

## Aktivitas Antiadhesi Kombinasi Ekstrak Daun Pepaya dan Daun Sirih Hijau Terhadap *Neutrofil* pada *Streptococcus Mutans*, *Staphylococcus Aureus* dan *Escheriachia Coli*

Nining Kurniati

Poltekkes Kemenkes Banten

Email: nining01032016@gmail.com

**Abstract-** Indonesia, according to the 2018 Riskesdas National Survey, as many as 45.3% or 1.2 million people experience dental caries. Antibiotics are used to treat these infections. Antibiotics are substances produced by a microorganism, which have the ability to inhibit the growth or kill microorganisms. In developing countries there is a problem, the emergence of strains of bacteria resistant to antibiotics in infectious diseases. The papain contained in papaya leaves is a proteolytic enzyme that also has a bactericidal and bacteriostatic effect, it is expected that the combination of betel leaves strengthens the activity of inhibiting the growth of Gram positive and negative bacteria. Research method laboratory experimental design, completely randomized design. An anti-adhesion activity test was carried out by adding a combination of papaya leaf extract and green betel leaf 5%, 15% and 25% on neutrophil isolates exposed to *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* compared to controls. The ability of anti-adhesion activity was observed to decrease the adhesion of bacteria to neutrophil cells, tested by Anova and Benferroni. Antiadhesion test of 15% and 5% extracts with statistical tests decreased adhesion to *Streptococcus mutans* on neutrophils (Sig 0.00), did not decrease adhesion to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (Sig 1.00).

**Keywords:** Papaya Leaf Extract, Green Betel Leaf Extract, Neutrophils, Antiadhesion

**Abstrak-** Indonesia, menurut survei nasional riskesdas 2018, sebanyak 45,3% setara 1,2 juta penduduk mengalami karies gigi, untuk menanggulangi penyakit infeksi tersebut digunakan antibiotik. Antibiotik merupakan substansi yang dihasilkan suatu mikroorganisme, yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme. Negara berkembang terjadi masalah, timbulnya strain bakteri resisten terhadap antibiotik pada penyakit infeksi. Papain yang terkandung dalam daun pepaya merupakan enzim proteolitik juga memiliki efek bakterisid dan bakteristatik, diharapkan kombinasi daun sirih menguatkan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri Gram positif maupun negatif. Metode penelitian desain eksperimen laboratorium, rancangan acak lengkap. Telah dilakukan uji aktivitas anti adhesi melalui penambahan kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih hijau 5%, 15% dan 25% pada isolat neutrofil yang dipaparkan *Streptococcus Mutans*, *Staphylococcus Aureus*, *Escheriachia Coli* dibandingkan Kontrol. Kemampuan aktivitas anti adhesi diamati penurunan adhesi bakteri pada sel *Neutrofil*, diuji anova dan Benferroni. Uji Antiadhesi ekstrak 15% dan 5% dengan uji statistik terjadi penurunan adhesi terhadap *Streptococcus mutans* pada *neutrofil* (Sig 0,00) dan tidak menurunkan adhesi pada *Staphylococcus aureus* dan *Escheriachia coli* (Sig 1,00).

**Kata Kunci :** Ekstak Daun Pepaya, Ekstrak Daun Sirih Hijau, Neutrofil, Antiadhesi

### PENDAHULUAN

Antibiotik berperan menghambat terjadinya adhesi bakteri terhadap sel neutrofil (makropag) atau menghambat pertumbuhan bakteri. (Jawetz, Melnick, Adelberg. 2014). Hasil pertanian yaitu tanaman pepaya dan juga herbal sirih (Bahar A. 2011) Ekstrak daun pepaya mengandung antibakteri flavonoid, alkaloid karpain, enzim papain dan tanin. (Destli Zendrato. 2015): Flavonoid daun pepaya, saponin dengan aktivitas hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, terganggunya fungsi dan permeabilitas dinding sel

bakteri, sehingga lisis. (Baskaran, C, Ratha BV, Velu S, Kubendiran, K. 2012) Permukaan sel bakteri terganggu, zat antibakteri akan masuk kedalam sel, mengganggu metabolisme bakteri, kematian bakteri. Sifat lipofilik akan merusak membran. (Sulianti, T. 2012) Alkaloid mengganggu terbentuknya penyusun peptidoglikan pada bakteri, lapisan dinding sel tidak terbentuk utuh mengakibatkan bakteri mati. (Sung, SH, Kyoung HK, Byong TJ, Sun HC, Jae HP, Dong HK, et al 2012 ) Tanin enzim proteolitik memiliki efek bakterisid dan bakteristatik,

menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif (Pratiwi dkk. 2015): menginaktivasi adhesin mikroba dan menginaktivasi enzim hidrolitik seperti protease dan karbohidrolase, menghambat enzim pada protein transpor selubung. Penelitian (Pratiwi dkk. 2015), daya hambat ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap adhesi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada neutrofil. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin berkurang adhesi bakteri terhadap neutrofil. (Pratiwi. 2016) Penelitian oleh Kursia S, terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Sirih dengan metode difusi agar. Menunjukkan daya hambat ekstrak pada konsentrasi 3% dan 5%, yaitu 9, 8 dan 15 mm. memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori sedang-kuat. ((Kursia S, Lebang JS, Nursamsiar, 2016)

Telah dilakukan penelitian oleh Penulis 2019, uji daya hambat adhesi *Streptococcus mutans* (S mutans) pada neutrofil oleh ekstrak daun pepaya. Perumusan masalah adalah bagaimana aktivitas anti adhesi kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih hijau uji 25%, 15% dan 5%, terhadap sel neutrofil pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escheriachia coli*. Tujuan penelitian, untuk mengetahui aktivitas anti adhesi kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih hijau uji 25%, 15% dan 5%, terhadap sel neutrofil terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escheriachia coli* (E coli) dibandingkan kontrol.

## METODE

Penelitian dilakukan menggunakan desain eksperimen laboratorium, Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel adalah Aktivitas anti adhesi kombinasi ekstrak 3 konsentrasi pada sel neutrofil pada 3 strain bakteri S aureus, S mutans, E coli. Pelaksanaan uji dari setiap konsentrasi ekstrak 5%, 15% dan 25%, masing-masing dilakukan pengulangan 4 kali. Penelitian dilaksanakan di laboratorium bakteriologi dan hematologi Poltekkes Kemenkes Banten, pada bulan April sampai November 2022

Tahap pengujian aktivitas anti adhesi kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih hijau diuji dengan tahap sebagai berikut :

### 1. Mempersiapkan alat dan bahan

Alat yang digunakan terdiri dari rotary evaporator, gelas kimia, tabung reaksi steril, Ose, Pipet volume, mikropipet, lampu spiritus, erlenmeyer, BSL2, inkubator, oven, waterbath, rak tabung, tabung sentrifuse, densitometer, kaca objek, rak pewarnaan, sentrifuse, dan mikroskop camera.

Bahan yang digunakan terdiri dari ekstrak daun pepaya, Ekstrak daun sirih hijau, DMSO, NaCl fisiologis steril, Strain murni bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escheriachia coli*, Isolat neutrofil, Metanol absolut, Pewarna Giemsa, Media agar darah, Media Muller Hinton dan Kertas saring,

### 2. Mempersiapkan Ekstrak Daun Pepaya dan daun sirih hijau 5%, 15% dan 25%.

Ekstrak daun pepaya dibuat dari daun pepaya dan daun sirih yang tidak rusak karena penyakit, masih muda, segar, berwarna hijau muda, dibuat serbuk, serbuk dimaserasi. Filtrat dari hasil maserasi pertama dan kedua dicampur lalu dimasukkan ke dalam penguap putar (rotavapour) pada suhu 45- 50°C dengan tekanan rendah ( $\pm 15$  mmHg) sehingga diperoleh sediaan pekat (konsentrasi 100 %). Dari sediaan pekat tersebut kemudian masing masing dibuat kombinasi ekstrak masing masing diencerkan B/B dengan sedikit Dimethyl Sulfoxide (DMSO) pembantu pelarutan dan Aquabidest sehingga diperoleh konsentrasi 5%, 15% dan 25%.

### 3. Buficoat darah untuk mendapatkan sel neutrofil yang diperoleh dari Unit Transfusi Darah Kota Tangerang

### 4. Penyediaan Strain murni didapat dari penyedia strain *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escheriachia coli*

5. Dilakukan pengujian uji anti adhesi ekstrak Daun Pepaya dan daun sirih hijau terhadap adhesi *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escheriachia coli* terhadap neutrofil dengan konsentrasi, 5%, 15% dan 25%, yang dibandingkan terhadap kontrol, dengan cara melakukan inkubasi ekstrak dengan isolat neutrofil, kemudian dipaparkan dengan setiap bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escheriachia coli* : ekstrak setiap konsentrasi 100 uL dengan 100 uL isolat neutrophil, perlakuan kontrol volume ekstrak diganti dengan NaCl fisiologis, dihomogenkan dengan cara mengocok perlahan lahan, Campuran diinkubasi pada inkubator 37 °C selama 2,5 jam,

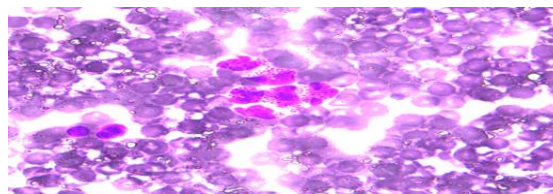
Kemudian dipaparkan masing masing isolat bakteri sebanyak 200 uL, dihomogenkan dengan cara mengocok perlahan lahan. Campuran diinkubasi pada inkubator 37 °C selama 3 jam, (kontrol tanpa inkubasi). Setiap campuran perlakuan dibuat preparat apus. (saat pengamatan campuran ekstrak 25% terjadi gumpalan, sehingga, campuran tersebut tidak dapat dilkukan pembuatan preparat dan tidak dapat diamati). Preparat difiksasi dengan metanol absolut selama 5 menit dan diwarnai dengan pewarna Giemsa selama 30 menit, dibilas aquadest, kemudian ditiriskan. Preparat siap untuk diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x. (Pratiwi, 2015)

6. Penghitungan Daya hambat Adhesi Dihitung dan dibedakan jumlah bakteri yang melakukan adhesi dengan neutrofil dalam 100 netrofil untuk setiap konsentrasi melalui pembuatan preparat yang diwarnai Giemsa, dibuat rata rata jumlah bakteri per 1 sel neutrofil.
7. Pengumpulan data Hasil uji antiadhesi untuk setiap bakteri uji dan setiap konsentrasi ekstrak, dimasukkan ke dalam tabel hasil pengamatan seperti tabel 1,2 dan 3.
8. Analisis data penelitian dari 3 jenis bakteri, 3 variasi konsentrasi, masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan 4 kali. Data hasil penghitungan jumlah bakteri dalam neutrofil dari setiap perlakuan dimasukan dalam tabel

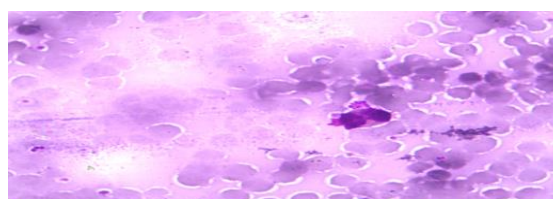
dan dilanjutkan pengolahan dengan uji One Way Analysis of Variance (ANOVA) dan dilanjut dengan uji beda dari Benferroni dengan aplikasi Statistik Service Solution (SPSS) untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan dari kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih hijau 5%,15% dan 25%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

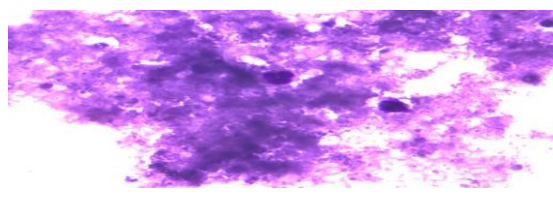
Hasil penghitungan Daya hambat Adhesi, dimana terjadi penurunan dari jumlah bakteri yang melakukan adhesi oleh *neutrofil*, dihitung dalam 100 *neutrofil*. Setiap konsentrasi ekstrak diamati dari gambaran preparat hapus yang telah diwarnai Giemsa, kemudian dibuat rata rata jumlah bakteri per 1 sel *neutrofil*.Terlihat pada foto 1, 2 dan 3. Dan penurunan adhesi *neutrofil* terhadap bakteri dibanding jumlah bakteri pada kontrol, dapat dilihat pada tabel 1, 2 dan 3, serta foto gambaran salah satu bakteri yaitu *Streptococcus mutans* terlihat dibawah ini



Gambar 1. Kontrol Adhesi Bakteri oleh Neutrofil



Gambar 2. Perlakuan ekstrak 5% Adhesi Neutrofil pada *Streptococcus mutans*



Gambar 3. Perlakuan ekstrak 15% Adhesi Neutrofil pada *Streptococcus mutans*

Tabel 1, 2 dan 3 adalah data hasil pengamatan jumlah 3 jenis bakteri dalam 100 neutrofil dengan pengulangan, masing-masing perlakuan sebanyak 4 kali dan dibandingkan kontrol

**Tabel 1.** Adhesi *S mutans* pada Neutrofil

Anti adhesi	Konsentrasi Ekstrak		K +
	5%	15%	
S aureus			
R1	139	76	550
R2	128	66	483
R3	110	101	442
R4	118	83	460
Rata-Rata	124	82	484

Keterangan : Tabel 1. Data pengamatan jumlah bakteri *Streptococcus mutans* dalam 100 neutrofil

**Tabel 2.** Adhesi *S aureus* pada Neutrofil

Anti adhesi	Konsentrasi Ekstrak		K +
	5%	15%	
S aureus			
R1	37	32	40
R2	48	35	50
R3	43	39	45
R4	51	34	53
Rata-Rata	45	35	47

Keterangan : Tabel 2. Data pengamatan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* dalam 100 neutrofil

**Tabel 3.** Adhesi *E coli* pada Neutrofil

Anti adhesi	Konsentrasi Ekstrak		K +
	5%	15%	
S aureus			
R1	48	27	53
R2	56	32	64
R3	52	35	63
R4	40	34	49
Rata-Rata	49	32	57

Keterangan : K+ kontrol positif, perlakuan tanpa ekstrak

Keterangan : Tabel 1. Data pengamatan jumlah bakteri *Escheriachia coli* dalam 100 neutrofil

Data jumlah bakteri dalam satu neutrofil diolah menggunakan uji anova, tampak pada tabel 4,

**Tabel 4.** Jumlah Bakteri per Neutrofil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6655,970	8	831,996	86,879	,000
Within Groups	34389,070	3591	9,576		

Total 41045,3599  
040

Pada uji anova terlihat secara keseluruhan ada perbedaan yang bermakna, ditandai dengan sig < 0,05, maka uji dilanjutkan menggunakan uji multiple comparison Bonferoni untuk melihat perbedaan antara masing konsentrasi ekstrak dengan kontrol.

**Tabel 5.** Uji *Multiple Comparisons Bonferroni*

Jumlah Bakteri per satu Neutrofil

Konsentrasi Ekstrak (%)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kontrol SM 5	3,688*	,219	,000
Kontrol SM 15	3,935*	,219	,000
Kontrol EC 5	,083	,219	1,000
Kontrol EC 15	,253	,219	1,000
Kontrol SA 5	,023	,219	1,000
Kontrol SA 15	,120	,219	1,000

Hasil uji dilanjutkan menggunakan uji multiple comparison Bonferoni pada bakteri *Streptococcus mutans*, terdapat perbedaan yang signifikan yaitu signifikansi < 0,05 antara kontrol dengan konsentrasi ekstrak 15% dan 5%. Sedangkan hasil uji pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E coli* secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan yaitu signifikansi > 0,05 antara kontrol dengan konsentrasi ekstrak 15% dan 5%. Pembuatan preparat apus untuk penghitungan jumlah bakteri untuk anti adhesi tidak dilakukan pada konsentrasi ekstrak 25% karena terjadi gumpalan, ini dimungkinkan adanya reaksi ikatan dari kandungan bahan aktif ekstrak daun pepaya dan ekstrak daun sirih pada konsentrasi yang lebih dari 15%.

Dari hasil uji anti adhesi, kita bisa melihat bahwa ekstrak daun pepaya dan daun sirih dapat menghambat adhesi. Ini tampak pada tabel 5, bahwa ekstrak pada konsentrasi 15% dan 5% mempunyai nilai Sig 0,00, artinya terdapat perbedaan antara ekstrak dengan kontrol, baik ekstrak 5% maupun 15% dapat mencegah adanya adhesi pada sel. Sedangkan uji ekstrak terhadap



bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escheriachia coli*, meskipun secara jumlah ada penurunan bakteri yang melekat, tetapi setelah diuji beda didapatkan nilai Sig 1,00 tidak terdapat anti adhesi oleh sel neutrofil.

Hasil uji uji Antiadhesi kombinasi ekstrak daun pepaya daun sirih dari 4 kali pengulangan, menunjukkan ekstrak 15% (rata-rata 82 bakteri) dan 5% (rata-rata 124 bakteri) dibanding kontrol (rata-rata 484 bakteri), menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin besar menurunkan jumlah bakteri, semakin besar kemampuan aktivitas besar anti adhesi dari neutrofil terhadap *Streptococcus mutans*.

Adanya adhesin yang dimiliki oleh *Streptococcus mutans* mempermudah terjadinya adhesi antara *Streptococcus mutans* dengan neutrofil, terbukti jumlah bakteri pada kontrol, reaksi adhesi yang tinggi antara neutrofil yang dipapar dengan *Streptococcus mutans* didapat rata-rata per 100 neutrofil sebanyak 484 bakteri, dibandingkan pelekatan dengan kontrol pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 47 bakteri dan *Escheriachia coli* sebanyak 57 bakteri.

Terbukti tanin yang terkandung dalam ekstrak bersifat proteolitik terhadap protein adhesin yang dimiliki bakteri, terutama bakteri *Streptococcus mutans* sehingga dengan adanya ekstrak menyebabkan berkurangnya jumlah bakteri dari 484 turun menjadi 124 sebesar 74,38% untuk ekstrak 5% dan 84 sebesar 82,65% untuk ekstrak 15%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin berkurang jumlah bakteri yang melakukan adhesi.

## KESIMPULAN

1. Terdapat kemampuan antiadhesi dari kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih hijau konsentrasi 15% dan 5% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan nilai Sig 0,00.
2. Semakin tinggi konsentrasi kombinasi ekstrak, semakin besar kemampuan aktivitas anti adhesi dari neutrofil terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.
3. Tidak terdapat kemampuan antiadhesi dari kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih

hijau konsentrasi 15% dan 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escheriachia coli* dengan masing-masing nilai Sig 0,00.

## SARAN

Disarankan untuk penelitian lanjutan dari Kombinasi ekstrak daun pepaya dan daun sirih hijau dapat dimanfaatkan sebagai suplemen peningkatan imunitas

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami sebagai Penulis, mengucapkan terima kasih kepada pihak Dirjennakes sebagai pengarah, kepada Direktur sebagai pembina, Kapus Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat sebagai pembimbing dalam penelitian, serta kepada semua pengelola Pihak di lingkungan Prodi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Banten yang telah memberikan fasilitas, juga kepada pengelola jurnal JFK Palangkaraya sebagai penerbit artikel ini, sehingga artikel ini dapat terbit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bahar A. 2011. Paradigma Baru Pencegahan Karies Gigi. Jakarta: Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia.
- Baskaran, C, Ratha BV, Velu S, Kubendiran, K. 2012. The Efficacy of Carica Papaya Leaf Extract on Some Bacterial and a Fungal Strain by Well Diffusion Method. Asian Pacific Journal of Tropical Disease.; Vol. 2 (2): 658-662
- Destli Zendrato. 2015. Kersen (*Muntingia calabura* L. Url: <https://deslisumatran.wordpress.com/2015/03/26/kersen-muntingia-calabura-l/>. diakses tanggal 3 Januari 2023
- Jawetz., Melnick., Adelberg. 2014 Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23. Penerbit Buku Kedokteran . Jakarta: EGC
- Kursia S, Lebang JS, Nursamsiar , 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat daun sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology 3 (2), 72-77

- Pratiwi dkk. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil . e.Jurnal Pustaka Kesehatan vol 3
- Pratiwi. 2016. Analisis Kandungan Kimia Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*) dengan GC-MS
- Sulianti, T. 2012. Perbedaan Efek Antimikroba Papacarie dan Papain terhadap *Streptococcus mutans*-in Vitro. Tidak diterbitkan. Tesis. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi : Universitas Indonesia
- Sung, SH, Kyoung HK, Byong TJ, Sun HC, Jae HP, Dong HK, et al. Antibacterial and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012; Vol. 6(15): 3072-3079.
- Tim Risesdas 2018. 2019, Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Jakarta : Lembaga Penerbit Balitbangkes