

SKRINING FITOKIMIA DAN KANDUNGAN TOTAL FLAVANOID PADA BUAH *Carica pubescens* Lenne & K. Koch DI KAWASAN BROMO, CANGAR, DAN DATARAN TINGGI DIENG

Eko Budi Minarno

Jurusan Biologi Fakultas Saintek, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Email: budi_minarno@yahoo.com

ABSTRAK

Carica pubescens Lenne & K. Koch is one of the species in the tropics, which adapt to the plateau environment and low temperatures. In Indonesia, this plant is found at Cangar, Bromo, and Dieng Plateau. This study aims to determine the results of phytochemical screening and total flavonoids in fruit samples were taken from the third place. Qualitative and quantitative tests carried out in the Laboratory of Department of Biology and Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Analysis of total flavonoids using a spectrophotometer at $\lambda = 510$ nm. The results of qualitative phytochemical screening tests on samples of *C. pubescens* fruits at Cangar, Bromo, and Dieng Plateau shows that the positive sample contains flavonoids, polyphenols, tannins, and triterpenoids. Quantitative test results show that the *C. pubescens* at Cangar contains total flavonoids quercetin equivalent with value 800 mg / L, Bromo with value 816.65 mg / L, and Dieng Plateau with value 633.35 mg / L, respectively. Keywords: *Carica pubescens* Lenne & K. Koch, flavonoids, phytochemicals, spectrophotometers, Bromo, Cangar, Dieng Plateau

PENDAHULUAN

Carica pubescens Lenne & K. Koch merupakan salah satu tanaman khas dataran tinggi di Indonesia dengan kandungan vitamin C tinggi yang berpotensi sebagai bahan alami dalam penyembuhan mukosa mulut. Di Indonesia, spesies ini biasa dikenal dengan sebutan “karika”, dapat dijumpai di kawasan Bromo dan Cangar Jawa Timur, serta Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah. Spesies ini merupakan anggota familia Caricaceae, sehingga memiliki kelompok Genus yang sama dengan pepaya (*Carica papaya*) dan nampak memiliki kemiripan yang tinggi secara morfologi. Berbeda dengan pepaya, tanaman ini tumbuh di tempat dengan ketinggian 1.400-2400 meter di atas permukaan laut (dpl), temperatur rendah, dan curah hujan tinggi sehingga penduduk setempat sering menyebut pula dengan sebutan pepaya gunung. Morfologi buah *C. pubescens* ditunjukkan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Morfologi buah *C. pubescens*

Studi mengenai tanaman obat dan potensinya untuk kesehatan dewasa ini banyak dikembangkan, tidak terkecuali penelitian pada tanaman *C. pubescens*. Buah dari tanaman ini telah diteliti kandungannya sebagai zat antioksidan dan sumber flavanoid. Flavanoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan. Flavanoid tersebar luas di tanaman mempunyai banyak fungsi. Flavanoid adalah pigmen tanaman untuk memproduksi warna bunga merah atau biru pigmentasi kuning pada kelopak yang digunakan untuk menarik hewan penyerbuk. Flavanoid hampir terdapat pada

semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun dan kulit luar batang (Lumbessy, 2013).

Sebagai tanaman yang berpotensi obat, buah *C. pubescens* memiliki potensi dalam proses penyembuhan luka. Luka merupakan gangguan kontinuitas suatu jaringan sehingga terjadi pemisahan jaringan yang semula normal. Luka dapat disebabkan oleh trauma yang ditimbulkan dari gangguan emosional yang hebat dan tindakan-tindakan fisik. Salah satu contoh trauma adalah trauma mekanik, yang penyebabnya antara lain prosedur perawatan dental, kecelakaan, atau tergigit sendiri sering terjadi pada mukosa rongga mulut. Trauma atau luka ditandai dengan peradangan dan kerusakan jaringan mukosa mulut. Proses penyembuhan luka dengan penambahan zat bioaktif dari buah *C. pubescens* diperlukan untuk perbaikan jaringan yang rusak.

Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degenerative dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari *Low Density Lipoproteins* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi. Para ilmuwan telah melakukan penelitian untuk mengidentifikasi dan mengetahui jumlah kandungan flavonoid dari berbagai jenis makanan. Konsentrasi tertinggi dari flavonol ditemukan dalam sayuran seperti pada bawang dan brokoli, dalam buah seperti apel, ceri, beri, dan pada minuman seperti anggur merah (Waji dan Sugrani, 2012)

C. pubescens mempunyai banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari. Hasil penelitian Simirgiotis (2009) menunjukkan teridentifikasinya 19 senyawa fenol pada buah yang tumbuh di Chili. Buah tanaman ini mengandung zat antioksidan yang mampu menangkal bahaya radikal bebas dan mengandung enzim pencernaan yang meningkatkan kerja alat pencernaan, absorpsi nutrisi, mengurangi *stress* pencernaan, menjaga pH, menjaga kesehatan usus serta menyeimbangkan enzim-enzim alami tubuh (Rock, 2009). *C. pubescens* kaya akan vitamin C, serat, dan enzim papain sebagaimana terdapat pada *C. papaya*, membantu pencernaan, bermanfaat untuk lambung dan usus besar (Hochman, 2007).

Menurut Hayati (2010), metabolit sekunder adalah senyawa hasil biogenesis dari metabolit primer. Umumnya dihasilkan oleh tumbuhan tingkat tinggi, yang bukan merupakan senyawa penentu kelangsungan hidup secara langsung, tetapi lebih sebagai hasil mekanisme pertahanan diri organisme. Kandungan senyawa metabolit sekunder telah terbukti bekerja sebagai derivat antikanker, antibakteri dan antioksidan, antara lain adalah golongan alkaloid, tanin, golongan polifenol dan turunannya. Menurut Robinson (1991) alasan lain melakukan fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologis. Pemanfaatan prosedur fitokimia telah mempunyai peranan yang mapan dalam semua cabang ilmu tumbuhan. Meskipun cara ini penting dalam semua telaah kimia dan biokimia juga telah dimanfaatkan dalam kajian biologis.

Sejalan dengan hal tersebut, menurut Moelyono (1996) analisis fitokimia merupakan bagian dari ilmu farmakognosi yang mempelajari metode atau cara analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau hewan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya, termasuk cara isolasi atau pemisahannya. Pada tahun terakhir ini fitokimia atau kimia tumbuhan telah berkembang menjadi satu disiplin ilmu tersendiri, berada diantara kimia organik bahan alam dan biokimia tumbuhan, serta berkaitan dengan keduanya. Bidang perhatiannya adalah aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara ilmiah dan fungsi biologisnya (Harborne, 1984).

Skrining fitokimia merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui suatu tes atau pemeriksaan yang dapat dengan cepat memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia tertentu. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan

metode ekstraksi (Kristianti dkk., 2008). Skринing fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaan kandungan senyawa alkaloida, flavonoida, terpenoida/ steroida, tanin dan saponin menurut prosedur yang telah dilakukan oleh Harborne (Harborne, 1987) dan Depkes (Depkes, 1995).

Menurut Harborne (1984) senyawa metabolit sekunder yang umum terdapat pada tanaman adalah : alkaloid, flavanoid, steroid, saponin, terpenoid dan tannin.

a. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan membentuk cincin heterosiklik (Harborne, 1984). Alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting dan kulit kayu dari tumbuh-tumbuhan. Kadar alkaloid dari tumbuhan dapat mencapai 10-15%. Alkaloid kebanyakan bersifat racun, tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa tanpa warna, sering kali bersifat optik aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar (Sabirin, *et al.*, 1994).

Suatu cara mengklasifikasi alkaloid adalah didasarkan pada jenis cincin heterosiklik nitrogen yang terikat. Menurut klasifikasi ini alkaloid dibedakan menjadi ; *pirolidin* (1), *piperidin* (2), *isoquinolin* (3), *quinolin* (4) dan indol (5). Alkaloid pada umumnya berbentuk kristal yang tidak berwarna, ada juga yang berbentuk cair seperti koniina (6), nikotin (7). Alkaloid yang berwarna sangat jarang ditemukan misalnya berberina (8) berwarna kuning. Kebiasaan alkaloid menyebabkan senyawa ini mudah terdekomposisi terutama oleh panas, sinar dan oksigen membentuk N-oksida. Jaringan yang masih mengandung lemak, maka dilakukan ekstraksi pendahuluan petroleum eter.

b. Tanin

Secara kimia terdapat dua jenis tanin, yaitu: (1) tanin terkondensasi atau flavolan dan (2) tanin yang terhidrolisis.

1) Tanin terkondensasi atau flavolan

Tersebar luas dalam tumbuhan angiospermae, terutama pada tumbuhan-tumbuhan berkayu. Nama lainnya adalah proantosianidin karena bila direaksikan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon-karbon penghubung satuan terputus dan dibebaskanlah

monomer antosianidin. Kebanyakan proantosianidin adalah prosianidin karena bila direaksikan dengan asam akan menghasilkan sianidin. Proantosianidin dapat dideteksi langsung dengan mencelupkan jaringan tumbuhan ke dalam HCl 2M mendidih selama setengah jam yang akan menghasilkan warna merah yang dapat diekstraksi dengan amil atau butil alkohol. Bila digunakan jaringan kering, hasil tanin agak berkurang karena terjadinya pelekatan tanin pada tempatnya didalam sel.

2) Tanin yang terhidrolisis

Terbatas pada tumbuhan berkeping dua. Terutama terdiri atas dua kelas, yang paling sederhana adalah depsida galoiglukosa. Pada senyawa ini glukosa dikelilingi oleh lima gugus ester galoil atau lebih. Jenis kedua, inti molekul berupa senyawa dimer asam galat, yaitu asam heksa hidroksidifenat yang berikatan dengan glukosa. Bila dihidrolisis menghasilkan asam angelat. Cara deteksi tanin terhidrolisis adalah dengan mengidentifikasi asam galat/asam elagat dalam ekstrak eter atau etil asetat yang dipekatkan (Harborne, 1987).

c. Terpenoid

Terpenoid merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan yang disebut minyak atsiri. Minyak atsiri yang berasal dari bunga pada awalnya dikenal dari penentuan struktur secara sederhana, yaitu dengan perbandingan atom hidrogen dan atom karbon dari senyawa terpenoid yaitu 8:5 dan dengan perbandingan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid.

Steroid adalah terpenoid yang kerangka dasarnya terbentuk dari sistem cincin siklopentana prehidrofenantrena. Steroid merupakan golongan senyawa metabolik sekunder yang banyak dimanfaatkan sebagai obat. Hormon steroid pada umumnya diperoleh dari senyawa-senyawa steroid alam terutama dalam tumbuhan (Djamal, 1988).

Menurut Harborne (1984), saponin adalah glikosida triterpen dan sterol. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa yang stabil dalam air dan menghomolisis sel darah merah. Dari segi pemanfaatan, saponin sangat ekonomis sebagai bahan baku pembuatan hormon steroid, tetapi saponin kadang-kadang dapat menyebabkan keracunan pada ternak (Robinson, 1991).

d. Minyak Atsiri

Minyak atsiri bukanlah senyawa murni akan tetapi merupakan campuran senyawa organik yang kadang kala terdiri dari lebih besar dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang hanya mengandung karbon, dan hidrogen atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatik yang secara umum disebut terpenoid. Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, minyak esensial karena pada suhu kamar mudah menguap. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya. Dalam keadaan segar dan murni, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Namun, pada penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi. Untuk mencegahnya, minyak atsiri harus disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap, diisi penuh, ditutup rapat, serta disimpan di tempat yang kering dan sejuk (Gunawan & Mulyani, 2004).

Berikut penjelasan beberapa cara yang biasa ditempuh dalam skrining fitokimia. Pemeriksaan golongan flavonoid dapat dilakukan dengan uji warna yaitu fitokimia untuk menentukan keberadaan senyawa golongan flavonoid dan uji adanya senyawa polifenol. Uji keberadaan senyawa flavonoid dari dalam sampel digunakan uji Wilstatter, uji Bate-Smith, dan uji dengan NaOH 10%. Sedangkan uji adanya senyawa polifenol dilakukan dengan larutan penambahan FeCl₃ adapun uji tersebut secara lengkap sebagai berikut (Achmad, 1986., Harbone, 1987):

1) Uji *Wilstatter*

Isolat ditambahkan 2-4 tetes HCl pekat dan 2-3 potong kecil logam Mg. Perubahan warna terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange (Achmad, 1986).

2) Uji *Bate-Smith*

Isolat ditambahkan HCl pekat lalu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Reaksi positif jika memberikan warna merah (Achmad, 1986).

3) Uji dengan NaOH 10%

Isolat ditambahkan pereaksi NaOH 10% dan reaksi positif apabila terjadi perubahan warna yang spesifik (Harbone, 1987).

4) Uji Golongan Polifenol

Isolat ditambahkan larutan FeCl₃ 10% dalam akuades. Reaksi positif jika memberikan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Harbone, 1987).

Karakterisasi sampel daun *C. pubescens* yang tumbuh di Dataran Tinggi Dieng telah dilakukan, meliputi kajian ciri morfologi, aktivitas antioksidan, dan pola pita protein. Masalah yang dihadapi sekarang yaitu belum tersedianya data lengkap mengenai uji kandungan kimia berupa skrining fitokimia dan kandungan total flavanoid pada sampel buah yang tumbuh di Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng. Dengan demikian penelitian ini perlu untuk dilakukan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil skrining fitokimia dan kandungan total flavanoid sampel buah *C. pubescens* yang tumbuh di Cangar, Bromo, dan Dataran Tinggi Dieng.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan September sampai dengan Desember 2014. Kegiatan pengambilan sampel *C. pubescens* dilakukan di kawasan Bromo dan Cangar, Jawa Timur serta Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah. Kegiatan skrining fitokimia dan uji kandungan total flavanoid dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Laboratorium Fisiologi Hewan, Laboratorium Pendidikan, dan Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi serta Laboratorium Kimia Organik di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel buah *C. pubescens* adalah kamera, kantong plastik, pita meter, pisau, kertas label, dan alat tulis. Untuk skrining fitokimia dan uji total kandungan flavonoid, alat yang digunakan antara lain: penumbuk, oven, pipet tetes, pipet mikro, neraca elektrik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pengaduk kaca, spatula, cawan porselen, kertas saring, corong kaca, toples maserasi, gelas ukur, *hotplate*, *rotary vacuum evaporator*, kuvet, dan spektrofotometer.

Bahan utama berupa sampel buah *C. pubescens* Lenne & K. Koch. Bahan untuk uji kandungan total flavonoid meliputi methanol 80%, nitrogen, HCl pekat, bubuk Mg, kuersetin, NaNO₂, AlCl₃, NaOH, aquades, FeCl₃, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Dragendorf*, asam asetat anhidrat, asam sulfat, kloroform, *blue tip*, dan masker.

Setelah sampel diambil dari lapangan yaitu kawasan Bromo dan Cangar, Jawa Timur serta Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah, maka selanjutnya dilakukan analisis di laboratorium.

a. Preparasi Sampel

Sampel buah dicuci dan dikeringkan selama ± 1 minggu. Proses perajangan hingga berbentuk serbuk halus dilakukan untuk memperoleh luas permukaan yang lebih besar agar proses penetrasi pelarut ke dalam bahan dapat berlangsung dengan optimal.

b. Proses Ekstraksi

Ekstraksi buah *C. pubescens* dilakukan pada serbuk sampel dengan cara maserasi menggunakan pelarut methanol pada suhu ruang. Hasil maserasi disaring kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Selanjutnya ekstrak dipekatkan dengan penambahan nitrogen dan inkubasi pada suhu 30°C sampai pelarut habis menguap. Ekstrak yang diperoleh tersebut menjadi stok ekstrak buah dan disimpan pada gelas ekstrak.

c. Skrining Fitokimia

1) Uji Flavanoid

Uji flavanoid pada penelitian ini dilakukan dengan dua metode sebagai berikut.

a) Uji *Wilstatter*

Isolat ditambahkan 2-4 tetes HCl pekat dan 2-3 potong kecil logam Mg. Perubahan warna terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange (Achmad, 1986).

b) Uji *Bate-Smith*

Isolat ditambahkan HCl pekat lalu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Reaksi positif jika memberikan warna merah (Achmad, 1986).

2) Uji Saponin

Uji saponin dilakukan menurut *Simes et al.* (Sangi *et al.*, 2008). Ekstrak sampel buah sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

3) Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan terlebih dahulu melarutkan 1 gram ekstrak buah ke dalam pelarutnya yaitu metanol. Selanjutnya sebanyak 2 ml larutan tersebut diuapkan pada cawan porselen menggunakan *hotplate*. Residu dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Larutan yang diperoleh dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambah dengan 3 tetes HCl 2N, tabung kedua ditambah dengan 3 tetes pereaksi *Dragendorff*, sedangkan pereaksi ketiga ditambah dengan 3 tetes pereaksi *Mayer*. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa

sampel tersebut mengandung alkaloid. Reaksi dengan pereaksi *Dragendorff* akan terbentuk endapan jingga, dengan pereaksi *Mayer* terbentuk kuning.

4) Uji Polifenol dan Tanin

Uji tanin dilakukan menurut Miranda (Sangi *et al.*, 2008). Ekstrak sampel ditambah metanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

5) Uji Minyak Atsiri

Uji minyak atsiri dilakukan dengan terlebih dahulu menyiapkan 1 ml ekstrak yang telah dilarutkan dalam pelarutnya. Selanjutnya larutan tersebut diuapkan pada cawan poselen di atas *hotplate* hingga dipeoleh residu. Dari residu tersebut jika tercium bau yang khas maka positif mengandung minyak atsiri.

6) Uji Triterpenoid

Uji triterpenoid dilakukan dengan terlebih dahulu menyiapkan 2 ml ekstrak yang telah dilarutkan dalam pelarutnya. Larutan tersebut kemudian diuapkan di dalam caan porselen. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform dan ditambahkan 0,5 asam asetat pekat anhidrad. Asam sulfat pekat sebanyak 2 ml ditambahkan melalui dinding tabung reaksi. Reaksi positif triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan.

d. Kandungan Total Flavonoid

1) Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Kurva standar dibuat berdasarkan metode Rohman dkk. (2006). Larutan kuersetin dalam methanol dibuat dalam konsentrasi 700, 800, 900, 1000, dan 1100 mg/L. Sebanyak 0,5 ml larutan dari berbagai konsentrasi direaksikan dengan 2 ml akuades dan 0,15 ml NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 6 menit. Sebanyak 0,15 ml AlCl_3 10% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian diencerkan hingga volume total mencapai 5 ml dan didiamkan selama 15 menit. Pada akhirnya, absorbansi dari larutan standar diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi (mg/L) dengan absorbansi.

b. Penentuan Total Flavonoid

Terlebih dahulu dibuat larutan dari ekstrak sampel yang telah dilarutkan dengan pelarutnya (methanol) sebesar 1100 mg/L. Sebanyak 0,5 ml larutan direaksikan dengan 2 ml akuades dan 0,15 ml NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 6 menit. Sebanyak 0,15 ml

AlCl₃ 10% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian diencerkan hingga volume total mencapai 5 ml dan didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya, absorbansi dari larutan ekstrak diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penentuan kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/L ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Ekstrak *C. pubescens*

Pengambilan sampel buah dari tiga tempat, yakni dua tempat di Jawa Timur meliputi kawasan Bromo dan Cangar serta satu tempat di Jawa Tengah, yakni di Dataran Tinggi Dieng, Wonosobo. Studi literatur telah dilakukan untuk mendapatkan metode ekstraksi dan konsentrasi ekstrak sampel buah *C. pubescens* yang dibutuhkan dalam uji kualitatif maupun kuantitatif

Buah *C. pubescens* merupakan buah dengan biji terselubung pembungkus yang berlendir, disebut *sarcotesta*. Maka, sebelum pengeringan atau penghilangan kadar air, sampel dicuci terlebih dahulu dari pengotor, bagian biji dan *sarcotesta* dihilangkan selanjutnya dipotong segitiga dengan ukuran ± 2 cm selanjutnya dikeringanginkan..

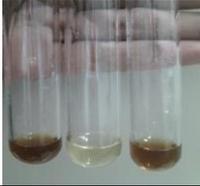
Proses pengeringan sampel buah *C. pubescens* dilakukan dengan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama ± 24 jam supaya zat flavonoid terlindung dari kerusakan. Sampel yang telah dikeringkan selanjutnya ditimbang untuk mengetahui berat kering. Ekstrak buah tersebut diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, yaitu methanol *pro analys*. Metode yang diterapkan pada ekstraksi buah *C. pubescens* adalah metode maserasi, sesuai dengan kepentingan dalam memperoleh sari pada buah karika. Maserasi buah dilakukan dengan proses pengekstrakan simplisia pada temperatur ruangan (26°C sampai dengan 28°C), sehingga zat-zat yang terkandung di dalam simplisia relatif aman. Selanjutnya ekstrak dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan inkubator.

Skrining Fitokimia Sampel Buah *C. pubescens*

Analisis secara kualitatif dilakukan dengan skrining fitokimia untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, polifenol, minyak atsiri, dan triterpenoid serta tanin pada sampel buah buah

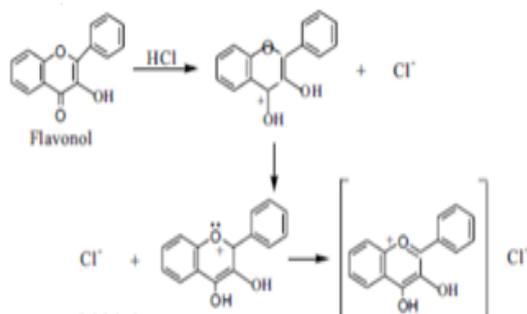
C. pubescens. Hasil skrining bioaktif tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia terhadap buah *C. pubescens*

No.	Jenis Skrining Fitokimia	Gambar	Keterangan
1	Flavanoid		positif
2	Saponin		negatif
3	Alkaloid		negatif
4	Polifenol dan Tanin		positif
5	Minyak atsiri		negatif
6	Triterpenoid		positif

a. Flavanoid

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa buah *C. pubescens* memiliki kandungan senyawa flavonoid. Dalam penelitian ini dilakukan dua uji untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid, yaitu uji *Wilstatter* dan uji *Bate-Smite*. Reaksi positif pada uji *Wilstatter* ditunjukkan dengan adanya warna jingga sedangkan reaksi positif pada uji *Bate-Smite* ditunjukkan dengan adanya warna merah. Warna merah pada uji flavonoid dikarenakan terbentuknya garam flavilium (Achmad, 1986) menurut reaksi berikut.



Gambar 2. Reaksi terbentuknya garam flavylum

b. Saponin

Kandungan saponin pada sampel buah *C. pubescens* dinyatakan negatif, yakni dengan tidak munculnya busa setelah pengocokan. Sifat yang dimiliki saponin antara lain mempunyai rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan air. Ditinjau dari rasa buahnya, *C. pubescens* tidak memiliki rasa pahit. Jika memungkinkan terdapat sedikit saponin pada buah maka dengan proses pengeringan akan menghilangkan kandungan saponin tersebut. Menurut Robinson (1995) senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat saponin dikocok dengan air dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam, keadaan inilah yang tampak seperti busa. Sementara itu penelitian oleh Rahmawati (2014) menyatakan saponin *C. papaya* ditemukan pada sampel daun.

c. Alkaloid

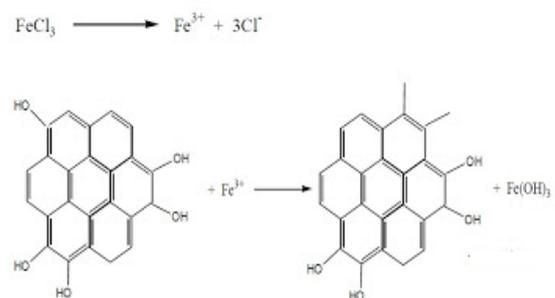
Berdasarkan hasil pengujian terhadap sampel buah *C. pubescens*, diketahui bahwa sampel tersebut negatif alkaloid. Ketika ditetesi dengan reagen Dragendorff dan reagen Mayer, sampel buah *C. pubescens* berubah warna menjadi jingga kecokelatan, namun tidak dihasilkan adanya endapan.

Tujuan penambahan HCl pada uji alkaloid pada penelitian ini karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1996). Pada penelitian ini kemungkinan kompleks kalium alkaloid yang terbentuk tidak sampai batas jenuh sehingga tidak mampu membentuk endapan. Pada uji positif alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai

dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning, yaitu kalium alkaloid.

d. Polifenol dan Tanin

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, diketahui bahwa sampel buah *C. pubescens* positif mengandung senyawa polifenol dan tanin. Hal ini dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan larutan $FeCl_3$ 1% yaitu warna hijau kehitaman. Pada penambahan larutan $FeCl_3$ 1% diperkirakan larutan ini bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Pereaksi $FeCl_3$ dipergunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin (Robinson, 1995).



Gambar 3. Reaksi pada uji polifenol dan tanin

e. Minyak Atsiri

Sampel buah *C. pubescens* pada penelitian dimungkinkan tidak mengandung minyak atsiri karena tidak diperoleh residu dengan bau yang khas setelah larutan uji diuapkan pada cawan porselen. Bau yang ditimbulkan tidak tajam.

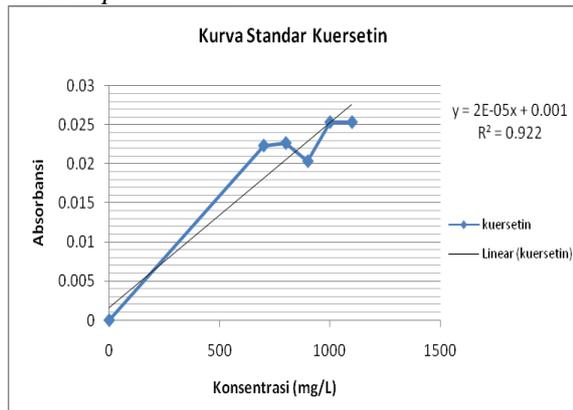
f. Triterpenoid

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa dalam sampel buah *C. pubescens* positif mengandung triterpenoid, ditandai dengan terbentuknya cincin kecokelatan pada larutan uji setelah penambahan asam sulfat pekat sebanyak 2 ml melalui dinding tabung. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman *C. papaya* mengandung metabolit sekunder triterpenoid menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid, phytol, triterpenoid saponin, triterpenoid glikosida (Marlinda, 2013).

Uji Kuantitatif Sampel Buah *C. pubescens*

Penentuan kadar flavanoid total diawali dengan membuat kurva standar kuersetin dengan konsentrasi 700, 800, 900, 1000, dan 1100 mg/L pada panjang gelombang 510 nm seperti pada

Gambar 3. Kurva ini berguna dalam membantu menentukan kandungan flavanoid total sampel buah *C. pubescens*.



Gambar 4. Kurva standar kuersetin

Penelitian terhadap larutan standar kuersetin menghasilkan persamaan regresi $y = 2E-05x + 0,001$ dengan pengukuran linearitas sebesar 0,922. Andriyani dkk. (2008) menyatakan bahwa nilai linearitas yang mendekati satu menunjukkan persamaan regresi tersebut linear dan dapat digunakan. Dapat dikatakan bahwa absorbansi merupakan fungsi yang besarnya berbanding lurus dengan konsentrasi dan mengikuti persamaan regresi linear:

$$y = Ax + B$$

dengan:

x: konsentrasi (mg/L)

y: absorbansi (A)

Persamaan tersebut pada kurva kalibrasi standar kuersetin digunakan sebagai pembanding dalam analisis kuantitatif pada pengukuran kandungan flavonoid total ekstrak metanol sampel buah *C. pubescens*. Berdasarkan hasil pengukuran terhadap konsentrasi ekstrak sebesar 1100 mg/L maka diperoleh data sebagai berikut.

Tabel 2. Penentuan flavanoid total sampel buah *C. pubescens* pada pengambilan konsentrasi ekstrak 1100 mg/L

No.	Asal Sampe l	Abso rbansi	Kandungan flavanoid total ekuivalen kuersetin (mg/L)
1	Bromo	0,017	800
2	Cangar	0.01733	816,65
3	Dieng,	0.01366	633,35

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa kandungan flavanoid total tertinggi adalah pada ekstrak sampel yang berasal dari kawasan

Cangar, Batu, Jawa Timur sebesar 816,65 mg/L ekuivalen kuersetin pada pengambilan 1100 ppm ekstrak. Hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan tempat tumbuh tanaman yang didukung oleh iklim dan unsur tanah. Sitompul dan Guritno (1995) menerangkan bahwa untuk dapat berkembang biak dan menyelesaikan siklus hidupnya secara lengkap, tanaman membutuhkan keadaan lingkungan tertentu, yaitu keadaan lingkungan yang dapat untuk mengekspresikan program genetiknya secara penuh. Perbedaan genetika dan lingkungan tumbuh yang optimum pada *C. pubescens* memberikan penampilan pertumbuhan yang optimum. Suatu model klasik yang sampai sekarang tetap berlaku dapat digunakan adalah penampilan tanaman (P) sebagai fungsi dari faktor genetik tanaman (G) dan lingkungan (E).

Sampel buah *C. pubescens* yang diambil dari kawasan Cangar berasal dari tumbuhan liar pada ketinggian ± 1.600 meter dpl, kurang matang, dan berukuran relatif lebih kecil daripada sampel buah dari dua kawasan lainnya. Di Dataran Tinggi Dieng, tanaman *C. pubescens* merupakan tanaman budidaya yang ditanam pada ketinggian ±2000 meter dpl sehingga pertumbuhan buah optimal. Di Kawasan Bromo, sampel buah diambil pada ketinggian ± 1.700 meter dpl dan memiliki ukuran yang relatif sama dengan sampel buah yang berasal dari Dataran Tinggi Dieng. Hasil penelitian Rohyami pada tahun 2012 menjelaskan bahwa kandungan senyawa flavanoid pada buah masak *Phaleria macrocarpa* rata-rata 1,7647 mg.L-1 sedangkan pada buah mentah rata-rata adalah 2,1535 mg.L-1, menunjukkan perbedaan kandungan flavanoid pada tingkat kematangan yang berbeda.

Tumbuhan dalam satu spesies yang sama, dalam hal ini *C. pubescens* teradaptasi secara berbeda-beda terhadap keadaan suhu yang menyangkut minimum, optimum, dan maksimum untuk hidupnya secara keseluruhan. Demikian untuk komponen fungsi fisiologisnya, walaupun suhu dapat berubah dengan variasi pada kondisi yang berbeda dan menurut keadaan tumbuhan. Sallisbury dan Ross (1995) menerangkan bahwa cahaya memacu sintesis flavanoid dalam beberapa sel terspesialisasi di salah satu organ. Produksi flavanoid memerlukan gula sebagai fosfoenolpiruvat dan eritrosa-4-fosfat yang menyediakan beberapa atom karbon yang diperlukan bagi cincin-B flavanoid serta sebagai unit asetat untuk cincin-A flavanoid. Gula, khususnya sukrosa, dapat diperoleh dari proses peruraian pati atau lemak

di organ penyimpan saat perkembangan kecambah atau dari fotosintesis di sel yang mengandung klorofil. Cahaya juga berefek pada susunan kloroplas.

Secara umum, dapat dijelaskan bahwa lingkungan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kandungan kimia pada spesies *C. pubescens* jika spesies tersebut tumbuh di tempat yang berbeda meskipun kondisi lingkungan sama yakni temperatur rendah, ketinggian di antara 1.400 – 2.400 meter dpl, dan berada di sekitar sumber belerang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut.

1. Hasil uji kualitatif melalui skrining fitokimia terhadap sampel *C. pubescens* yang tumbuh di kawasan Cagar, Bromo, dan Dataran Tinggi Dieng menunjukkan bahwa sampel tersebut positif memiliki kandungan flavanoid, polifenol dan tanin, serta triterpenoid.
2. Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa pada *C. pubescens* yang tumbuh di kawasan Cagar memiliki kandungan total flavanoid ekuivalen kuersetin sebesar 800 mg/L, di Bromo sebesar 816,65 mg/L, dan Dataran Tinggi Dieng sebesar 633,35 mg/L.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada LPPM UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mendukung dan mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Karnunika

Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhirium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae*. 1: p. 31-38.

Andriyani, R. Lisawati, Y. dan Maimunah, 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.), *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13, 3-4

Anonim. 2009. Terpenoid. <http://nadijeb.wordpress.com> [10 Februari 2011]

Departemen Kesehatan RI, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI, Jakarta.

Djamal, R., 1988. *Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian. Universitas Negeri Andalas.

Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua, ITB Bandung.

Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung : Penerbit ITB. Terjemahan dari : *Phytochemical methods*.

Harborne, J.B. 1987 *Metode Fitokimia Penuntun cara menganalisis Tumbuhan*, terjemah Padmawinat Bandung: ITB press

Harborne, J.B., 1984. *Phytochemical Method*. Chapman and Hall ltd. London.

Harborne, J.B., , 1987. *Phytochemical Method*. Chapman and Hall ltd. London.

Herbert, R.B., 1989. *The Biosynthesis of Secondary Metabolism*. Campman and Hall 29 West 35th Street, New York.

Hidayat, S. 2001. Prospek Pepaya Gunung (*Carica Pubescens*) dari Sikunang, Pegunungan Dieng, Wonosobo. Prosiding Seminar Sehari: Menggali Potensi dan Meningkatkan Prospek Tanaman Hortikultura Menuju Ketahanan Pangan. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI, Bogor.

Judoamidjojo M., Darwis A.A., Gumbira E., 1990. *Teknologi Fermentasi*. IPB. Bogor.

Kristianti, A. N, N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas

Lumbessy, Mirna. Dkk. 2013. Uji total Flavonoid pada beberapa tanaman obat tradisional diwaitina Kecamatan Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula, Maluku Timur. *Jurnal MIPA UNSRAT*. vol.02, No.01, Hal:50-55

Manitto, P., 1981. *Biosintesis Produk Alami*. Terjemahan : Koensoenmardiyah. IKIP Semarang Press. Semarang.

Markham, K.R., 1982. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih Bahasa : Kosasih Padmawinata, (1988). ITB. Bandung.

Markham, K.R., 1988, *Techniques of Flavonoids Identification*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.

Moelyono, M.W., 1996. *Panduan Praktikum Analisis Fitokimia*. Laboratorium

- Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA. Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Mursiti, S. 2013. Isolasi, Identifikasi, Dan Elusidasi Struktur Senyawa Alkaloid Dalam Ekstrak Metanol-Asam Nitrat Dari Biji Mahoni Bebas Minyak (*Swietenia macrophylla*, King). *Jurnal MIPA* 36 (2): 169-177 (2013).
- Mursiti, S. 2013. Isolasi, Identifikasi, Dan Elusidasi Struktur Senyawa Alkaloid Dalam Ekstrak Metanol-Asam Nitrat Dari Biji Mahoni Bebas Minyak (*Swietenia macrophylla*, King). *Jurnal MIPA* 36 (2): 169-177 (2013).
- Natural Resources Conservation Service, 2010. Germplasm Resources Information Network (GRIN) Taxonomy for Plants. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=CAPU39> [15 Januari 2010].
- Pusat Perlindungan Varietas Tanaman Departemen Pertanian Republik Indonesia. 2006. Panduan Pengujian Individual Kebaruan, Keunikan, Keceragaman dan Kestabilan.
- Robinson, T., 1991. *The Organic Constituent of Higher Plants*. 6th Edition. Department of Biochemistry. University of Massachusetts
- Rock, Red. 2009. Product Review - Wild Mountain Papaya Extract. http://www.associatedcontent.com/article/1987516/product_review_wild_mountain_papaya.html [15 Januari 2010].
- Rohman, A. Riyanto, S., dan Utari, D. 2006. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolat Total, dan Kandungan Flavanoid Total Ekstrak Etil asetat Buah Mengkudu serta Fraksi-fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17,137-138.
- Rohyami, Yuli. 2008. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl. *Jurnal LOGIKA* hal. 1-8 Volume 5, Nomor 1
- Sabirin, M., Hardjono S., dan Respati S., 1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik II*. UGM-Yogyakarta.
- Salisbury *et al.* 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung: Penerbit ITB
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. Vol 1, hlm: 47-53
- Sastrohamidjojo, H., 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Gadjah Mada university Press. Yogyakarta.
- Simirgiotis. 2009. Identification of Phenolic Compounds from The Fruits of The Mountain Papaya *Vasconcellea pubescens* a. dc. Grown in Chile by Liquid Chromatography–uv Detection–Mass Spectrometry. *Journal Food Chemistry*. 115:775–784.
- Sitompul, S. M & B. Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Waji, R.A. dan Sugrani, Andis. Makalah Kimia Organik Bahan Alam : Flavanoid (Quercetin). Program S2 Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin
- Wikipedia. 2011. Pepaya Gunung. <http://id.wikipedia.org/wiki/index> [10 Februari 2011].