

Analisis Struktur Isolat Dari Fraksi Etil Asetat Daun Pepaya Jepang (*C. aconitifolius*) Menggunakan Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Febby M. Geiner^a, Emma J. Pongoh^{*a}, Rymond J. Rumampuk^a

^a Kimia, FMIPA-K Universitas Negeri Manado, Minahasa, 95618, Indonesia

INFO ARTIKEL

Diterima : 24 April 2026
Disetujui : 17 Mei 2026
Dipublikasi: 31 Mei 2026

Key word:

C. aconitifolius
TLC
GCC
NMR

Kata kunci:

C. aconitifolius
KLT
KKG
NMR

ABSTRACT

*This study aims to analyze the structure of isolates from the ethyl acetate fraction of Japanese papaya leaves (*C. aconitifolius*) using Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. Extraction was performed using the solid-liquid extraction method through maceration, separation using Gravity Column Chromatography (GCC), and observation using Thin Layer Chromatography (TLC). Structural analysis was performed using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (¹H-NMR and ¹³C-NMR). The results of the isolate analysis have not yet achieved good purity and still show the presence of one steroid unit (C₁₇H₂₈), two flavonoid units (C₁₅H₁₂O₅), two monosaccharide groups (C₆H₁₂O₆), and one carbonyl group (C=O) whose position cannot yet be determined. This suggests the possible presence of compound mixtures or conjugated structures that require further purification.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis struktur isolat dari fraksi etil asetat daun pepaya jepang (*C. aconitifolius*) menggunakan Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR). Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi padat-cair melalui proses maserasi, pemisahan menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dan pengamatan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Analisis struktur dilakukan menggunakan Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (¹H-NMR dan ¹³C-NMR). Hasil analisis isolat masih belum mencapai kemurnian yang baik dan masih menunjukkan adanya satu unit steroid (C₁₇H₂₈), dua unit flavonoid (C₁₅H₁₂O₅), dua gugus monosakarida (C₆H₁₂O₆) dan satu gugus karbonil (C=O) yang posisinya belum dapat dipastikan. Memungkinkan adanya campuran senyawa atau struktur terkonjugasi yang membutuhkan proses pemurnian lebih lanjut

Pendahuluan

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi dan telah lama memanfaatkan tanaman sebagai sumber obat tradisional. Tanaman mengandung berbagai senyawa kimia yang berpotensi sebagai agen terapeutik, sehingga menjadi objek penting dalam penelitian kimia bahan alam. [1]. Salah satu tanaman yang mulai mendapat perhatian adalah pepaya Jepang (*C. aconitifolius*), yang

selain digunakan sebagai sayuran juga dimanfaatkan secara tradisional sebagai antidiare, antibakteri, antioksidan, serta berpotensi sebagai agen antiinflamasi [2]. Namun, kajian ilmiah yang mendalam terkait senyawa aktif tanaman ini, khususnya di Indonesia, masih tergolong terbatas.

Tanaman pepaya Jepang (*C. aconitifolius*) merupakan tanaman tropis yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan obat

tradisional. Tanaman ini berasal dari Amerika Tengah dan termasuk famili *Euphorbiaceae*, dengan ciri morfologi berupa daun menjari dan kemampuan adaptasi tinggi terhadap lingkungan tropis [3] [4].

Beberapa penelitian terdahulu telah mengkaji kandungan metabolit sekunder daun *C. aconitifolius* menggunakan pendekatan fitokimia dan uji aktivitas biologis. Obichi et al. (2015) [5] melaporkan bahwa daun pepaya Jepang yang dikoleksi di wilayah Woji, Nigeria, mengandung flavonoid sebagai metabolit sekunder dominan berdasarkan uji fitokimia kualitatif. Sementara itu, Achi et al. (2015) [6] menemukan bahwa sampel daun *C. aconitifolius* dari wilayah Amae Kpu Ohafia, Nigeria, menunjukkan kandungan metabolit sekunder utama berupa asam lemak, yang dianalisis menggunakan metode ekstraksi dan skrining kimia. Perbedaan hasil ini menunjukkan bahwa faktor geografis dan lingkungan berpengaruh terhadap profil metabolit sekunder tanaman. Di Indonesia, Setiasih et al. (2024) [7] melaporkan bahwa ekstrak daun pepaya Jepang mengandung senyawa fenolik, tanin, dan flavonoid yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri metanogen, sedangkan Aprilia et al. (2022) [8] menemukan keberadaan alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin pada ekstrak air daun pepaya Jepang.

Bahan dan Peralatan

Bahan

Daun pepaya jepang yang diambil dari perumahan Maesa Unima, Kecamatan Tondano Selatan, Kabupaten Minahasa, Provinsi Sulawesi Utara. Kertas saring *Whatman no 40*, aluminium foil Pelarut yang digunakan meliputi: etanol 70% (teknis), n-heksana (teknis), etil asetat (teknis), butanol (teknis), metanol (teknis). Untuk keperluan kromatografi lapis tipis digunakan plat KLT silika gel G 60 F₂₅₄(E. Merck 10554), larutan H₂SO₄ 10% dalam etanol sebagai penampak noda.

Peralatan

Kipas angin, blender, ayakan, stoples, gelas beaker, gelas ukur, corong, corong buchner, batang pengaduk, spatula, pipet ukur, pipa

kapiler, seperangkat alat Rotary Evaporator, seperangkat alat Kromatografi Kolom Gravitasi. Identifikasi senyawa menggunakan alat spektroskopi NMR.

Cara Kerja

Preparasi Sampel

Daun pepaya jepang segar dipetik, dicuci, dikeringkan, ditimbang, selanjutnya dihaluskan.

Pemisahan Senyawa

Sampel daun pepaya jepang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian menghasilkan filtrat, selanjutnya difraksinasi berturut-turut dengan metode ekstraksi padat-cair menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, butanol.

Pemurnian Senyawa

Dilakukan pemurnian senyawa pada ekstrak etil asetat menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan perbandingan volume pelarut Etil asetat: n-Heksana: Metanol (6:3:1, 5:3:2, 5:4:1). Hasil KLT di masing-masing di semprotkan dengan H₂SO₄ 10% sebagai pemunculan noda. Untuk kromatografi kolom digunakan eluen perbandingan 6:3:1. Fraksi etil asetat 4 gr diambil dan dilarutkan kira-kira 1 mL eluen untuk dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom gravitasi, dengan fase diam silika gel G 60 F₂₅₄(E. Merck 10554). Hasil dari kromatografi kolom yang memiliki nilai R_f yang sama digabungkan menjadi fraksi-fraksi.

Identifikasi Senyawa

Sebanyak 2 mg isolat F₁₅ dipilih kemudian dianalisis menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* inti Proton (¹H-NMR) dan *Nuclear Magnetic Resonance* inti Karbon (¹³C-NMR). Teknik pengukuran NMR dari isolat F₁₅ dilakukan dengan cara isolat dilarutkan dengan pelarut *deuterated methanol* (CD₃OD) pada frekuensi 700 MHz pada NMR proton dan 176 MHz pada NMR karbon.

Hasil dan Pembahasan

Pemisahan Senyawa

Sebanyak 1,9 kg serbuk kering daun pepaya jepang diekstraksi dengan metode

maserasi. Maserasi dilakukan dengan perendaman sampel menggunakan etanol 70% selama 6 x 24 jam, diperoleh filtrat etanol sebanyak 14,3 L, filtrat kemudian dievaporasi dan menghasilkan ekstrak kental etanol sebanyak 155,6 gr. Mengambil 50 gr ekstrak kental etanol digerus dengan silika gel sebanyak 50 gr sampai homogen, kemudian dipartisi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan butanol.

Pemurnian Senyawa

Frakasi etil asetat diambil secukupnya lalu dianalisis menggunakan metode KLT menggunakan eluen etil asetat: n-heksana: metanol dengan perbandingan pelarut (6:3:1, 5:3:2, 5:4:1). Setelah pelarut mencapai garis batas plat dikeluarkan lalu menyemprotkan H_2SO_4 10% sebagai pemuncil noda. Tahap selanjutnya dilakukan kromatografi kolom gravitasi untuk pemisahan, sebanyak 50 gr silika gel sebagai fase diam direndam selama 24 jam dengan eluen perbandingan 6:3:1. Mengambil 4 gr fraksi etil asetat dilarutkan kira-kira 1 mL eluen dan dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan pelarut etil asetat: n-heksana: metanol (6:3:1) sebagai fase gerak. Eluat-eluat hasil kromatografi kolom ditampung dalam botol vial masing-masing 1 mL/vial, eluat diperoleh sebanyak 324 botol vial lalu dianalisis dengan KLT menggunakan eluen yang sama. Nilai R_f yang sama digabungkan dan diperoleh 17 fraksi. Hasil KLT fraksi F_1 - F_{13} belum terjadi pemisahan yang baik, pada fraksi F_{14} - F_{17} menunjukkan satu noda dan memilih F_{15} untuk diidentifikasi karena menunjukkan salah satu noda yang hanya menunjukkan 1 noda.

Identifikasi Senyawa

Sebanyak 2 mg isolat F_{15} dipilih kemudian dianalisis menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance Proton* (^1H -NMR) dan *Nuclear Magnetic Resonance Carbon* (^{13}C -NMR) dilakukan dengan cara isolat dilarutkan dengan pelarut *deuterated methanol* (CD_3OD) ditabulasi pada Tabel 1.

Tabel 1. Tabulasi data spektroskopi ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR isolat F_{15} Fraksi Etil Asetat Daun Pepaya Jepang (*C. aconitifolius*).

^1H -NMR		^{13}C -NMR		
0,90	3,57	14,53	40,33	105,3
0,97	3,60	19,62	42,51	105,7
1,02	3,61	21,64	50,82	107,5
1,04	3,70	22,25	62,5	111,0
1,18	3,71	23,50	62,6	116,3
1,19	3,82	23,81	71,6	120,1
1,22	3,84	23,9	72,4	127,3
1,23	3,96	23,95	73,9	130,1
1,50	4,33	24,8	74,1	134,1
1,51	4,58	24,81	76,8	138,9
1,52	5,01	26,11	78,2	140,1
1,59	5,41	28,92	78,3	143,0
1,60	5,79	30,28	79,5	144,0
1,61	5,80	30,40	80,6	150,2
1,65	6,63	30,54	100,7	154,1
1,70	6,71	30,86	101,54	154,3
1,75	6,90	31,91	101,57	154,4
2,06	7,18	33,1	101,6	156,8
2,07	7,41	33,15	102,3	201,46
2,95	7,43	36,25	102,4	
3,52		37,38	103,3	

Interpretasi data kimia proton pada isolate F_{15} adalah sebagai berikut:

- Adanya delapan sinyal proton alifatik CH_3 dan CH_2 jenuh pada pergeseran δH 0,90; 0,97; 1,02; 1,04; 1,18; 1,19; 1,22; 1,23 ppm.
- Adanya sembilan sinyal proton ikatan rangkap atau proton *allylic* pada pergeseran δH 1,50; 1,51; 1,52; 1,59; 1,60; 1,61; 1,65; 1,70; 1,75 ppm.
- Tiga sinyal proton pada pergeseran δH 2,06; 2,07; 2,95 ppm menunjukkan adanya CH_2 .
- Adanya delapan sinyal proton CH atau CH_2 yang terikat pada O (C-O) pada pergeseran δH 3,57; 3,60; 3,61; 3,70; 3,71; 3,82; 3,84; 3,96 ppm.
- Adanya empat sinyal proton anomerik atau oksigenasi kuat pada pergeseran δH 4,33; 4,58; 5,01; 5,41 ppm.
- Adanya lima sinyal proton aromatik ringan pada pergeseran δH 5,79; 5,80; 6,63; 6,71; 6,90 ppm.
- Tiga sinyal proton pada pergeseran δH 7,18; 7,41; 7,43 ppm menunjukkan keberadaan cincin aromatik benzena tersubstitusi.

Interpretasi data kimia karbon pada isolate F_{15} adalah sebagai berikut:

- Adanya empat belas karbon alifatik sp^3 pada pergeseran δ 40,33; 42,51; 50,82; 62,5; 62,6; 71,6; 72,4; 73,9; 74,1; 76,8; 78,2; 78,3; 79,5; 80,6 ppm. Dari empat belas karbon alifatik, terdapat sebelas karbon

sp³ yang terikat oksigen pada pergeseran δ 62,5; 62,6; 71,6; 72,4; 73,9; 74,1; 76,8; 78,2; 78,3; 79,5; 80,6 ppm.

- Terdapat dua enam karbon aromatik/ sp² pada pergeseran δ 100,7; 101,54; 101,57; 101,6; 102,3; 102,4; 103,3; 105,3; 105,7; 107,5; 111,0; 116,3; 120,1; 127,3; 130,1; 134,1; 138,9; 140,1; 143,0; 144,0; 150,2; 154,1; 154,3; 154,4; 156,8 ppm.
- Sinyal karbon pada pergeseran δ 201,46 ppm mengindikasikan karbon karbonil.

Berdasarkan hasil tabulasi pergeseran kimia (Tabel 1) isolat F₁₅ masih mengandung adanya struktur inti steroid (Tabel 2), biflavonoid (Tabel 3), 2-unit monosakarida (Tabel 4) dan ada gugus karbonil.

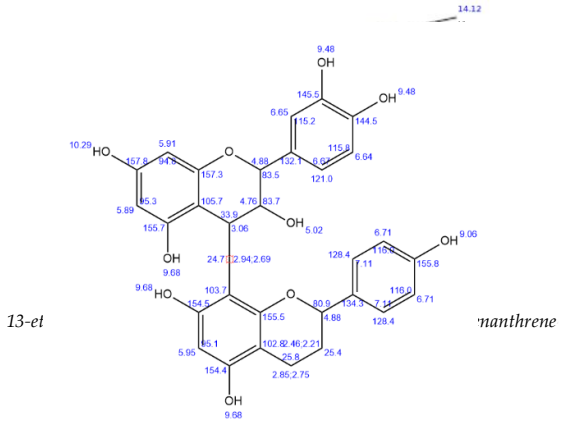
Tabel 2. Tabulasi data Steroid Spektroskopi ¹H-NMR dan ¹³C-NMR isolat F₁₅ Fraksi Etil Asetat Daun Pepaya Jepang (*C. aconitifolius*) dengan jurnal pembandingan (Olutayo *et al.*, 2020).

Pergeseran NMR Inti Steroid				
Posisi ¹ H	Isolat F ₁₅	Posisi ¹³ C	Isolat F ₁₅	Jurnal Pembandingan (Olutayo <i>et al.</i> , 2020)
H-1	1,59	C-1	37,38	37,29
H-2	1,50	C-2	23,95	24,47
H-3	1,51	C-3	28,92	29,25
H-4	1,61	C-4	30,28	29,45
H-5	1,18	C5	26,11	25,20
H-6	1,65	C-6	30,40	29,70
H-7	1,70	C-7	31,91	32,68
H-8	1,19	C-8	22,25	22,78
H-9	1,04	C-9	50,82	27,98
H-10	-	C-10	36,27	36,50
H-11	1,75	C-11	23,50	22,63
H-12	1,60	C-12	40,33	39,37
H-13	-	C-13	42,51	42,40
H-14	1,02	C-14	33,15	33,66
H-15	2,06	C-15	23,81	25,20
H-16	2,07	C-16	30,54	29,93
H-17	1,23	C-17	30,86	31,93
H-18	1,52	C-18	24,81	24,87
H-19	0,97	C-19	14,53	14,12
H-20	1,22	C-20	21,64	21,40
H-21	0,90	C-21	19,62	19,75

Gambar 1. Struktur unit steroid berdasarkan jurnal Olutayo *et al.*, (2020)

Tabel 3. Tabulasi data Biflavonoid Spektroskopi ¹H-NMR dan ¹³C-NMR isolat F₁₅ Fraksi Etil Asetat Daun Pepaya Jepang (*C. aconitifolius*) dengan pembandingan Chemdraw pro-12.0

Posisi ¹ H	Pergeseran ¹ H-NMR Biflavonoid		Posisi ¹³ C	Pergeseran ¹³ C -NMR Biflavonoid	
	Isolat F ₁₅	Pembandingan (Chemdraw pro-12.0)		Isolat F ₁₅	Pembandingan (Chemdraw pro-12.0)
H-2F	4,582	4,88	C-2F	79,5	83,5
H-3F	4,333	4,76	C-3F	80,6	83,7
H-4F	5,01	3,06	C-4F	33,1	33,9
H-5F	7,43	9,68	C-5F	105,3	105,7
H-6F	6,90	5,89	C-6F	154,1	155,7
H-7F	-	10,29	C-7F	101,5	95,3
H-8F	5,80	5,91	C-8F	156,8	157,8
H-2'F	7,18	6,65	C-9F	101,6	94,8
H-3'F	7,41	9,45	C-10F	154,3	157,3
H-4'F	-	9,48	C-1'F	130,1	132,1
H-5'F	6,71	6,64	C-2'F	105,7	115,2
H-6'F	6,63	6,67	C-3'F	140,1	145,5
			C-4'F	138,9	144,5
			C-5'F	107,5	115,8
			C-6'F	120,1	121,0
			C-7'F	23,5	24,7
			C-2f	78,2	80,9
			C-3f	23,9	25,4
			C-4f	24,8	25,8
			C-5f	102,4	102,8
			C-6f	143,0	154,4
			C-7f	102,3	95,1
			C-8f	144,0	154,5
			C-9f	103,3	103,7
			C-10f	150,2	155,5
			C-1'f	134,1	134,3
			C-2'f, 6'f	127,3	128,4
			C-3'f	116,3	116,0
			C-4'f	154,4	155,8
			C-5'f	111,0	115,0

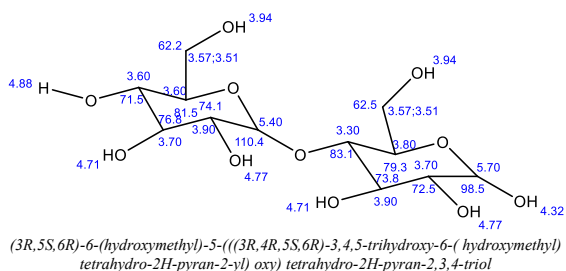


4-((5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-8-yl) methyl)-
2-(3,4-dihydroxyphenyl) chromane-3,5,7-triol

Gambar 2. Biflavonoid berdasarkan Chemdraw pro-12.0

Tabel 4. Tabulasi data 2-unit Monosakarida Spektroskopi ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR isolat F₁₅ Fraksi Etil Asetat Daun Pepaya Jepang (*C. aconitifolius*) dengan pembanding Chemdraw pro-12.0

Pergeseran NMR 2-unit Monosakarida					
Posisi ^1H	Isolat F ₁₅	Pembanding (Chemdraw pro-12.0)	Posisi ^{13}C	Isolat F ₁₅	Pembanding (Chemdraw pro-12.0)
H-1	5,79	5,70	C-1	101,5	98,5
H-2	3,71	3,70	C-2	72,4	72,5
H-3	3,84	3,90	C-3	73,9	73,8
H-4	2,95	3,30	C-4	100,7	83,1
H-5	3,82	3,80	C-5	79,5	79,3
H-6	3,52	3,51	C-6	62,5	62,5
H-1'	5,41	5,40	C-1'	111,0	110,4
H-2'	3,96	3,90	C-2'	74,1	74,1
H-3'	3,70	3,70	C-3'	76,8	76,8
H-4'	3,60	3,60	C-4'	71,6	71,5
H-5'	3,61	3,60	C-5'	80,6	81,5
H-6'	3,57	3,57	C-6'	62,6	62,2



Gambar 3. 2-unit Monosakarida berdasarkan Chemdraw pro-12.0

Pada data isolat spektrum ^{13}C -NMR teridentifikasi menunjukkan keberadaan satu sinyal khas gugus karbonil aldehida ($\text{C}=\text{O}$) pada pergeseran 201,46 ppm.

Kesimpulan

Proses isolasi dilakukan dengan berupa metode yaitu metode pemisahan dan pemurnian dimana didalamnya terdapat proses ekstraksi, fraksinasi, KLT, KKG dan pada proses identifikasi dilakukan pengujian menggunakan instrument NMR. Isolat F₁₅ belum mencapai kemurnian yang optimal. Analisis spektrum mengindikasikan adanya inti steroid, biflavonoid, dua gugus gula atau monosakarida, serta satu gugus karbonil yang belum dapat dipastikan posisi keterikatannya pada struktur senyawa.

Daftar Pustaka

- [1] Claudia. C. Senduk., Rymond J. Rumampuk., Ardi Kapahang., & Emma J. Pongoh. (2023). Studi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi Etil Asetat Daun Pare Hutan (*Momordica balsamina* L.). *Journal of Chemistry*, Vol 8 No. 2:78-82.
- [2] Werdiningsih. W., & Fitria. F. (2024). ANALISIS KADAR SENYAWA TANIN EKSTRAK ETANOL DAUN PEPAYA JEPANG(*Cnidoscoulus aconitifolius*) MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRIUV-VIS. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 2506-2517.
- [3] Arellanes. M. A. J., Martinez. I. G., Tome. S. R. (2014). Potencial Biologico de Especies Medicinales Del Genero *Cnidoscoulus* (*Euphorbiaceae*). *Revista Mexicana De Ciencias Farmaceuticas*, Vol 45 No. 4.
- [4] Sari. S. N., Prastiwi. R., & Hayati. H. (2022). Studi Farmakognosi, Fitokimia dan Aktivitas Farmakologi Tanaman Pepaya Jepang (*Cnidoscoulus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnston). *Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*, Vol 9 No. 1. 19-28.
- [5] Obichi. E., Monago. C., & Belonwu. D. (2015). Effect of *Cnidoscoulus aconitifolius* (Family *Euphorbiaceae*) Aqueous Leaf Extract on Some Antioxidant Enzymes and Haematological Parameters of High Fat Diet and Streptozotocin Induced Diabetic Wistar Albino Rats. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, Vol 19 No. 2. 201.
- [6] Achi. N. K., & Ohaeri. O. C. (2015). GC-MS Determination of Bioactive Constituents of The Methanolic Frctions of *Cnidoscoulus aconitifolius*. *British Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 5 No. 3. 163-172.
- [7] Setiasih. S., Anggraeny. Y. N., Latifah. E., Baswarsiaty., Antonius., Puspito. S., Istiqomah. N., Bakrie. B., Hidayah. N., Indriatie. R., Ramsiati. D. T., Wardi., & Rachmawati. D. (2024). Nutrient Content, Phytochemical Profile and Anti-Methanogen Potential of Chaya (*Cnidoscoulus aconitifolius*) Leaf Extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Vol 1362.

- [8] Aprilia. M., & Dwi. N. D. (2022). Phytochemical Screening of Japanese Papaya Leaf Extracts (*Cnidioscolus aconitifolius mill*) With The Maceration Method Using Different Types of Solvents. *Proceedings The International Allied Health Students Conference (IAHSC)*. 101-106.