

Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Kultivar Lokal

Reni M. Bulla*, Theo M. Da Cunha, Febri O. Nitbani

Program Studi Kimia, FST, Undana, Indonesia

Article Received: 15 April 2020

Article Accepted: 5 June 2020

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa alkaloid dan nilai kekuatan antioksidan IC_{50} dari ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) kultivar lokal menggunakan metode eksperimental Laboratorium. Analisis menggunakan LC-MS diperoleh senyawa alkaloid karpain dengan memiliki berat molekul 479 g/mol. Hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC_{50} ekstrak daun pepaya kultivar lokal A maupun kultivar lokal B adalah 34 ppm dan 10,4 ppm. Hal ini dapat memperlihatkan bahwa kedua ekstrak tersebut tergolong antioksidan kuat.

Kata Kunci : (*Carica papaya* L.) kultivar lokal, senyawa alkaloid dan aktivitas antioksidan

Abstract

This study aimed to determine the alkaloid compounds and the value of the antioxidant strength IC_{50} from ethanol extract of papaya leaf (*Carica papaya* L.) local cultivar and experimental method in the Laboratory. The analysis using LC-MS method obtained carpain alkaloid compounds with a molecular weight of 479 g/mol. The result Antioxidant activity obtained by IC_{50} papaya leaf extract (*Carica papaya* L.) local cultivar A and local culture B were 34 ppm and 10,4 ppm. This shows that both extract are classified as strong antioxidant.

Key words : *Carica papaya* L. local cultivar, alkaloid compound and Antioxidant activity

Pendahuluan

Indonesia memiliki berbagai macam kekayaan alam, diantaranya ialah kekayaan tumbuh-tumbuhan yang termasuk didalamnya tanaman berkhasiat obat. Sekitar 40.000 jenis tumbuhan yang mengandung bahan kimia yang berpotensi sebagai antioksidan, sehingga potensi pengembangan dan penelitian antioksidan alami dalam berbagai jenis tumbuhan sangat besar¹. Antioksidan merupakan senyawa yang secara signifikan dapat mencegah atau menunda proses terjadinya oksidasi

*Corresponding Author: Jl. Adi Sucipto Penfui Kupang (+62380)8037977
email: renybulla@gmail.com

senyawa lain yang mudah teroksidasi walaupun dengan konsentrasi rendah². Sumber antioksidan dapat berasal dari hasil ekstraksi bahan-bahan alami maupun dari hasil sintesa reaksi kimia. Beberapa penelitian menunjukkan senyawa antioksidan yang terkandung pada tanaman umumnya merupakan senyawa-senyawa fitokimia golongan alkaloid, flavonoid, kuinon, tannin, polifenol, saponin, steroid dan triterpenoid³.

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah pepaya (*carica papaya* L.) yang merupakan tanaman yang memiliki pertumbuhan yang cepat dan mudah dibudidayakan sehingga keberadaannya sangat melimpah. Hampir semua bagian dari tanaman pepaya dapat digunakan sebagai obat tradisional seperti daun, batang, buah, dan akarnya. Bagian tanaman ini yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah daunnya, karena mengandung enzim papain⁴.

Erna (2013) melaporkan bahwa ekstrak dari biji buah pepaya memiliki daya antioksidan dan daya penangkapan radikal bebas yang potensial terhadap 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl⁵. Fitria *et al.*, (2013) mengatakan bahwa ekstrak metanol buah pepaya mempunyai kekuatan aktivitas antioksidan⁶. Sedangkan menurut Aini, *et al.*, (2013) ekstrak daun pepaya memiliki potensi sebagai antioksidan, aktivitas ini diduga berasal dari metabolit sekunder yaitu senyawa alkaloid yang umumnya dapat memberi rasa pahit⁷.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, daun pepaya memiliki kandungan komponen alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, saponin, dan tannin⁸, memiliki aktivitas anti-tumor⁹, anti malaria dan antidiabetik¹⁰, aktivitas anti bakteri¹¹, serta aktivitas antioksidan¹². Penelitian Milind dan Gurdita (2011) mengatakan bahwa daun pepaya mengandung alkaloid seperti karpain, karpainin, karposid, pseudokarpain, vitamin C, E, kolin dan daun pepaya mengandung suatu glukosianat yang disebut benzil isotiosianat¹³. Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol dari daun pepaya dalam 1 liter etanol memiliki IC₅₀ sebesar 0,58 mg/ml. *Carica pubescens* Lenne dan K. Koch adalah termasuk tumbuhan dalam famili *caricaceae* dan berada dalam genus *Carica papaya*. Hasil isolasi membuktikan bahwa terdapat metabolit sekunder berupa enzim papain, alkaloid, pseudokarpain, glikosid, karposid dan saponin.

Menurut Kalie (2000) senyawa alkaloid yang terdapat dalam daun pepaya merupakan jenis alkaloid karpain¹⁴. Karpain merupakan senyawa alkaloid bercincin laktanoat dengan tujuh kelompok rantai metilen. Menurut Markham (1988) tumbuhan

dengan famili yang sama cenderung memiliki kemiripan kandungan senyawa dan mengandung senyawa yang berkaitan satu sama lain¹⁵.

Di Indonesia tanaman pepaya terdapat dimana-mana bahkan telah menjadi tanaman pekarangan. Sebagian besar tanaman pepaya di Pulau Timor tersebar merata dan terdapat banyak jenis pepaya yang dapat dibudidayakan. Dari uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang “Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Kultivar Lokal Asal Pulau Timor”

Hasil dan Pembahasan

Ekstrak daun pepaya

Hasil ekstraksi daun pepaya kultivar lokal A maupun kultivar lokal B sebanyak 400 gram menghasilkan ekstrak sampel kental sebanyak 11,3 gram dan 7,8 gram yang berwarna hijau pekat dan lengket (Gambar 1). Adapun nilai rendemen yang diperoleh masing-masing ekstrak yaitu adalah 2,82% dan 1,95%. Ada perbedaan signifikan antara metode ekstraksi secara refluks dan metode ekstraksi ecara maserasi. Hal ini diduga karena pengaruh faktor pemanasan, ekstraksi dengan maserasi dilakukan pada suhu ruang sedangkan ekstraksi dengan cara refluks menggunakan suhu 100⁰C. Adapun proses pemanasan pada saat proses ekstraksi dapat menyebabkan mudahnya pecah dinding sel sehingga dapat diperoleh rendemen yang lebih tinggi¹⁶.



Gambar 1. Ekstrak Sampel Kental

Isolasi alkaloid

Alkaloid diisolasi berdasarkan prinsip ekstraksi asam basa karena alkaloid dalam tumbuhan pada umumnya terikat dengan asam organik membentuk garam. Garam alkaloid ini kemudian diekstraksi dengan pelarut yang sesuai dengan tingkat kepolarannya. Pelarut kloroform yang digunakan dapat mengekstraksi alkaloid dalam

kondisi bebas sehingga didapatkan ekstrak kloroform yang merupakan alkaloid total yang masing-masing berwarna kuning kecokelatan dan hijau kekuningan sebanyak 2,05 gram dan 1,2 gram dengan persen rendemen masing-masing adalah 0,51% dan 0,3%. Persen rendemen yang diperoleh menunjukkan bahwa ada senyawa alkaloid yang berhasil terekstrak kedalam pelarut yang digunakan.

Golongan aktif senyawa alkaloid

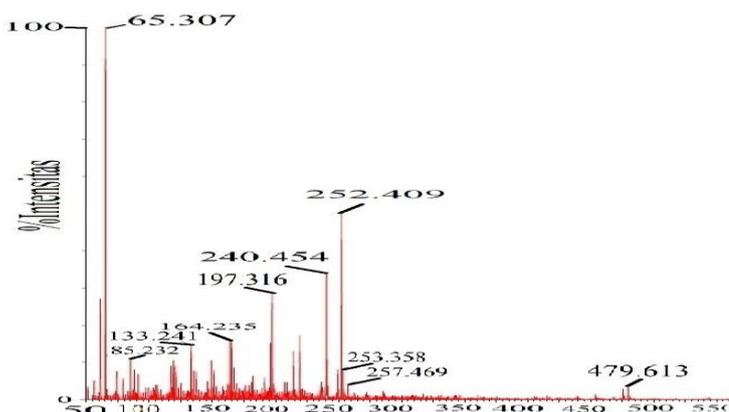
Pada tahap ini, dilakukan uji fitokimia alkaloid pada fraksi kloroform dari ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L). Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa aktif (alkaloid) yang terdapat dalam fraksi kloroform. Selain itu, tujuan dilakukan uji fitokimia untuk mengidentifikasi secara kualitatif senyawa metabolit sekunder. Hasil uji fitokimia dari kedua sampel daun pepaya dapat dilihat pada Tabel 1

No	Uji	Warna	Hasil
1	Alkaloid Pereaksi Wagner	Larutan berwarna merah bata dan terdapat endapan	+
	Pereaksi mayer	Larutan berwarna putih dan terdapat sedikit endapan	+

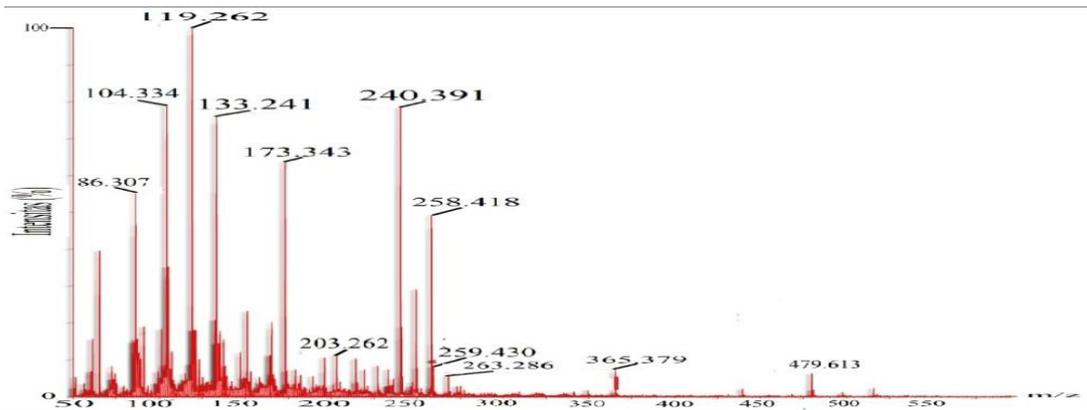
Keterangan: (+) mengandung senyawa yang dimaksud

(-) tidak mengandung senyawa yang dimaksud

Analisis senyawa alkaloid dengan LIQUID CHROMATOGRAPHY MASS SPECTROSCOPY (LC-MS)



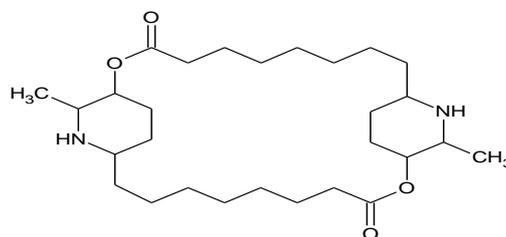
(a)



(b)

Gambar 1 (a) Hasil spektrum massa senyawa alkaloid pada daun pepaya kultivar lokal A
 (b) Hasil spektrum massa senyawa alkaloid pada daun pepaya kultivar lokal B

Berdasarkan kedua spektrum massa tersebut dilihat bahwa terdapat peak-peak yang memiliki puncak karakteristik yang menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid karpain. Analisis MS pada ekstrak daun pepaya kultivar lokal A dan kultivar lokal B terdapat satu puncak yang mengindikasikan adanya senyawa karpain yaitu pada puncak dengan m/z 479,613 yang berasal dari $M + H^+$ ($478 + 1$) dengan M adalah massa molekul relatif karpain.



Gambar 2 Struktur alkaloid karpain (Hegnauer, 1964)

Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada kedua ekstrak daun pepaya bertujuan untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan dari kedua ekstrak tersebut. Uji aktivitas antioksidan kedua ekstrak daun pepaya pada penelitian ini digunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Uji kuantitatif daya antioksidan dilakukan melalui pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum 518 nm untuk mengetahui sisa DPPH setelah ditambahkan larutan uji. Penghilangan warna sebanding dengan elektron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur dengan

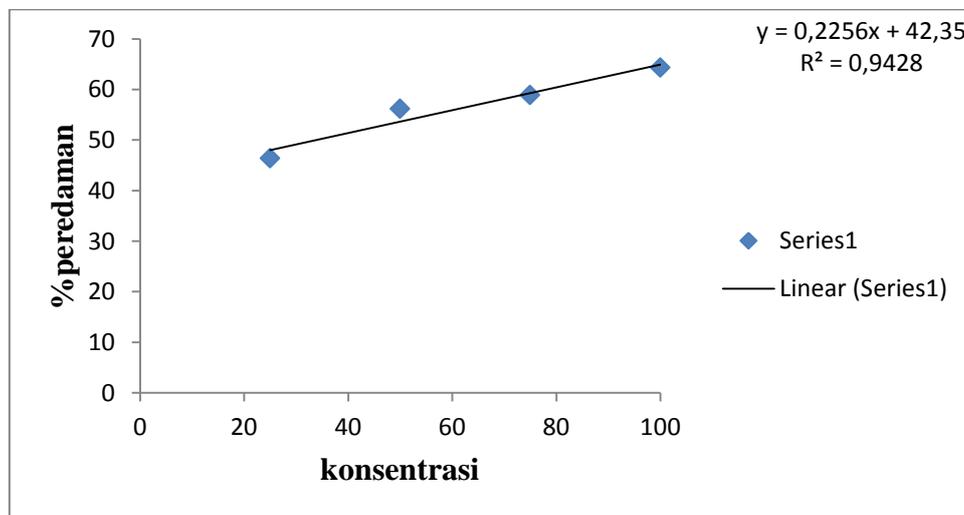
spektrofotometer serta dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

Aktivitas antioksidan dari senyawa uji dinyatakan dengan IC₅₀. Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen penangkapan radikal yang dimilikinya. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin aktif suatu fraksi/ekstrak tanaman sebagai antioksidan.

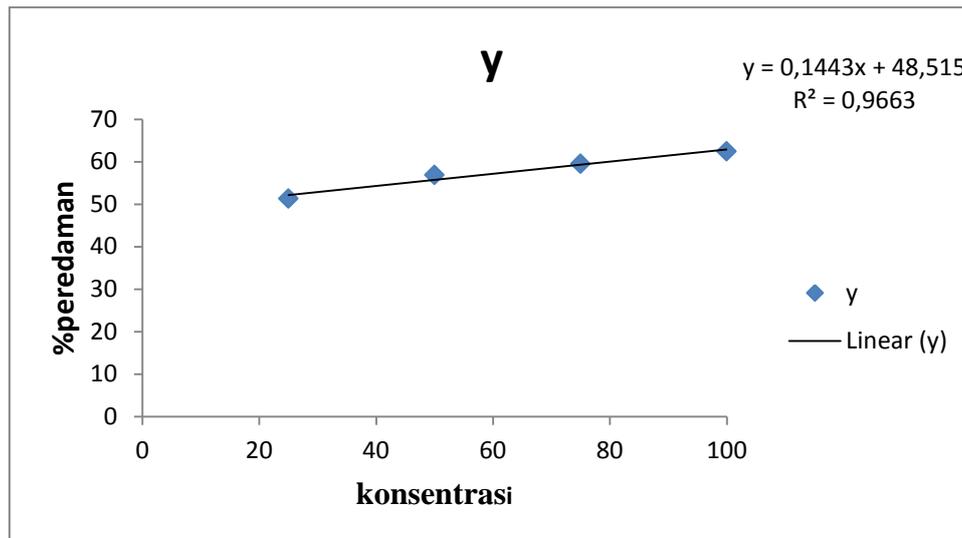
Data pengukuran absorbansi dan perhitungan % peredaman fraksi kloroform ekstrak daun pepaya dilihat pada Tabel 2 berikut ini.

Jenis pepaya	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
Kultivar lokal A	25	0,327	46,39
	50	0,267	56,22
	75	0,218	58,58
	100	0,251	64,26
Kultivar lokal B	25	0,297	51,33
	50	0,263	56,88
	75	0,247	59,50
	100	0,229	62,45

Hubungan konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman diplotkan dan didapatkan kurva seperti Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3 Kurva hubungan % peredaman terhadap konsentrasi ekstrak daun pepaya kultivar lokal A



Gambar 4 Kurva hubungan % peredaman terhadap konsentrasi ekstrak daun pepaya Kultivar lokal B

Berdasarkan kedua grafik tersebut diperoleh persamaan regresi yang digunakan untuk mengetahui nilai kadar aktivitas antioksidan dari kedua varietas tersebut. Persamaan regresi yang diperoleh masing- masing adalah $y = 0,225x + 42,35$ dan $y = 0,144x + 48,51$ dengan nilai $R^2 = 0,942$ dan $0,966$ atau mendekati 1 sehingga dapat dikatakan bahwa adanya linearitas antara konsentrasi dengan persen peredaman.

Kekuatan aktivitas antioksidan suatu senyawa dilihat dari besarnya nilai *inhibitor concentration* (IC_{50}) yang didapatkan dari plot persen peredaman terhadap konsentrasi ekstrak daun pepaya. Berdasarkan perhitungan maka diperoleh nilai IC_{50} masing- masing adalah 34 ppm dan 10,4 ppm.

Kesimpulan

Senyawa alkaloid yang terdapat dalam isolat daun pepaya (*Carica papaya* L.) kultivar lokal A maupun kultivar lokal B merupakan senyawa karpain dengan memiliki berat molekul 479 g/mol. Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) kultivar lokal A dan kultivar lokal B mengandung senyawa alkaloid dengan kekuatan antioksidan (IC_{50}) masing-masing adalah 34 ppm dan 10, 4 ppm.

Daftar Pustaka

1. Rustam., Atmasari dan Yanwirasti. 2007. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica Val.*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 12(2):112-115
2. Mandal, S., Satish Y., Sunita Y dan Nema, R.K. 2009. Antioxidant: A Review. *Chemical and Pharmaceutical Research*, 1(1):102-104.
3. Sudirman, Sabri. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (*Ipomoea aquatica Forsk.*). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
4. Tim Karya Tani Mandiri. 2011. Pedoman Bertanam Pepaya. CV Nuansa Aulia. Bandung.
5. Erna, V. 2013. Daya Peredaman Radikal Bebas Ekstrak Metanol Biji Pepaya dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 2(1).
6. Fitria A, D Gebi dan S, Wiwi. 2013. Penentuan Aktivitas Antioksidan Buah Pepaya (*Carica papaya L.*) dan Produk Olahannya Berupa Manisan Pepaya. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia Universitas Pendidikan Indonesia*. 4(2).
7. Aini, N.F., C.S. Nurila, K.S., Rina, Annisa Nur, N.H dan Titis, R. 2013. Tempe Daun Pepaya Sebagai Alternatif Terapi Untuk Penderita Kanker. *Jurnal Teknosains Pangan*. 2(4).
8. A'yun, Qurrota., Laily dan Nikmati, Ainun. 2015. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya L.*). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
9. Rahmi, Fardina. 2012. Potensi Perasan Daun Pepaya (*Carica Papaya L*) Terhadap Jumlah Makrofag Pasca Gingivektomi pada Tikus Wistar Jantan. Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jember
10. Ayoola, P.B. & Adeyeye, A. 2010. Effect of Heating on the Chemical Composition and Physico Chemical Properties of *Arachis hypogea* (Groundnut) Seed Flour and Oil. Pakistan. *Journal of Nutrition*. 9(8):751-754
11. Mahmood, A.A., Sidik, K dan Salmah, I. 2005. Wound Healing Activity of *Carica Papaya* Leaf Extract in Rats. *Int J. Molc Med and Adv Sci*. 1(4):398-40
12. Maisarah, A.M., Nurul Amina, B., Asmah, R and Fauziah, O. 2013. Antioxidant Analysis of Different Parts of *Carica Papaya*. *International Food Research Journal*. 20(3):1043-1048.
13. Milind, P dan Gurditta. 2011. Basketful Benefits of Papaya. *IRJP*. 2(7):6-12
14. Kalie. 2000. Bertanam Pepaya. Penebar Swadaya. Jakarta
15. Markham, R, KS. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. ITB. Bandung
16. Susanti., Fairus, B. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *KONVERSI*. Vol.5(2).

Metodologi Penelitian

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain daun pepaya hijau agak tua, etanol 95%, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) aquades,

HCl 2N, kloroform, etil asetat, NaOH 1N, peraksi mayer, wagner, alumunium foil, indikator PH, tisu dan aquades.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, blender, toples, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, batang pengaduk, pipet tetes, erlenmeyer, mikropipet, bunsen, inkubator, neraca analitik, hotplate, cawan porselin, rotary evaporator EYELAOSB-2100-CE, spektrofotometer UV-Vis dan LC/MS.

Prosedur kerja

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah dua jenis daun pepaya (*Carica papaya L.*) kultivar lokal yang berasal dari Desa Matani Kecamatan Kelapa Lima Kabupaten Kota Kupang. Daun pepaya yang diambil adalah daun pepaya yang berwarna hijau tua.

Preparasi sampel

Sampel daun pepaya yang telah diambil dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu menggunakan air mengalir untuk memisahkan kotoran-kotoran yang masih melekat pada permukaan sampel daun pepaya tersebut. Setelah itu, sampel daun pepaya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat yang tidak terkena langsung dengan matahari. Sampel yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender untuk memperluas permukaan sehingga dapat berinteraksi dengan pelarut pada proses pada ekstraksi.

Ekstraksi sampel

Serbuk daun pepaya sebanyak 400 gram ditimbang, dimasukkan kedalam toples kemudian ditambahkan lagi pelarut etanol 95% hingga semua sampel terendam lalu wadah maserasi ditutup menggunakan alumunium foil, dimaserasi selama 3 hari karena semakin lama interaksi sampel dengan pelarut, komponen senyawa kimia yang terekstrak akan semakin banyak. Selanjutnya dilakukan penyaringan pada campuran tersebut untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C untuk memisahkan pelarut dan ekstrak sehingga diperoleh ekstrak daun pepaya yang kental. Penggunaan suhu tersebut dibawah titik didih etanol yaitu 78,29°C yang dimaksudkan agar senyawa-senyawa volatil yang terdapat dalam ekstrak tidak mudah menguap dibawah titik didih normalnya sehingga tidak terjadi kerusakan atau terjadi degradasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak akibat pemanasan. Pemakaian etil asetat

sebagai pelarutan dengan tujuan agar dapat mengekstrak senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran antara polar dan non polar (Putry *et al*, 2013). Terhadap residu dilakukan isolasi alkaloid (Ginting *et all*, 2013).

Isolasi alkaloid

Residu yang diperoleh dari prosedur diatas dilarutan dengan etanol 96 % dan ditambahkan HCL 2N hingga pH 2 agar kondisi larutan ada dalam suasana asam. Hal ini akan meningkatkan kelarutan alkaloid dalam etanol. Alkaloid akan terlarut dalam larutan asam dalam bentuk garam alkaloid. Kemudian dipartisi dengan 100 ml kloroform dan 30 ml aquades (karena kloroform dan etanol bercampur) yang bertujuan untuk memisahkan senyawa- senyawa metabolit sekunder lain yang ikut terekstraksi agar tidak mengganggu proses isolasi alkaloid selanjudnya. Lapisan bawah (lapisan kloroform dipisahkan, lapisan atas (lapisan ekstrak etanol) ditambahkan dengan NaOH 1N hingga pH 12 yang bertujuan untuk melepaskan ikatan alkaloid dengan asamnya sehingga alkaloid kembali dalam kondisi bebas. Kemudian dipartisi lagi dengan kloroform karena pelarut kloroform dapat mengekstraksi alkaloid dalam kondisi bebas sehingga didapatkan ekstrak kloroform yang merupakan alkaloid total. Lapisan kloroform diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak tersebut diambil dan diuji fitokimia (alkloid) serta diukur aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (Ginting *et all*, 2013).

Uji fitokimia alkaloid

Sebanyak 2 ml larutan uji diuapkan di atas cawan porselin. Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Larutan yang diperoleh dibagi ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi wagner dan tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi yang masing- masing terdapat endapan merah bata dan endapan putih menunjukkan adanya alkaloid (Farnsworth, 1966).

Identifikasi golongan senyawa dengan menggunakan lc-ms/ms

Ekstrak daun pepaya yang diperoleh dari proses isolasi kemudian dianalisis menggunakan LC-MS/MS.

Uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH

Larutan pereaksi yang digunakan adalah larutan DPPH 25 ppm dalam pelarut etanol dan dijaga pada suhu kamar serta terlindungi dari cahaya. Ekstrak daun pepaya dibuat dalam konsentrasi 25, 50, 75 dan 100 ppm, menggunakan pelarut etanol.

Sebanyak 2 ml dari setiap konsentrasi ekstrak daun pepaya dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2 ml larutan DPPH 25 ppm, kemudian dikocok sampai homogen dan didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 518 nm.

Penentuan persen peredaman (IC₅₀)

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi dianalisa aktivitas antioksidanya menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%.$$

Penentuan nilai IC₅₀

Presentase inhibisi yang telah diperoleh dari masing-masing konsentrasi ekstrak dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linear menggunakan persamaan $y = ax + b$, dimana x merupakan konsentrasi dari ekstrak (ppm) dan y merupakan presentasi inhibisi (50%).