

**EKSTRAKSI BIJI PEPAYA (*Carica papaya*) SEBAGAI BAHAN AKTIF
ANTIBAKTERIAL PADA LARVA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) SECARA *IN*
VITRO DAN *IN VIVO***

**EXTRACTION OF PAPAYA SEED (*Carica papaya*) AS AN ANTIBACTERIAL ACTIVE
INGREDIENT ON BLACK TIGER PRAWN (*Penaeus monodon*) LARVAE *IN VITRO*
AND *IN VIVO***

Jimmy Cahyadi¹⁾ dan Laylan Sovina¹⁾

¹ Program Studi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Borneo Tarakan, Amal Lama 77115 Kalimantan Utara, email: jimmy@borneo.ac.id

ABSTRACT

This research was the administration of papaya seed extract to black tiger prawn which were challenged with *Vibrio harveyii* infection in vivo and in vitro to determine the effectiveness of papaya seed extract in inhibiting *vibrio harveyii*. This research was conducted in the laboratory of the Faculty of Fisheries and Marine Sciences, University of Borneo Tarakan in vitro and in vivo. The data obtained were analyzed descriptively and statistically. Based on observations and research it is known that papaya seed extract (*Carica papaya*) in vitro contains active antibacterial ingredients such as saponins, flavonoids which can inhibit *Vibrio* in breeding so that it has an impact on the weakness of *Vibrio harveyii* in disturbing and inhibiting the growth of tiger shrimp larvae during independent research. in vivo. The survival rate of black tiger prawn larvae from the total of each treatment which was maintained for 12 days of treatment showed that the highest value was achieved in treatment P3 of 90% and the lowest was obtained in the negative control treatment of 5%, while in treatment P1 (positive control) of 95 %, P4 was 78% and P2 treatment was 65%.

Keywords: Black Tiger Prawn larvae, *Vibrio harveyi*, *Carica papaya*

ABSTRAK

Penelitian ini adalah pemberian ekstrak biji pepaya pada benur udang windu yang diuji tantang dengan infeksi *Vibrio harveyii* secara invivo dan invitro dilakukan untuk mengetahui sejauh mana efektifitas ekstrak biji pepaya menghambat *vibrio harveyii*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium-laboratorium yang ada di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Borneo Tarakan secara invitro dan invivo. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan statistik. Berdasarkan hasil pengamatan dan penelitian diperoleh hasil ekstrak biji pepaya (*Carica papaya*) secara invitro memiliki kandungan bahan aktif antibakterial seperti saponin, plavonoid yang dapat menghambat *Vibrio* dalam berkembang biak sehingga berdampak pada lemahnya *Vibrio harveyii* dalam mengganggu dan menghambat pertumbuhan pada larva udang windu selama penelitian secara invivo. Tingkat kelangsungan Larva Udang Windu dari total tiap perlakuan yang dipelihara selama 12 hari masa perlakuan menunjukkan nilai tertinggi dicapai pada perlakuan P3 sebesar 90% dan terendah diperoleh pada perlakuan kontrol negatif sebesar 5 %, sedangkan pada perlakuan P1 (kontrol positif) sebesar 95%, perlakuan P4 sebesar 78% dan perlakuan P2 sebesar 65%.

Kata Kunci: Larva Udang windu, *Vibrio harveyi*, *Carica papaya*

PENDAHULUAN

Budidaya adalah salah satu kegiatan untuk meningkatkan produksi dan mengurangi jumlah kematian akibat penangkapan yang berlebihan serta mengurangi resiko kerusakan lingkungannya. Namun, hal yang paling penting yang harus diperhatikan dalam kegiatan budidaya adalah menghasilkan udang yang berkualitas dan unggul, penyakit menjadi indikator utama selain dari kelalaian operasional pemeliharaan (Cahyadi *et al*, 2021).

Pembenihan adalah salah satu bentuk unit pengembangan budidaya udang. Pembenuhan ini merupakan salah satu titik awal untuk memulai budidaya, sehingga menjadikan Kota Tarakan sebagai salah satu sentra produksi udang windu di Indonesia. Namun kualitas larva yang diproduksi masih jauh dari harapan yaitu bebas patogen free dan mampu resisten terhadap penyakit.

Namun budidaya udang windu dihadapkan pada berbagai kendala, salah satu kendala yaitu serangan penyakit dan penurunan kualitas lingkungan budidaya. Salah satu penyakit yang membahayakan pada crustacea diantaranya udang adalah penyakit kunang – kunang (*luminescent vibriosis*) yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* (Apriliani *et. al.*, 2016).

Beberapa senyawa aktif yang berasal dari bahan alam pada tumbuhan Indonesia dapat dimanfaatkan untuk menekan laju infeksi bakteri patogen termasuk bakteri *Vibrio harveyi* yang dapat menyerang udang windu. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk menekan infeksi bakteri patogen adalah biji pepaya. Biji pepaya (*Carica papaya*) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti golongan fenol, alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Menurut Sukadana *et.al.*, (2008), biji pepaya memiliki fisiologi sebagai antibakteri dan mengandung komponen utama berupa senyawa dari golongan triterpenoid.

RUMUSAN MASALAH

Kota Tarakan adalah salah satu sentra produksi benih udang windu di Indonesia Namun kualitas larva yang diproduksi masih jauh dari harapan yaitu bebas patogen free dan mampu resisten

terhadap penyakit. Infeksi patogen pada tingkat benih dapat terjadi pada tingkat stadium larva yang bervariasi. Hal tersebut terkait pada tingkat ketahanan larva, jenis patogen, kondisi lingkungan (salinitas, temperatur, pH) dan manajemen pemeliharaan.

Salah satu faktor utama yang menyebabkan kematian pada udang windu disebabkan oleh penyakit. Timbulnya penyakit pada udang di sebabkan terjadinya interaksi yang tidak seimbang antara kondisi udang dan lingkungan (Cahyadi *et al*, 2018). Pengamatan infeksi *Vibrio harveyi* pada fase pertumbuhan larva udang windu harus dilakukan untuk mengetahui penyebab dan penanganan yang tepat pada produksi hatchery dan tambak di Kota Tarakan melalui pemanfaatan ekstraksi biji pepaya (*Carica papaya*) sebagai bahan aktif antibakterial pada larva udang windu (*Penaeus monodon*) secara *in vitro* dan *in vivo*.

METODE PENELITIAN

RANCANGAN RISET

Tahapan persiapan di laboratorium meliputi sterilisasi alat dan bahan, analisa metabolit sekunder fitofarmaka sampel biji pepaya (*Carica papaya*), daya sensitivitas uji tantang bakterial *vibrio harveyi* (*in vitro*), uji lethal konsentrasi *brine shrimp lethal concentrate* (BSLT) pada *artemia salina* (BSLT), uji tantang dan gejala klinis pada kelangsungan hidup udang windu (*Penaeus monodon*) post larva 10 (*in vivo*) dan analisis data. Tahapan kajian dan metode yang digunakan sesuai dengan standar laboratorium *association of official analytical chemist* (AOAC) 2005, kaidah statistik dan sains terapan.

DATA, TEKNIK PENGUMPULAN DATA DAN SUMBER DATA

Biji pepaya dikumpulkan dan dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya dilakukan perajangan kemudian di keringkan dengan cara di angin-anginkan, tanpa terkena sinar matahari langsung hingga bahan tersebut mengering, setelah itu simplisia di haluskan dan diayak.

PEMBUATAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA

Pembuatan ekstrak biji pepaya dilakukan dengan metode maserasi, yaitu serbuk biji pepayayang telah diayak menggunakan ayakan nomor 40 mesh, ditimbang 200gram lalu diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2liter dan diamkan sambil sesekali diaduk selama 3 hari. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu diperoleh filtrat. Kemudian filtrat I dan II digabungkan. Selanjutnya dievaporasi atau memisahkan larutan menggunakan Rotary Vacuum Evaporator pada suhu 60°C dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan waterbath dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Tandi, 2017).

METABOLIT SEKUNDER

Analisis kualitatif kandungan metabolit sekunder biji pepaya, meliputi uji flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin (Harbone, 1988) dalam Ergina *et al*, (2014). Pada uji alkaloid digunakan reagen Dragendorff, uji flavonoid digunakan pereaksi HCl dan magnesium, uji saponin dilakukan dengan dikocok dalam HCl 2N, dan uji tannin digunakan pereaksi FeCl₃. Setelah itu dilakukan analisis kuantitatif untuk penentuan kadar total senyawa metabolit sekunder (alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin) yang terkandung dalam ekstrak etanol menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Behera *et al*, 2012).

INOKULASI *V. harveyi*

Isolat murni bakteri *V. harveyi* yang didapatkan dari BPBAP Jepara, diremajakan kembali kedalam media selektif TCBSA. Secara kualitatif dilakukan analisis nilai (OD) *Optical Density* menggunakan *spektrofotometer* dengan panjang gelombang 600 nm hingga diperoleh nilai > 0,600 asumsi paling padat. Selanjutnya biakan tersebut diambil 0,1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 0,9 ml APW (Pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁷) (Hadioetomo, 1990).

UJI KERENTANAN/SENSITIVITAS BAKTERI (INVITRO)

Uji sensitivitas ekstrak pada media TCBSA melalui difusi kertas cakram *Kirby and Bauer metode* terhadap aktivitas *Vibrio harveyi*. Pembuatan TCBSA ke dalam erlenmeyer. Media steril dituang ke dalam masing-masing cawan petri kurang lebih sebanyak 20 ml dan ditunggu hingga memadat. Penuangan dilakukan di dalam laminar flow untuk mencegah adanya kontaminasi. Bakteri diinokulasi pada media menggunakan cotton swab dengan metode tebar (*spread plate method*), kemudian letakkan kertas cakram yang telah mengandung perlakuan konsentrasi ekstrak pepaya mengacu pada yaitu (1,56 %, 3,12 %, dan 6,25%). Kemudian ditambah perlakuan antibiotik (kontrol positif) serta akuades (kontrol negatif) pada media agar. Pengamatan kinerja metabolit sekunder dilakukan dalam rentan inkubasi yaitu 18 jam dan 24 jam.

PENGOLAHAN DAN ANALISIS DATA

Fitofarmaka biji pepaya (*Carica papaya*), ujiantang bakterial *vibrio harveyii (in vitro)*, uji lethal konsentrasi pada *artemia salina* (BSLT), ujiantang dan gejala klinis pada kelangsungan hidup udang windu (*Penaeus monodon*) post larva 10 (*in vivo*) akan dihitung dan dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Pengolahan data lebih lanjut perhitungan hasil pengamatan dilakukan secara statistik.

LOKASI DAN WAKTU RISET

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan April - November 2022 pada Laboratorium Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. INVIVO

a. EKSTRAKSI BIJI PEPAYA

Pembuatan ekstrak biji buah pepaya dimulai dengan pencucian biji buah pepaya segar kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari. Biji buah pepaya kemudian diekstrak dengan metode maserasi atau perendaman serbuk biji buah pepaya

dengan pelarut etanol 70%. Maserasi adalah proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara serbuk kering bahan yang akan diekstrak menggunakan pelarut tertentu dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar dan terlindungi dari cahaya (Paramesti, 2014). Sebagai bahan pelarut dalam menarik bahan aktif ekstrak menggunakan etanol 70%. Jenis pelarut ini digunakan karena bersifat polar dan universal. Sesuai dengan penelitian Sari (2019) mengemukakan pelarut etanol 70 % (polar)

memiliki gugus polar yang lebih kuat daripada gugus non polar. Senyawa polar merupakan senyawa yang dapat larut pada pelarut polar. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat – zat aktif sehingga zat aktif tersebut akan larut. Tahapan proses maserasi dan dilakukan proses evaporasi selama 3 hari maka diperoleh hasil rendemen dari simplisia ekstrak biji diperoleh rincian sebagai berikut (Tabel 1);

Tabel 1 Hasil ekstrak biji pepaya

Simplisia	Bobot Kering (gr)	Hasil Ekstrak (gr)	Rendemen (%)
Biji Pepaya	100 gr	6,81 gr	6,8 %

Pada Tabel 1 diketahui bahwa dari 100 gr serbuk biji buah pepaya yang digunakan pada penelitian ini diperoleh 6,81 gram ekstrak kental biji buah pepaya dengan nilai rendemen sebesar 6,8 %. Ekstrak kental kemudian dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu 10%, 20% dan 30% dengan menambahkan pelarut aquadest. Penentuan konsentrasi dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Roni dkk. (2018) yang melakukan pengujian aktivitas antibakteri biji, kulit dan daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30% menggunakan pelarut etanol 96%.

flavonoid, fenol hidrokuinon, saponin, tanin dan steroid untuk mengetahui adanya senyawa tersebut pada ekstrak. Hasil pengujian fitokimia pada ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil pengujian fitokimia melalui metode kualitatif (Tabel 2) dapat diketahui bahwa ekstrak biji buah pepaya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol hidrokuinon, tanin, dan steroid. Namun pada ekstrak biji buah pepaya tidak terdapat senyawa saponin dikarenakan tidak terdapat busa yang terbentuk pada saat larutan ekstrak dipanaskan. Pengujian alkaloid, larutan ekstrak membentuk endapan berwarna coklat yang menandakan hasil positif. Hal ini diperkuat dengan penelitian Wijayanti dan Febrinasari (2017) yang memperoleh hasil pengujian alkaloid berupa sedimen coklat yang menandakan ekstrak biji buah pepaya mengandung senyawa alkaloid.

b. ANALISIS KARAKTERISTIK EKSTRAK

Pengujian parameter fitokimia pada ekstrak biji buah pepaya dilakukan secara kualitatif dimulai dari pengujian an kualitatif variabel senyawa alkaloid,

Tabel 2 Hasil Pengujian Fitokimia Ekstrak Biji Buah Pepaya

No	Variabel	Ekstrak Biji Buah Pepaya (+/-)	Hasil Pengujian
1	Alkaloid	+	Terbentuk endapan berwarna coklat
2	Flavonoid	+	Terbentuk warna merah
3	Fenol hidrokuinon	+	Terbentuk warna hijau
4	Saponin	-	Tidak terbentuknya busa

5	Tanin	+	Terbentuk warna hijau
6	Steroid	+	Terbentuk warna hijau

Keterangan:

(+) = mengandung senyawa yang dipengujian

(-) = tidak mengandung senyawa yang dipengujian

Senyawa alkaloid pada biji buah pepaya dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, karena senyawa alkaloid dapat merusak sel bakteri. Kondisi ini sejalan dengan pernyataan Farida *dkk.* (2010), alkaloid akan bereaksi dengan menyusun sel dan DNA bakteri yang merupakan pusat inti pengaturan seluruh kegiatan sel sehingga terjadi kerusakan pada sel bakteri. Alkaloid sebagai antibakteri mekanisme kerja yakni menghambat sintesis DNA dan RNA bakteri sehingga bakteri tidak dapat membentuk DNA dan RNA dan tidak dapat bereplikasi maka bakteri akan mengalami kematian (Cushnie, 2014).

Pengujian variabel senyawa flavonoid pada sampel ekstrak biji buah pepaya terbentuk warna merah ketika dicampur asam klorida, etanol dan alkohol yang menandakan hasil positif. yang dilakukan oleh Wijayanti dan Febrinasari (2017) pada pengujian flavonoid hasil serupa yaitu terbentuknya warna merah pada sampel ekstrak biji buah pepaya. Sabir (2005), menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat merusak permeabilitas dinding sel mikroba yaitu kemampuan untuk berikatan dengan protein fungsional sel dan DNA sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hendra *dkk.*, (2011) menyatakan mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi.

Variabel fenol hidrokuinon dengan menggunakan pengujian warna menghasilkan larutan berwarna hijau yang menandakan hasil positif. Wijayanti dan Febrinasari (2017) memperoleh hasil serupa pada pengujian senyawa fenol yakni sampel ekstrak biji buah pepaya mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman setelah diberikan FeCl₃. Fenol hidrokuinon sebagai antibakteri dapat merusak bagian isi sel bakteri.

Variabel senyawa fenol pada konsentrasi tinggi akan berkoagulasi dengan protein seluler, aktivitas tersebut sangat efektif ketika lapisan fosfolipid disekeliling sel bakteri dalam kondisi sangat tipis sehingga fenol dapat merusak inti sel (Volk dan Wheller, 1984 *dalam* Cahyadi, 2019).

Pengujian variabel senyawa tanin diperoleh hasil positif yang ditandai dengan reaksi larutan ekstrak yang mengalami perubahan warna berupa hijau pekat mendekati hitam. Penelitian Wijayanti dan Febrinasari (2017) menunjukkan ekstrak biji buah pepaya mengandung tanin dengan ditandai terbentuknya warna hijau kehitaman. Mekanisme penghambatan senyawa tanin dengan cara masuk ke dalam sel bakteri melalui dinding sel yang telah lisis akibat senyawa flavonoid. Tanin dapat mengkoagulasi protein dan mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri yang mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup dan pertumbuhannya dapat terhambat atau bahkan mati (Nuria *dkk.*, 2009).

Pengujian variabel steroid pada ekstrak biji buah pepaya diperoleh hasil positif karena larutan ekstrak yang di pengujian mengalami perubahan warna menjadi hijau. Menurut Robinson (1995), ketika senyawa steroid ditetesi pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan warna hijau kebiruan. Bangham dan Horne (2006), menyatakan steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat impermeabel sehingga menyebabkan integritas membran sel menurun dan akhirnya dapat membuat membran sel rapuh dan lisis.

Pengujian variabel saponin diperoleh hasil negatif. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya busa atau buih yang terbentuk pada saat dipanaskan. Hal ini berarti ekstrak etanol biji buah pepaya tidak mengandung senyawa saponin. Menurut Zukhri (2015), saponin

mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob, saat dikocok gugus hidrofilik akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih atau busa. Penambahan asam berguna untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil.

c. DAYA EKSTRAK (INVITRO)

Kemampuan antibakteri ekstrak biji buah pepaya terhadap bakteri *Vibrio*

harveyi dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk pada beberapa perlakuan yaitu kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak biji buah pepaya dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%. Pengujian menggunakan 3 kali ulangan pada masing-masing perlakuan. Hasil zona hambat yang terbentuk dari ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kemampuan Zona Hambat Ekstrak Terhadap *Vibrio harveyi*
 Ket: (A) Ekstrak 10%, (B) Ekstrak 20%, (C) Ekstrak 30%, (D) Antibiotik, (E) Akuades

Kemampuan wilayah zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya*) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Hal ini didukung oleh penelitian Paramesti (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya*) dengan metode difusi agar dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Wijayanti dan Febrinasari (2017) menyatakan bahwa biji buah pepaya mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, fenol, terpenoid, dan saponin, serta memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Menurut Dhiah dkk. (2013) bahwa mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri.

Tabel 3. Pengukuran Diameter Pembentukan Zona Hambat

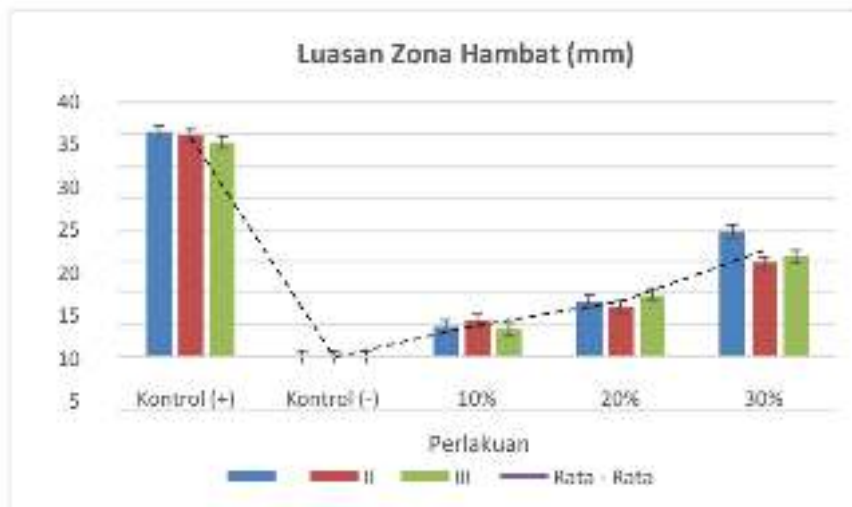
Perlakuan	Pembentukan Diameter Zona Hambat (mm)			
	Replika Rerata			Rerata
	I	II	III	
Kontrol (+)	35.3	34.7	33.7	34.57
Kontrol (-)	0	0	0	0
10%	4.7	5.7	4.3	4.90
20%	8.7	7.7	9.7	8.70
30%	19.7	14.7	15.7	16.70

Pembentukan dan pengukuran diameter zona hambat (Tabel 3) terlihat bahwa konsentrasi yang memiliki zona

hambat tertinggi adalah konsentrasi 30%, sedangkan zona hambat terendah adalah konsentrasi 10%. Perbedaan zona hambat

yang pada berbagai konsentrasi disebabkan adanya perbedaan jumlah kandungan senyawa aktif pada masing – masing konsentrasi. Hal ini sejalan dengan Febrianti (2019) bahwa perbedaan zona hambat berbagai volume disebabkan oleh faktor volume, metode difusi, jenis bakteri, jenis bahan antimikroba, dan adanya perbedaan jumlah kandungan senyawa aktif. Hasil yang ditunjukkan kemampuan ekstrak biji buah pepaya pada antibakteri yang membentuk daerah

zona hambat dapat dikategorikan kuat untuk konsentrasi 30%, kategori sedang untuk konsentrasi 20% dan lemah untuk konsentrasi 10%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yanti dan Mitika (2017), apabila zona hambat yang terbentuk ≤ 5 mm dikategorikan dalam kelompok potensi lemah, ukuran 6 – 10 mm dikategorikan sedang, 11 – 20 mm dikategorikan dalam kuat dan lebih dari atau sama dengan 21 mm dikategorikan ke dalam potensi sangat kuat.



Gambar 2. Diagram Hasil Pengukuran Luasan Zona Hambat

Hasil penelitian pada wilayah zona hambat yang terbentuk telah diinkubasi selama 24 jam, memperlihatkan bahwa setiap perlakuan memiliki nilai rata-rata diameter zona hambat yang berbeda. Pada *tetracycline* (K+) memiliki rata – rata diameter zona hambat sebesar 34,57 mm kemudian diikuti oleh perlakuan 30% dengan rata – rata diameter sebesar 16,70 mm, perlakuan 20% sebesar 8,70 mm, dan 4,90 mm pada perlakuan 10%, sedangkan pada perlakuan aquades (kontrol negatif) tidak terbentuk zona hambat. Penggunaan *tetracycline* sebagai kontrol positif memberikan hasil daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Namun perlakuan ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya*) juga menunjukkan adanya pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, walaupun zona hambat yang terbentuk tidak sebesar dengan zona hambat yang dihasilkan *tetracycline*.

Secara umum kondisi memperlihatkan bahwa ekstrak biji buah pepaya (*Carica papaya*) memiliki potensi sebagai antibakterial, dimana pada pengujian ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan K+ memiliki perbedaan nyata yang signifikan dengan perlakuan K-, 10%, 20%, dan 30%. Namun perlakuan 10% dan 20% tidak memiliki perbedaan nyata secara signifikan, serta pada perlakuan 30% memiliki perbedaan nyata dengan perlakuan K+, K-, 10% dan 20%. Berdasarkan pengujian lanjut (Duncan) juga menunjukkan perbedaan nyata antara setiap perlakuan. Sehingga dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka akan semakin besar pula zona hambat bakteri yang terbentuk. Hal ini diduga karena pada setiap peningkatan konsentrasi maka jumlah senyawa bioaktif akan bertambah dan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri suatu bahan alami juga akan

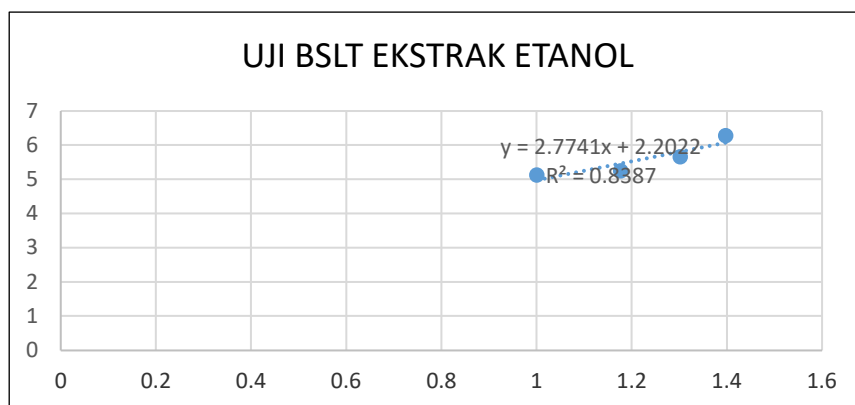
meningkat. Hal ini didukung oleh pernyataan Khasanah (2014) yang menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi suatu ekstrak maka akan semakin banyak pula komponen zat aktif yang terkandung didalamnya sehingga zona hambat yang terbentuk semakin besar.

Penelitian serupa dilakukan oleh Paramesti (2014) menunjukkan bahwa ekstrak biji buah pepaya pada konsentrasi berbeda secara bermakna dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian oleh Mulyono (2013) membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan dihasilkan zona hambat yang semakin besar. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak biji buah pepaya memiliki senyawa aktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Secara keseluruhan pada pembentukan zona hambat pada penelitian ini tahap *Invivo* ini, memperlihatkan bahwa senyawa bioaktif (metabolit sekunder) bekerja secara baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Wijayanti dan Febrinasari (2017) menyebutkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam biji buah pepaya berupa alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, saponin dan tanin mampu membunuh bakteri dengan merusak integritas sel bakteri. Senyawa metabolit sekunder memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan berbagai mekanisme yang berbeda-beda (Ariani dan Niah, 2018). Mekanisme penghambat pertumbuhan mikroorganisme disebabkan oleh beberapa faktor yaitu 1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel; 2) peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel; 3) menginaktivitas enzim dan 4) kerusakan fungsi material genetik (Gazali dan Safutra, 2016).

d. PENETASAN ARTEMIA

Pengujian toksisitas yang digunakan adalah metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) berdasarkan Meyer, (1982). Pengujian toksisitas dengan metode ini menggunakan larva udang renik (*Artemia salina*). Pengujian dilakukan dengan menggunakan konsentrasi sampel sebesar 0 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Botol-botol vial yang telah berisi sampel, air laut dan nauplii *A.salina* dengan total volume 5 ml yang masing-masing berisi 10 ekor nauplii selanjutnya disimpan dan ditempatkan pada lokasi yang cukup cahaya dan oksigen selama 24 jam; Setelah 24 jam, dihitung jumlah nauplii *A.salina* yang mati. Botol-botol vial yang telah berisi sampel, air laut dan nauplii *A.salina* dengan total volume 5 ml yang masing-masing berisi 10 ekor nauplii selanjutnya disimpan dan ditempatkan pada lokasi yang cukup cahaya dan oksigen selama 24 jam; Setelah 24 jam, dihitung jumlah nauplii *A. salina* yang mati. Data mortalitas larva udang hasil uji BSLT dianalisis dengan metode analisis probit untuk mencari konsentrasi kematian (*Lethality Concentration*) pada tingkat 50% (LC_{50}) menggunakan microsoft excel 2016 dan dibuatkan grafik regresi. Tujuan dilakukan pengujian BSLT ini adalah untuk mengetahui nilai LC_{50} dari ekstrak etanol *Carica papaya* terhadap kelangsungan hidup *Artemia salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini ialah 0 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm pada 10 ekor *Artemia salina* dalam ratio perlakuan (ppm) dan air laut selama lebih dari 24 jam. Hasil pertungan pengujian BSLT ini adalah untuk mengetahui nilai LC_{50} dari ekstrak etanol *Carica papaya* terhadap kelangsungan hidup *Artemia salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) berdasarkan (Meyer *et al*, 1982).



Gambar 3. Hasil Regresi Hitungan Probit Uji BSLT

Pada perlakuan ekstrak etanol *Carica papaya* pengujian BSLT menunjukkan hasil LC₅₀ sebesar 10,2 ppm (perlakuan 10 ppm optimal) dengan nilai probit R² sebesar 0,84 dinyatakan dengan metode regresi $Y = 2,7741 X + 2,2022$ (Gambar 3). Jumlah kematian larva dihitung setelah 24 jam perlakuan dan hasilnya dinilai sebagai LC₅₀ yakni dosis/konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva. Tolak ukur atau parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi suatu senyawa pada *A. salina* yaitu dengan menghitung jumlah kematian nauplii *A.salina* akibat pemberian senyawa dengan konsentrasi yang telah ditetapkan. Hasil uji dikatakan efektif terhadap larva *A. salina* apabila ekstrak yang diujikan menyebabkan 50% kematian pada kurang dari 1000 ppm. Apabila suatu ekstrak tanaman bersifat toksik menurut harga LC₅₀ dengan metode BSLT, maka tanaman tersebut dapat dikembangkan sebagai obat antikanker. Hal ini disebabkan karena terdapat hubungan antara sitotoksisitas dan BSLT pada ekstrak tanaman yang diteliti (Meyer *et al.* 1982).

2. INVITRO

Pengujian lanjutan uji tantang pada kelangsungan hidup udang windu melalui pengayaan pakan bioenrichment yang diinfeksi *vibrio sp*, akan diberikan perlakuan konsentrasi ekstrak bahan aktif pepaya dibawah 10 ppm untuk mendapatkan jumlah artemia yang hidup semua saat di beri ekstrak biji pepaya ketika diberikan kepada udang windu dalam media pemeliharaan akuarium sebagai pakan alami dan menambah daya tahan.

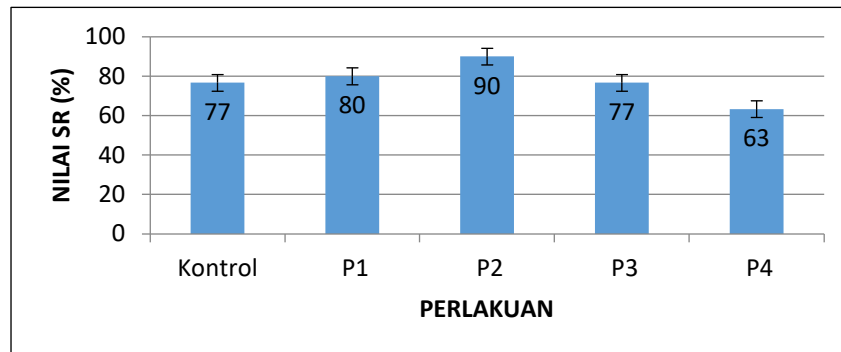
Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan dan tiga ulangan, dan dilakukan uji tantang pada benur PL-12 sebanyak 50 ekor/akuarium yang telah diberi pakan *bioenrichment* selama 12 hari hingga diakhir masa penggelondongan terhadap infeksi bakteri patogen pada rendaman dengan konsentrasi LD₅₀ *V. harveyii* selama 24 jam, dan dihitung jumlah kelangsungan hidup benur udang windu pada akhir penelitian. Penelitian ini terdiri atas kontrol negatif (artemia saja), satu kontrol positif P1 (artemia dengan 6 ppm antibiotik), dan tiga perlakuan ekstrak biji pepaya (3 ppm, 6 ppm, dan 9 ppm) masing-masing dengan tiga kali ulangan. Rancangan perlakuan penelitian dapat dilihat pada tabel 4 berikut ini:

Tabel 4. Rancangan Perlakuan Pakan *Bioenrichment* Pada Benur Udang Windu

Perlakuan	Keterangan
Kontrol Negatif	Artemia tanpa perendaman
P1 Kontrol Positif	Artemia dengan perendaman 6 ppm antibiotik
P2	Artemia dengan perendaman 3 ppm ekstrak biji pepaya
P3	Artemia dengan perendaman 6 ppm ekstrak biji pepaya
P4	Artemia dengan perendaman 9 ppm ekstrak biji pepaya

Kelangsungan hidup udang windu (*P. monodon* Fab.) pada perlakuan pencegahan infeksi *V. harveyi* dengan pemberian ekstrak biji pepaya cukup bervariasi. Tingkat kematian udang mulai terjadi pada hari ke-1 pada perlakuan 1. Sedangkan pada perlakuan 2, tingkat kematian udang mulai terjadi pada hari ke-11. Selanjutnya keadaan udang windu yang dipelihara sampai hari ke-8 pada

perlakuan P2 P3 dan P4 dalam keadaan normal. Udang beraktifitas cukup baik seperti makan dan berenang aktif. Kematian mulai terjadi masuk hari ke 9 dan terus terjadi hingga mendekati hari ke 12. Secara statistik, terdapat perbedaan antara perlakuan dengan kontrol (tanpa pemberian ekstrak) ($p < 0,05$), sedangkan antar perlakuan pencegahan dengan penggunaan ekstrak tidak berbeda nyata.



Tingkat kelangsungan Larva Udang Windu dari total tiap perlakuan yang dipelihara selama 12 hari masa perlakuan menunjukkan nilai tertinggi dicapai pada perlakuan P3 sebesar 90% dan terendah diperoleh pada perlakuan kontrol negatif sebesar 5%, sedangkan pada perlakuan P1 (kontrol positif) sebesar 95%, perlakuan P4 sebesar 78% dan perlakuan P2 sebesar 65%. Menurut Mulyani, Y. S. 2014, menyatakan bahwa tingkat kelangsungan hidup/*Survival Rate* (SR) $\geq 50\%$ tergolong baik, kelangsungan hidup 30-50% sedang dan kurang dari 30% tidak baik (Gambar 4).

Kelangsungan hidup merupakan persentase ikan uji yang hidup pada akhir pemeliharaan dari jumlah larva windu yang ditebar pada saat pemeliharaan dalam suatu wadah. Effendi (1997), menyatakan bahwa tingkat kelangsungan hidup merupakan nilai persentase jumlah ikan atau udang yang hidup selama periode pemeliharaan. Kelangsungan

hidup larva udang windu sangat ditentukan oleh pakan aktif bioenrichment serta kondisi lingkungan sekitar. Pemberian pakan dengan kualitas dan kuantitas yang cukup serta kondisi lingkungan yang baik, maka dapat menunjang keberlangsungan hidup.

3. KUALITAS AIR

Pengukuran kualitas air dilakukan pada awal, tengah dan akhir percobaan. Dari data kualitas air yang didapatkan terlihat bahwa faktor-faktor kualitas air sebagai media kehidupan pascalarva udang pada saat penelitian berlangsung secara umum tidak berpengaruh terhadap kematian udang windu, sehingga kematian udang windu semata-mata hanya disebabkan oleh faktor perlakuan saja. Hasil pengukuran kualitas air selama masa penelitian uji tantang berlangsung dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini:

Tabel 5. Parameter Kualitas Air

Variable	Perlakuan					Nilai Optimum
	Kontrol	P1	P2	P3	P4	
Suhu (°C)	25.5 - 27.7	25.5 - 27.7	25.5 - 27.8	25.5 - 27.7	25.5 - 27.8	25 - 30*
DO (mg/L)	6.21 - 6.86	6.22 - 6.87	6.24 - 6.74	6.22 - 6.77	6.24 - 6.66	> 3**
pH	6.8 - 7.2	6.8 - 7	6.8 - 7	6.8 - 7	6.8 - 7	6.5 - 8***
Amoniak (mg/L)	0.23 - 0.61	0.03 - 0.45	0.11 - 0.54	0.05 - 0.65	0.07 - 0.61	< 1****

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air meliputi DO, pH, NH₃ dan suhu selama penelitian masih dalam kisaran optimal. Berdasarkan hasil pengukuran Oksigen terlarut (DO) selama penelitian masih dalam kisaran optimal yaitu 6,21-6,87 mg/L. Kisaran oksigen terlarut tersebut masih layak untuk budidaya udang windu yaitu > 3. Oksigen terlarut sangat diperlukan untuk respirasi dan metabolisme serta kelangsungan hidup organisme (Effendi, 2003).

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan penelitian diperoleh hasil ekstrak biji pepaya memiliki kandungan bahan aktif sebagai antibakterial dapat menghambat serangan *Vibrio harveyii* pada larva udang windu selama penelitian. Tingkat kelangsungan Larva Udang Windu dari total tiap perlakuan yang dipelihara selama 12 hari masa perlakuan menunjukkan nilai tertinggi dicapai pada perlakuan P3 sebesar 90% dan terendah diperoleh pada perlakuan kontrol negatif sebesar 5 %, sedangkan pada perlakuan P1 (kontrol positif) sebesar 95%, perlakuan P4 sebesar 78% dan perlakuan P2 sebesar 65%.

SARAN

Saran dalam penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap uji histopatologi terhadap daya rusak jaringan dan sel dalam tubuh udang windu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariani, N., & Niah, R. (2018). Pengujian Daya Hambat Ekstrak Kulit

Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* forma *typica*) Terhadap *Shigella dysenteriae* Dan *Salmonella typhi*. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina, 3(2), 312-317.

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. The Association of official analytical chemist. 16th edition. Virginia (US):AOAC.Inc Arlington
- Behera, S., Ganthy, S., Ahmad, F., Santra, S., & Banerjee, S., 2012. Uv-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation. Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques, 3(6). <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000151>
- Bangham, A.D., and Horne R.W. 2006. *Action of saponins on biological cell membrane*. Journal Nature 196: 952-953.
- Cushnie dkk., 2014. *Alkaloid an overview of antibacterial , antibiotic-enancing and antivirulent activity*. International Journal of Antimicrobial Agent. 44: 377- 386.
- Cahyadi J,. 2021. Manajemen Perikanan Budidaya Air Payau dan Laut (prinsip dan praktik). Syiah Kuala University Press. ISBN : 978-623-264-325-3. 101 hlm.
- Cahyadi, J., Satriani GI., Gusman E., Sabri. 2019. Ekstrak Buah Mangrove (*Sonneratia alba*) Pada *Artemia salina* Dalam Menghambat Infeksi *Vibrio harveyi* Terhadap Sintasan Benur Udang Windu (*Peneaus monodon*) Secara *In Vivo*. Jurnal Harpodon Borneo. ISSN:

Jimmy Cahyadi., Laylan Sovina

EKSTRAKSI BIJI PEPAYA (*Carica papaya*)...

- 2087-121X Vol 12 Nomor 1 April 2019. Universitas Borneo Tarakan.
- Cahyadi J., Satriani, G.I., Gusman E., Weliyadi E., 2018. Buku Parasit dan Penyakit Ikan "Parasite and Fish Disease". Myria Publisher. ISBN. 978-602-53663-0-7.
www.myriabook.com
 - Dhiah, Novalina, Sugiyarto dan Ari Susilowati, 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Carica pubescens* dari Dataran Tinggi Dieng terhadap Bakteri Penyebab Diare, Universitas Sebelas Maret : Surakarta.
 - Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I., 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Biji Palado (*Agave angustifolia*) yang DiEkstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. Jurnal Akademika Kimia, 3(3): 165-172
 - Effendi H. 2003. Telaah Kualitas Air : Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Jurusan managemen Sumberdaya Perairan. FPIK. IPB. Bogor. 258 hal.
 - Febrianti, Dwi Rizki. 2019. *Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Siam (Citrus reticulata) Terhadap Pertumbuhan Pseudomonas aeruginosa*. Jurnal Pharmascience. Vol. 06 , No.01, Februari 2019, hal: 10 - 17.
 - Farida, R., Dewa, M., Titis, N. dan Endrawati, T. 2010. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia, I (7): Hal. 10-25.
 - Gazali, M., dan Safutra, E. 2016. Skrenning Potensi Antibakteri Ekstrak Padina Australis Hauck Terhadap Bakteri *Vibrio harveyii*. Jurnal Perikanan Tropis 2 (2), ISSN: 2355-5564.
 - Hadioetomo, 1990. "Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek". Penerbit Gramedia 161 halaman : Jakarta
 - Mulyono, Lienny Meriyuki. 2013. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (Carica papaya L) terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya vol.2 no.2.
 - Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols Dj, McLaughlin JL. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*. (45): 31-34
 - Nuria, MC., Faizatun, A., Sumantri. 2009. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 25923, *Escherichia coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella thypi* Atcc 1408. Jurnal Ilmuilmu Pertanian, 5:26-37.
 - Paramesti, N. N. 2014. *Efektivitas Ekstrak Biji buah pepaya (Carica papaya L.) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Escherichia coli*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
 - Pelczar, M. J., and Chan, E. C. S., 2007. *Elements of Microbiology*. Mc Graw Hill Book Company: New York. Diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta
 - Roni, A., Maesaroh, Lia, Marliani. 2018. *Aktivitas Antibakteri Biji, Kulit, dan Daun Pepaya (Carica papaya L.) Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Farmasi. 6 (1): 29-33. Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
 - Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: K. Padmawinata. Edisi IV. Bandung: ITB Press
 - Sari, A.P., 2019. *Sensitivitas Aeromonas hydrophila Terhadap Ekstrak Daun Jambu biji (Psidium guajava) Secara In-vitro dan Lc50 pada Ikan Nila Merah (Oreochromis sp)*. Skripsi Sarjana. Program Studi Akuakultur. Fakultas Perikanan dan

- Ilmu Kelautan.
Universitas Borneo Tarakan. Tarakan
- Sukadana, I. M, Santi, S.R, & Juliarti N.K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). Jurnal Kimia. 2 (1), 15-18
 - Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp. Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (In-Vitro). Jurnal Kedokteran Gigi. 38 (3):135.
 - Tandi, J., 2017. Effect of Ethanol Extract Gendola Leaf (*Basella alba* L.) on Decreasing Blood Glucose Condition and Histopatology Pankreas White Rats (*Rattus norvegicus*) Indicated Streptozotocin. JIMR - Journal of Islamic Medicine Research, 1(2): 15-25.
 - Wijayanti, R dan Febrinasari N. 2017. Karakterisasi Ekstrak Biji buah pepaya (*Carica pubescens*) serta Pengujian Antibakteri terhadap *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) Penyebab Diare pada Mencit Jantan. CERATA Jurnal Ilmu Farmasi. Issue 1, Vol. 8. Hal. 1-13. Universitas Islam Sultan Agung. Semarang. Publisher: Stikes Muhammadiyah Klaten.
 - Yanti, Y. N. dan Mitika, S. 2017. Pengujian Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. 2(1): 158-168. Akademi Farmasi Yayasan Al-Fatah. Bengkulu.
 - Zuhri, Saifudin. (2015). Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji buah pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, Motorik, Vol.10 No.20