

**PENGARUH PROSES MASERASI DENGAN VARIASI
KONSENTRASI PELARUT ETANOL TERHADAP
KANDUNGAN SENYAWA EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica
papaya* L.) DAN DAUN UBI JALAR UNGU
(*Ipomoea batatas* L. Lam)**

Submitted : 11 Juli 2020

Edited : 22 Desember 2020

Accepted : 29 Desember 2020

Herman Irawan¹, Sevty Syera², Nurlaili Ekawati¹, Djudjat Tisnadjaja¹

¹Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI, Jalan Raya Bogor Km 46, Cibinong 16911

²Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA Jakarta

Korespondensi: Herman Irawan

Email : herman432001@gmail.com

ABSTRACT

Papaya (Carica papaya L.) and purple sweet potato (Ipomoea batatas L. Lam) are commonly used empirically as traditional medicines, including for malaria, malnutrition, fever and hemorrhagic fever. The purpose of this study was to determine the effect of differences in the concentration of ethanol solvents on the chromatogram profile and compound content. The research method began with maceration using 50%, 70%, and 96% ethanol, then thin layer chromatography test, and determination of total phenol and flavonoid levels with Elisa at 750 nm and 415 nm, where the comparator used were gallic acid and quercetin. The results of total phenol levels obtained in papaya leaf extract were 3,493 mg GAE/gram and in sweet potato leaves the results were 4,786 mgGAE/mg. While the total flavonoid yield obtained from papaya leaf extract was obtained as much as 4,630 mg QE/gram and on sweetpotato which was 4,269 mgQE/mg. Characterisation of extract compound content was carried out by using Gas Chromatography- Mass Spectroscopy (GC-MS), where comparison of extracts used in extract combination samples are 50:50, 75:25, and 25:75. The results showed that ethanol extract contained alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and triterpenoids. Characterization by using GC-MS for single extract and combination extract of papaya leaves and purple sweet potato leaves obtained the main active compounds are Phytol, Neoheptadine, and n-Hexadecanoic acid.

Keywords : *Carica Papaya, Ipomoea batatas, Thin Layer Chromatography, maceration, asChromatography-Mass Spectroscopy (GC MS).*

PENDAHULUAN

Daun pepaya (*Carica papaya* L.) dikenal pula sebagai kates atau telo di daerah Jawa, pada umumnya dimanfaatkan sebagai makanan dalam bentuk sayur maupun produk olahan lainnya. Daun pepaya sering dimanfaatkan sebagai obat hipertensi, malaria, malnutrisi, dan gangguan saluran kencing. Penelitian lain, menyatakan bahwa ekstrak daun pepaya mengandung triterpenoid, dan mikronutrien seperti vitamin A, vitamin C,

vitamin E, vitamin B12, dan β -karoten⁽¹⁾. Daun pepaya juga memiliki kandungan flavonoid (kaempferol, manghaslin, dan klitorin), saponin, alkaloid (karpain, pseudokarpain, dan dehidrokarpain I dan II), glikosida, fenol (asam ferulat, asam kafeat, dan asam klorogenat) dan enzim papain⁽²⁾. Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan karpain yang merupakan fraksi alkaloid hasil ekstraksi daun pepaya, memiliki aktivitas

antitrombositopenia pada tikus yang diinduksi dengan busulfan⁽³⁾.

Daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L. Lam) mempunyai aktivitas antioksidan karena ada kandungan antosianin, yaitu sianidin dan peonidin yang tinggi⁽⁴⁾. Daun ubi jalar ungu bermanfaat juga sebagai obat bisul hingga obat penurun panas⁽⁵⁾. Selain itu, infusa daun ubi jalar ungu dengan dosis sedang dan berat berpotensi sebagai obat demam berdarah⁽⁶⁾. Penelitian lain menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada daun ubi jalar lebih kuat dari pada umbinya⁽⁷⁾.

Berdasarkan hasil penelitian Fu *et al*⁽⁸⁾ diketahui bahwa ekstrak daun ubi jalar ungu yang diperoleh dari Nanchang, China menghasilkan senyawa fenolik, flavonoid, antosianin, dan kaya akan polifenol. Sedangkan pada ekstrak daun ubi jalar ungu Cihideung, Bandung mengandung senyawa fenol, tannin, flavonoid, dan karotenoid⁽⁹⁾. Dalam hal ini, jenis pelarut pengekstraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak⁽¹⁰⁾. Pelarut etanol lebih baik dibandingkan pelarut air, methanol, dan aseton, karena etanol dapat melarutkan kandungan flavonoid terbanyak dari daun ubi jalar ungu, dan etanol aman digunakan sebagai pelarut makanan, ekonomis serta mudah didapatkan⁽⁸⁾.

Beberapa peneliti lain menunjukkan bahwa konsentrasi pelarut etanol akan berpengaruh terhadap hasil ekstraksi bahan alam secara maserasi. Agustin & Ismiyati⁽¹¹⁾, menunjukkan melalui hasil penelitiannya bahwa hasil ekstraksi antosianin dari kelopak bunga kembang sepatu, dengan menggunakan pelarut etanol 96% memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penggunaan pelarut etanol 60, 70 dan 80%. Sementara Chew *et al*⁽¹²⁾, yang memvariasikan konsentrasi pelarut etanol dari 0 sampai 100%, untuk mengekstraksi senyawa fenol dari

Orthosiphon stamineus, melaporkan bahwa konsentrasi etanol 40% memberikan hasil lebih baik dibandingkan konsentrasi lainnya. Hasil sedikit berbeda dilaporkan oleh Setyowati *et al*⁽¹³⁾, dimana perolehan senyawa fenolik optimum, dari ekstraksi secara maserasi *Solanum betaceum* Cav., adalah dengan penggunaan pelarut etanol : air (60 : 40 v/v).

Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etanol dengan konsentrasi berbeda bisa memberikan hasil maserasi yang berbeda. Perbedaan hasil juga dipengaruhi oleh jenis bahan alam yang diekstraksi serta senyawa yang menjadi target. Berdasarkan hasil-hasil penelitian tersebut, penulis merasa perlu untuk melakukan penelitian ini, yang bertujuan untuk mempelajari pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut etanol terhadap hasil ekstraksi dari daun pepaya yang diperoleh dari Yogyakarta dan daun ubi jalar yang diperoleh dari daerah Bogor, sehingga diharapkan dapat memberikan tambahan informasi tentang kandungan senyawa dalam ekstrak daun pepaya dan ekstrak daun ubi jalar bagi peneliti lainnya di masa yang akan datang.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk simplisia daun pepaya diperoleh dari CV. Bina Agro Mandiri, Yogyakarta dan sampel ubi jalar ungu, diperoleh dari daerah Dramaga, Bogor. Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 200 g dimasukkan kedalam wadah botol 5 liter kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 50, 70, dan 96% dengan perbandingan 1:4 (b/v) selama 1 x 24 jam, kemudian disaring, filtratnya kemudian dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan dikeringkan dalam lemari pengering (suhu 50 °C) hingga diperoleh ekstrak kental.

Rendemen Ekstrak dihitung dengan rumus:

Rendemen
(%)

$$= \frac{b}{b} \frac{e_i}{si} \frac{k}{y} \frac{al}{d e} \times 100 \% \quad (1)$$

Penapisan Fitokimia⁽¹⁴⁾

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder (golongan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, dan saponin) dari daun pepaya dan ubi jalar ungu⁽¹⁵⁾.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis KLT dilakukan dengan fasa diam lempeng silika GF254 menggunakan empat jenis campuran eluen dengan perbandingan yang bervariasi (Tabel 1). Analisis dilakukan terhadap sampel ekstrak daun pepaya, ekstrak daun ubi jalar, dan campuran ekstrak daun pepaya dan daun ubi jalar (1:1). Bercak noda yang terbentuk diamati di bawah sinar lampu UV dan dihitung nilai faktor retensinya (Rf)⁽¹⁶⁾.

Tabel 1. Variasi fase gerak

No eluen	Fase gerak
I	asam asetat glasial:butanol:air (1:4:5)
II	n-heksan:etil asetat (3:7)
III	metanol:air (6:4)
IV	kloroform:metanol (9:1)

Uji Flavonoid Total

Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Kurva standar kuersetin dibuat dengan variasi konsentrasi yaitu 4, 6, 8, 10, 12, 4, 16, 18, 20 dan 22 µg/mL. Masing-masing konsentrasi secara terpisah dipipet sebanyak 20 µL dicampur dengan 20 µL AlCl₃ 10%, 20 µL natrium asetat 1M dan 180 µL air suling, kemudian dibiarkan pada suhu kamar selama 60 menit. Pembacaan absorbansi dilakukan pada 415 nm dengan microplate reader⁽¹⁷⁾.

Kurva standar dibuat dengan memplot nilai konsentrasi sebagai sumbu x dan serapan pada sumbu y kemudian ditentukan persamaan regresi linearnya untuk digunakan dalam penentuan kadar flavonoid total. Sehingga diperoleh persamaan:

$$y = ax + b \quad \dots (3)$$

dimana y adalah absorbansi sampel dan x merupakan konsentrasi standar, sementara a,b adalah konstanta.

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Ekstrak sebanyak 50 mg di tambahkan metanol hingga volume 10 mL, kemudian dipipet sebanyak 20 µL di campur dengan 20 µL AlCl₃ 10%, 20 µL dari natrium asetat 1M dan 180 µL air suling, dan di biarkan pada suhu kamar selama 60 menit. Absorbansi dibaca pada 415 nm⁽¹⁷⁾. Kadar flavonoid dihitung berdasarkan kurva standar kuersetin, sehingga kadar flavonoid dihitung sebagai mg ekuivalen kuersetin per gram sampel. Adapun rumus perhitungan kadar flavonoid total dalam sampel adalah:

$$\left(\frac{\text{mgQE}}{\text{gram}} \text{ sampel} \right) = \frac{\text{kons. kuersetin sampel (ppm)} \times \text{fp} \times \text{vol (mL)}}{\text{massa sampel (g)}} \quad (4)$$

Uji Fenol Total

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat– Folin Ciocalteu

Kurva kalibrasi asam galat dibuat dengan konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75, dan 90 µg/ml asam galat dan diambil sebanyak 10 µL kemudian dicampurkan ke dalam sumur (96-well microplate) yang sudah berisi 160 µL aquades. Sebanyak 10 µL reagen Folin-Ciocalteu 10% dan 20 µl larutan Na₂CO₃ 10% ditambahkan ke dalam tiap sumur lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang. Kandungan fenol total ditentukan dengan pembacaan absorbansi pada 750 nm

menggunakan microplate reader mengikuti metode Wan-Ibrahim *et al* dengan sedikit modifikasi⁽¹⁸⁾.

Penentuan Kandungan Fenol Total

Ekstrak ditimbang sebanyak 20 mg, dilarutkan dalam metanol sehingga membentuk konsentrasi 2 mg/mL dan diambil sebanyak 10 µL, kemudian dicampurkan ke dalam sumur (96-well microplate) yang sudah berisi 160 µL aquadest. Sebanyak 10 µL reagen Folin- Ciocalteu 10% dan 20 µL larutan Na₂CO₃ 10% ditambahkan ke dalam tiap sumur lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang. Kandungan total fenolik ditentukan dengan pembacaan absorbansi pada

750 nm menggunakan microplate reader⁽¹⁸⁾. Kandungan fenol total dihitung berdasarkan kurva standar asam galat, sehingga kadar fenol sampel dihitung sebagai mg ekuivalen asam galat untuk tiap g sampel. Adapun rumus perhitungan kadar fenol total dalam sampel adalah:

$$\left(\frac{\text{mgGAE}}{\text{gram}} \text{ sampel} \right) = \frac{\text{konsentrasi asam galat sampel (ppm)} \times \text{fp} \times \text{vol (mL)}}{\text{massa sampel (g)}} \quad (5)$$

Analisis GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

Ekstrak etanol 96% daun pepaya dan daun ubi jalar ditimbang masing-masing sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dengan metanol (p.a). Ekstrak dipipet sebanyak 1 dan ditambah sebanyak methanol 9 mL. Larutan kemudian diambil dengan menggunakan spuit untuk disaring dan siap dianalisis menggunakan GC. Pada penelitian ini digunakan GCMS merk Shimadzu QP 2010 dengan detektor FTD/BID (*Flame Thermal Ionization Detectors*), fase diam Rtx-5MS (30 m x 0.25 mm) dan fase gerak gas helium. Kondisi analisis menggunakan mode tekanan konstan, temperatur kolom 60 °C-10 °C/min-

240 °C (15 min), temperature injeksi 200 °C dan volume injeksi sebanyak 3 µL. Analisis juga dilakukan terhadap campuran ekstrak pepaya dan daun ubi jalar dengan perbandingan 25:75; 50:50 dan 75:25. Analisis kromatogram senyawa yang diperoleh dilakukan dengan cara membandingkan terhadap library.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Simplisia

Hasil ekstraksi dengan berbagai konsentrasi pelarut menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan, rendemen ekstrak yang diperoleh semakin sedikit. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Chew *et al.*⁽¹²⁾ Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa dari daun pepaya maupun daun ubi jalar lebih mudah larut dalam air atau dalam pelarut polar (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Penentuan Bobot dan Rendemen Ekstrak

Konsentrasi Etanol (%)	Bobot ekstrak(g) dan Rendemen (%)	
	Daun Pepaya	Daun Ubi Jalar Ungu
50	41,33; 20,67	55,31; 27,66
70	29,00; 14,50	49,37; 24,69
96	13,11; 6,60	29,66; 14,83

Keterangan: bobot ekstrak yang diperoleh(g);rendemen ekstrak(%)

Penapisan Fitokimia

Tujuan penapisan fitokimia adalah untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak dan kaitannya dengan khasiat yang memiliki aktivitas biologis atau aktivitas farmakologisnya. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil uji terhadap kandungan alkaloid diketahui bahwa ekstrak positif mengandung alkaloid, dimana pada

penambahan pereaksi Bouchardat, terbentuk endapan putih. Hasil positif pada ekstrak daun pepaya dan ubi jalar ungu juga ditunjukkan pada uji Dragendorff, dimana terbentuk endapan merah bata. Pemeriksaan alkaloid dengan penambahan pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorf sebelumnya ditambahkan HCl karena alkaloid bersifat basa, sehingga harus diekstraksi dengan pelarut yang mengandung asam⁽¹⁴⁾.

Pada uji flavonoid filtrat yang ditambahkan dengan logam Mg memberikan warna merah

setelah penambahan HCl (p), ini menunjukkan hasil yang positif adanya flavonoid, hal ini terjadi karena adanya interaksi antara senyawa flavonoid dengan logam Mg membentuk garam flavilium yang menyebabkan perubahan warna⁽¹⁹⁾.

Hasil uji identifikasi fenol menunjukan hasil yang positif dimana uji ini menghasilkan warna coklat kehitaman setelah penambahan FeCl₃, dimana senyawa FeCl₃ akan bereaksi dengan gugus hidroksil yang terdapat dalam senyawa fenol dan menimbulkan perubahan warna⁽²⁰⁾. Sedangkan hasil uji identifikasi tannin terdapat endapan putih yang terbentuk dari penambahan gelatin dikarenakan tanin akan berinteraksi dengan gelatin membentuk kopolimer yang tidak larut air⁽²¹⁾.

Ekstrak memberikan hasil positif pada uji saponin. Buih yang dihasilkan sekitar 5 cm setelah didiamkan selama 10 menit dan buih tidak hilang dengan penambahan HCl 2N, buih yang dihasilkan akibat dari gugus hidrofil yang berikatan dengan air dan gugus hidrofob yang berikatan dengan udara. Setelah terbentuk buih ditambahkan HCl yang menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan dengan buih⁽²²⁾. Uji terpenoid juga menunjukan hasil yang positif dimana terbentuk cincin merah kecoklatan, perubahan warna ini disebabkan karena terjadinya reaksi oksidasi pada golongan triterpenoid atau steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkojugasi⁽²³⁾.

Tabel 3. Hasil Penapisan fitokimia

No	Parameter Fitokimia	Hasil uji fitokimia ekstrak	
		Daun Pepaya	Daun Ubi Jalar Ungu
1.	Alkaloid	+	+
2.	Flavonoid	+	+
3.	Saponin	+	+
4.	Tannin	+	+
5.	Fenol	+	+
6.	Steroid/Triperpenoid	+	+

Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak etanol 50, 70, dan 96% daun ubi jalar ungu dan pepaya dianalisis dengan KLT menggunakan lempeng silika GF245 dengan fase gerak:

- I. asam asetat glasial:butanol:air (1:4:5)
- II. n-heksan:etil asetat (3:7)
- III. metanol:air (6:4)
- IV. kloroform:metanol (9:1)

Noda diamati dibawah sinar lampu UV 254 nm dan kemudian dilakukan penyempotan dengan serum sulfat.

Hasil uji KLT tidak sejalan dengan hasil perolehan rendemen, dimana pada perhitungan rendemen ekstrak terlihat bahwa pelarut etanol 50% memberikan rendemen paling tinggi dan rendemen yang diperoleh makin kecil seiring dengan meningkatnya konsentrasi etanol. Namun demikian dari hasil KLT terlihat bahwa jumlah komponen yang terekstraksi makin banyak dengan makin tingginya konsentrasi etanol (Tabel 4, 5, dan 6).

Hasil KLT terhadap ekstrak etanol 50% daun pepaya dan daun ubi jalar ungu pada beberapa eluen tersebut menghasilkan lebih sedikit spot atau noda bila dibandingkan dengan hasil KLT ekstrak daun pepaya dan ubi jalar ungu dengan konsentrasi etanol 70% dan 96%. Ini menunjukkan bahwa komponen dari ekstrak lebih banyak tertarik pada konsentrasi etanol 70% dan 96%. Hasil terbaik yang didapatkan dari beberapa eluen yang digunakan yaitu dengan eluen kombinasi kloroform dan metanol dengan perbandingan

(9:1), dimana spot atau noda paling banyak dapat ditemukan pada penotolan ekstrak 96% pada daun pepaya dan daun ubi jalar ungu. Banyaknya noda pada lempeng KLT

menunjukkan jumlah komponen kimia yang dikandung oleh suatu ekstrak tanaman yang dapat dipisahkan menggunakan eluen tertentu.

Tabel 4. Nilai Rf Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu

No	Konsentrasi (%)	Jumlah Noda	Nilai Rf
I	50	0	-
	70	3	0,6; 0,78; 0,9
	96	3	0,62; 0,8; 0,9
II	50	1	0,84
	70	1	0,82
	96	2	0,84; 0,94
III	50	1	0,87
	70	1	0,85
	96	1	0,85
IV	50	2	0,18; 0,38
	70	3	0,1; 0,36; 0,5
	96	3	0,16; 0,38; 0,5

Keterangan: I: asam asetat glasial:butanol:air (1:4:5), II: n-heksan:etil asetat (3:7), III: metanol:air (6:4), dan IV: kloroform:metanol (9:1)

Tabel 5. Nilai Rf Ekstrak Etanol Pepaya

No	Konsentrasi (%)	Jumlah Noda	Nilai Rf
I	50	1	0,92
	70	1	0,88
	96	1	0,92
II	50	2	0,8; 0,9
	70	2	0,8; 0,9
	96	2	0,8; 0,92
III	50	1	0,8
	70	1	0,76
	96	1	0,8
IV	50	4	0,14; 0,24; 0,53; 0,68
	70	6	0,18; 0,26; 0,34; 0,44; 0,52; 0,68; 0,78; 0,9
	96	8	0,16; 0,26; 0,36; 0,46; 0,52; 0,68; 0,78; 0,82; 0,9; 0,94

Keterangan: I: asam asetat glasial:butanol:air (1:4:5), II: n-heksan:etil asetat (3:7), III: metanol:air (6:4), dan IV: kloroform:metanol (9:1)

Tabel 6. Nilai Rf Campuran Ekstrak Etanol daun Ubi Jalar Ungu dan Pepaya (1:1)

No	Konsentrasi (%)	Jumlah Noda	Nilai Rf
I	50	0	-
	70	1	0,86
	96	3	0,6; 0,76; 0,86
II	50	0	-
	70	2	0,4; 0,84
	96	2	0,4; 0,84
III	50	1	0,86
	70	2	0,64; 0,81
	96	2	0,64; 0,81
IV	50	3	0,16; 0,24; 0,44
	70	9	0,16; 0,22; 0,28; 0,32; 0,40; 0,50; 0,60; 0,78; 0,9
	96	10	0,16; 0,22; 0,28; 0,34; 0,42; 0,54; 0,64; 0,78; 0,9; 0,94

Keterangan: I: asam asetat glasial:butanol:air (1:4:5), II: n-heksan:etil asetat (3:7), III: metanol:air (6:4), dan IV: kloroform:metanol (9:1)

Penetapan Kadar Fenol Total

Fungsi senyawa fenol diketahui sebagai bagian dari struktur dinding sel, pigmen bunga dan enzim⁽²⁴⁾. Metode penentuan kadar dalam suatu sampel ada berbagai cara, salah satu metode yang sering digunakan adalah menggunakan kurva standar. Proses pembuatan kurva standar dilakukan dengan waktu inkubasi selama 2 jam kemudian serapannya diukur pada 750 nm menggunakan microplate reader. Hasil penentuan kurva standar kueretin yang diperoleh dengan cara memplotkan kadar kueretin sebagai sumbu x dan absorbannya sebagai sumbu y, diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0244x + 0,2636$ dengan nilai R^2 yang diperoleh yaitu 0,9968. Persamaan kurva kalibrasi asam galat dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid total pada ekstrak daun pepaya dan daun ubi jalar (Tabel 7).

Larutan standar yang digunakan adalah asam galat yang merupakan salah satu fenolik alami dan stabil. Menurut Viranda⁽²⁵⁾ asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana. Asam galat direaksikan dengan reagen Folin Ciocalteu menghasilkan warna biru yang menandakan bahwa mengandung fenolik, setelah itu

ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa. Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi Folin Ciocalteu, membentuk kompleks molibdenum tungsten berwarna biru, dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfo molibdat fosfo tungstat) menjadi kompleks molibdenum tungsten sehingga warna yang dihasilkan semakin pekat.

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh kadar fenol total ekstrak etanol daun pepaya adalah 3,490 mgGAE/gram, dan ekstrak etanol daun ubi jalar sebesar 4,786 mgGAE/gram. Senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pepaya dan daun ubi jalar ungu merupakan hasil metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan⁽²⁶⁾. Menurut Sulastri⁽²⁵⁾ aktifitas antioksidan ekstrak etanol daun pepaya dan daun ubi jalar ungu memiliki aktifitas antioksidan yang lebih besar daripada kontrol positif yaitu -Tokoferol dan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil).

Tabel 7. Hasil Penentuan Kadar Fenol Total

Sampel	Absorbansi sampel	Konsentrasi asam galat sampel (ppm)	Kadar fenol total (mgGAE/g)	Rata-rata kadar fenol total (mgGAE/g)
Daun Ubi Jalar	0.298	1.409	2.819	4.786
	0.319	2.207	4.540	
	0.349	3.500	7.000	
Daun pepaya	0.296	1.330	2.660	3.490
	0.297	1.390	2.780	
	0.325	2.520	5.030	

Keterangan : GAE = galic acid equivalent.

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder dengan dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C yaitu struktur inti C6-C3-C6, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Senyawa ini dapat disebut sebagai senyawa polifenol karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa⁽²⁴⁾.

Hasil penentuan kurva standar kuersetin pada 415 nm menghasilkan persamaan regresi linear, $y = 0,0677x + 0,0122$ dengan nilai R^2 yang diperoleh yaitu 0,9976. Persamaan ini digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid total pada ekstrak etanol 96% daun pepaya dan daun ubi jalar.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol daun pepaya didapatkan hasil 4,613 mgQE/gram dan ekstrak etanol daun ubi jalar didapatkan hasil 4,634 mgQE/mg (Tabel 8). Menurut Sriningsih⁽²⁷⁾, senyawa flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan yang dapat digunakan sebagai anti mikroba, obat infeksi pada luka, anti jamur, anti virus, anti kanker, dan anti tumor. Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel, ditambahkan $AlCl_3$ yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang kearah visible⁽²⁸⁾. Menurut Azizah⁽²⁹⁾ perlakuan inkubasi selama 1 jam sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi dapat berjalan

sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan lebih maksimal.

Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan untuk identifikasi senyawa yang terdapat pada ekstrak daun pepaya dan daun ubi jalar ungu. Berdasarkan hasil analisis terlihat bahwa kandungan senyawa dalam ekstrak etanol 95% untuk daun pepaya maupun daun ubi jalar ungu terdiri dari 10 peak, dimana kandungan senyawa tertinggi adalah Phytol, yang memiliki luas area paling besar yaitu 100657 dan 50294 dengan waktu retensi 29,168 dan 29,164 menit, untuk ekstrak daun pepaya dan ubi ungu secara berurutan (Tabel 9 dan 10). Senyawa Phytol pada tanaman *Ophiorrhiza rugosa* var. *prostrata* (D.Don) memiliki aktivitas sebagai regulator metabolisme lemak, anti inflamasi, antiparasitik, antihelmintik, antiprotozoal (*Leishmania*), histamine relase inhibitor, dan spasmolitik⁽³⁰⁾.

Pada analisis GC MS ini, selain menentukan kandungan ekstrak daun pepaya dan daun ubi jalar ungu, juga dilakukan terhadap campuran ekstrak daun pepaya dan daun ubi jalar ungu dengan perbandingan 25:75; 50:50 dan 75:25.

Alasan dilakukan kombinasi sampel yaitu untuk mengetahui apakah ketika ekstrak tersebut dikombinasi dapat mempengaruhi nilai luas area serta untuk mengetahui apakah kombinasi tersebut dapat menghasilkan senyawa lainnya selain yang terdapat pada sampel tunggal.

Tabel 8. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Total

Sampel	Absorbansi sampel	Konsentrasi kuersetin sampel (ppm)	Kadar flavonoid total (mgQE/g)	Rata-rata kadar flavonoid total (mgQE/g)
Daun Ubi Jalar	0.218	3.039	3.972	4.634
	0.280	3.955	4.760	
	0.304	4.310	5.172	
Daun pepaya	0.178	2.450	2.940	4.613
	0.283	4.090	4.910	
	0.350	4.990	5.990	

Keterangan : QE = quercetin equivalent

Tabel 9. Kandungan senyawa ekstrak etanol 96% daun pepaya

Nama senyawa yang diduga	Area	Height
Phytol	100657	36663
Hexadecanoic acid, ethyl ester	79274	43715
Hexadecanoic acid, methyl ester	38324	20884
7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester	35710	16820
1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	24066	10816
Decanoic acid, ethyl ester	15816	10407
1H-Indene, 1-methylene-	16259	8463
11,14-Eicosadienoic acid, methyl ester	15762	7850
6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a tetrahydrobenzofuran-	26533	7583
n-Dodecyl methacrylate	15399	7109

Tabel 10. Kandungan senyawa ekstrak etanol 96% daun ubi jalar ungu

Nama senyawa yang diduga	Area	Height
Phytol	50294	20514
1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-ethylhexyl ester	31870	16226
Eicosanoic acid	26688	12802
2,5-cyclohexadien-1-one, 2,6-bis-(1,1-dimethylethyl)	25851	12687
Ethanol, 2-(2-butoxyethoxy)-	26546	11887
1H-Indene, 1-methylene-	23772	11393
Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	28225	10388
Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-	19099	9734
Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	17284	9529
(S,1Z,6Z)-8-Isopropyl-1-methyl-5-methylenecyclodeca-1,6-diene	9386	9386

Kandungan senyawa campuran ekstrak etanol 96% dari kombinasi daun pepaya dan daun ubi jalar ungu dengan perbandingan 25:75 dapat dilihat pada Tabel 11. Diketahui bahwa ekstrak memiliki peak tertinggi dengan luas area paling besar adalah senyawa asam n-heksadekanoat/n-Hexadecanoic acid. Senyawa ini pada ekstrak etanol tanaman *Asclepias curassavica* L. memiliki potensi farmakologis sebagai asam palmitat (asam lemak jenuh) dan antioksidan, hipokolestrolemik, nematisida, pestisida, anti androgenik, pengaroma, hemolitik, serta 5-alpha-reductase inhibitor⁽³¹⁾.

Ketika kombinasi antara ekstrak daun pepaya dan daun ubi jalar ungu setara, yaitu

50:50, diketahui bahwa senyawa dominan tertinggi adalah phytol, sama seperti pada analisis terhadap sampel ekstrak tunggal. Adapun nilai luas area senyawa phytol kombinasi lebih besar dari luas area sampel ubi jalar tunggal namun lebih kecil dari luas area sampel daun pepaya tunggal, yaitu sebesar 64878. Selain itu, pada kombinasi ini muncul senyawa baru pada urutan 10 besar yang memiliki peak tertinggi yaitu azulene, dimana senyawa ini tidak muncul pada urutan 10 peak tertinggi sampel ekstrak tunggal daun pepaya maupun daun ubi jalar ungu. Sedangkan untuk senyawa lainnya merupakan gabungan dari kandungan senyawa pada ekstrak daun pepaya ataupun dari daun ubi jalar ungu. (Tabel 12).

Tabel 11. Kandungan senyawa kombinasi ekstrak etanol 96% daun pepaya dan daun ubi jalar ungu (25:75)

Nama senyawa yang diduga	Area	Height
n-Hexadecanoic acid	646652	241155
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	453800	95991
Phytol, acetate	213748	83450
Hexadecanoic acid, ethyl ester	141327	64130
Cyclohexanol, 1R-4-trans-acetamido-2,3-trans	319980	58505
6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydrobenzofuran-2(4H)-one	168741	57181
Hexadecanoic acid, methyl ester	100912	50013
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	114165	42116
6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydrobenzofuran-2(4H)-one	107226	39812
9, 12, 15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	89224	26675

Tabel 12. Kandungan senyawa kombinasi ekstrak etanol 96% daun pepaya dan daun ubi jalar ungu (50:50)

Nama senyawa yang diduga	Area	Height
Phytol	64878	24615
Hexadecanoic acid, ethyl ester	34624	17064
1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	35018	13824
Tridecanoic acid, methyl ester	23468	12627
Eicosanoic acid	27437	11879
Azulene	19718	9412
Ethanol, 2-(2-butoxyethoxy)-	16838	8331
7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	12247	6542
7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester	11248	5987
Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	11520	5455

Analisis kandungan senyawa kimia sampel kombinasi ekstrak etanol 96% daun pepaya dan daun ubi jalar ungu (75:25) menunjukkan bahwa dari 10 peak tertinggi, yang memiliki luas area paling besar yaitu sebesar 129343 adalah senyawa neophytadiene (Tabel 13). Pada tanaman *Asclepias Curassavica* L., senyawa ini memiliki potensi farmakologi sebagai hidrokarbon, antipiretik, analgetik, anti inflamasi, anti mikroba, dan antioksidan⁽³²⁾. Pada kombinasi ini terlihat pada urutan 10 senyawa yang memiliki peak tertinggi selain neophytadiene, juga muncul senyawa-senyawa baru yang tidak muncul pada sampel

ekstrak tunggal maupun kombinasi lainnya, kecuali n-hexadecanoic acid, hexadecanoic acid methyl ester, dan 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-.

Hasil kombinasi terbaik yaitu kombinasi ekstrak daun pepaya dan ubi jalar ungu dengan perbandingan (75:25) (Tabel 13). Dimana kombinasi ini memiliki luas area yang cukup besar yaitu 646652. Pengukuran kadar kuantitatif dapat dilakukan dengan cara menghitung luas area puncak sampel dibandingkan dengan luas area puncak standart dikalikan dengan konsentrasi standar⁽³²⁾.

Tabel 13. Kandungan senyawa kombinasi ekstrak etanol 96% daun pepaya dan daun ubi jalar ungu (75:25)

Nama senyawa yang diduga	Area	Height
Neophytadiene	129343	47067
n-Hexadecanoic acid	118051	47848
1,2,3,5-Cyclohexanetetrol, (1.alpha.,2.beta.,3.alpha.)	122790	23971
Hexadecanoic acid, methyl ester	40146	20139
1,4-Methanocycloocta[d]pyridazine, 1,4,4a,5,6,9,10,	41769	19515
9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-	77841	18650
Caryophyllene	33964	15714
Octadecanoic acid, ethyl ester	32379	14706
(S,1Z,6Z)-8-Isopropyl-1-methyl-5 methylenecyclodeca-1,6-diene	23116	11937
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	31275	11366

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, hasil kromatogram pada beberapa ekstrak tunggal dan kombinasi didapatkan spot atau noda terbanyak pada ekstrak etanol 96% dengan eluen kloroform metanol (9:1) bila dibandingkan dengan ekstrak 50% dan 70%. Hasil analisis kandungan senyawa menggunakan GC-MS diketahui bahwa senyawa utama yang terdapat pada ekstrak tunggal daun pepaya dan ubi jalar ungu, serta kombinasi keduanya dengan perbandingan 50:50 adalah senyawa phytol. n-Heksadecanoic acid dan Neophytadiene adalah senyawa utama untuk kombinasi ekstrak daun pepaya dan ubi jalar ungu 25:75 dan 75:25. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% daun pepaya didapatkan hasil yaitu 4,630 mgQE/gram dan pada ekstrak etanol daun ubi jalar ungu yaitu 4,269 mgQE/mg. Sedangkan kadar fenol total ekstrak daun pepaya yaitu 3,490 mgGAE/gram dan pada ekstrak etanol daun ubi jalar ungu didapatkan hasil 4,786 mgGAE/mg. Dapat disimpulkan bahwa perbedaan konsentrasi berpengaruh terhadap profil kromatogram dan kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun pepaya dan ekstrak daun ubi jalar ungu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Rini Prastiwi, selaku dosen Fakultas, Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA Jakarta, atas bantuan, masukan dan sarannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suresh K, Deepa P, Harisaranraj R, Vaira A V. Antimicrobial and Phytochemical Investigation of the Leaves of **Carica papaya L.**, *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Euphorbia hirta* L., *Melia azedarach* L. and *Psidium guajava* L. *Ethnobot Leaflet*. 2008;12:1184–91.
2. Anjum V, Ansari SH, Naquvi KJ, Arora P, Ahmad A. Development of quality standards of *Carica Papaya* Linn . leaves. *Scolar Res Libr*. 2013;5(July 2012):370–6.
3. Zunjar V, Dash RP, Jivrajani M, Trivedi B, Nivsarkar M. Antithrombocytopenic activity of carpaine and alkaloidal extract of *Carica papaya* Linn. leaves in busulfan induced thrombocytopenic Wistar rats. *J Ethnopharmacol*. 2016;181:20–5.
4. Yuzhi Jiao. Studies on antioxidant capacity of anthocyanin extract from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *African J Biotechnol*. 2012;11(27):7046–54.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I). Jilid 2. Jakarta: Depkes RI; 2001.
6. Prasetyaningsih Y, Sari N, Prasetya HR, Naer VG. Potensi Etnomedicine Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*

- L. Poir*) dan Daun Ubi Jalar Putih (*Ipomoea batatas* L.) Sebagai Obat Demam Berdarah di Sleman DIY. J Heal. 2019;6(1):6–11.
7. Hue SM, Boyce AN, Somasundram C. Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents in the leaves of different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas*). Aust J Crop Sci. 2012;6(3):375–80.
 8. Fu ZF, Tu ZC, Zhang L, Wang H, Wen QH, Huang T. Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities. Food Biosci. 2016;15:11–8.
 9. Fidrianny I, Windyaswari AS, Wirasutisna KR. Antioxidant Capacities of Various Leaves Extract from Five Colors Varieties of Sweet Potatoes Tubers Using ABTS, DPPH Assays and Correlation with Total Flavonoid, Phenolic, Carotenoid Content. Res J Med Plant. 2013;7(3):130–40.
 10. Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi. E-Journal Planta Husada. 2014;2(1):3–6.
 11. Agustin, D., Ismiyati, Pengaruh Konsentrasi Pelarut Pada Proses Ekstraksi Antosianin Dari Bunga Kembang Sepatu, Konversi 2015; 4(2): 9 - 16.
 12. Chew, K.K., Khoo, M.Z., Ng, S.Y., Thoo, Y.Y., Wan Aida, W.M., Effect of Ethanol Concentration, Extraction time and Extraction temperature on the Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of *Orthosiphon stamineus* Extracts., International Food Research Journal 2011; 18(4): 1427 - 1435.
 13. Setyowati, E.P., Puspitasari, A., Afini, D.I., Nasution, F.H., Nafingah, R., Influence of Some Extraction Conditions Factor on Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Solanum betaceum* Cav., Traditional Medicine Journal 2019; 24(3): 216 - 224.
 14. Harborne JB. Metode Fitokimia. Bandung: ITB Press; 1987.
 15. Marjoni MR. Dasar-Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi. Jakarta: Trans Info Media; 2016. 6–10, 39–40, 46 p.
 16. Gritter RJ, Bobbic JN, Schwarting AE. Pengantar Kromatografi. II. Padmawinata K, editor. Bandung: ITB Press; 1991. 107 p.
 17. Farasat M, Khavari-Nejad RA, Nabavi SMB, Namjooyan F. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from northern coasts of the Persian gulf. Iran J Pharm Res. 2014;13(1):163–70.
 18. Wan-Ibrahim WI, Sidik K, Kuppasamy UR. A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. Food Chem. 2010;122(4):1139–44. Ergina, Nuryanti S, Pursitasari ID. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) yang diekstraksi Dengan Pelarut Air dan etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. J Akad Kim. 2014;3(3):165–72.
 19. Sangi MS, Momuat LI, Kumaunang M. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). J Ilm Sains. 2012;12(2):127.
 20. Marliana E. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth Yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. J Penelit Mipa. 2007;1(1):23–9.
 21. Simaremare ES. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). Pharmacy. 2014;11(01):98–107.

22. Hayati EK, Halimah N. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Plant Extract. J Chem. 2010;1(2):53-103.
23. Hanani E. Analisis Fitokimia. Jakarta: EGC; 2015.
24. Mariska VP. Pengujian Kandungan Fenol Total Tomat (*Lycopersicum esculentum*) Secara In Vitro. [Skripsi] FKUI. Universitas Indonesia; 2009.
25. Estiasih T, Kurniawan DA. Aktivitas Oksidan Ekstrak Umbi Akar Ginseng Jawa (*Talium triangulare* Willd). Vol. 18(3), Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 2006. p. 166–75.
26. Sulastrri, Erlidawati, Syahril, Nazar M, Andayani T. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L .) Hasil Budidaya Daerah Saree Aceh Besar Antioxidant Activity of Extracted Ethanol from Purple Sweet Potato Leaves (*Ipomea batatas* L .) Cultivated in Saree , Aceh Besar. J Rekayasa Kim Dan Lingkungan. 2013;9(3):126–31.
27. Sriningsih. Analisa Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). Pus P2 Teknol Farm dan Med Deputi Bid TAB BPPT Fak Farm Univ Pancasila. 2008;1:4.
28. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. J Food Drug Anal. 2002;10(3):178–82.
29. Azizah DN, Kumolowati E, Faramayuda F. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). Kartika J Ilm Farm. 2014;2(2):45–9.
30. Adnan M, Nazim Uddin Chy M, Mostafa Kamal ATM, Azad MOK, Paul A, Uddin SB, et al. Investigation of the biological activities and characterization of bioactive constituents of ophiorrhiza rugosa var. prostrata (D.Don) & Mondal leaves through in vivo, in vitro, and in silico approaches. Molecules. 2019;24(7).
31. Bihana S, Dhiman A, Singh G, Satija S. Gas chromatography-mass spectroscopy analysis of bioactive compounds in the whole plant parts of ethanolic extract of *Asclepias Curassavica* L. Int J Green Pharm. 2018;12(2):107–14.
32. Sudarma N, Oka IM, Parwata A. Determination Ethanol In Arak With Gas Chromatography. Bali Med J. 2017;4(2):126–35.