa pelarut pada permukaan padatan inert ke dalam pori padatan inert tersebut. Laju difusi ini tergolong lambat karena pelarut harus menembus dinding sel padatan.
- c. Solut yang terdapat dalam padatan larut dalam pelarut.
- d. Campuran solut dalam pelarut berdifusi keluar dari permukaan padatan inert dan bercampur dengan pelarut sisa.

Umumnya dalam ekstraksi ini solut yang terdapat dalam padatan tidak mungkin seluruhnya terekstrak. Hal ini disebabkan oleh adanya kesetimbangan yang terjadi antara ekstrak yang telah terlarut dengan ekstrak yang masih tertinggal dalam padatan, sehingga larutan menjadi jenuh dan sudah tidak dapat mengekstrak lagi^[21].

Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah sebagai berikut:

1. Ukuran Partikel

Semakin kecil ukuran partikel berarti semakin besar luas permukaan kontak antara padatan dan pelarut dan semakin pendek jarak difusi solut sehingga kecepatan ekstraksi lebih besar^[22]. Proses penghalusan biji pepaya menjadi -40/+60 mesh bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga akan berpengaruh pada bertambahnya kecepatan ekstraksi.

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sebaiknya memiliki sifat-sifat sebagai berikut^[22]:

- Mampu memberikan kemurnian solut yang tinggi (selektivitas tinggi).
- Stabil tetapi inert.
- Mempunyai viskositas, tekanan uap, dan titik beku yang rendah untuk memudahkan operasi dan keamanan penyimpanan.
- Tidak beracun dan tidak mudah terbakar.
- Tidak merugikan dari segi ekonomis dan tetap memberikan hasil yang baik.

Dalam percobaan ini digunakan pelarut etanol 75% berat karena memberikan hasil ekstrak yang optimal.

3. Temperatur^[23]

Kelarutan dari material yang diekstraksi akan bertambah dengan meningkatnya suhu.

Selain itu, koefisien difusivitas juga semakin meningkat sehingga meningkatkan laju reaksi. Temperatur pada ekstraksi fenolik dari biji pepaya ini dilakukan pada variasi suhu antara 30, 45 dan 60°C. Hal ini bertujuan agar mengurangi jumlah pelarut yang teruapkan pada proses ekstraksi, juga menjaga agar kandungan fenolik dan aktioksidan dalam ekstrak tidak rusak.

4. Agitasi^[23]

Adanya pengadukan dalam ekstraksi akan meningkatkan perpindahan solut dari permukaan partikel (padatan) ke cairan pelarut. Selain itu, pengadukan akan mencegah terjadinya pengendapan padatan.

5. Waktu ekstraksi

Ekstraksi memiliki waktu optimum, yaitu waktu dimana pelarut belum menjadi jenuh. Pelarut yang telah jenuh tidak dapat mengekstraksi lagi atau mengalami penurunan dalam kemampuannya untuk mengekstraksi karena gaya pendorong (driving force) semakin lama semakin kecil^[21]. Akibatnya waktu ekstraksi semakin lama dan TPC yang dihasilkan tidak lagi bertambah secara signifikan.

III. Metode Penelitian

III.1. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi limbah biji pepaya yang diperoleh dari pedagang rujak dan rumah tangga di Surabaya, etanol 75%, asam galat (Sigma Aldrich), reagen *Folin-Ciocalteu* (Merck), Natrium karbonat (Sigma Aldrich), DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*, Sigma Aldrich), *Nutrient Brooth* (NB), dan *Nutrient Agar* (NA). Bahan kimia yang dipergunakan diperoleh dari *supplier* dan langsung dipergunakan tanpa perlakuan awal.

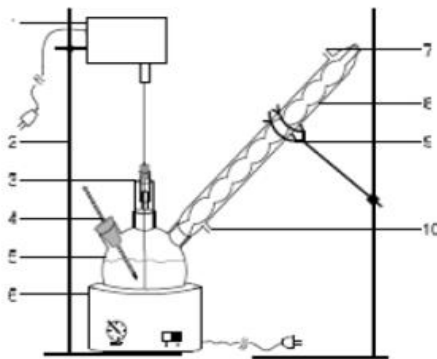
Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rangkaian alat ekstraksi (disajikan pada Gambar 2), *Moisture Analyzer* (MC Ohaus MB35 Halogen-Switzerland), oven vakum (Vacuum Lab-Line, USA), dan spektrofotometer (Shimadzu UV-VIS 1201).

III.2. Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini biji pepaya disiapkan untuk proses ekstraksi dengan pelarut etanol sehingga diperoleh ekstrak yang mengandung senyawa fenolik sebagai antioksidan alami. Prosedur penelitian dibagi menjadi empat tahap, yaitu: 1) persiapan serbuk biji pepaya, 2) proses ekstraksi serbuk biji pepaya, 3) penentuan TPC serta 4) uji aktivitas antibakteri dan uji aktivitas antioksidan dengan metode serapan radikal DPPH.

Pada tahap pertama yang merupakan tahap persiapan bahan baku, biji pepaya dikeringkan, kemudian dihancurkan menjadi serbuk. Biji pepaya dicuci terlebih dahulu dan di oven pada suhu 55°C selama 3 hari. Biji pepaya kering kemudian dihancurkan sampai berukuran - 40/+60 mesh dengan kadar air serbuk biji pepaya 5,2%. Penghancuran bertujuan untuk memperbesar luas permukaan kontak antara biji pepaya dengan pelarut pada proses ekstraksi.

Tahap kedua adalah proses ekstraksi serbuk biji pepaya dengan pelarut etanol 75% teknis karena etanol bersifat polar sehingga mampu mengekstrak fenolik yang terdapat dalam biji pepaya yang umumnya bersifat polar.



Keterangan :

1. Motor Pengaduk
2. Klem
3. Pengaduk merkuri
4. Termometer
6. Labu leher tiga
7. Jaket pemanas
8. Air pendingin keluar
9. *Bulb Condenser*
10. Statif
11. Air pendingin masuk

Gambar 2. Rangkaian Alat Ekstraksi

Berdasarkan penelitian terdahulu diketahui bahwa etanol 75% mampu menghasilkan TPC lebih besar dari kadar etanol yang lain. Volume pelarut yang digunakan sebanyak 100 mL dengan kecepatan pengadukan sebesar 350 rpm. Proses ekstraksi dilakukan dengan variasi solid/liquid 1:10 dan 1:20; variasi suhu 30,45,dan 60°C; dan waktu ekstraksi tiap 15 menit sampai konstan. Setelah proses ekstraksi dilakukan penyaringan dengan corong *Bunchner* sehingga didapatkan ekstrak fenolik dari biji pepaya berupa cairan.

Pada tahap ketiga, hasil ekstrak biji pepaya kemudian ditentukan TPC dengan metode Folin-Ciocalteu yang dinyatakan sebagai mg asam

galat (*Gallic Acid Equivalent/ GAE*) per mL ekstrak. Pertama-tama, dibuat larutan baku asam galat dengan konsentrasi 0,1; 0,08; 0,06; 0,04; 0,02 mg/mL. Masing-masing konsentrasi diambil 1 mL dan ditambahkan 7,5 mL reagen Folin dengan perbandingan 1:10 (w/v) dan diamkan selama 5 menit. Lalu ditambahkan 7,5 mL Natrium karbonat 6% pada masing-masing konsentrasi dan dibiarkan selama 90 menit pada suhu ruang. Larutan diukur pada panjang gelombang gelombang 753 nm menggunakan spektrofotometer. Rumus perhitungan TPC ekstrak disajikan pada persamaan 1.

$$TPC = c.n.V \dots\dots\dots (1)$$

dimana,

TPC = konsentrasi asam galat dalam ekstrak cair (mg GAE/mL ekstrak)

V = volume sampel (16 mL yang terdiri dari 1 mL sampel + 7,5 mL reagen Follin + 7,5 mL Na₂CO₃)

C = konsentrasi *gallic acid* dalam sampel spektrofotometer, mg GAE/mL

n = faktor pengenceran

Pada tahap selanjutnya, ekstrak dengan TPC terbesar dari tiap variasi rasio solid/liquid dianalisa aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan uji aktivitas antibakteri dengan metode kertas cakram. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* (gram negatif) dan *Bacillus thuringiensis* (gram positif) karena kandungan fenolik dalam biji pepaya mampu mengatasi bakteri yang bersifat gram positif maupun gram negatif. Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan di media *Nurient Brooth* (NB) steril yang kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°. Setelah didapatkan suspensi bakteri uji, diambil beberapa ose dan diinokulasikan secara aseptik ke medium *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Kertas cakram yang digunakan harus disterilkan terlebih dahulu dengan cara dikeringkan di dalam oven selama 24 jam yang selanjutnya dicelupkan ke larutan hasil ekstrak fenolik biji pepaya selama beberapa detik. Kertas cakram diletakkan pada permukaan media NA yang sudah ditumbuhi oleh bakteri dan diinkubasi kembali pada suhu ruang selama 24 jam.

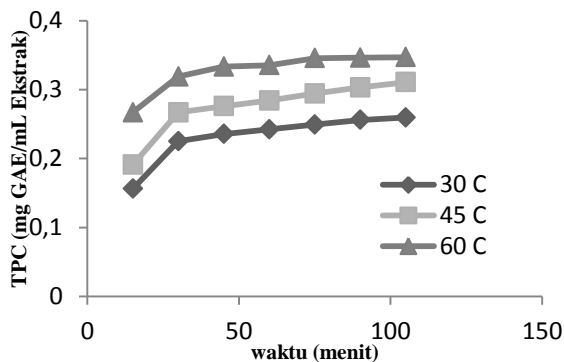
IV. Hasil Penelitian dan Pembahasan

IV.1. Kandungan Fenolik Total (TPC) Ekstrak Biji Pepaya

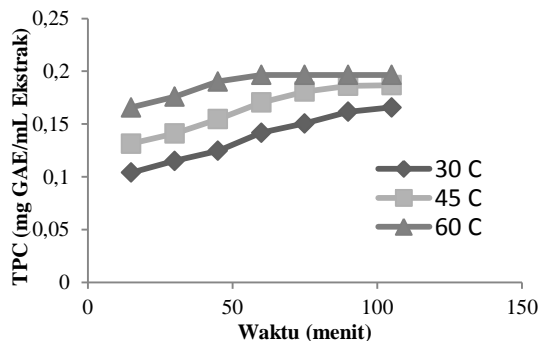
Pengaruh waktu dan suhu ekstraksi, serta rasio solid liquid terhadap TPC ekstrak biji

pepaya disajikan pada Gambar 3 (untuk rasio 1:10) dan pada Gambar 4 (untuk rasio 1:20).

Pada Gambar 3, untuk waktu ekstraksi sampai dengan 30 menit terjadi perpindahan massa fenolik dari biji pepaya ke pelarut etanol cukup besar. TPC meningkat tajam pada awal proses ekstraksi. Hal ini disebabkan karena pada awal proses ekstraksi, yaitu saat pertama kali biji pepaya dikontakkan dengan pelarut etanol, gradien konsentrasi antara fenolik dalam lapisan film di permukaan biji pepaya dengan fenolik dalam cairan masih besar.



Gambar 3. TPC dari Ekstrak Biji Pepaya pada Berbagai Variasi Suhu dan Waktu Ekstraksi dengan Rasio Solid/Liquid 1:10



Gambar 4. TPC dari Ekstrak Biji Pepaya pada Berbagai Variasi Suhu dan Waktu Ekstraksi dengan Rasio Solid/Liquid 1:20

Setelah 30 menit, semakin lama waktu ekstraksi TPC biji pepaya hanya mengalami sedikit peningkatan. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu ekstraksi, fenolik yang mengalami perpindahan massa dari padatan menuju cairan semakin sedikit. Konsentrasi fenolik di permukaan lapisan film biji pepaya menurun sedangkan konsentrasi fenolik di cairan meningkat, maka gradien konsentrasi menurun. Oleh karena itu, kecepatan fenolik yang terekstrak lebih rendah dibandingkan dengan saat awal ekstraksi.

Untuk waktu ekstraksi dan volume pelarut yang sama, proses ekstraksi dengan rasio solid/liquid 1:10 menghasilkan ekstrak dengan TPC yang lebih tinggi dibandingkan dengan rasio solid/liquid 1:20. Jumlah padatan biji pepaya yang digunakan pada rasio solid/liquid 1:10 lebih banyak daripada jumlah padatan pada rasio 1:20, sehingga fenolik yang terekstrak lebih banyak. Pada rasio 1:10, TPC cenderung hampir konstan setelah waktu ekstraksi selama 30 menit, hal ini terjadi karena konsentrasi larutan sudah mendekati titik *equilibrium* sehingga senyawa fenolik yang terdapat dalam permukaan biji pepaya menjadi sangat sulit dapat terekstrak lagi. Pada rasio 1:20, waktu yang dibutuhkan untuk mencapai titik *equilibrium* lebih lama. Hal ini dikarenakan konsentrasi fenolik dalam cairan menjadi sangat encer sehingga fenolik dalam biji pepaya lebih mudah keluar ke pelarut.

Gambar 3 dan 4 menunjukkan bahwa pada semua waktu ekstraksi, dalam kisaran 30°C hingga 60°C, mengalami TPC yang semakin meningkat seiring dengan kenaikan suhu ekstraksi. Semakin tinggi suhu, koefisien perpindahan massa semakin besar karena difusivitas semakin besar pula dan koefisien distribusi pada kesetimbangan fasa antara fenolik dalam cairan dengan fenolik dalam padatan semakin besar. Selain itu, semakin tinggi suhu kelarutan fenolik dalam cairan makin besar serta larutan semakin encer. Hal ini mengakibatkan laju difusi fenolik dalam biji pepaya menuju cairan semakin besar.

IV.2. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik Biji Pepaya

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan hasil ekstrak yang mengandung TPC terbesar dari tiap variasi rasio diambil 0,2 mL kemudian ditambah dengan 3,8 mL DPPH 50µM (sebagai sumber radikal bebas), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C atau suhu ruang selama 30 menit, lalu diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam % *scavenging activity* (SA). Perhitungan aktivitas antioksidan disajikan pada persamaan 2.

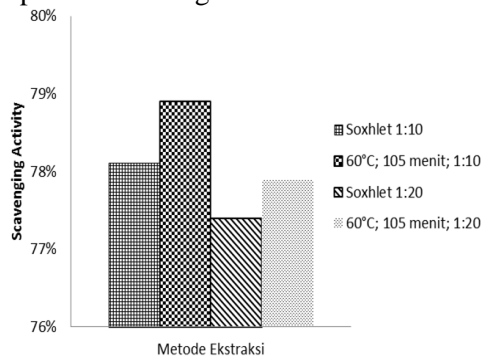
$$SA = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

Abs.kontrol = serapan radikal DPPH 50 µM pada panjang gelombang 515nm.

Abs.sampel = serapan sampel dalam radikal DPPH 50 µM pada panjang gelombang 515nm.

Besarnya daya tangkap radikal bebas terhadap antioksidan disajikan pada Gambar 5 dimana ekstraksi dengan metode soxhlet memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dari ekstraksi dengan metode ekstraksi pelarut. Proses ekstraksi dengan metode soxhlet dilakukan pada suhu yang mendekati titik didih etanol, yaitu sebesar $\pm 78^{\circ}\text{C}$, sehingga kemungkinan ada sebagian pelarut etanol yang menguap dan mempengaruhi gradien konsentrasi fenolik di dalam sistem^[24]. Pada ekstraksi dengan metode soxhlet, kontak antara pelarut dengan terjadi berkali-kali, atau *multi stage*, sehingga perolehan akan lebih besar namun adanya kontak berkali-kali dan ekstraksi yang terjadi pada suhu didih pelarut pemanasan menjadi lebih sering terjadi dan hasil yang diperoleh kemungkinan rusak.



Gambar 5. Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Biji Pepaya

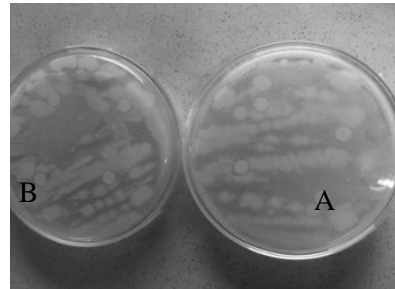
Pada proses ekstraksi pelarut dilakukan pada suhu 60°C , hasil yang ditunjukkan lebih baik. Dengan demikian dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa suhu maksimal untuk antioksidan pada ekstrak fenolik biji pepaya yaitu sebesar 60°C . Selain itu, ekstraksi dengan metode soxhlet berlangsung cukup lama yaitu ± 5 jam, sedangkan pada ekstraksi pelarut hanya membutuhkan waktu selama 105 menit sehingga aktivitas antioksidan dalam ekstrak biji pepaya dengan metode soxhlet menjadi lebih rendah karena dengan waktu yang lebih lama maka senyawa antioksidan menjadi terdegradasi.

IV.3. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya

Pengujian aktivitas antibakteri pada hasil ekstrak fenolik dengan TPC terbesar dari berbagai variasi rasio solid/liquid dilakukan dengan metode kertas cakram. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* (gram negatif) dan *Bacillus thuringiensis* (gram positif) karena kandungan fenolik dalam biji pepaya

mampu membunuh bakteri yang bersifat gram positif maupun gram negatif.

Hasil uji aktivitas antibakteri disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Aktivitas Antibakteri pada Ekstrak Biji Pepaya dengan Bakteri *Escherichia Coli* (A) dan *Bacillus Thuringiensis* (B)

Dari hasil pengamatan uji bakteri diketahui bahwa ekstrak biji pepaya dalam penelitian ini memiliki sifat aktivitas antibakteri meski tidak terlalu signifikan hasilnya. Hal tersebut dapat dilihat dari diameter lingkaran bening yang terdapat di sekitar kertas cakram. Hal ini mungkin disebabkan senyawa metabolit sekunder pada biji pepaya yang berfungsi sebagai antibakteri^[5] tidak banyak yang dapat terekstrak dengan pelarut etanol 75%.

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Sukadana^[2] diketahui bahwa biji pepaya memiliki senyawa antioksidan yang salah satunya berupa triterperoid dimana senyawa tersebut bersifat sebagai antibakteri yang diekstrak dengan menggunakan pelarut n-heksana. Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 75% yang cenderung mengekstrak senyawa fenolik. Tampak pada hasil, ekstrak biji pepaya yang diperoleh memiliki aktivitas antioksidan yang relatif tinggi, sedangkan aktivitas antibakteri yang ditunjukkan kurang optimal.

V. Kesimpulan

Dari penelitian ekstraksi fenolik dari biji buah pepaya sebagai antioksidan alami pada metode ekstraksi pelarut dengan menggunakan pelarut etanol 75%; suhu ekstraksi antara $30-60^{\circ}\text{C}$; dan waktu ekstraksi 15-105 menit dapat disimpulkan bahwa:

1. Semakin tinggi suhu dan waktu ekstraksi akan menghasilkan TPC yang besar pula.
2. Rasio 1:10 memiliki TPC yang lebih besar (0,3471 mg GAE/mL) dibandingkan dengan rasio 1:20 (0,1965 mg GAE/mL.).
3. Aktivitas antioksidan pada rasio 1:10 dengan metode ekstraksi pelarut diperoleh

hasil yang lebih besar yaitu 78,9% dibandingkan dengan metode soxhletasi (78,1%), sedangkan rasio 1 : 20 dengan metode ekstraksi pelarut diperoleh hasil yang lebih besar pula yaitu diperoleh 77,9% dibandingkan dengan metode soxhletasi (77,4%).

Aktivitas antibakteri pada ekstrak biji pepaya dengan TPC terbesar masih kurang optimal yang tampak dari diameter zona hambat yang kecil.

Daftar Pustaka

- [1] Lizaherbal, D., *Awas! Kondisi Lingkungan Buruk Pemicu Radikal Bebas 2013* [cited 2013 4 mei].
- [2] Rinto, *Deskripsi Histologis, Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan pada Daun Mangrove Api-api (Avicennia marina)*, in *Perikanan dan Ilmu Kelautan 2012*, Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- [3] Margaretta, S., and Handayani, S.D., *Ekstraksi Senyawa Phenolic Pandanus Amaryllifolius ROXB Sebagai Antioksidan Alami*. Widya Teknik, 2011. 10: p. 21-30.
- [4] Serpihan, A., *Manfaat-biji-pepaya*. 2012 [cited 2012 1 Desember]; Available from: <http://ilmu212.blogspot.com>.
- [5] Ajizah, A., *Sensitivitas Salmonella typhirium terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L Bioscientiae*. 2004. 1: p. 31-38.
- [6] Istiana, S., *Perbandingan Daya Antibakteri Perasan Rimpang Temu Kunci (Boesenbergia pandurata Roxb.) dengan Bawang Putih (Allium sativum, L.) terhadap Staphylococcus aureus*, in *Kedokteran Hewan 2005*, Universitas Airlangga: Surabaya.
- [7] Zhou, K., Wang, H., Mei, W., Li, X., Luo, Y., dan Dai, H., *Antioxidant Activity of Papaya Seed Extracts*. *Journal Molecules*, 2011, 16, p. 6179-6192.
- [8] Statistik, B.B.P., *Data Statistik Produksi Buah Indonesia Per Propinsi*. 2005; Available from: <http://bps.go.id>
- [9] Semarang, U.D., *Budidaya Pertanian Pepaya*. 2012; Available from: <http://www.iptek.net.id/ind/warintek/?mnu=6&ttg=2&doc=2a19>.
- [10] Siemionow, M., *Senyawa Fenolik*. 2008; Available from: <http://farms-area.blogspot.com/2008/07/senyawa-fenolik.html>.
- [11] Sahel, R., *Senyawa Fenolik dan Asam, Manfaat dari Fenol*. 2010 [cited 2013 9 Mei]; Available from: <http://translate.google.co.id/translate?hl=id&langpair=en|id&u=http://www.raysahelian.com/phenolic.html>.
- [12] Mongkolsilp, S., Pongbupakit, I., Sae-Lee, N., dan Sitthithaworn, W., *Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of Medical Plants Used in Primary Health Care*. *Journal of Pharm. Sci*, 2004. 9(1): p. 32-35.
- [13] Sultana, B., Anwar, F., Przybylski, R., *Antioxidant Potential of Corn cob Extracts for Stabilization of Corn Oil Subjected to Microwave Heating*. *Food Chemistry*, 2007. 104(3): p. 997-1005.
- [14] Trilaksana, W., *ANTIOKSIDAN: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan 2003*.
- [15] Coppen, P.P., *The use of antioxidant, in Rancidity in Foods*, J.C1983, London: Applied Science Publishers.
- [16] Simpson, J., *Antioxidant properties of peanut plant leaves and roots and contribution of specific phenolic compounds to antioxidant capacity*, 2006, North Carolina State University.
- [17] Yen, G.C. and Chen, H.Y., *Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity*. *J. Agric. Food Chem*, 1995. 43: p. 27-32.
- [18] Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., Taniguchi, H., *Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(7), p. 2161-2168.
- [19] Warisno, *Budidaya Pepaya*, 2003, Yogyakarta: Kanisius.
- [20] Fairuszzabadi, *uji-aktivitas-antibakteri*, 2010.
- [21] Bernasconi, G., *Teknologi Kimia Bagian 2*. L ed, ed. Handojo1995, Jakarta: PT Pradyana Paramita.
- [22] Fellow, P., *Food Processing Technology*. 2nd ed 2002, Woodhead Publishing Limited London.
- [23] Tanoeyanaga, S., and Perina, I., *Ekstraksi Pektin dari Berbagai Macam Kulit Jeruk*, in *Teknik Kimia 2006*, Universitas Katolik Widya Mandaya: Surabaya.
- [24] Uma, D. B., Ho, C. W., Wan Aida, W. M., *Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from henna (Lawsonia inermis) leaves*, *Sains Malaysiana*, 2010, 39(1), 119-128.