

Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alkaloid pada Daun Pepaya

Ninda Kirana Jati[✉], Agung Tri Prasetya, Sri Mursiti

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima 11 Januari 2019

Disetujui 23 Maret 2019

Dipublikasikan 1 April 2019

Keywords:

papaya leaves, alkaloid, antibacterial

Abstrak

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi biasanya diatasi dengan menggunakan antibiotik. Antibiotika atau antibakteri dapat diperoleh dari senyawa bahan alam. Di dalam ekstrak daun pepaya terkandung alkaloid karpain yang berfungsi sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam daun pepaya dan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun pepaya dan senyawa alkaloid hasil isolasi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Tahapan penelitian dimulai dari pembuatan ekstrak daun pepaya, uji skrining fitokimia (uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji tanin, dan uji steroid dan triterpenoid), isolasi alkaloid, dan uji aktivitas antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki daya hambat bakteri lebih kuat dibandingkan isolat alkaloid. Pada inkubasi selama 1×24 jam daya hambat bakteri *E. coli* dari ekstrak etanol daun pepaya lebih kuat dibandingkan alkaloid yaitu 16,1 mm. Pada inkubasi selama 5×24 jam daya hambat bakteri semakin meningkat yaitu 17,1 mm. Senyawa aktif yang terkandung dalam daun pepaya adalah tanin, alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin.

Abstract

*Diseases caused by infections are usually treated by using antibiotics. Antibiotics or antibacterial ingredients can be obtained from natural compounds. The papaya leaf extract contains alkaloids which function as antibacterial. The purpose of this study was to determine what chemical compounds contained in papaya leaves and to determine the effectiveness of ethanol extracts of papaya leaves and alkaloid compounds isolated as an antibacterial against *E. coli* and *S. aureus* bacteria. The stages of the research began from making papaya leaf extract, a phytochemical screening test (alkaloid test, flavonoid test, saponin test, tannin test, and steroid and triterpenoid test), alkaloid isolation, and antibacterial activity test. The results showed that the ethanol extract of papaya leaves had stronger bacterial inhibition compared to alkaloid isolates. In incubation for 1×24 hours the inhibitory power of *E. coli* bacteria in the ethanol extract of papaya leaves was stronger than the alkaloid isolate which was 16.1 mm, and in incubation for 5×24 hours the inhibition of the bacteria increased by 17.1 mm. The active compounds contained in papaya leaves are tannins, alkaloids, flavonoids, steroids, and saponins.*

[✉] Alamat korespondensi:

E-mail: nindakiranajati@rocketmail.com

PENDAHULUAN

Tanaman pepaya merupakan tanaman herbal yang populer di kalangan masyarakat. Selain dapat hidup di berbagai tempat di Indonesia, tanaman pepaya memiliki waktu tumbuh yang relatif singkat. Di dalam ekstrak daun pepaya terkandung enzim papain dan alkaloid karpain. Enzim papain memiliki aktivitas proteolitik dan antimikroba, sedangkan alkaloid karpain berfungsi sebagai antibakteri (Rehena 2010). Selain itu, daun pepaya juga mengandung beberapa komponen aktif yang dapat meningkatkan kapasitas total antioksidan dalam darah dan mengurangi tingkat peroksidasi lemak, diantaranya adalah *papain*, *chymopapain*, *cystatin*, *α -tocopherol*, *ascorbic acid*, *flavonoids*, *cyanogenic glukosides*, dan *glucosinolates* (Utama *et al.* 2014).

Infeksi mikroba patogen merupakan masalah yang sering dijumpai dalam kehidupan sehari-hari, salah satunya adalah *Escherichia coli* penyebab diare akut dan penyebab utama infeksi saluran kemih (Jawetz *et al.* 2005). Penyakit infeksi ini dapat diatasi dengan antibiotik. Pemakaian obat sintesis seperti antibiotik memiliki banyak efek samping seperti alergi dan gangguan pencernaan, sehingga obat-obatan berbahan baku herbal lebih disarankan (Ayuni 2013).

Beberapa penelitian obat berbahan baku herbal antara lain penelitian Karunia *et al.* (2017) yang membuktikan bahwa ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L*) dengan pelarut organik memiliki sifat antibakteri. Ekstrak etanol daun pepaya juga memiliki aktivitas farmakologi sebagai antelmintika, antimalaria, antibakteri, dan antiinflamasi (Owoyele *et al.* 2008). Kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun pepaya diduga berperan terhadap aktivitas farmakologi tersebut. Kulit buah rambutan juga ternyata memiliki aktivitas antibakteri (Wardhani & Supartono 2015).

Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyaring sebagian besar

metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia (Aksara *et al.* 2013). Etanol memiliki rumus molekul C_2H_5OH , dimana C_2H_5 merupakan gugus yang bersifat non polar dan OH merupakan gugus yang bersifat polar, sehingga pelarut etanol dapat menarik kandungan kimia yang bersifat polar. Selain itu, ekstraksi dengan pelarut etanol lebih aman dibandingkan dengan pelarut metanol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia apa yang terkandung dalam daun pepaya dan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun pepaya dan senyawa alkaloid hasil isolasi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

METODE

Tahapan penelitian dimulai dari pembuatan ekstrak daun pepaya, uji skrining fitokimia, isolasi alkaloid, dan uji aktivitas antibakteri.

Pembuatan Ekstrak *Carica papaya L.*

Serbuk daun pepaya sebanyak 970 g dimaserasi dengan *n*-heksana selama 3x24 jam hingga diperoleh filtrat yang jernih. Perendaman menggunakan *n*-heksana bertujuan untuk menghilangkan senyawa non polar. Ampas yang diperoleh dikeringkan dengan cara di angin-anginkan. Ampas daun pepaya yang sudah kering dimaserasi dengan etanol 70% selama 3x24 jam hingga diperoleh filtrat jernih. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental untuk selanjutnya dilakukan skrining fitokimia dan isolasi.

Skrining Fitokimia (Uji Alkaloid, Uji Flavonoid, Uji Saponin, Uji Tanin, Dan Uji Steroid Dan Triterpenoid)

Uji alkaloid dilakukan dengan cara memasukkan sampel sebanyak 0,5 g ke dalam lumpang kemudian ditambah 0,5 mL HCl 1% dan ditambah 1-2 tetes reagen *Dragendroff*. Terbentuknya warna jingga pada pengujian

dengan pereaksi *Dragendorff* menunjukkan hasil positif uji alkaloid.

Uji flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan sampel yang telah dihaluskan sebanyak 2 g dengan 5 mL etanol panas. Selanjutnya, campuran tersebut disaring lalu filtratnya ditambahkan beberapa tetes HCl pekat lalu ditambahkan logam Mg.

Uji saponin dilakukan dengan cara satu mL fraksi air dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung dikocok selama 1-2 menit. Terbentuknya busa yang cukup permanen (tidak hilang selama 5 menit) menunjukkan adanya saponin.

Uji tanin dilakukan dengan cara 0,5 g sampel ditambahkan air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Setelah disaring, filtrat ditambahkan dengan 3 tetes FeCl₃. Warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya tanin.

Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan cara menambahkan 0,5 g sampel dengan kloroform 0,5 mL dan asam asetat anhidrat 0,5 mL. Kemudian ditambahkan 2 mL H₂SO₄ 2 N melalui dinding tabung. Apabila timbul warna ungu kemerahan maka positif mengandung triterpenoid dan apabila timbul warna hijau atau biru maka positif mengandung steroid.

Isolasi Alkaloid

Sebanyak 25 g ekstrak etanol yang sudah kering dimasukkan dalam gelas kimia, ditambah 50 mL larutan HNO₃ 10% dan 50 mL dietil eter, kemudian diaduk hingga semua ekstrak larut. Campuran dipindahkan ke dalam corong pisah, dikocok, didiamkan, dan dipisahkan. Fase larutan asam diambil dan dilakukan alkalisasi dengan 25 mL larutan ammonia 10%, kemudian ditambah CHCl₃ dan dipisahkan. Fase organik (ekstrak CHCl₃) berisi alkaloid primer, sekunder, dan tersier, sedangkan fase anorganik (ekstrak larutan basa) berisi alkaloid kuartener. Hasil isolasi alkaloid dari kedua fase (fase organik dan fase anorganik) dilakukan uji fitokimia kembali untuk menunjukkan hasil alkaloid positif.

Kemudian senyawa alkaloid diidentifikasi menggunakan FTIR.

Uji Aktivitas Antibakteri

Media nutrisi agar (NA) yang digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri disediakan dengan cara memanaskan NA, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril secara aseptis. Bakteri ditanam pada media NA dengan cara memasukkan 1 mL biakan bakteri hasil pengenceran ke dalam media NA kemudian digoyangkan hingga homogen. *Paper disk* dicelupkan dalam ekstrak etanol daun pepaya, isolat alkaloid, *hand sanitizer* (sebagai kontrol positif), dan kloroform (sebagai kontrol negatif) selama 1 jam agar meresap ke dalam *paper disk* tersebut, kemudian diangin-anginkan lalu letakkan pada media nutrisi yang telah ditanami bakteri. Cawan petri yang berisi pembenihan bakteri diinkubasi dan diukur daerah hambat pertumbuhan bakteri di sekitar *paper disk* pada hari pertama dan hari kelima dilanjutkan dengan menghitung luas daerah hambat/zona beningnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol daun pepaya yang sudah kental diuji kandungan kimianya dengan cara uji kualitatif fitokimia. Uji ini diperlakukan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil penelusuran literatur, dan juga untuk membandingkan dengan hasil fitokimia pada isolat alkaloid. Berdasarkan literatur, ekstrak etanol daun pepaya mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Muhlisah, 2001). Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun pepaya didapatkan senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid. Hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak etanol daun pepaya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun pepaya

Uji golongan	Ekstrak etanol daun	Perubahan warna yang terjadi

	pepaya
+	Terbentuknya warna merah tua
+	Terbentuknya warna jingga
+	Terbentuknya warna hitam kehijauan
+	Terbentuk busa permanen
+	Terbentuknya warna biru kehijauan
-	Terbentuknya warna orange

Hasil pengamatan uji fitokimia isolat alkaloid dapat dilihat pada Tabel 2. Ekstraksi cair-cair dalam isolasi ini merupakan peristiwa pemindahan massa senyawa aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh pelarut, sehingga larutan senyawa aktif terdapat dalam pelarut tersebut. Ciri khusus alkaloid adalah memiliki basa N. Adanya alkaloid pada setiap fase dipertegas dengan dilakukannya uji fitokimia.

Tabel 2. Hasil pengamatan uji fitokimia isolat alkaloid

Uji golongan	Fase ammonia	Fase kloroform
Flavonoid	+	-
Alkaloid	+	+
Tanin	-	-
Saponin	-	-
Steroid	-	-
Triterpenoid	-	-

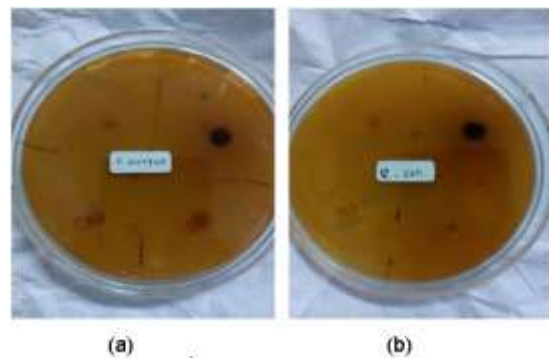
Hasil uji antibakteri dari ekstrak etanol daun pepaya dan isolat alkaloid dengan proses inkubasi 1 x 24 jam disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* dan *S. aureus* setelah diinkubasi selama 1 x 24 Jam

Sampel	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)
Ekstrak Etanol	16,1	14,3
Isolat Alkaloid	13,1	12,6
Kontrol (+)	12,1	12,1

Kontrol (-)	2,4	2,3
-------------	-----	-----

Tabel 3 tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya menghasilkan diameter hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang lebih besar daripada isolat alkaloid. Pada proses inkubasi 1x24 jam, ekstrak etanol daun pepaya lebih besar menghambat bakteri *E. coli* daripada menghambat bakteri *S. aureus*. Hal ini juga terjadi pada isolat alkaloid, lebih besar menghambat bakteri *E.coli* daripada bakteri *S. aureus*. Gambar 2 menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri pada inkubasi 1x24 jam.



Gambar 1. (a) Hasil uji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan (b) *Staphylococcus aureus* pada inkubasi 1x24 jam

Daya hambat bakteri yang telah diketahui pada inkubasi 1x24 jam, dilanjutkan inkubasi selama 5x24 jam. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun pepaya dan isolat alkaloid setelah proses inkubasi 5x24 jam dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* dan *S. aureus* setelah diinkubasi selama 5 x 24 Jam

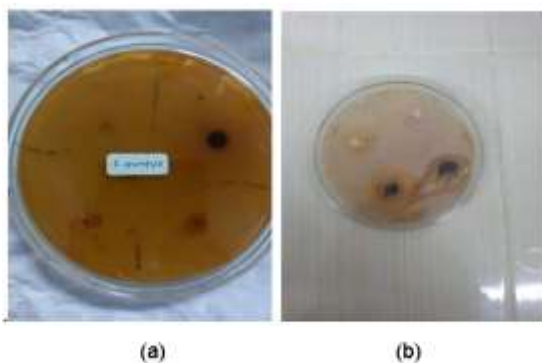
Sampel	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)
Ekstrak etanol	17,10	15,20
Isolat alkaloid	15,40	13,20
Kontrol (+)	12,40	12,30
Kontrol (-)	02,70	02,60

Berdasarkan Tabel 4 tersebut, terjadi penambahan diameter zona bening dengan proses inkubasi yang lebih lama (yaitu 5x24 jam). Ekstrak etanol daun pepaya memiliki daya hambat terhadap bakteri yang lebih besar

dibandingkan isolat alkaloid. Daya hambat yang lebih besar adalah daya hambat terhadap bakteri *E. coli*, baik daya hambat pada ekstrak etanol daun pepaya maupun pada isolat alkaloid.

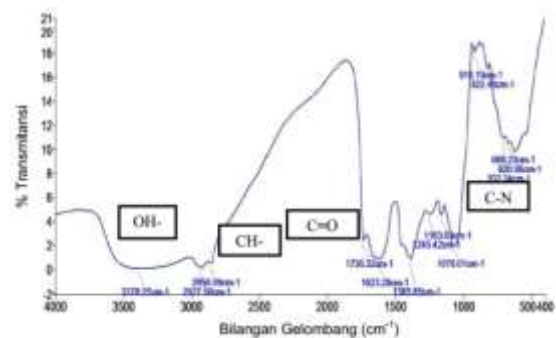
Ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri apabila terjadi daerah bening di sekitar *paper disk* akibat pengaruh senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun pepaya maupun pada isolat alkaloid. Senyawa bioaktif yang diduga terdapat di dalam daun pepaya adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Tetapi senyawa aktif dalam daun pepaya adalah alkaloid. Hal ini diperkuat dengan hasil isolasi alkaloid.

Gambar 2 merupakan hasil uji aktivitas antibakteri pada proses inkubasi 5x24 jam. Untuk dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Kedua jenis mikroorganisme uji tersebut memiliki komposisi dinding sel yang berbeda. Dinding sel *S. aureus* yang merupakan kelompok bakteri Gram positif memiliki struktur dengan sedikit lipid sedang pada *E. coli* yang merupakan bakteri Gram negatif relatif lebih banyak mengandung lipid. Senyawa steroid mudah larut dalam lipid, sehingga menyebabkan ekstrak etanol daun pepaya lebih besar menghambat bakteri dibandingkan isolat alkaloid. Karena pada ekstrak etanol daun pepaya terdapat bermacam-macam senyawa yang bisa bersama-sama menghambat bakteri sehingga daya hambat bakterinya lebih besar dibandingkan isolat alkaloid.



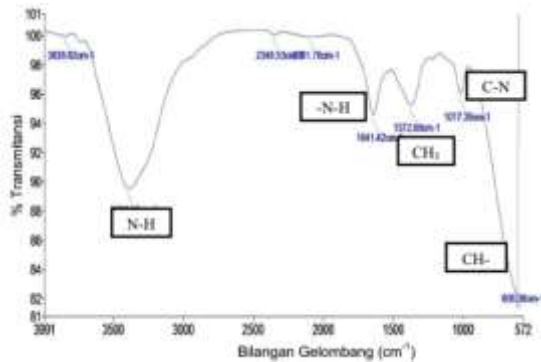
Gambar 2. (a) Hasil uji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan (b) Hasil uji aktivitas antibakteri pada *Stapylococcus aureus* pada inkubasi 5x24 jam

Ekstrak etanol daun pepaya dan hasil isolat alkaloid dianalisis dengan menggunakan FT-IR untuk melihat gugus fungsi pada sampel. Uji spektroskopi FT-IR dengan sampel ekstrak etanol daun pepaya didapatkan spektrum inframerah seperti pada Gambar 3. Spektrum IR menunjukkan adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 3378,25 cm^{-1} dari OH. Serapan pada bilangan gelombang 2927,58 cm^{-1} dan 2856,99 cm^{-1} adalah CH-alifatik. Serapan pada bilangan gelombang 1736,32 cm^{-1} menunjukkan C=O. Adanya ikatan C=C ditunjukkan pada serapan daerah bilangan gelombang 1623,28 cm^{-1} . Serapan pada daerah bilangan gelombang 1385,85 cm^{-1} menunjukkan CH₃- sedangkan -CO- ditunjukkan pada serapan daerah bilangan gelombang 1245,42 cm^{-1} . Serapan pada daerah bilangan gelombang 1070,01 cm^{-1} menunjukkan C-N. Dari data spektrum inframerah menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya mempunyai gugus fungsi OH-, CH- alifatik, C-O, C=C, CH₃-, -CO-, dan C-N (Silverstein *et al.* 1986).



Gambar 3. Spektrum inframerah dari ekstrak etanol daun pepaya

Uji spektroskopi FT-IR dengan sampel isolat alkaloid didapatkan spektrum inframerah seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektrum inframerah dari isolat alkaloid

Data spektrum inframerah isolat alkaloid kemungkinan mengandung beberapa gugus fungsi seperti -N-H ukuran pada bilangan gelombang 3388,05 cm^{-1} , serapan ini didukung oleh munculnya serapan pada bilangan gelombang 1641,42 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus N-H bending (tekukan) dan pada bilangan gelombang 1017,39 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C-N (Silverstein *et al.* 1986). Dan didukung juga oleh serapan pada bilangan gelombang 1372,68 cm^{-1} yang menunjukkan CH_3 dan pada bilangan gelombang 606,38 cm^{-1} menunjukkan C-H.

SIMPULAN

Senyawa aktif yang terkandung dalam daun pepaya adalah tanin, alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin. Senyawa alkaloid dari ekstrak etanol daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri, namun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol daun pepaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksara R, Weny JA & Musa LA. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica L.*). *Jurnal Entropi* 3(1): 514-519.
- Ayuni NPS. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid pada Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni Jacq.*). *Prosiding Seminar Nasional FMIPA Insiksha* 3: 387-395.
- Jawetz E, Melnick JL, & Adelberg EA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Karunia SD, Supartono & Sumarni W. 2017. Analisis Sifat Antibakteri Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa L.*) Dengan Pelarut Organik. *Indo J Chem Sci* 6(1): 56-60.
- Muhlisah F. 2001. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Owoyele BV, Adebukola OM, Funmilayo AA & Soladoye AO. 2008. Anti inflammatory Activities of Ethanolic Extract of *Carica papaya* Leaves. *Inflammopharmacology* 16: 168-173.
- Rehena JF. 2010. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya LINN*) sebagai Antimalaria in vitro. *Jurnal Ilmu Dasar* 11(1): 96-100.
- Silverstein RM, Clayton G, & Morill TC. 1986. *Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik*, Edisi ke-4. Jakarta: Erlangga.
- Utama DBS, Arina YMD & Amin MN. 2014. Pengaruh Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Periodontitis. *Jurnal Pustaka Kesehatan* 2(1): 50-57.
- Wardhani RAP & Supartono. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) pada Bakteri. *Indo J Chem Sci* 4(1): 47-51.