

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA
PEPAYA GANTUNG (*Carica papaya* L.) DENGAN METODE
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI



**Oleh :
Dwi Retno Wati
NIM 18040030**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA
PEPAYA GANTUNG (*Carica papaya* L.) DENGAN METODE
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI

Untuk memenuhi persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :
Dwi Retno Wati
NIM 18040030

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr. Soebandi

Jember, 03 Agustus 2022

Pembimbing Utama,



Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M.Farm

NIDN. 0015048203

Pembimbing Anggota,



apt. Wima Anggitasari, M.Sc

NIDN. 0723099001

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “ Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya L.*) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

Hari : Selasa
Tanggal : 16 Agustus 2022
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,


Jenie Palupi, S.Kp., M.Kes
NIDN. 4019066901

Penguji II,

Penguji III,



Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M.Farm
NIDN. 0015048203



apt. Wima Anggitasari, M.Sc
NIDN. 0723099001



Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep
NIDN. 0706109104

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dwi Retno Wati

NIM : 18040030

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi/laporan tugas akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi/laporan tugas akhir ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 7 September 2022

Yang menyatakan,



(Dwi Retno Wati)

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA PEPAYA GANTUNG (*Carica papaya* L.) DENGAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Oleh:

Dwi Retno Wati
NIM. 18040030

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M. Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Wima Anggitasari, M. Sc

PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang;
3. Bapak, ibu, dan seluruh keluarga yang telah memberikan doa, dukungan dan semangat demi kelancaran dan kesuksesan saya;
4. Seluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan sabar;
5. Kepada Aden, Ulfa, dan Aini yang selalu menjadi teman dalam suka dan duka selama semasa perkuliahan;
6. Kepada kedua orang tua dan keluarga yang selalu berusaha memberikan semangat dan dukungan selama proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi;
7. Para guru saya, dari TK sampai SMA yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
8. Teman-teman angkatan 2018 Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember
9. Almamater Universitas dr. Soebandi Jember.

MOTTO

“Jika saya punya waktu 9 jam untuk menebang sebuah pohon, akan saya alokasi jam pertama untuk menajamkan kapak ”

Abraham Lincoln

“Ilmu itu lebih baik dari kekayaan, karena kekayaan itu harus dijaga, sedangkan ilmu menjaga kamu”

Ali bin Abi Thalib

ABSTRAK

Wati, Dwi Retno* Fajrin, Fifteen Aprila** Anggitasari, Wima***.2022. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang: Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.) berasal dari famili *Caricaceae* merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang digunakan secara luas oleh masyarakat sebagai bahan masakan maupun obat. Tumbuhan ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

Metode: Serbuk simplisia bunga pepaya gantung diekstraksi dan diskriming, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan pembandingan kuersetin yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm pada menit ke- 45.

Hasil Penelitian: Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) menunjukkan adanya senyawa flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) menunjukkan nilai IC_{50} rata-rata 70,9 $\mu\text{g/mL}$ dan pembandingan kuersetin nilai IC_{50} rata-rata 2,9 $\mu\text{g/mL}$.

Kesimpulan: Ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat sedangkan pembandingan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.), DPPH, IC_{50}

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Wati, Dwi Retno* Fajrin, Fifteen Aprila** Anggitasari, Wima***. 2022. **Antioxidant Activity Test of Hanging Papaya Flower (*Carica papaya* L.) ethanol extract by DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Method.** Essay. Pharmacy Undergraduate Study Program, University of dr. Soebandi

Background: Hanging papaya flower (*Carica papaya* L.) from the *Caricaceae* family is one of the plants in Indonesia that is widely used by the community as a food ingredient and medicine. This plant contains secondary metabolites that may act as antioxidants. This study aimed to determine the activity of the ethanolic extract of hanging papaya flower (*Carica papaya* L.) with the DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) method.

Methods: Hanging papaya flower simplicia powder was extracted and screened, extraction was carried out using 96% ethanol solvent using the maseration method. Antioxidant activity testing was carried out using the DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) method with quercetin as a comparison which was measured using UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 515 nm at 45 minutes after the addition of ethanol solvent.

Result: The results of the phytochemical screening of the ethanol extract of the hanging papaya flower (*Carica papaya* L.) showed the presence of flavonoid, alkaloids, and terpenoids. Results of the activity test of the hanging papaya flower (*Carica papaya* L.) ethanol extract indicated the IC₅₀ average 70,9 µg/mL and the comparison of quercetin IC₅₀ average 2,9 µg/mL.

Conclusion: Hanging papaya flower (*Carica papaya* L.) ethanol extract has antioxidant activity in a strong category, while the comparison of quercetin has antioxidant activity in a very strong category.

Keywords: Hanging papaya flower (*Carica papaya* L.), DPPH, IC₅₀

*Author

**Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusunan Skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) “.

Saya sebagai penulis merasa bahwa masih banyak kurangnya dalam penyusunan skripsi ini karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman. Untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi kesempurnaan skripsi ini. Tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih terhadap bantuan dari pihak-pihak yang telah berkontribusi dengan memberikan sumbangan baik pikiran maupun materinya. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM selaku Ketua Universitas dr. Soebandi Jember;
2. Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember;
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember;
4. Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M.Farm selaku pembimbing utama dan apt. Wima Anggitasari, M.Sc selaku pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini;
5. Jenie Palupi, S.Kp., M. Kes selaku ketua penguji
6. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
7. Para dosen Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu selama penulis menjadi mahasiswa;

8. Kepala Laboratorium Universitas dr. Soebandi Jember dan staf yang telah memberi izin kepada peneliti untuk melakukan penelitian;
9. Serta semua pihak yang telah memberikan dukungan yang tidak dapat peneliti sebutkan hingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik;

Semoga Allah membalas segala kebaikan dari semua pihak yang telah membantu peneliti dalam menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga Allah SWT membalas kebaikan dari semua pihak yang telah membantu peneliti dalam menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga penelitian ini dapat menjadi bahan evaluasi bagi tempat penelitian dan memberikan manfaat bagi pembaca khususnya peneliti, Aamiin.

Jember, 7 September 2022

Penulis,

Dwi Retno Wati
NIM. 18040030

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat bagi Peneliti.....	6
1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain.....	6
1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat	7
1.4.4 Manfaat bagi Institusi Pendidikan.....	7
1.5 Keaslian Penelitian.....	7

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tanaman Pepaya Gantung (<i>Carica papaya</i> L.)	8
2.1.1 Morfologi Tanaman.....	8
2.1.2 Klasifikasi.....	9
2.1.3 Kandungan Kimia.....	9
2.1.4 Manfaat Untuk Kesehatan	10
2.1.5 Penelitian Sebelumnya.....	10
2.2 Radikal Bebas.....	11
2.2.1 Definisi	11
2.2.2 Sifat Radikal Bebas.....	12
2.2.3 Sumber.....	12
2.2.4 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas.....	13
2.2.5 Kerusakan yang Ditimbulkan Radikal Bebas	14
2.3 Antioksidan	15
2.3.1. Definisi Antioksidan.....	15
2.3.2. Mekanisme Kerja Antioksidan	16
2.3.3. Sumber.....	16
2.4 Uji Aktivitas Antioksidan	17
2.4.1. DPPH.....	18
a. Definisi Metode DPPH.....	18
b. Mekanisme Metode DPPH.....	18
2.4.2. Parameter Pengujian DPPH	19
2.5 Tinjauan Metode Ekstraksi	20
2.5.1 Definisi.....	20
2.5.2 Jenis Ekstraksi.....	20
a. Maserasi	21
b. Perkolasi.....	21
c. Infusa	21
d. Sokhletasi	22
e. Reflukstasi.....	22
2.5.3 Pelarut.....	22

2.6 Spektrofotometer UV-Vis	23
2.6.1. Definisi Spektrofotometer UV-Vis.....	23
2.6.2. Jenis Spektrofotometer UV-Vis.....	24
2.6.3. Bagian-Bagian Spektrofotometer UV-Vis.....	25
a. Sumber Radiasi.....	25
b. Monokromator	25
c. Kuvet	26
d. Fotosel	26
e. Display atau Tampilan.....	26
2.6.4. Syarat Pengukuran Spektrofotometer UV-Vis.....	26
2.6.5. Kuersetin	27
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	28
3.1. Kerangka Konseptual	28
3.2. Hipotesis	29
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	30
4.1. Desain Penelitian	30
4.2. Populasi.....	30
4.3. Sampel.....	30
4.4. Variabel Penelitian.....	31
4.4.1 Variabel Bebas.....	31
4.4.2 Variabel Terikat	31
4.4.3 Variabel Terkendali	31
4.5 Tempat dan Waktu Penelitian	31
4.6. Definisi Operasional.....	32
4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data	33
4.7.1 Alat dan Bahan.....	33
a. Alat	33
b. Bahan.....	33
4.7.2 Teknik Pengumpulan Data	33
a. Determinasi Bunga Pepaya Gantung.....	33
b. Pembuatan Simplisia Bunga Pepaya Gantung	33

c. Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung.....	34
d. Skrining Fitokimia.....	34
1. Uji Alkaloid.....	35
2. Uji Triterpenoid dan Steroid	35
3. Uji Flavonoid.....	35
e. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH	35
1. Pembuatan Larutan DPPH.....	35
2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak	36
3. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin	36
4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	36
5. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	37
6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	37
7. Perhitungan Nilai IC ₅₀	37
4.8 Teknik Analisis Data.....	38
4.9 Alur Penelitian	39
BAB 5 HASIL PENELITIAN	40
5.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung	40
5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	40
5.1.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel	40
5.1.3 Ekstraksi.....	40
5.1.4 Skrining Fitokimia	41
5.2 Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi 50% (IC ₅₀).....	42
5.2.1 Optimasi Panjang Gelombang	42
5.2.2 Optimasi Waktu Inkubasi.....	42
5.2.3 Pengukuran Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak.....	42
5.2.4 Hasil Analisis Nilai IC ₅₀ Kuersetin dan Ekstrak.....	43
5.2.5 Hasil Analisis Data.....	44
BAB 6 PEMBAHASAN	46
6.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung	46
6.1.1 Ekstraksi Bunga Pepaya Gantung	46
6.1.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Bunga Pepaya Gantung	48

6.2 Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi 50% (IC ₅₀).....	49
BAB 7 KESIMPULAN	55
6.1 Kesimpulan	55
6.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	8
Tabel 2.1 Parameter pengujian aktivitas antioksidan dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	21
Tabel 4.1 Definisi Operasional	33
Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Bunga Pepaya Gantung	42
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Bunga Pepaya Gantung	42
Tabel 5.3 Hasil Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak	44
Tabel 5.4 Hasil Persentase Inhibisi Kuersetin dan Ekstrak.....	44
Tabel 5.5 Hasil Nilai IC50 Kuersetin dan Ekstrak.....	45
Tabel 5.6 Hasil Uji Analisis T-Independent	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bunga papaya gantung	9
Gambar 2.2 Atom oksigen normal dan radikal bebas	12
Gambar 2.3 Sumber-sumber stress oksidatif	14
Gambar 2.4 Pembentukan radikal bebas dan peran antioksidan menstabilkan radikal bebas.....	17
Gambar 2.5 Reaksi antara antioksidan dengan radikal bebas	20
Gambar 2.6 Skema Spektrometer UV-Vis (single beam).....	25
Gambar 2.7 Skema alat spektrofotometer UV-Vis (double-beam).....	26
Gambar 2.8 Struktur kimia kuersetin	28
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	29
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	40
Gambar 5.1 Kurva Panjang Gelombang DPPH	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Determinasi Tumbuhan.....	64
Lampiran 2 Proses Pembuatan Simplisia.....	65
Lampiran 3 Proses Pembuatan Ekstrak.....	67
Lampiran 4 Perhitungan Rendemen.....	68
Lampiran 5 Skrining Fitokimia.....	69
Lampiran 6 Optimasi Panjang Gelombang.....	70
Lampiran 7 Optimasi Waktu Inkubasi	71
Lampiran 8 Perhitungan Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	73
Lampiran 9 Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	76
Lampiran 10 Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC ₅₀ Ekstrak.....	78
Lampiran 11 Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC ₅₀ Kuersetin.....	80
Lampiran 12 <i>Photometry Test Report</i> Ekstrak dan Kuersetin	82
Lampiran 13 Hasil Uji Statistik.....	87

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung elektron yang tidak berpasangan. Untuk mencapai stabilitas, radikal bebas memperoleh elektron dari metabolisme protein, karbohidrat, lipid, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Adrian *et al.*, 2021). Senyawa ataupun molekul yang kehilangan elektron, kemudian akan menjadi radikal bebas membentuk reaksi berantai dan dapat merusak sel hidup (Phaniendra *et al.*, 2015).

Seiring berkembangnya zaman, pola hidup manusia banyak mengalami perubahan yang mengakibatkan meningkatnya radikal bebas dalam kehidupan sehari-hari. Asap rokok, sinar matahari, pendingin ruangan, asap kendaraan, pestisida, radiasi, dan gelombang elektromagnetik peralatan elektronik merupakan sumber pembentuk radikal bebas (Agustina, 2017). Makanan yang tidak sehat dan bertambahnya usia juga dapat menimbulkan pembentukan radikal bebas pada tubuh. Padatnya kegiatan kerja cenderung membuat orang mengonsumsi makanan siap saji dan menerapkan pola makan yang tidak sehat. Lingkungan yang tercemar, kesalahan pola makan, dan gaya hidup yang tidak tepat dapat merangsang munculnya radikal bebas yang merusak tubuh dan berkembang menjadi penyakit degeneratif seperti hipertensi, stroke, diabetes melitus, dan gagal ginjal kronik. (Handayani *et al.*, 2018). Untuk mencegah peningkatan penyakit

degeneratif yang disebabkan karena radikal bebas, maka diperlukan senyawa antioksidan (Fridalni *et al.*, 2019).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau mengurangi efek negatif oksidan, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Senyawa antioksidan menyumbangkan satu atau lebih elektron ke senyawa radikal bebas sehingga mencegah kerusakan yang disebabkan (Mariani *et al.*, 2018). Tubuh secara alami memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen yang meliputi antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik disintesis oleh tubuh seperti superoksidasidase dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase, sedangkan antioksidan non enzimatik adalah vitamin C (asam askorbat), vitamin E (alfa tokoferol), vitamin A (retinoid), dan ubiquinone. Antioksidan harus ada dalam jumlah yang cukup di dalam tubuh. Pada kondisi tubuh abnormal yang disebabkan oleh pembentukan radikal bebas dalam jumlah berlebihan, aktivitas enzim yang berfungsi sebagai antioksidan endogen dapat berkurang. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan dari luar (eksogen) untuk mencegah efek radikal bebas yang berlebihan (Andarina dan Djauhari, 2017).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan eksogen dapat dikelompokkan menjadi dua kategori, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami adalah senyawa antioksidan yang diperoleh dari ekstraksi bahan alam seperti tumbuhan dan buah-buahan. Antioksidan alami ini dinilai aman bagi kesehatan tubuh karena dianggap tidak terkontaminasi atau tercampur bahan kimia dan mudah diperoleh dari lingkungan sekitar. Contoh dari

antioksidan alami yaitu berupa Vitamin A, C, E, antosianin, karotenoid, flavonoid, senyawa fenol, dan asam folat. Antioksidan sintetis diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Terdapat beberapa contoh dari antioksidan sintetis yaitu *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan *tertiary-butyl hidroquinone* (TBHQ) (Agustina, 2017). Antioksidan sintetis memiliki beberapa kelemahan, antara lain terkait dengan dugaan karsinogenik dan kurang aman jika dikonsumsi terus-menerus (Christalina *et al.*, 2018). Oleh karena itu, antioksidan alami dianggap lebih aman jika diekstraksi dari bahan alam (Xu *et al.*, 2017).

Pepaya merupakan salah satu tanaman yang secara keseluruhan mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan tubuh, baik akar, daun, buah, bunga, maupun bijinya (Marpaung *et al.*, 2021). Masyarakat menggunakan bahan alam secara turun-temurun sebagai obat untuk mengurangi rasa sakit, mencegah penyakit, menyembuhkan serta dapat menjaga kondisi tubuh tetap sehat. Tumbuhan yang digunakan sebagai terapi disebut obat herbal (Hakim dan Saputri, 2017). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.). Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman *polygamous* dengan tiga jenis kelamin, yaitu betina atau *pistillate*, jantan atau *staminate*, dan hermaprodit. (Noflindawati *et al.*, 2020). Bunga pepaya yang tidak menjadi buah hanya dimanfaatkan sebagai tambahan bahan makanan, sehingga bunga pepaya gantung menarik untuk dilakukan penelitian dan dimanfaatkan sebagai obat herbal (Mukhaimin *et al.*, 2018).

Tanaman pepaya dikenal memiliki berbagai aktivitas seperti antioksidan, antihipertensi, antiinflamasi, antimikroba, antijamur, antidiabetes, anti tumor,

penyembuhan luka, hepatoprotektif, dan imunomodulator (Gadge *et al.*, 2020). Daun pepaya gantung dapat dimanfaatkan sebagai lalap, penambah nafsu makan, sumber vitamin A, antimalaria, beri-beri, kolik, dan demam (Istiana dan Munib, 2009). Bunga pepaya gantung mengandung metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, steroid, dan glikosida (Nainggolan, 2015). Metabolit sekunder yang potensial sebagai antioksidan antara lain alkaloid, flavonoid, steroid, dan terpenoid (Huliselan *et al.*, 2015). Flavonoid dilaporkan mampu menanangkap radikal bebas secara langsung dengan mendonorkan atom hidrogennya (Arifin dan Ibrahim, 2018). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mengkonsumsi bunga pepaya dapat membantu tubuh menetralsir radikal bebas dan meningkatkan kekebalan tubuh (Dwivedi *et al.*, 2020).

Banyak penelitian telah dilakukan tentang efektivitas tanaman pepaya. Menurut penelitian Wahyuni (2018) ekstrak bunga pepaya mengandung metabolit sekunder tanin, flavonoid, steroid dan terpenoid. Ekstrak bunga pepaya sebagai antidiabetes pada dosis 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB efektif menurunkan glukosa darah mencit dibandingkan dengan kontrol positif glibenklamid. Menurut penelitian Manengkey (2020) ekstrak bunga papaya gantung dengan dosis 75 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB memberikan efektivitas sebagai analgesik, dimana efek penurunan paling tinggi terdapat pada dosis 300 mg/kg BB. Berdasarkan penelitian Maisarah (2013), aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari pepaya ditemukan pada daun muda ($7,8 \pm 0,06$ mg/mL), buah mentah ($4,3 \pm 0,01$ mg/mL), buah masak ($6,5 \pm 0,01$ mg/mL), dan biji ($1,0 \pm 0,08$ mg/mL). Tumbuhan dengan famili yang sama cenderung memiliki kemiripan kandungan

senyawa dan mengandung senyawa yang berkaitan satu sama lain (Bulla *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa tanaman pepaya baik daun, bunga, buah maupun biji mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan penyakit degeneratif, namun belum terdapat penelitian tentang uji aktivitas antioksidan bunga papaya gantung, sehingga perlu dilakukan penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan perbandingan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) terhadap kuersetin. Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan sampel secara *in vitro* dan juga merupakan metode yang sederhana, cepat serta hanya membutuhkan sampel dalam jumlah kecil (Sepriyani, 2020).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut :

Bagaimana ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan metode DPPH.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa antioksidan dari ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.).
2. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis nilai inhibisi konsentrasi 50% (IC₅₀) pada ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) menggunakan metode DPPH.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan melakukan penelitian, diharapkan mendapatkan beberapa manfaat diantaranya adalah sebagai berikut :

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Dapat diketahui aktivitas antioksidan dan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.).

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Penelitian ini akan menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut dalam mencari antioksidan baru dari bahan alam serta sebagai sumber informasi dan referensi yang dapat dipertimbangkan dalam penelitian lebih lanjut tentang topik aktivitas antioksidan.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menginformasikan kemajuan di bidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antioksidan dari ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.).

1.4.4 Manfaat bagi institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pengetahuan khususnya bagi ilmu farmasi yang berkaitan dengan antioksidan, serta menjadi bahan bacaan di perpustakaan dan dapat memberikan referensi bagi mahasiswa lainnya.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
(Nainggolan, 2015)	a. Menggunakan sampel bunga pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	a. Uji terhadap sel kanker payudara MCF-7 b. Menggunakan metode fraksinasi
(Wahyuni <i>et al.</i> , 2018)	a. Menggunakan sampel bunga pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) b. Menggunakan pelarut etanol c. Menggunakan metode maserasi	a. Uji aktivitas antidiabetik
(Sepriyani, 2020)	a. Menggunakan metode DPPH b. Menggunakan metode maserasi	a. Menggunakan sampel daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) b. Menggunakan pelarut metanol
(Sri Marpaung <i>et al.</i> , 2021)	a. Menggunakan sampel bunga pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) b. Menggunakan metode maserasi c. Menggunakan etanol	a. Uji aktivitas antidiabetik

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

2.1.1 Morfologi Tanaman

Pepaya gantung adalah anggota dari *family Caricaceae*, umumnya dikenal sebagai *papaya* dalam bahasa Inggris, *erandakarkati* dalam bahasa Sansekerta, dan *papita* dalam bahasa Hindi (Yogiraj *et al.*, 2014). Pepaya gantung merupakan tanaman herba tahunan yang tingginya dapat mencapai 8 meter. Tidak berkayu, bulat, berongga, bergetah, dan terdapat bekas pangkal daun (Faisal, 2015). Tanaman pepaya gantung dapat dilihat pada gambar 2.1.

Bunga pepaya jantan atau gantung merupakan salah satu bunga yang hanya memiliki benang sari (*unisexual*), dimana bunga pada pohon pepaya berperan sebagai alat reproduksi yang tergolong tumbuhan poliploid, karena memiliki bunga jantan, bunga betina, dan bunga sempurna. Pohon jantan mudah dikenal karena memiliki malai, bunga bercabang banyak yang menggantung dengan bunga-bunga yang lebat. Tanaman ini tidak akan berbuah karena bunganya tidak memiliki bakal biji (Anitha *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Bunga pepaya gantung (Sumber: Dokumen pribadi, 2021)

2.1.2 Klasifikasi

Tanaman pepaya gantung berdasarkan struktur klasifikasi adalah sebagai berikut (Yogiraj *et al.*, 2014) :

Domain : *Flowering plant*

Kingdom : *Plantae*

Sub Kingdom : *Tracheobionta*

Class : *Magnoliopsida*

Subclass : *Dilleniidae*

Superdivision : *Spermatophyta*

Phyllum : *Steptophyta*

Order : *Brassicales*

Family : *Caricaceae*

Genus : *Carica*

Botanical Name : *Carica papaya* Linn

2.1.3 Kandungan Kimia Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

Senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol bunga pepaya gantung antara lain flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, glikosida, dan steroid (Nainggolan, 2015). Menurut penelitian Okoye (2017) kandungan kimia di dalam ekstrak bunga pepaya gantung menunjukkan adanya alkaloid sebesar $0,53 \pm 0,01\%$, flavonoid $0,86 \pm 0,02\%$, saponin $0,37 \pm 0,02\%$, tanin $2,06 \pm 0,01\%$, terpenoid $0,21 \pm 0,01\%$, steroid $0,08 \pm 0,01\%$ dan glikosida jantung $1,87 \pm 0,02\%$. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif dalam ekstrak

seperti flavonoid. Flavonoid mendonorkan hidrogen atau elektron kepada radikal bebas untuk menstabilkan senyawa radikal. Dengan demikian, semakin tinggi kandungan flavonoid ekstrak, semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Dewi *et al.*, 2018).

2.1.4 Manfaat Untuk Kesehatan

Pepaya merupakan tanaman yang kaya akan manfaat secara keseluruhan, antara lain akar, bunga, buah, daun, dan biji. Daun pepaya sering digunakan untuk meredakan nyeri haid pada wanita, mengobati jerawat, melancarkan pencernaan, menambah nafsu makan, dan mengobati demam berdarah, sedangkan buah pepaya matang berfungsi mengaktifkan enzim pencernaan, pencahar saluran empedu, menguatkan lambung, dan mencegah penyakit kudis. Secara empiris, bunga pepaya sering direbus dan digunakan sebagai obat diabetes melitus, meningkatkan nafsu makan, membersihkan darah, dan menyembuhkan penyakit kuning (Wahyuni *et al.*, 2018). Bunga pepaya gantung memiliki manfaat sebagai *antidengue*, *anticancer*, *antimicrobial*, *antiparasitic*, *anti-inflammatory*, *antioxidant*, *antidiabetic activities* (Mukhaimin *et al.*, 2018).

2.1.5 Penelitian Sebelumnya

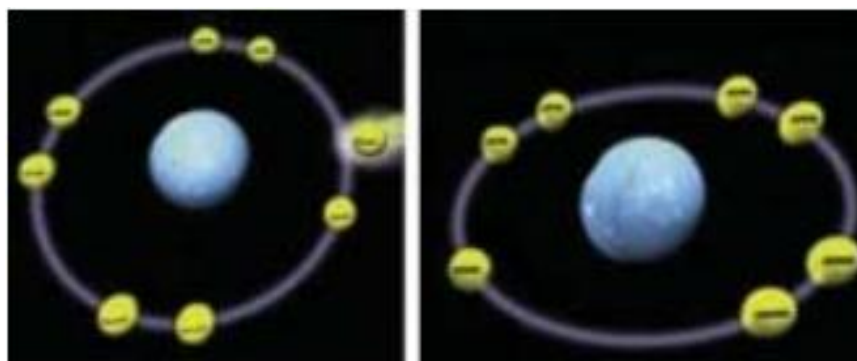
Penelitian tentang bunga pepaya gantung sebelumnya telah banyak dilakukan, yaitu uji aktivitas ekstrak bunga pepaya jantan sebagai antidiare (Pudyawanti, 2021), uji efektivitas ekstrak bunga pepaya jantan sebagai analgesik (Manengkey *et al.*, 2020), uji efektivitas ekstrak bunga pepaya terhadap diabetes (Sri Marpaung *et al.*, 2021), dan uji aktivitas toksisitas bunga pepaya jantan terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Nainggolan, 2015). Selain bunganya bagian

pepaya lain juga banyak dilakukan penelitian. Aktivitas antioksidan daun pepaya (Bulla *et al.*, 2020), aktivitas antibakteri biji pepaya (Christalina *et al.*, 2018), aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun pepaya (Sepriyani, 2020), aktivitas antioksidan perasan buah pepaya (Hakim dan Saputri, 2017) dan masih banyak lagi penelitian tentang pepaya.

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Definisi

Radikal bebas (gambar 2.2) adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan akan membuat senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya dengan cara mengikat elektron dari molekul-molekul di sekitarnya (Dwimayasanti, 2018). Radikal bebas yang tidak berpasangan akan mengambil elektron lain seperti *deoxyribonucleic acid* (DNA), sitoskeleton, protein seluler dan membran sel yang dapat mengakibatkan kerusakan pada sel jaringan (Pai *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Sisi kiri: atom oksigen normal dengan semua elektron berpasangan. Sisi kanan: radikal bebas, dengan sebuah elektron tidak berpasangan (Sumber: Vasudevan, 2011)

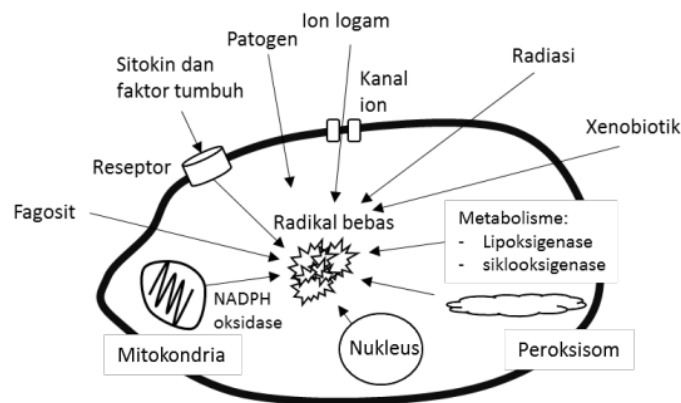
2.2.2 Sifat Radikal Bebas

Radikal bebas sangat reaktif untuk menarik elektron. Radikal bebas adalah molekul atau senyawa yang berdiri sendiri dan memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Kehadiran satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan membuat molekul rentan terhadap medan magnet dan membuat molekul sangat reaktif. Radikal bebas akan menyerang molekul di sekitarnya dan mengambil elektron. Zat yang akan terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas baru, sehingga akan terjadi reaksi berantai yang merusak sel (Yuslianti, 2017).

2.2.3 Sumber

Sumber-sumber radikal bebas dari turunan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan RNS (*Reactive Nitrogen Species*) dapat terbentuk dalam dua jenis reaksi, yaitu enzimatis dan non-enzimatis seperti pada gambar 2.3. ROS dan RNS yang terbentuk dalam proses enzimatis merupakan radikal bebas yang terbentuk dari hasil proses respirasi, fagositosis, sintesis prostaglandin, dan sistem sitokrom P450 (CYPs). Menurut sumbernya ROS dan RNS dibagi menjadi dua yaitu yang dapat bersumber dari sel (endogenus) dan masuk ke dalam sel dari luar (eksogenus). Sumber ROS dan RNS dari proses endogenus contohnya adalah hasil aktivasi sel imun, inflamasi, stress mental, latihan fisik yang berlebihan, iskemia, infeksi, kanker, dan gejala penuaan. Sumber ROS dan RNS dari luar adalah polusi udara dan air, rokok, alkohol, logam transisi dan logam berat (misalnya: Cd, Hg, Pb, Fe, dan As), konsumsi obat-obatan (siklosporin, gentamisin, takrolimus), pelarut industri (pelarut cat, lem, kayu), kerusakan

pangan akibat proses pengolahan (produk bakaran, asap, minyak terhidrogenasi), dan radiasi. ROS dan RNS dari sumber-sumber eksternal dapat terdekomposisi dan termetabolisme menjadi radikal bebas (Rahmadi dan Yusuf, 2018).



Gambar 2.3 Sumber-sumber stress oksidatif (Sumber: Rahmadi dan Yusuf, 2018)

2.2.4 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas

Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh manusia melalui metabolisme sel, peradangan, radiasi sinar- γ , sinar-x, UV, bahan kimia dalam makanan, obat-obatan, pencemaran lingkungan, dan pola makan. Ketika radikal bebas bereaksi dengan komponen biologis (lipid, protein dan DNA) dapat menghasilkan senyawa yang teroksidasi dan terjadi stress oksidatif. Mekanisme pembentukan reaksi berantai radikal ini mengalami tiga tahapan reaksi, yaitu pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), propagasi atau pembentukan radikal baru (propagation), dan tahap akhir, yaitu pemusnahan atau transisi radikal bebas ke keadaan stabil dan tak reaktif (Labola dan Puspita, 2018).

Selama fase inisiasi, radikal bebas membentuk dan menyerang lipid sehingga terbentuk radikal lipid. Radikal lipid kemudian bereaksi dengan molekul oksigen untuk membentuk radikal peroksil lipid. Radikal peroksil dalam lipid

menyerang molekul lipid lain dan mengambil molekul hidrogen untuk membentuk hidroperoksida lipid dan juga menyerang molekul lipid lain, yang bereaksi dengan oksigen. Pada tahap propagasi, terjadi pemanjangan rantai induk. Reaksi ini merupakan oksidasi rantai kedua sehingga reaksi menyebar dan satu molekul radikal dari awal dapat menyebabkan banyak molekul teroksidasi. Tahap terakhir adalah terminasi, reaksi radikal akan berhenti jika kedua radikal saling bereaksi dan membentuk senyawa non radikal (Yuslianti, 2017).

2.2.5 Kerusakan yang Ditimbulkan Radikal Bebas

Radikal bebas yang mengambil elektron dari tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA (*deoxyribonucleic acid*) sehingga muncul sel-sel mutan. Kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas antara lain :

- a. Kerusakan struktur DNA pada inti sel. Selain virus, radiasi dan karsinogen kimia, radikal bebas juga dapat merusak DNA.
- b. Kerusakan membran sel. Komponen terpenting membran sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas yang menyebabkan perubahan struktur dan fungsi membran.
- c. Kerusakan protein. Munculnya kerusakan akibat serangan radikal bebas meliputi oksidasi protein yang merusak jaringan tempat protein tersebut berada. Misalnya, kerusakan protein pada lensa mata menyebabkan katarak.
- d. Kerusakan peroksida lipid. Itu terjadi ketika asam lemak tak jenuh diserang oleh radikal jenuh, sehingga reaksi antar nutrisi dalam tubuh menghasilkan peroksida yang merusak sel, sehingga dianggap sebagai salah satu penyebab penyakit degeneratif.

- e. Dapat menyebabkan autoimunitas. Dalam keadaan normal, antibodi hanya terbentuk ketika antigen masuk ke dalam tubuh. Autoimunitas adalah pembentukan antibodi terhadap sel tubuh normal, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan tubuh.
- f. Proses penuaan. Paparan radikal bebas pada tubuh manusia bersifat kumulatif yang akan muncul sebagai penyakit jika sistem imun tubuh tidak dapat lagi mentolerir keberadaan senyawa radikal bebas. Hal ini dipengaruhi oleh keseimbangan aktif radikal bebas di dalam tubuh atau yang masuk ke dalam tubuh melalui lingkungan dengan kadar antioksidan yang tinggi di dalam tubuh. Ketika kadar radikal bebas melebihi kemampuan tubuh untuk menetralkan, kondisi stress oksidatif muncul. Stress oksidatif dapat menyebabkan penyakit stroke, penyakit jantung, hipertensi, kanker, dan banyak (Fakriah *et al.*, 2019).

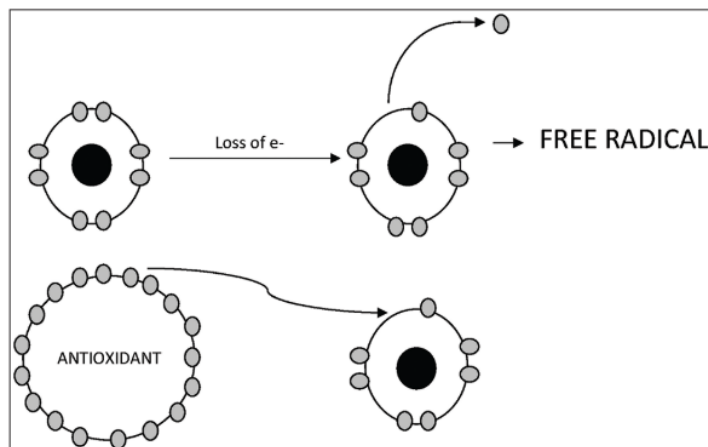
2.3 Antioksidan

2.3.1 Definisi

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas atau untuk mencegah sistem biologi tubuh mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas yang menghasilkan reaksi oksidasi berlebihan (Handayani *et al.*, 2018). Menurut Yanuarty (2021) antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, menghambat, dan mencegah oksidasi lipid. Secara singkat, antioksidan adalah zat yang dapat mencegah pembentukan reaksi radikal bebas (peroksida) selama oksidasi lipid.

2.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan menangkap radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau agen pereduksi, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4. Senyawa ini memiliki berat molekul rendah, tetapi dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan mencegah pembentukan radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasidatif, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Rustiah dan Umriani, 2018).



Gambar 2.4 Pembentukan radikal bebas dan peran antioksidan menstabilkan radikal bebas (Sumber: Pai *et al.*, 2014)

2.3.3 Sumber

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua kategori, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik seperti asam benzoat, Butil Hidroksil Anisol (BHA), Butil Hidroksil Toluen (BHT) dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dapat menimbulkan efek samping pada kesehatan

tubuh. BHA dan BHT telah diteliti dapat menyebabkan tumor pada hewan uji jika digunakan dalam jangka waktu yang lama dan juga dapat menyebabkan kerusakan hati jika dikonsumsi secara berlebihan (Huliselan *et al.*, 2015).

Antioksidan alami dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan atau buah-buahan. Beberapa contoh antioksidan alami adalah senyawa-senyawa yang terdapat dalam bahan alam/bahan makanan seperti senyawa-senyawa turunan fenol, flavonoid, vitamin C, dan vitamin E. Antioksidan alami dapat ditemukan pada tumbuhan karena mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan (Agustina *et al.*, 2017).

Menurut penelitian sebelumnya banyak tanaman dan buah yang dilaporkan memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Beberapa diantara yang pernah dilakukan penelitian adalah buah semangka (Mariani *et al.*, 2018), buah kawista (Rustiah dan Umriani, 2018), daun tiin (Agustina *et al.*, 2017), buah naga merah (Widianingsih, 2016), buah nanas (Widyanto *et al.*, 2020), kecibeling, bakaumerah, katuk (Sulastri *et al.*, 2020), dan daun beluntas (Safitri *et al.*, 2018).

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Metode *in vitro* untuk mengukur efisiensi antioksidan alami baik sebagai senyawa murni atau sebagai ekstrak tumbuhan telah banyak dikembangkan. Metode *in vitro* dapat dikelompokkan menjadi 2 yaitu: reaksi transfer atom hidrogen seperti ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), TRAP (*Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter method*) dan reaksi transfer elektron seperti TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity method*), FRAP (*Ferric*

Reducing/Antioxidant Power method), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Chanda dan Dave, 2009).

Metode penentuan aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH. DPPH merupakan radikal stabil dan banyak digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak tumbuhan. Metode DPPH ini dapat digunakan pada sampel padatan maupun larutan dan tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu. Metode ini digunakan karena penggunaannya yang sederhana, akurat, cepat, dan murah untuk menguji kemampuan bahan dalam menangkap radikal bebas (Mariani *et al.*, 2018).

2.4.1 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

a. Definisi Metode DPPH

Metode analisis uji aktivitas antioksidan yang paling umum digunakan adalah metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) karena dianggap metode yang paling sederhana dengan hasil yang cukup akurat, sedikit bahan kimia yang digunakan dan mudah dilakukan. Metode DPPH merupakan informasi dasar tentang aktivitas antioksidan suatu ekstrak dan indikator adanya komponen fenolik dan flavonoid dalam suatu ekstrak. Metode ini dipilih karena paling banyak digunakan secara *in vitro*, dan juga dikenal sebagai metode pengukuran aktivitas antioksidan yang sensitif, sederhana, murah dan tidak membutuhkan banyak reagen (Hartati, 2020).

b. Mekanisme Metode DPPH

Prinsip metode DPPH adalah pengurangan intensitas warna DPPH akibat berkurangnya jumlah DPPH yang bereaksi dengan sampel menjadi DPPH-H.

beberapa konsentrasi ekstrak sampel. Persamaan regresi linier yaitu $y = bx + a$ (Rahmadi dan Yusuf, 2018).

Tabel 2.1 Parameter pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Sumber: Salim, 2018)

Intensitas Kekuatan Aktivitas	Nilai IC₅₀	Warna
Sangat Kuat	< 50 µg/mL	Kuning pucat
Kuat	50-100 µg/mL	Kuning
Sedang	101-150 µg/mL	Ungu
Lemah	151-200 µg/mL	Ungu gelap

2.5 Tinjauan Metode Ekstraksi

2.5.1 Definisi

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat aktif dari bagian tanaman obat dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi bertujuan untuk mengekstrak komponen kimia yang ada di bagian tanaman. Proses ekstraksi pada dasarnya adalah perpindahan massa dari komponen padat yang terkandung dalam simplisia ke pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel dan kemudian berdifusi ke dalam pelarut. Proses ini berlanjut sampai tercapai keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif di luar sel (Marjoni, 2016).

2.5.2 Jenis ekstraksi

Menurut Marjoni (2016), terdapat beberapa metode ekstraksi yang paling umum digunakan yaitu maserasi, perkolasi, infusa, sokhletasi dan refluktasi. Pada

penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maseri karena prinsipnya yang mudah dan sederhana.

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi yang sangat sederhana karena prosesnya hanya merendam simplisia ke dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup selama waktu tertentu pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya (Marjoni, 2016). Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhtarini, 2014). Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinyu pada simplisia dengan waktu tertentu (Marjoni, 2016). Kelebihan pada metode ini yaitu sampel dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan waktu yang lama (Mukhriani, 2014).

c. Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan akuades pada suhu 90°C selama 15 menit (Marjoni, 2016). Penggunaan akuades bertujuan untuk mendapatkan zat aktif yang bersifat polar dapat tersari dengan optimal (Yuliani, 2015).

d. Sokhletasi

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu yang digunakan lebih rendah daripada suhu yang digunakan refluks. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sehingga sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi dan tidak membutuhkan banyak pelarut. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

e. Reflukstasi

Refluktasi merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendinginan balik (kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna (Marjoni, 2016).

2.5.3 Pelarut

Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh jenis pelarut yang digunakan sangat bergantung pada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama. Jenis pelarut yang memiliki sifat polar diantaranya akuades, metanol, etanol dan aseton (Saraswati *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar. Untuk mendapatkan ekstraksi yang menyeluruh dan mendapatkan senyawa-senyawa

yang mempunyai aktivitas farmakologis maka pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi merupakan faktor yang penting. Pelarut yang ideal digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air karena merupakan pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid (Arifianti *et al.*, 2014).

2.6 Spektrofotometer UV-Vis

2.6.1 Definisi Spektrofotometer UV-Vis

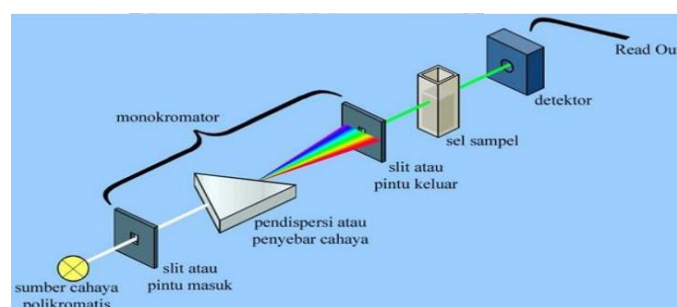
Penetapan aktivitas antioksidan metode DPPH pada penelitian ini menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Peralatan yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer. Dalam analisis secara spektrofotometri terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, yaitu daerah UV (200-380 nm), daerah *visible* (380-700 nm), daerah inframerah (700-3000 nm) (Santhi, 2017).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t). Aplikasi rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan alat untuk analisa suatu unsur yang berkadar rendah baik secara kuantitatif maupun kualitatif. Pada

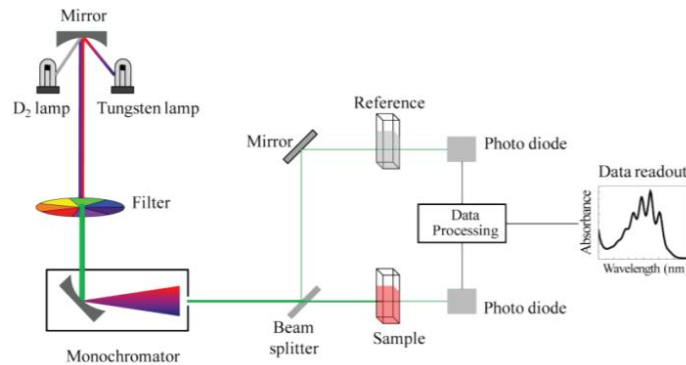
penentuan secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan spektrum dari suatu unsur tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan adanya senyawa pengompleks sesuai unsur yang dianalisisnya (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016).

2.6.2 Jenis Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer dibagi menjadi dua jenis yaitu spektrofotometer *single-beam* dan spektrofotometer *double-beam* dapat dilihat pada gambar 2.7. Perbedaan kedua jenis spektrofotometer ini hanya pada pemberian cahaya, dimana pada *single-beam* cahaya hanya melewati satu arah sehingga nilai yang diperoleh hanya nilai absorbansi dari larutan yang dimasukkan seperti pada gambar 2.6. Berbeda dengan *single-beam*, pada spektrofotometer *double-beam* nilai blanko dapat langsung diukur bersamaan dengan larutan yang diinginkan dalam satu kali proses yang sama. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Pertiwi, 2016).



Gambar 2.6 Skema Spektrofotometer UV-Vis (single beam) (Sumber: Pertiwi, 2016)



Gambar 2.7 Skema Spektrofotometer UV-Vis (double-beam) (Sumber: Suhartati, 2017)

2.6.3 Bagian-bagian Spektrofotometer UV-Vis

Secara umum, terdapat beberapa bagian dari spektrofotometer yang terdiri atas sumber radiasi, monokromator, sel, foto sel, detektor, dan tampilan (*display*) (Warono dan Syamsudin, 2013).

a. Sumber Radiasi

Sumber radiasi berfungsi memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran. Sumber radiasi untuk spektrofotometer UV-Vis adalah lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet sampai 350 nm. Lampu filamen digunakan untuk daerah sinar tampak sampai inframerah dekat dengan panjang gelombang 250 nm sampai sekitar 350 nm.

b. Monokromator

Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar.

c. Kuvet

Sel atau kuvet adalah tempat bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet harus dibuat dengan bahan yang tidak mudah menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya terbuat dari kaca yang tembus sinar tetapi bisa pula terbuat dari plastik. Kuvet dari kuarsa baik untuk spektroskopi Uv-Vis.

d. Fotosel

Fotosel berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan zat kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang kemudian akan disampaikan ke detektor. Detektor adalah material yang dapat menyerap energi dari foton dan mengubahnya dalam bentuk lain, yaitu energi listrik.

e. Display atau Tampilan

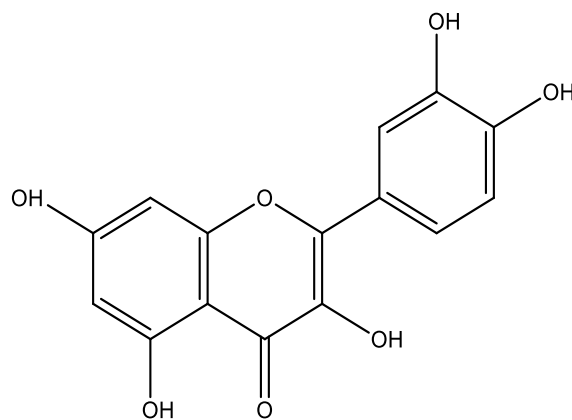
Display atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis (Warono dan Syamsudin, 2013).

2.6.4 Syarat Pengukuran Spektrofotometer UV-Vis

Alat spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk pengukuran sampel dalam bentuk larutan, gas, maupun uap. Pada umumnya sampel harus dalam larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan dapat diperhatikan beberapa persyaratan sebagai berikut: harus melarutkan sampel dengan homogen, pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap yang terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel), tidak terdapat interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, dan kemurniannya harus tinggi (Suhartati, 2017).

2.6.5 Kuersetin

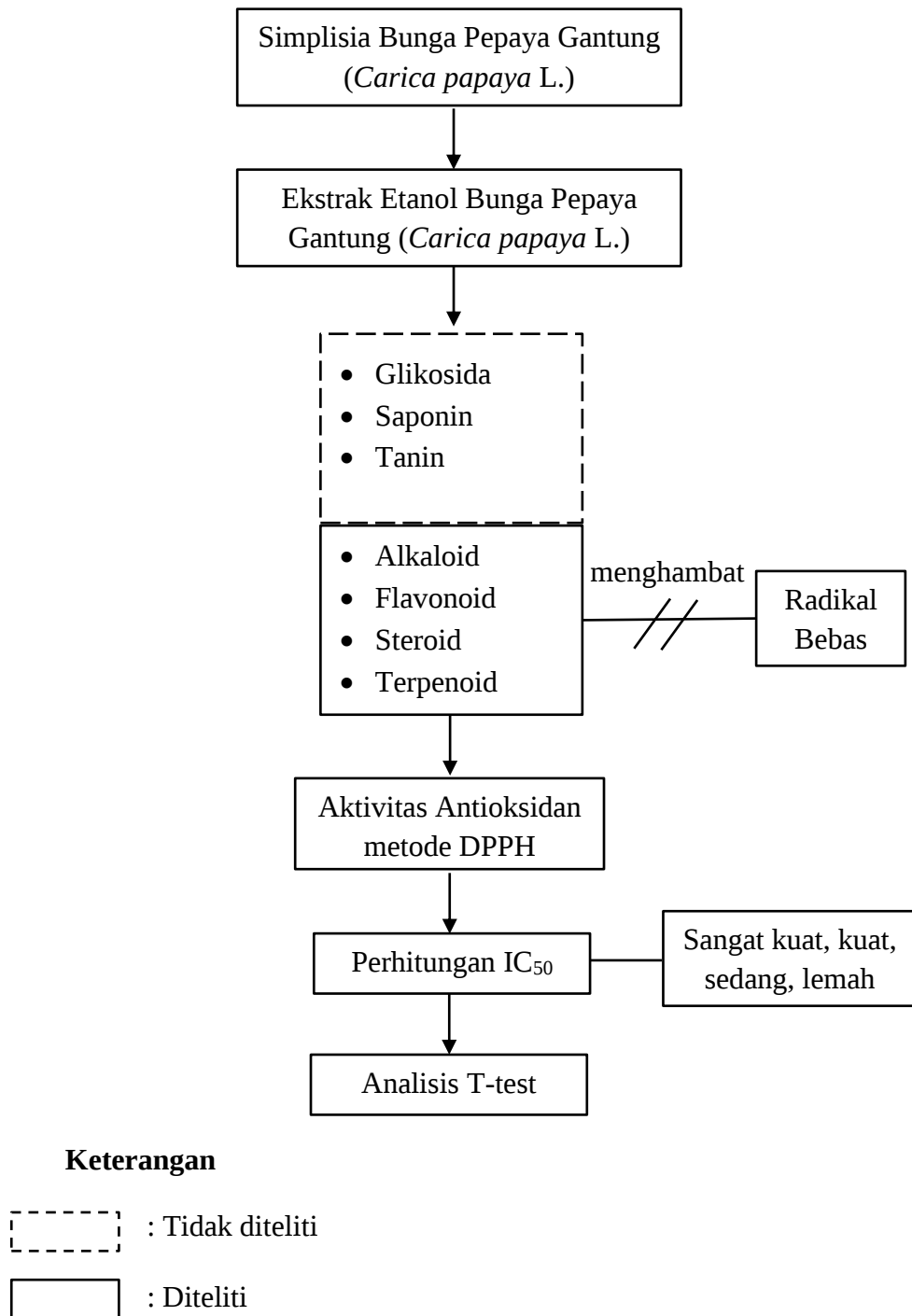
Kuersetin adalah senyawa golongan flavonol (bagian dari flavonoid) yang banyak terkandung dalam buah-buahan dan sayur-sayuran, misalnya apel, teh, anggur, kopi dan bawang merah. Kuersetin memiliki 5 gugus -OH yang dapat dilihat pada gambar 2.8 dan disubsitusi oleh gugus asil melalui reaksi esterifikasi. Ester kuersetin dapat diperoleh dengan mereaksikan kuersetin dengan senyawa golongan asam karboksilat, halida asam karboksilat dan anhidrida karboksilat (Septiani, 2018). Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena merupakan golongan flavonoid yang sering ditemukan dalam tumbuhan dan diketahui memiliki banyak aktivitas biologis, khususnya antioksidan (Handayani *et al.*, 2018).



Gambar 2.8 Struktur kimia kuersetin (Sumber: Septiani, 2018)

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

2.2 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap masalah yang menjadi objek dalam penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual diatas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah :

H0 : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) dengan metode DPPH.

H1 : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) dengan metode DPPH.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

4.2 Populasi

Populasi adalah seluruh kumpulan elemen yang memiliki sejumlah karakteristik umum, yang terdiri dari bidang-bidang untuk diteliti (Amirullah, 2015).

Populasi dalam penelitian ini adalah bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) sebanyak 200 g.

4.3 Sampel

Sampel adalah sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015).

Sampel penelitian ini menggunakan ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) yang telah dibuat dengan berbagai konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm).

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas atau *independent* (mempengaruhi) adalah variabel yang berperan memberi pengaruh kepada variabel terikat (Nasution, 2017).

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) yang digunakan.

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau *dependent* (terpengaruh) adalah variabel yang dijadikan sebagai faktor yang dipengaruhi oleh variabel bebas (Nasution, 2017).

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀.

4.4.4 Variabel Terkendali

Variabel terkendali adalah variabel yang dikendalikan sehingga antara variabel bebas dan terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang diteliti (Nasution, 2017).

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan, cara ekstraksi serbuk simplisia, konsentrasi DPPH, waktu inkubasi, suhu, dan pelarut.

4.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi Jember dan penelitian ini dimulai bulan Mei 2022.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Pengertian	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Sampel ekstrak etanol bunga pepaya gantung (<i>Carica papaya</i> L.)	Proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi kemudian dilakukan pengenceran menggunakan etanol p.a	Ekstrak etanol 96% bunga pepaya gantung (<i>Carica papaya</i> L.) yang diencerkan menggunakan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm	Maserator	Rasio	Diperoleh angka dari masing-masing konsentrasi yang telah diukur kemudian dipipet dari larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel yakni: 1. 50 ppm sebanyak 0,5 mL 2. 100 ppm sebanyak 1 mL 3. 150 ppm sebanyak 1,5 mL 4. 200 ppm sebanyak 2 mL 5. 250 ppm sebanyak 2,5 mL
Aktivitas Antioksidan	Hasil nilai absorbansi pada sampel bunga pepaya gantung (<i>Carica papaya</i> L.) yang kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50})	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm)	Spektrofotometer UV-Vis	Ordinal	• Sangat kuat, jika hasil yang di dapat <50 $\mu\text{g/mL}$. • Kuat, jika hasil yang didapat 50-100 $\mu\text{g/mL}$. • Sedang, jika hasil yang didapat 101-150 $\mu\text{g/mL}$. - Lemah, jika hasil yang didapat 151-200 $\mu\text{g/mL}$.

4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Spektrofotometer UV-Vis (Biobase BK-D560 UV-VIS), blender (Sharp), neraca analitik (Pioneer), *rotary evaporator* (Heidolph), mikro pipet (Nesco), kuvet (Quartz), rak tabung reaksi, *stopwatch*, aluminium foil, spatula, kertas saring, dan alat gelas laboratorium.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.), senyawa DPPH (Sigma-Aldrich), Asam klorida (Merck), Asam asetat glasial (Merck), Asam sulfat (Merck), Metanol (Merck) kuersetin (Sigma-Aldrich), etanol 96% (Merck), dan etanol p.a (Merck)

4.7.2 Teknik Pengumpulan Data

a. Determinasi Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

Determinasi bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian dari tumbuhan. Tujuan dari determinasi adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benar-benar spesies dari tanaman pepaya gantung.

b. Pembuatan Simplisia dan Serbuk Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

Bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) disortasi basah kemudian dicuci di bawah air yang mengalir dan ditiriskan. Bunga pepaya gantung

dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan terlindung dari sinar matahari. Simplisia kering dari bunga pepaya gantung dihaluskan dan diayak dengan ayakan mesh 60 (Handayani *et al.*, 2019).

c. Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

Serbuk simplisia bunga pepaya gantung diekstraksi menggunakan metode maserasi pada pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Serbuk simplisia bunga pepaya gantung dimaserasi selama 4 hari dengan pengadukan setiap harinya. Setelah 4 hari ekstrak disaring menggunakan kertas saring. Filtrat hasil maserasi serbuk simplisia bunga pepaya gantung dilakukan remaserasi dengan pelarut yang sama sebanyak dua kali. Hasil maserasi serbuk simplisia bunga pepaya gantung dievaporasi atau memisahkan larutan menggunakan *Rotary Vaccum Evaporator* pada suhu 40⁰ C hingga diperoleh ekstrak kental bunga pepaya gantung (Yanuary, 2021). Ekstrak kental bunga pepaya gantung dihitung persentase rendemennya dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

(Sulastri *et al.*, 2020)

d. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol bunga pepaya gantung. Uji skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol bunga pepaya gantung yang dilakukan mencakup uji alkaloid, uji terpenoid, uji steroid, dan uji flavonoid.

1. Uji Alkaloid

Ekstrak etanol bunga pepaya gantung sebanyak 1 mg ditambahkan 2 mL HCl kemudian diaduk dan disaring. Filtrat ditambahkan pereaksi Meyer, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Sampel positif alkaloid jika terbentuk endapan putih (Akasia *et al.*, 2021).

2. Uji Steroid dan Terpenoid

Ekstrak etanol bunga pepaya gantung sebanyak 1 mg ditambahkan CH_3COOH glasial dan H_2SO_4 pekat. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Sampel positif steroid akan memberikan warna biru atau hijau sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu. (Wijaya *et al.*, 2014).

3. Uji Flavonoid

Ekstrak etanol bunga pepaya gantung sebanyak 1 mg ditambahkan 4 mL metanol, kemudian ditambahkan H_2SO_4 sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel positif mengandung flavonoid bila terdapat warna yang sangat mencolok, yaitu warna kuning, merah, cokelat, atau hijau (Huliselan *et al.*, 2015).

e. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara melarutkan DPPH 5 mg dalam 100 mL etanol p.a dalam labu terukur. Larutan DPPH dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung cahaya (Handayani *et al.*, 2014).

2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak etanol bunga pepaya gantung 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang ekstrak etanol bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.) sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Ekstrak dilarutkan dengan getaran ultrasonik agar dapat larut seluruhnya. Larutan sampel yang telah dibuat, diencerkan dengan berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm kemudian ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas labu ukur 10 mL dan diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak (Handayani *et al.*, 2014).

3. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Kuersetin ditimbang sebanyak 2 mg untuk membuat larutan induk 200 ppm, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya 10 mL. Larutan induk diencerkan dengan variasi 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm dan 3 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas (Handayani *et al.*, 2014).

4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet larutan DPPH sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam kuvet dan tentukan panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dibaca pada panjang gelombang 400-600 nm (Yanuary, 2021).

5. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu optimum saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Larutan kuersetin dipipet sebanyak 0,5 mL dari setiap konsentrasi dan direaksikan dengan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Sampel diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit (Kristiningrum *et al.*, 2018).

6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol

Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya L.*) dan Larutan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan larutan uji dan larutan pembanding dengan cara memipet 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi larutan uji ekstrak (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm) dan larutan kuersetin (1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm, dan 3 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH 3,5 mL hingga homogen. Campuran selanjutnya diinkubasi sesuai hasil waktu optimasi. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum (Handayani *et al.*, 2014)

7. Perhitungan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ peredaman} = \frac{(A_B - A_S)}{A_B} \times 100\%$$

Keterangan :

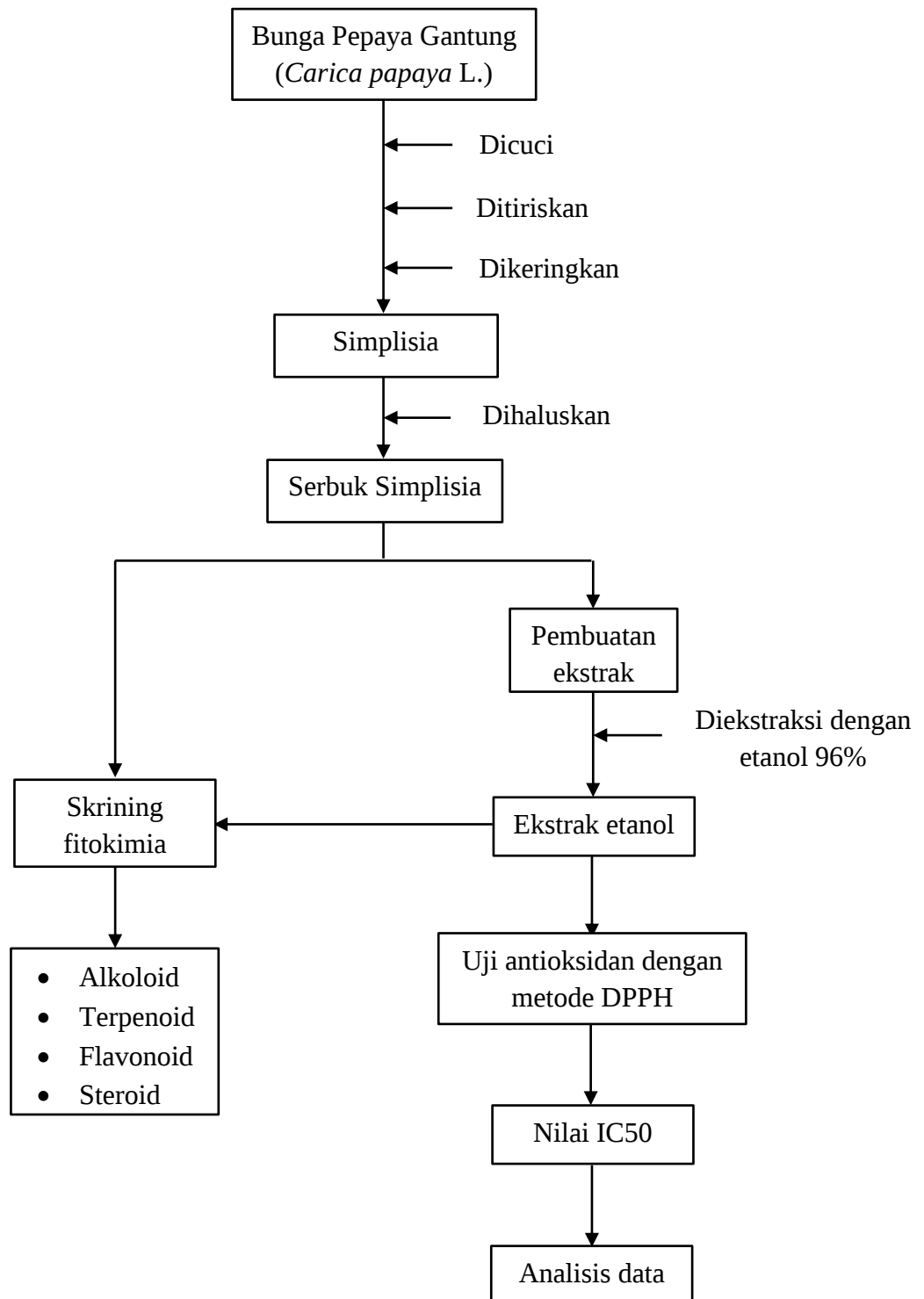
(A_B = absorbansi blanko; A_S = absorbansi sampel)

Nilai IC_{50} (*inhibition concentration* 50) adalah konsentrasi antioksidan ($\mu\text{g/mL}$) yang mampu memberikan persen penangkapan radikal bebas sebanyak 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis. Nilai IC_{50} diperoleh dari perpotongan garis antara daya hambatan dan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan ke dalam persamaan $y = a + bx$ dimana nilai $y = 50$ dan nilai x menunjukkan IC_{50} (Rakhmawati dan Fauzi, 2019).

4.8 Teknik Analisis Data

Data IC_{50} dari ekstrak bunga pepaya gantung dan kuersetin yang diperoleh dari hasil penelitian akan diolah, diuji normalitas menggunakan (*Shapiro-Wilk*) sebagai syarat uji analisis T-test. Data dikatakan terdistribusi normal apabila data tersebut memiliki $p > 0,05$ sedangkan dikatakan nilai tidak terdistribusi normal apabila memiliki nilai signifikan $p < 0,05$. Data IC_{50} dianalisis menggunakan uji T tidak berpasangan untuk melihat perbedaan IC_{50} antara ekstrak bunga pepaya gantung dengan kuersetin, jika nilai p yang dihasilkan $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan secara signifikan (Nisaul, 2020).

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil dari determinasi menunjukkan apabila bunga pepaya gantung yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *Carica papaya* L. yang tergolong dalam suku *Caricaceae*. Hasil identifikasi bunga pepaya gantung dapat dilihat pada Lampiran 1.

5.1.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan acak di Kabupaten Banyuwangi. Bagian yang digunakan dalam penelitian yaitu bunga pepaya gantung (*Carica papaya* L.). Tahap selanjutnya setelah pengambilan sampel dilakukan sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, dan proses pengecilan ukuran partikel sampai simplisia menjadi serbuk halus. Berat serbuk simplisia kering yang diperoleh sebanyak 200 g.

5.1.3 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol bunga pepaya gantung yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 41,55 g dari 200 g serbuk bunga pepaya gantung (rendemen 20,77%)

pada tabel 5.1. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 3 dan perhitungan hasil % rendemen dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Bunga Pepaya Gantung

Serbuk simplisia (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
200	41,55	20,77

5.1.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada masing-masing sampel dan juga untuk memperkirakan senyawa apa saja yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan data yang dihasilkan, bunga pepaya gantung memiliki golongan senyawa flavonoid, alkaloid, dan terpenoid yang dapat dilihat pada tabel 5.2. Hasil dari pengujian skrining fitokimia dapat dilihat pada Lampiran 5.

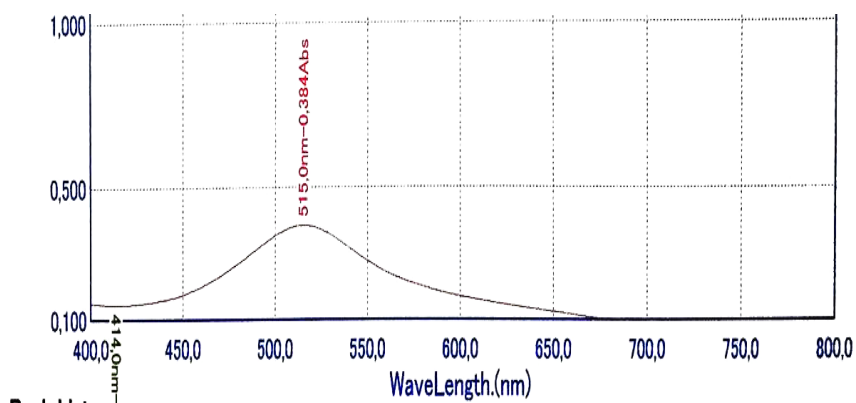
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Bunga Pepaya Gantung

Senyawa	Pustaka	Hasil pengamatan	Kesimpulan
Flavonoid	Terdapat warna yang sangat mencolok, yaitu warna kuning, merah, cokelat, atau hijau (Huliselan <i>et al.</i> , 2015).	Terdapat warna kuning yang mencolok	Positif
Alkaloid	Terdapat endapan atau larutan berubah menjadi keruh (Akasia <i>et al.</i> , 2021)	Larutan berubah menjadi keruh dan terdapat endapan	Positif
Terpenoid	Terdapat perubahan warna merah atau ungu (Wijaya <i>et al.</i> , 2014)	Terjadi perubahan warna ungu pekat	Positif
Steroid	Terdapat perubahan warna biru atau hijau (Wijaya <i>et al.</i> , 2014)	Terjadi perubahan warna ungu kehitaman	Negatif

5.2 Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi 50% (IC₅₀)

5.2.1 Optimasi Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan maksimum menunjukkan hasil 0,384 pada panjang gelombang 515,0 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH dapat dilihat pada gambar 5.1 dan Lampiran 6.



Gambar 5.1 Kurva Panjang Gelombang DPPH

5.2.2 Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin

Hasil uji optimasi waktu inkubasi didapatkan waktu terbaik pada menit ke-45 dengan cara melihat nilai R^2 yang mendekati 1 dan nilai IC₅₀ yang rendah. Hasil optimasi waktu inkubasi dapat dilihat pada Lampiran 7.

5.2.3 Pengukuran Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak Bunga Pepaya Gantung

Pengujian ekstrak etanol bunga pepaya gantung dan kuersetin dilakukan inkubasi selama 45 menit dan diukur pada panjang gelombang 515 nm sesuai dengan optimasi yang sudah dilakukan. Hasil pengujian dihitung untuk mencari %

inhibisi. Hasil absorbansi kuersetin dan ekstrak bunga pepaya gantung dapat dilihat pada tabel 5.3. Hasil % inhibisi kuersetin dan ekstrak bunga pepaya gantung dapat dilihat pada tabel 5.4

Tabel 5.3 Hasil Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak Bunga Pepaya Gantung

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (replikasi)			$\bar{X} \pm SD$
		1	2	3	
Blangko			0,690		
	1	0,505	0,503	0,498	0,502±0,004
	1,5	0,455	0,453	0,450	0,453±0,002
	2	0,420	0,415	0,412	0,416±0,004
	2,5	0,389	0,386	0,383	0,386±0,003
Kuersetin	3	0,340	0,337	0,332	0,336±0,004
			0,635		
	50	0,325	0,323	0,323	0,324±0,001
	100	0,310	0,309	0,309	0,309±0,001
	150	0,300	0,301	0,297	0,299±0,002
Ekstrak	200	0,289	0,289	0,287	0,288±0,001
	250	0,280	0,280	0,278	0,279±0,001

Tabel 5.4 Hasil Persentase Inhibisi Kuersetin dan Ekstrak Bunga Pepaya Gantung

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	Persen inhibisi (%)			$\bar{X} \pm SD$
		1	2	3	
Kuersetin	1	26,8	27,1	27,8	27,2±0,513
	1,5	34,0	34,3	34,8	34,4±0,404
	2	39,1	39,8	40,3	39,7±0,603
	2,5	43,6	44,0	44,5	44,0±0,451
	3	50,7	51,1	51,9	51,2±0,611
	50	48,8	49,1	49,1	49,0±0,173
	100	51,2	51,3	51,3	51,3±0,058
Ekstrak	150	52,7	52,6	53,2	52,8±0,321
	200	54,5	54,5	54,8	54,6±0,173
	250	55,9	55,9	56,2	56,0±0,173

5.2.4 Hasil Analisis Nilai IC₅₀ Kuersetin dan Ekstrak Bunga Pepaya Gantung

Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan sampel dihitung sebagai persen inhibisi (% inhibisi). Hasil perhitungan % inhibisi dimasukkan kedalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y).

Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50%. $Y = aX + b$. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat $50 \mu\text{g/mL} - 100 \mu\text{g/mL}$, sedang $101 \mu\text{g/mL} - 150 \mu\text{g/mL}$, lemah $151 \mu\text{g/mL} - 200 \mu\text{g/mL}$ (Salim, 2018). Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Hasil analisis nilai IC_{50} ekstrak dan kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Hasil Nilai IC_{50} Kuersetin dan Ekstrak Bunga Pepaya Gantung

Senyawa	IC_{50} (replikasi)			$\bar{X} \pm SD$	Kategori
	1	2	3		
Kuersetin	2,9	2,9	2,8	$2,9 \pm 0,06$	Sangat kuat
Ekstrak	75,1	70,2	67,5	$70,9 \pm 3,8$	Kuat

Berdasarkan hasil nilai pengujian ekstrak etanol bunga pepaya gantung replikasi 3 kali menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki masuk dalam kategori kuat dengan hasil nilai rata-rata IC_{50} sebesar $70,9 \pm 3,8$. Nilai IC_{50} kuersetin sebesar $2,9 \pm 0,06$ termasuk dalam kategori sangat kuat.

5.2.5 Hasil Analisis Data

IC_{50} yang diperoleh dari kuersetin dan ekstrak bunga pepaya gantung dilakukan analisis menggunakan uji analisis statistika dengan suatu software SPSS v.26. Uji pertama yang dilakukan adalah uji normalitas *Shapiro-wilk* dengan hasil yang di dapat p -value untuk kuersetin 0,840 dan ekstrak bunga pepaya gantung sebesar 0,688, jika nilai p kuersetin dan ekstrak bunga pepaya gantung yang didapatkan $p > 0,05$ maka hasil analisis terdistribusi normal yang dapat dilihat pada Lampiran 13. Uji normalitas dapat dilanjutkan pada uji analisis *T-Independent* yang dapat dilihat pada Lampiran 13.

Tabel 5.6 Hasil Uji Analisis T-Independent

Senyawa	$\bar{X} \pm SD$	<i>p-value</i>
Kuersetin	2,9±0,06	0,000*
Ekstrak	70,9±3,8	

* $p < 0,005$

Dari hasil pengujian statistik didapatkan nilai p keduanya sebesar 0,000 yang dapat dilihat pada tabel 5.6. Signifikasi nilai yang didapatkan lebih kecil dari nilai yang ditentukan yaitu $p < 0,005$, sehingga nilai IC_{50} kuersetin dan nilai IC_{50} ekstrak bunga pepaya gantung memiliki perbedaan yang signifikan.

BAB 6 PEMBAHASAN PENELITIAN

6.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

6.1.1 Ekstraksi Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman bunga pepaya gantung yang didapatkan secara acak dari daerah Banyuwangi. Untuk memastikan kebenaran dari bunga pepaya gantung yang digunakan maka perlu dilakukan determinasi di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk mendapatkan kebenaran identitas dari tanaman yang diteliti dan menghindari adanya kesalahan dalam pengambilan sampel penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini benar dan berasal dari tanaman *Carica papaya* L.

Bunga pepaya gantung segar di bersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel (sortasi basah), dicuci dengan air mengalir sampai bersih kemudian ditiriskan. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan dengan tujuan menghindari kerusakan pada kandungan kimia yang terkandung pada bunga pepaya gantung salah satunya senyawa flavonoid. Bunga pepaya gantung yang telah kering selanjutnya diblender untuk memperkecil ukuran simplisia, sehingga luas permukaannya menjadi lebih besar dan kontak antara simplisia dengan cairan penyari akan semakin besar (Salamah *et al.*, 2017).

Serbuk yang diperoleh kemudian dilakukan ekstraksi sebanyak 200 g menggunakan pelarut 2 L dengan menggunakan metode maserasi yang dilakukan

selama 4 x 24 jam (Febrina *et al.*, 2015). Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi dengan cara merendam simplisia pada pelarut tertentu dan sesekali dilakukan pengadukan (Anjaswati *et al.*, 2021). Prinsip maserasi adalah melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya *dissolved like*, senyawa polar akan terlarut pada pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan terlarut pada pelarut yang bersifat non polar. Pertemuan antara simplisia dengan pelarut terdapat perbedaan konsentrasi di dalam dan luar sel. Perbedaan konsentrasi ini yang dapat mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana terjadi proses perpindahan zat dari konsentrasi yang lebih tinggi menuju konsentrasi yang lebih rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi di dalam dan luar sel (Marjoni, 2016).

Ketika terjadi kesetimbangan maka zat aktif sudah tidak dapat berpindah. Untuk mengatasi hal tersebut, maka dilakukan remaserasi atau maserasi kembali. Tujuan dilakukan remaserasi adalah untuk memaksimalkan penyarian zat aktif yang terkandung dalam simplisia. Pada penelitian ini dilakukan penggantian pelarut selama 2 x 24 jam agar zat aktif yang dikehendaki dapat diperoleh semuanya (Anjaswati *et al.*, 2021). Pelarut yang digunakan pada metode maserasi pada penelitian ini yaitu etanol 96%. Alasan digunakan etanol 96% sebagai pelarut karena kemampuan penyarinya yang tinggi sehingga dapat melarutkan hampir semua senyawa, baik senyawa polar maupun non polar, selektif, tidak toksik, dan absorbsinya baik (Mubarak *et al.*, 2018). Proses ekstraksi dipilih metode maserasi karena memiliki keuntungan yaitu peralatan dan cara

pengerjaannya cukup sederhana serta tidak merusak zat aktif yang tidak tahan panas karena proses ekstraksi dilakukan pada suhu kamar.

Ekstrak kental bunga pepaya gantung yang diperoleh sebanyak 41,55 g dari 200 g simplisia bunga pepaya gantung, rendemen yang dihasilkan yaitu 20,77 %. Rendemen adalah perbandingan produk akhir yang diperoleh terhadap bahan baku yang digunakan. Nilai rendemen yang diperoleh berdasar berat kering bahan baku. Rendemen produk berkaitan dengan metode ekstraksi dan pelarut yang dipakai untuk memisahkan senyawa kimia. Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi bunga pepaya gantung dikatakan baik karena nilainya lebih dari 10% (Anjaswati *et al.*, 2021). Suatu pelarut dapat menyebabkan perbedaan hasil rendemen yang diperoleh. Pelarut etanol dapat menarik senyawa kimia lebih banyak dibandingkan pelarut air dan metanol (Azizah dan Salamah, 2013). Menurut penelitian Pratiwi *et al.*, (2021) hasil rendemen ekstrak etanol bunga pepaya gantung sebesar 23,65%, fraksi non polar 28,5%, fraksi semi polar 4,75% dan fraksi polar 64,5%. Hasil rendemen tiap fraksi berbeda akibat adanya perbedaan kemampuan pelarut untuk menarik senyawa berdasar polaritasnya. Pada penelitian Kemit *et al.*, (2017) daun pepaya rendemen tertinggi suatu simplisia dengan berbagai pelarut dalam waktu perendaman 30 jam, pelarut etanol memperoleh rendemen ekstrak sebesar 27,84%, pelarut metanol, aseton, dan air berturut-turut sebesar 22,15%, 22,12%, dan 17,61%.

6.1.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.)

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui keberadaan terhadap beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam sampel (Kiswandono, 2017).

Skrining fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji flavonoid, alkaloid, steroid, dan terpenoid. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga pepaya gantung mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Menurut penelitian Wahyuni *et al.*, (2018) bunga pepaya gantung mengandung metabolit sekunder flavonoid, steroid, dan terpenoid. Perbedaan kandungan senyawa yang dihasilkan yaitu steroid diakibatkan oleh beberapa faktor eksternal diantaranya seperti cahaya, suhu, kelembapan, pH, kandungan unsur hara di dalam tanah dan ketinggian tempat (Katuuk *et al*, 2019). Menurut Laily (2012), ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman. Hasil skrining yang telah dilakukan sesuai dengan penelitian Okoye, (2017) yang menyebutkan bahwa kandungan senyawa kimia dalam ekstrak bunga pepaya gantung antara lain flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, dan glikosida jantung.

6.2 Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi 50% (IC₅₀)

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode peredaman terhadap radikal bebas DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) yang diujikan terhadap ekstrak etanol bunga pepaya gantung. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak tersebut dalam meredam radikal bebas DPPH yang dapat dilihat dari nilai IC₅₀ yang diperoleh. IC₅₀ adalah konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% larutan radikal bebas DPPH (Hermawan *et al.*, 2018). Prinsip metode DPPH adalah pengurangan intensitas warna DPPH akibat berkurangnya jumlah DPPH yang bereaksi dengan

sampel menjadi DPPH-H. Penangkapan radikal bebas DPPH oleh antioksidan menghasilkan perubahan warna ungu dan pembentukan kompleks *diphenylpicrilhydrazine* warna kuning yang bersifat non radikal (Dewi *et al.*, 2018).

Tahap awal yang dilakukan pada penentuan aktivitas antioksidan ini adalah penetapan panjang gelombang maksimum larutan DPPH. Panjang gelombang maksimum ($\lambda_{\max}$) adalah panjang gelombang dengan intensitas absorbansi tertinggi atau maksimum. Pemilihan panjang gelombang maksimum dimaksudkan untuk meminimalkan kesalahan sehingga didapatkan akurasi yang baik (Yuliani, 2015). Panjang gelombang maksimum yang digunakan dalam pengujian antioksidan sangat bervariasi. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh adalah $\lambda_{\max}$ 515 nm dengan absorbansi 0,384 dapat dilihat pada Lampiran 6. Panjang gelombang yang diperoleh sesuai dengan penelitian Salim, (2018) yang menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 515 nm dengan absorbansi 0,750. Menurut penelitian (Yuliani, 2015) penentuan panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 517,6 nm dengan absorbansi 0,975. Perbedaan panjang gelombang dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain, alat spektrofotometer yang berbeda yaitu Shimadzu tipe W-1700, pelarut menggunakan etanol 95%, dan jenis kuvet yang digunakan.

Penetapan waktu inkubasi optimum ditujukan untuk menentukan waktu penyimpanan yang memberikan serapan stabil atau waktu yang dibutuhkan oleh suatu zat agar dapat bereaksi secara maksimal (Saptari *et al.*, 2019). Pengukuran

waktu inkubasi optimum dilakukan pada panjang gelombang 515 nm selama 60 menit dengan selang waktu 5 menit, dari hasil waktu inkubasi optimum yang di dapat pada menit ke- 45 dapat dilihat pada Lampiran 7. Penentuan waktu optimasi terbaik dapat ditentukan dengan mencari nilai koefisien korelasi nilai R^2 yang mendekati 1 dan nilai IC_{50} yang rendah. Hasil dari optimasi waktu inkubasi sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kristiningrum *et al.*, (2018).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan pereaksi DPPH yang direaksikan dengan larutan uji (sampel/ pembanding) pada panjang gelombang maksimum. Peluruhan warna ungu pada DPPH dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Nilai serapan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan uji tersebut dihitung sebagai persen peredaman. Kemudian nilai IC_{50} dihitung dari regresi linier yang diperoleh.

Hasil analisis peredaman radikal bebas oleh ekstrak etanol bunga pepaya gantung dapat dilihat pada tabel 5.3 yang menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi ekstrak maka semakin meningkat aktivitas peredaman DPPH karena semakin banyak atom hidrogen dari ekstrak etanol bunga pepaya gantung yang berpasangan dengan elektron pada radikal bebas DPPH sehingga serapan semakin menurun yang ditandai dengan pembentukan kompleks *diphenylpicrylhydrazine* warna kuning yang bersifat non radikal.

Nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH, dengan konsentrasi larutan uji ($\mu\text{g/mL}$) sebagai absis dan nilai persen peredaman sebagai ordinat. Hasil persamaan regresi dapat dilihat pada Lampiran 10 dan kategori nilai

IC₅₀ sebagai antioksidan dapat dilihat pada tabel 5.5. Pada grafik hubungan persen inhibisi dengan konsentrasi ekstrak bunga pepaya gantung didapatkan nilai *r* berturut-turut replikasi 1, 2, dan 3 yaitu 0,9908, 0,9935, dan 0,9918. Apabila nilai *r* mendekati 1 maka semakin menggambarkan korelasi yang sempurna (Gandjar dan Rohman, 2017). Pada ketiga replikasi nilai *r* mendekati 1 maka dapat dikatakan terdapat hubungan yang linier antara peningkatan konsentrasi dengan peningkatan nilai persentase inhibisi ekstrak etanol bunga pepaya gantung. Ekstrak etanol bunga pepaya gantung memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ rata-rata sebesar 70,9 µg/mL.

Menurut penelitian Sianipar *et al.*, (2018) dengan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga pepaya nilai IC₅₀ yang didapatkan 100,81 dengan kategori sedang. Perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya proses ekstraksi. Rendahnya aktivitas antioksidan pada suatu penelitian juga disebabkan oleh proses pengeringan yang mempengaruhi kandungan senyawa di dalam tanaman. Lamanya waktu ekstraksi dapat mempengaruhi penurunan aktivitas antioksidan karena menyebabkan terjadinya degradasi pada aktivitas antioksidan (Rahayu, 2017).

Aktivitas antioksidan yang kuat pada bunga pepaya gantung kemungkinan disebabkan adanya senyawa yang mampu mendonorkan elektron pada radikal DPPH dengan jumlah yang besar. Berdasarkan penelitian aktivitas antioksidan yang telah dilakukan diduga dipengaruhi oleh adanya senyawa golongan flavonoid, alkaloid, dan terpenoid (Nainggolan, 2015). Flavonoid memiliki

potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksi lemak (Dewi *et al.*, 2014). Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan juga membentuk kompleks dengan logam. Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat aktivitas beberapa enzim. Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal dari turunan senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Senyawa terpenoid merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada tumbuhan. Terpenoid bekerja sebagai antioksidan dengan mekanisme kerja antioksidan primer yaitu mampu mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai (propagasi) dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Maulida *et al.*, 2016).

Pada pengujian aktivitas antioksidan digunakan larutan pembanding yaitu kuersetin merupakan antioksidan yang sangat kuat dan sering digunakan sebagai larutan pembanding dalam pengukuran aktivitas antioksidan. Kuersetin adalah senyawa golongan flavonoid yang memiliki 5 gugus -OH dan disubstitusi oleh gugus asil melalui reaksi esterifikasi (Septiani, 2018). Aktivitas antioksidan dari pembanding kuersetin dengan konsentrasi 1 µg/mL, 1,5 µg/mL, 2 µg/mL, 2,5

$\mu\text{g/mL}$, dan $3 \mu\text{g/mL}$ diperoleh dari hasil absorbansi menit ke- 45 pada panjang gelombang 515 nm. Analisis persen inhibisi kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.4 bahwa kenaikan konsentrasi berbanding lurus dengan peningkatan persen peredaman. Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan ditunjukkan nilai IC_{50} rata-rata sebesar $2,9 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} kuersetin yang didapat tidak jauh beda dengan penelitian sebelumnya, dalam penelitian Mardiah *et al.*, (2017) dalam uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan metode DPPH didapatkan nilai IC_{50} kuersetin sebesar $2,7 \mu\text{g/mL}$.

Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan jauh lebih tinggi daripada ekstrak yang disebabkan karena kuersetin berupa isolat yang hanya terdiri satu golongan senyawa saja dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan pada ekstrak lebih rendah karena terdiri dari berbagai golongan senyawa yang aktivitas antioksidannya belum diketahui secara pasti.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Kandungan kimia yang terdapat pada Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.) adalah flavonoid, alkaloid, dan terpenoid.
2. Nilai aktivitas antioksidan IC_{50} dari ekstrak etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.) menggunakan metode DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan IC_{50} rata-rata $70,9 \pm 3,8$ dan hasil pengujian aktivitas antioksidan kuersetin menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC_{50} rata-rata $2,9 \pm 0,06$.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode yang lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan pada Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.).
3. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan sampel Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) pada bagian lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrian, G., Suryanto, E. and Wewengkang, D.S. (2021) 'Antioxidant Activity And Free Radical Antidote From Fraction Of Bark Sago Baruk (Arenga microcarpha Beccari)', *Pharmacon*, 10(1), pp. 762–766.
- Agustina, E. (2017) 'Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Daun Tiin (Ficus carica Linn) dengan Pelarut Air, Metanol dan Campuran Metanol-Air', *Klorofil*, 1(1), pp. 38–47.
- Agustina, W., Nurhamidah and Handayani, D. (2017) 'Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Banteng Jarak (Ricinus communis L.)', *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 1(2), p. Hlm. 117-122.
- Akasia, A.I., Nurweda Putra, I.D.N. and Giri Putra, I.N. (2021) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove Rhizophora mucronata dan Rhizophora apiculata yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali', *Journal of Marine Research and Technology*, 4(1), p. 16.
- Amirullah (2015) 'Populasi Dan Sampel', *Wood Science and Technology*, 16(4), pp. 293–303.
- Andarina, R. and Djauhari, T. (2017) 'Antioksidan dalam Dermatologi', *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), pp. 39–48.
- Anitha, B., Raghu, N., Ts, G., Karthikeyan, M., Gk, C. and Km, B. (2018) 'Medicinal Uses of Carica Papaya Journal of Natural & Ayurvedic Medicine', *Journal of Natural & Ayurvedic Medicine*, 2(6), pp. 1–11.
- Anjaswati, D., Pratimasari, D. and Nirwana, A.P. (2021) 'Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi n- Heksana , Etil Asetat , dan Air Daun Bit (Beta vulgaris L .) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat', *Stikes*, 1(1), pp. 1–6.
- Arifianti, L., Oktarina, R.D. and Kusumawati, I. (2014) 'Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi', *E-Journal Planta Husada*, 2(1), pp. 3–6.
- Arifin, B. and Ibrahim, S. (2018) 'Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid', *Jurnal Zarah*, 6(1), pp. 21–29.
- Bulla, R.M., Cunha, T.M. Da and Nitbani, F.O. (2020) 'Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (Carica papaya L.) Kultivar Lokal', *Chem. Notes*, 1(1), pp. 58–68.
- Chanda, S. and Dave, R. (2009) 'In Vitro Models for Antioxidant Activity Evaluation', *African Journal Microbiology Research*, 3(13), pp. 981–996.

- Christalina, I., Susanto, T.E., Ayucitra, A., Kimia, J.T., Teknik, F., Katolik, U. and Mandala, W. (2018) 'Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Alami Ekstrak Fenolik Biji Pepaya', pp. 18–25.
- Dewi, S.R., Argo, B.D. and Ulya, N. (2018) 'Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*', *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), pp. 1–10.
- Dwimayasanti, R. (2018) 'Rumput Laut: Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas', *Oseana*, 43(2), pp. 13–23.
- Dwivedi, M.K., Sonter, S., Mishra, S., Patel, D.K. and Singh, P.K. (2020) 'Antioxidant, antibacterial activity, and phytochemical characterization of *Carica papaya* flowers', *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1).
- Faisal, H. (2015) 'Analisis Pendapatan Usahatani Dan Saluran Pemasaran Pepaya (*Carica Papaya* L) Di Kabupaten Tulungagung (Studi kasus di Desa Bangoan, Kecamatan Kedungwaru, Kabupaten Tulungagung)', *Jurnal Agribisnis Fakultas Pertanian*, 11(13), pp. 12–28.
- Fakriah, Kurniasih, E., . A. and . R. (2019) 'Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan', *Jurnal Vokasi*, 3(1), p. 1.
- Febrina, L., Rusli, R. and Mufliah, F. (2015) 'Optimalisasi Ekstraksi Dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus Variegata* Blume)', *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 3(2), pp. 74–81.
- Fridalni, N., Guslinda, Minropa, A., Febriyanti and Sapardi, V.S. (2019) 'Pengenalan Dini Penyakit Degeneratif', *Jurnal Abdimas Saintika*, 1, pp. 45–50.
- Gadge, S., Game, M. and Salode, V. (2020) 'Marvelous plant *Carica papaya* Linn: A herbal therapeutic option', *Phytopathology*, 9(4), pp. 629–633.
- Gandjar, I.G., and Rohman, A., (2017) 'Kimia Farmasi Analisis'. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, pp. 253-254.
- Hakim, A.R. and Saputri, R. (2017) 'Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Mentimun (*Cucumis sativus* L.) dan Ekstrak Etanol Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.)', *Jurnal Pharmascience*, 4(1), pp. 34–38.
- Handayani, F., Apriliana, A. and Natalia, H. (2019) 'Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Simplisia Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa* Jack)', *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, 4(1), pp. 49–58.
- Handayani, S., Najib, A. and Wati, N.P. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Dengan Metode Peredaman

- Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil (DPPH)', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), pp. 299–308.
- Handayani, V., Ahmad, A.R., Sudir, M., Etlingera, P. and Sm, R.M. (2014) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R . M . Sm) Menggunakan Abstrak', *Pharm Sci Res*, 1(2), pp. 86–93.
- Hartati, F.K. (2020) *Daun dan Pelepah Talas, Kandungan Nutrisi, Fitokimia, Antioksidan dan Uji Toksisitas*.
- Hermawan, H., Sari, B.L. and Nashrianto, H. (2018) 'Kadar Polifenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat dan Metanol Buah Ketapang (Terminalia catappa L.)', *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1), pp. 1–8.
- Huliselan, Y.M., Runtuwene, M.R.J. and Wewengkang, D.S. (2015) 'Antioxidant Activity of Ethanol, Ethyl Acetate and n-Hexane Extract from Seswanua Leaves (Clerodendron squamatum Vahl.)', *Pharmacon*, 4(3), pp. 155–163.
- Istiana, I. and Munib, A. (2009) 'Natural Drink "Carica papaya Linnaeus" Solusi Masyarakat Sehat'.
- Katuuk et al (2019) 'Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado.', *Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (Ageratum Conyzoides L.)*, 1(4).
- Kiswandono, A.A. (2017) 'Skrining Senyawa Kimia dan Pengaruh Metode Maserasi dan Refluks Pada Biji Kelor (Moringa Oleifera, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak yang Dihasilkan', *Jurnal Sains Natural*, 1(2), p. 126.
- Krisma Widya Saraswati, I.G.A., Suter, I.K. and Wiadnyani, A.A.I. (2021) 'Pengaruh Jenis Pelarut Dan Rasio Bahan Dengan Pelarut Pada Metode Ultrasonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea indica Less)', *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(1), p. 24.
- Kristiningrum, N., Hernawati, S., Aulia, R.P. and Wardani, P. (2018) 'Studi Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangga Bachang (Mangifera foetida Lour.) dan Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.)', *Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek III*, pp. 40–46.
- Labola, Y.A. and Puspita, D. (2018) 'Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit', *Farmasetika.com (Online)*, 2(5), p. 12.
- Maisarah, A.M., Nurul Amira, B., Asmah, R. and Fauziah, O. (2013) 'Antioxidant

- analysis of different parts of *Carica papaya*', *International Food Research Journal*, 20(3), pp. 1043–1048.
- Manengkey, S.F., Karauwan, F.A., Ginting, A.R. and Tumbel, S.L. (2020) 'Uji Efektivitas Ekstrak Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L.) Sebagai Analgesik Terhadap Tikus Putih *Rattus norvegicus*', *Jurnal Biofarmasetika Tropis*, 3(1), pp. 1–5.
- Mangkasa, M.Y. and Rorong, Johnly A; Wuntu, A.D. (2018) 'Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Bawang Kucai (*Allium tuberosum* Rottl . Ex Spreng) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(4), pp. 12–22.
- Mardiah, N., Mulyanto, C., Amelia, A., Lisnawati, L., Anggraeni, D. and Rahmawanty, D. (2017) 'Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Dengan Metode DPPH', *Jurnal Pharmascience*, 4(2), pp. 147–154.
- Mariani, S., Rahman, N. and Supriadi, S. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)', *Jurnal Akademika Kimia*, 7(3), p. 107.
- Marjoni, MR. (2016) 'Dasar-Dasar Fitokimia untuk diploma III', Jakarta: CV. Trans Info Media
- Maulida, Wulan., Jaka, Fadraersada., Laode, R. (2016) 'Isolasi Senyawa Antioksidan Dari Daun Pila-Pila (*Mallotus paniculatus*)', 2(Mic), pp. 1–30.
- Mubarak, F., Sartini, S. and Purnawanti, D. (2018) 'Effect of Ethanol Concentration on Antibacterial Activity of Bligo Fruit Extract (*Benincasa hispida* Thunb) to *Salmonella typhi*', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 5(3), p. 76.
- Mukhaimin, Iman; Anne Nur Latifahnya, E.P. (2018) 'Penentuan Kadar Alkaloid Total pada Ekstrak Bunga Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode Microwave Assisted Extraction', 1(2), pp. 66–73.
- Mukhrani (2014) 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif', *Jurnal Agripet*, 7(2), pp. 361–367.
- Mukhtarini (2014) 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif', *Jurnal of Pharmacy*, VII(2), p. 361.
- Nainggolan, M. (2015) 'Cytotoxicity Activity Of Male *Carica papaya* L . Flowers on MCF-7 breast Cancer Cells', *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(5), pp. 772–775.
- Nasution, S. (2017) 'Variabel Penelitian', *Raudhah*, 05(02), pp. 1-9.

- Nisaul, A. (2020) 'Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Menggunakan Metode Inhibisi Enzim Amilase secara In Vitro', *Skripsi*, pp. 2–80.
- Noflindawati, Anwar, A., Sutanto, A. and Yusniwati, N. (2020) 'Seleksi Marka SCAR untuk Identifikasi Dini Jenis Kelamin Tanaman Pepaya (The Selection of SCAR Markers for Early Sex Identification of Papaya)', *Jurnal Hortikultura*, 30(1), p. 1.
- Okoye, E.I. (2017) 'Preliminary Pharmaceutical Constituents of Crude Solvent Extracts of Flower and Stalk of Male *Carica papaya*', *Chemistry Research Journal*, 2(1), pp. 20–26.
- Pai, V., Shukla, P. and Kikkeri, N. (2014) 'Antioxidants in dermatology', *Indian Dermatology Online Journal*, 5(2), p. 210.
- Pertiwi, N.I. (2016) *Perbedaan kadar Asam Urat Menggunakan Alat Spektrofotometer dengan Alat Point of Care Testing (Poct)*, Universitas Muhammadiyah Semarang. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. and Periyasamy, L. (2015) 'Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), pp. 11–26.
- Pratiwi, D.N., Utami, N. and Pratimasari, D. (2021) 'Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak , Fraksi Polar , Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L .) Identification Flavonoids on Extract , Fraction Polar , Semi Polar and Non Polar of Male Papaya Flower (*Carica papaya* L .)', *Jurnal Farmasi*, 2(1), pp. 1–7.
- Pudyawanti, P.E. ;Dimas S.P.S.N.P.Y.F.Y. (2021) 'Uji Aktivitas Ekstrak Bunga Pepaya Jantan Sebagai Antidiare terhadap *Escherichia Coli*', *Jurnal Jamu Kusuma*, 1(1), pp. 15–20.
- Qulub, M.S., Wirasti, W. and Mugiyanto, E. (2018) 'Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun, Daging Buah, dan Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)', *Urecol*, pp. 454–462.
- Rahmadi, Anton dan Yusuf, B. (2018) *Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan*.
- Rakhmawati, I. and Fauzi, A. (2019) 'Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Air Perasan Buah Pepaya (*Carica Papaya* L .) Dengan Metode Dpph', *Jurnal Archives Pharmacia*, 1(1), pp. 1–4.
- Rustiah, W. and Umriani, N. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah Kawista (*Limonia Acidissima*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis', *Indo. J. Chem. Res.*, 6(1), pp. 22–25.

- Safitri, I., Nuria, M.C. and Puspitasari, A.D. (2018) 'Perbandingan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Ekstrak metanol daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Pada berbagai metode Ekstraksi', *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1), pp. 31–36.
- Salamah, N., Rozak, M. and Al Abror, M. (2017) 'Pengaruh metode penyarian terhadap kadar alkaloid total daun jembirit (*Tabernaemontana sphaerocarpa*. BL) dengan metode spektrofotometri visibel', *Pharmaciana*, 7(1), p. 113.
- Salim, R. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (1,1- diphenil- 2-picrylhidrazil)', *Jurnal Katalisator*, 3(2), p. 153.
- Santhi, D. (2017) *Diktat Praktikum Kimia Klinik*.
- Sepriyani, H. (2020) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L) dengan Metode 2, 2 – Diphenyl - 1 – Picrylhydrazil (DPPH)', *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(1), pp. 8–11.
- Septiani, R. (2018) *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) dengan Metode DPPH*, Skripsi. Universitas Sumatera Utara.
- Sianipar, M.P., Suwarso, E. and Rosidah, R. (2018) 'Antioxidant and anticancer activities of hexane fraction from *Carica Papaya* l. Male flower', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(3), pp. 81–83.
- Sri Marpaung, F., Juanita br Tampubolon, E., Insan Andika, M., Eliza Putri Lubis, Y. and Sari Mutia, M. (2021) 'The Effectiveness Test Of Papaya (*Carica papaya* L.) Flower Extract On Blood Sugar Level Of The Sucrose-Induced Male Mice (*Mus musculus* L.)', *Biospecies*, 14(1), pp. 24–31.
- Suhartati, T. (2017) *Dasar-Dasar Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrofotometer Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*.
- Sulastri, L., Oktavia, I. and Partomuan, S. (2020) 'Aktivitas Antioksidan Kecibeling, Bakau Merah, Dan Katuk Pada Metode Ekstraksi Dan Rasio Ekstrak Yang Berbeda', *Rempah dan Obat*, 31(1), pp. 1–7.
- T.Saptari H., Triastinurmiatiningsih., B.Lohita S., I.N.S. et al (2019) 'Kadar Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumput Laut Cokelat (*Padina australis*)', *Fitofarmaka*, 9(1), pp. 1–19.
- Wahyuni, Y, M.I. and Agusraeni, R. (2018) 'Uji Potensi Antidiabetik Bunga Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Mencit Jantan Balb/C yang Diinduksi Streptozotocin (STZ)', *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 1(1), pp. 131–144.
- Warono, D. and Syamsudin (2013) 'Analisis Kimia Kuantitatif. Ed ke-5',

Konversi, 2(2), pp. 57–65.

- Widianingsih, M. (2016) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C Weber) Britton & Rose) Hasil Maserasi dan Dipekatkan dengan Kering Angin', *Jurnal Wiyata*, 3(2), pp. 146–150.
- Widyanto, R.M., Putri, J.A., Rahmi, Y., Proborini, W.D. and Utomo, B. (2020) 'Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksitas In Vitro Ekstrak Metanol Buah Nanas (*Ananas comosus*) Pada sel Kanker Payudara T-47D', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 8(2), pp. 95–103.
- Wijaya, D.P., Paendong, J.E. and Abidjulu, J. (2014) 'Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)', *Jurnal MIPA*, 3(1), p. 11.
- Xu, D.P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.J. and Li, H. Bin (2017) 'Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources', *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), pp. 20–31.
- Yanlinastuti and Fatimah, S. (2016) 'Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS', *PIN Pengelolaan Instalasi Nuklir*, 9(17), pp. 22–33.
- Yanuary, R. (2021) 'Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis', *Jurnal FARMASINDO Politeknik Indonusa Surakarta*, Vol. 5, pp. 53–56.
- Yogiraj, V., Goyal, P.K. and Chauhan, C.S. (2014) 'Carica papaya Linn.', *SpringerReference*, 2(5), pp. 1–8.
- Yuhernita and Juniarti (2011) 'Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan', *Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi Jakarta*, 15(1), pp. 48–52.
- Yuliani, N.N.D.P.D. (2015) 'Uji aktivitas antioksidan infusa daun kelor ('', *Jurnal Info Kesehatan*, 14(2).
- Yuslianti, E.R. (2017) 'Radikal Bebas dan Antioksidan', Yogyakarta: Deepublish.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan

Kode Dokumen : FR-AUK-064
 Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
 RISET DAN TEKNOLOGI**
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPT. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
 Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 045/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 443/FIKES.UDS/U/II/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Dwi Retno Wati
 NIM : 18040030
 Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Brassicales; Famili: Caricaceae; Genus: Carica; Spesies: Carica papaya, L.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 14 Maret 2022



Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
 NIP. 197106212001121001

Lampiran 2. Proses Pembuatan Simplisia

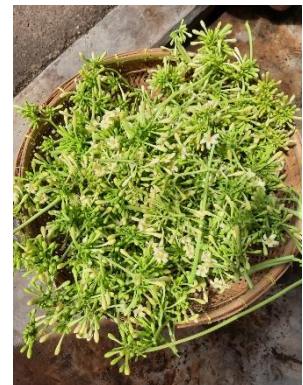
Pengumpulan Bunga Pepaya Gantung



Pencucian Bunga



Penyortiran Bunga



Pengeringan Bunga



Penghalusan Bunga



Lampiran 3. Proses Pembuatan Ekstrak

Perendaman serbuk simplisia



Penguapan ekstrak



Ekstrak kental bunga pepaya gantung



Lampiran 4. Perhitungan Rendemen

- Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung

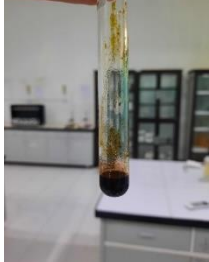
Diketahui :

- Berat serbuk simplisia : 200 gram
- Berat ekstrak kental : 41,55 gram

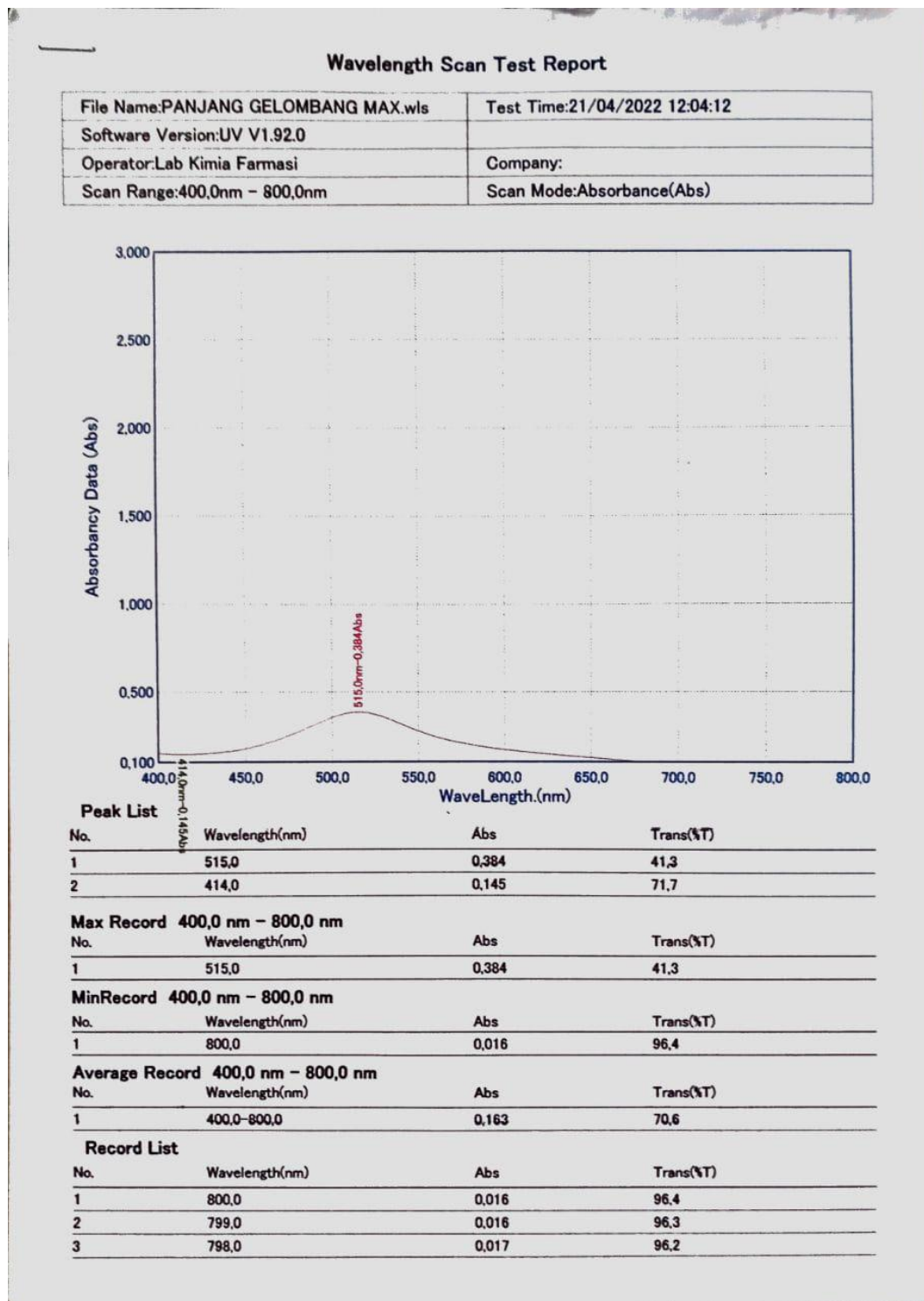
Rendemen ekstrak :

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{Berat Ekstrak Kental}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100 \% \\
 &= \frac{41,55 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \% \\
 &= 20,77 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Skrining Fitokimia

Pengujian	Gambar	Hasil
Flavonoid		Terjadi perubahan warna kuning mencolok yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid.
Alkaloid		Larutan berubah menjadi keruh dan terdapat endapan yang menunjukkan bahwa terdapat senyawa alkaloid.
Terpenoid		Terjadi perubahan warna menjadi ungu pekat yang menandakan bahwa terdapat senyawa terpenoid.
Steroid		Tidak mengalami perubahan warna menjadi biru yang menandakan tidak terdapat kandungan steroid.

Lampiran 6. Optimasi Panjang Gelombang



Lampiran 7. Optimasi Waktu Inkubasi

Sampel	Menit	Konsentrasi	Abs	Sampel	Menit	Konsentrasi	Abs
Blangko			0,695	Blangko			0,695
	5	1	0,563		35	1	0,513
		1,5	0,538			1,5	0,492
		2	0,510			2	0,450
		2,5	0,480			2,5	0,409
		3	0,465			3	0,365
	10	1	0,560		40	1	0,508
		1,5	0,540			1,5	0,462
		2	0,509			2	0,435
		2,5	0,477			2,5	0,400
		3	0,467			3	0,350
	15	1	0,554		45	1	0,501
		1,5	0,537			1,5	0,449
		2	0,505			2	0,410
		2,5	0,476			2,5	0,380
		3	0,467			3	0,331
	20	1	0,550		50	1	0,502
		1,5	0,530			1,5	0,445
		2	0,506			2	0,411
		2,5	0,475			2,5	0,382
		3	0,465			3	0,330
	25	1	0,533		55	1	0,510
		1,5	0,515			1,5	0,440
		2	0,495			2	0,410
		2,5	0,430			2,5	0,383
		3	0,410			3	0,325
	30	1	0,515		60	1	0,490
		1,5	0,509			1,5	0,438
		2	0,475			2	0,427
		2,5	0,415			2,5	0,382
		3	0,390			3	0,327

Tabel Hasil Persen Inhibisi dan IC₅₀

Menit	Konsentrasi	% Inhibisi	IC ₅₀	Menit	Konsentrasi	% Inhibisi	IC ₅₀
5	1	19,1	5,2	35	1	26,2	3,3
	1,5	22,6			1,5	29,2	
	2	26,6			2	35,2	
	2,5	30,9			2,5	41,1	
	3	33,1			3	47,5	
10	1	19,4	5,3	40	1	26,9	3,1
	1,5	22,3			1,5	33,5	
	2	26,8			2	37,4	
	2,5	31,4			2,5	42,4	
	3	32,8			3	49,6	
15	1	20,3	5,4	45	1	27,9	2,8
	1,5	22,7			1,5	35,4	
	2	27,3			2	41,0	
	2,5	31,5			2,5	45,3	
	3	32,8			3	52,4	
20	1	20,9	5,5	50	1	27,8	2,8
	1,5	23,7			1,5	36,1	
	2	27,2			2	40,9	
	2,5	31,6			2,5	45,0	
	3	33,1			3	52,5	
25	1	23,3	3,9	55	1	26,6	2,7
	1,5	25,9			1,5	36,7	
	2	28,8			2	41,0	
	2,5	38,1			2,5	44,9	
	3	41,0			3	53,2	
30	1	25,9	3,6	60	1	29,5	2,9
	1,5	26,8			1,5	37,1	
	2	31,6			2	38,6	
	2,5	40,3			2,5	45,0	
	3	43,9			3	52,9	

Menit	R ²	Menit	R ²
5	0,9915	35	0,9866
10	0,9776	40	0,9903
15	0,9737	45	0,9923
20	0,9837	50	0,985
25	0,9454	55	0,9703
30	0,9407	60	0,9649

Lampiran 8. Perhitungan Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Pembuatan Larutan DPPH

Diketahui :

- Serbuk DPPH = 5 mg
- Volume pelarut = 100 mL

Konsentrasi larutan DPPH

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi (ppm)} &= \frac{mg}{mL} \times 1000 \\ &= \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \\ &= 50 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung

a. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung

- Ekstrak kental = 10 mg
- Volume pelarut = 10 mL
- Konsentrasi Larutan Induk $= \frac{mg}{mL} \times 1000$
 $= \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000$
 $= 1000 \text{ ppm}$

b. Pengenceran konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm

Rumus : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

- 50 ppm $= \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$
 $= 0,5 \text{ mL}$

- 100 ppm $= \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$
= 1 mL
- 150 ppm $= \frac{150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$
= 1,5 mL
- 200 ppm $= \frac{200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$
= 2 mL
- 250 ppm $= \frac{250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$
= 2,5 mL

3. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Diketahui :

- Serbuk Kuersetin = 2 mg
- Volume pelarut = 10 mL
- Konsentrasi larutan induk $= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000$
 $= \frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000$
= 200 ppm

b. Pengenceran konsentrasi 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm, dan 3 ppm

Rumus : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

- 1 ppm $= \frac{1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$
= 0,05 mL
- 1,5 ppm $= \frac{1,5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$

$$= 0,075 \text{ mL}$$

- 2 ppm $= \frac{2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$

$$= 0,01 \text{ mL}$$

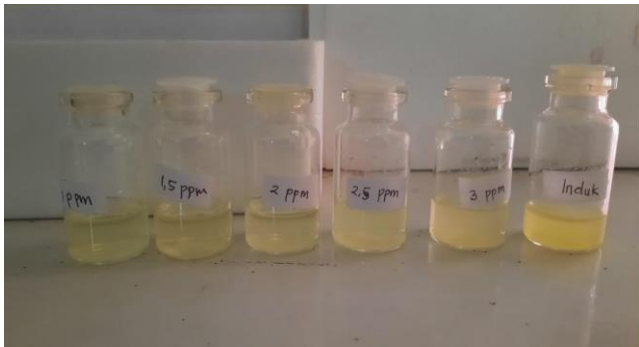
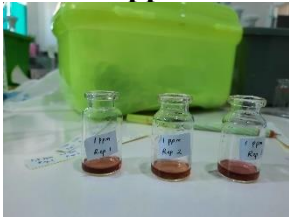
- 2,5 ppm $= \frac{2,5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$

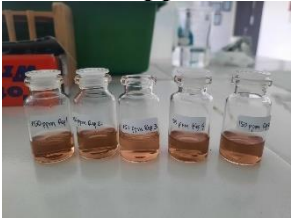
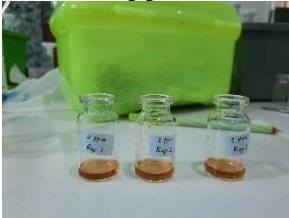
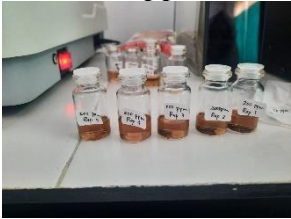
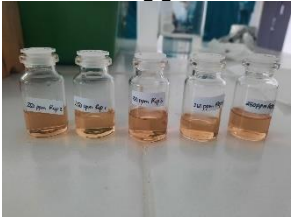
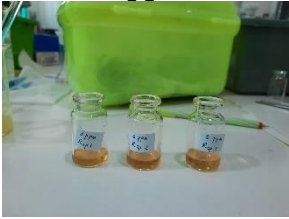
$$= 0,125 \text{ mL}$$

- 3 ppm $= \frac{3 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$

$$= 0,15 \text{ mL}$$

Lampiran 9. Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan

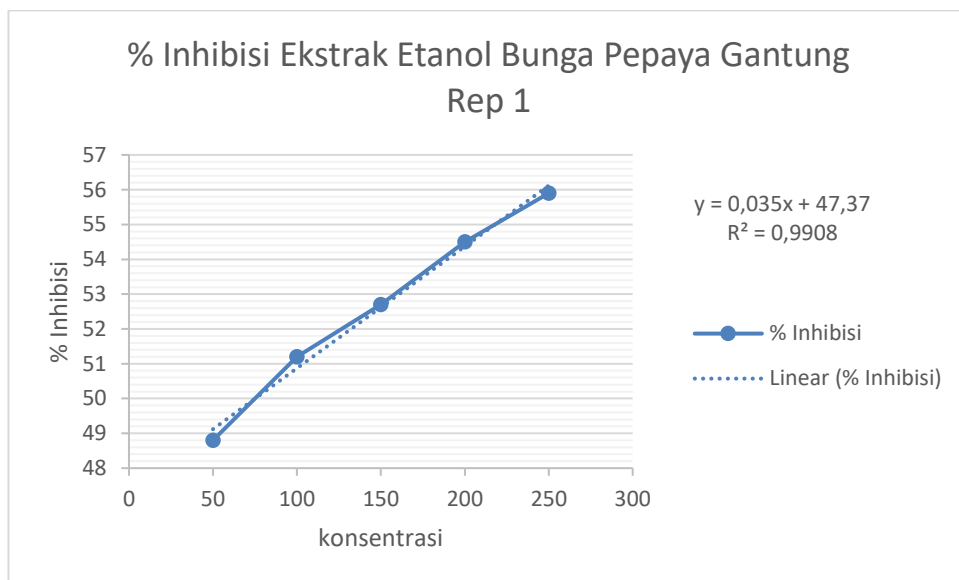
Pembuatan Larutan Induk dan Pengenceran Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung	
	
Pembuatan Larutan Induk dan Pengenceran Kuersetin	
	
Pengukuran Aktivitas Antioksidan Bunga Pepaya Gantung	Pengukuran Aktivitas Antioksidan Kuersetin
50 ppm 	1 ppm 

100 ppm 	1,5 ppm 
150 ppm 	2 ppm 
200 ppm 	2,5 ppm 
250 ppm 	3 ppm 

Lampiran 10. Persamaan Regresi linier dan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Bunga

Pepaya Gantung

Replikasi 1



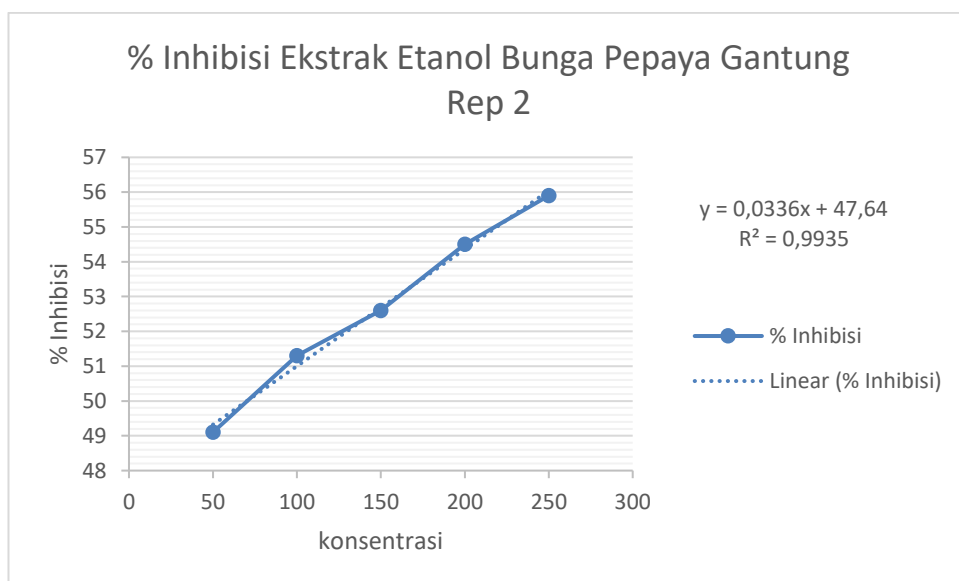
Persamaan Linier

$$y = bx + a$$

$$y = 0,035x + 47,37$$

$$\frac{50 - 47,37}{0,035} = 75,1 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2



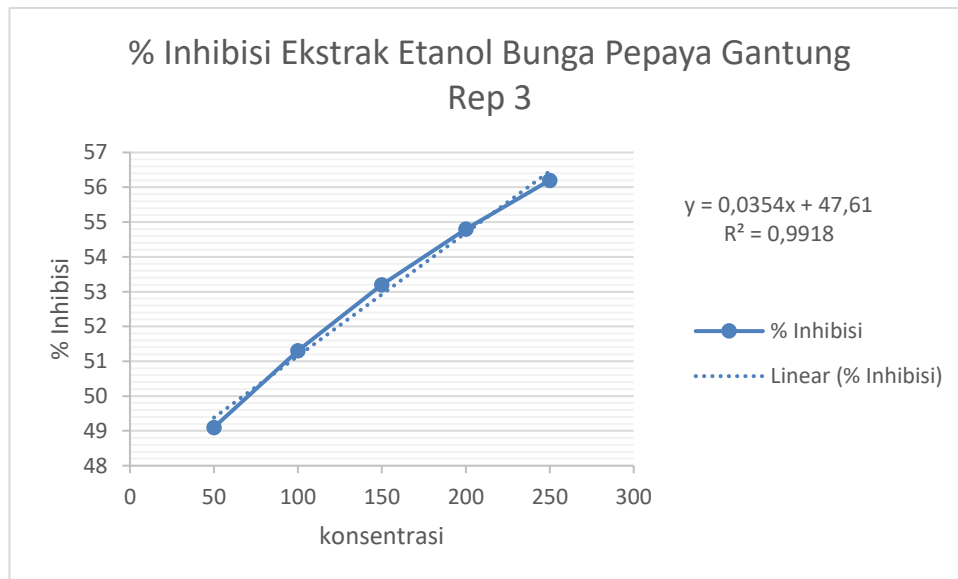
Persamaan Linier

$$y = bx + a$$

$$y = 0,0336x + 47,64$$

$$\frac{50 - 47,64}{0,0336} = 70,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3



Persamaan Linier

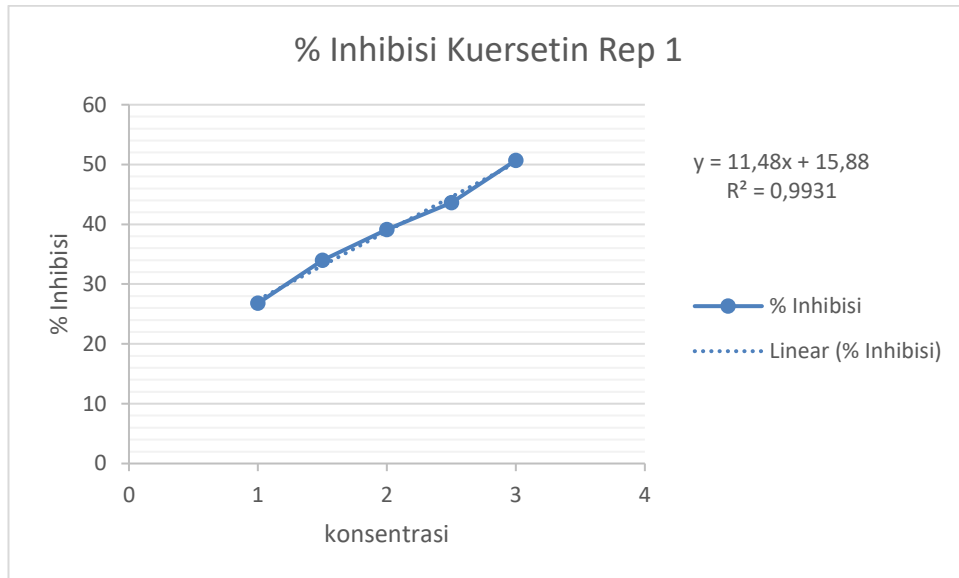
$$y = bx + a$$

$$y = 0,0354x + 47,61$$

$$\frac{50 - 47,61}{0,0354} = 67,5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 11. Persamaan Regresi Linier dan Nilai IC50 Kuersetin

Replikasi 1



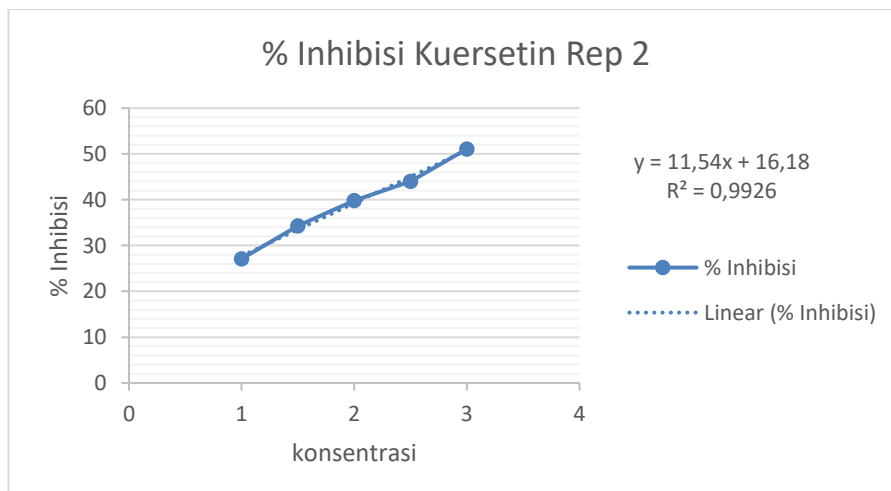
Persamaan Linier

$$y = bx + a$$

$$y = 11,48x + 15,88$$

$$\frac{50 - 15,88}{11,48} = 2,9 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2



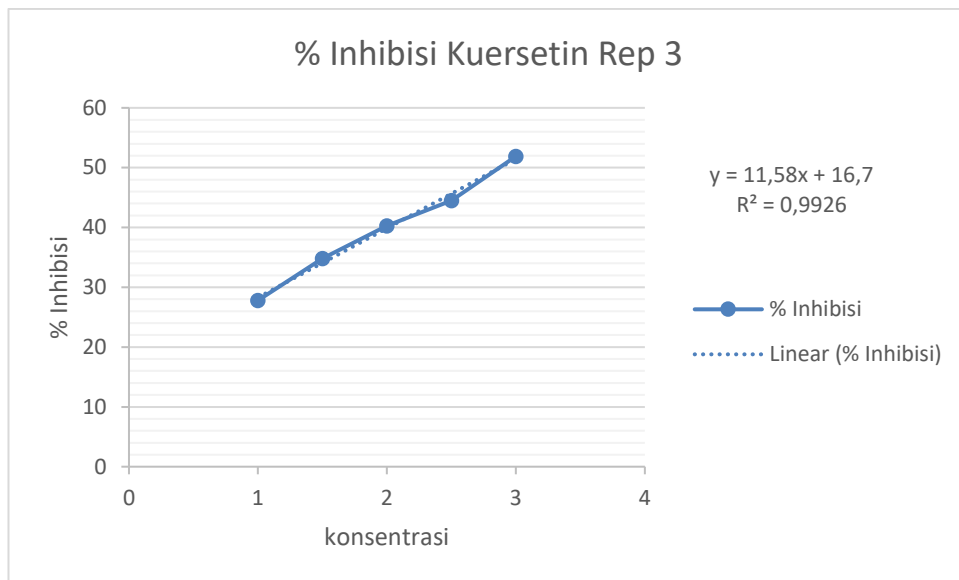
Persamaan Linier

$$y = bx + a$$

$$y = 11,54x + 16,18$$

$$\frac{50-16,18}{11,54} = 2,9 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3



Persamaan Linier

$$y = bx + a$$

$$y = 11,58x + 16,7$$

$$\frac{50-16,7}{11,58} = 2,8 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 12. Photometry Test Report Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung dan Kuersetin

1. Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung

- **Blangko**

Photometry Test Report

File Name: Blangko.bas	Test Time:
Software Version: UV V1.92.0	
Operator: Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,635	23,2	29/06/2022 14:43:15	Blangko

- **50 ppm**

Photometry Test Report

File Name:50 ppm Dwi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,323	47,6	29/06/2022 14:45:50	50 REP 1
2	515,0	0,327	47,1	29/06/2022 14:55:36	50 REP 2
3	515,0	0,323	47,6	29/06/2022 14:56:05	50 REP 3
4	515,0	0,325	47,4	29/06/2022 14:56:29	50 REP 4
5	515,0	0,329	46,9	29/06/2022 14:56:55	50 REP 5

- 250 ppm

Photometry Test Report

File Name:250 ppm Dwi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,280	52,5	29/06/2022 15:07:08	250 REP 1
2	515,0	0,279	52,6	29/06/2022 15:07:28	250 REP 2
3	515,0	0,278	52,7	29/06/2022 15:08:00	250 REP 3
4	515,0	0,285	51,9	29/06/2022 15:08:21	250 REP 4
5	515,0	0,287	51,7	29/06/2022 15:08:43	250 REP 5

2. Kuersetin

- Blangko

Photometry Test Report

File Name: Blangko.bas	Test Time:
Software Version: UV V1.92.0	
Operator: Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,690	21,3	29/06/2022 9:40:57	Blangko

- 1 ppm

Photometry Test Report

File Name:1 ppm Dwi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,505	31,3	29/06/2022 10:18:41	1 ppm REP 1
2	515,0	0,503	31,5	29/06/2022 10:19:08	1 ppm REP 2
3	515,0	0,515	30,6	29/06/2022 10:19:39	1 ppm REP 3
4	515,0	0,507	31,1	29/06/2022 10:20:08	1 ppm REP 1
5	515,0	0,502	31,5	29/06/2022 10:20:36	1 ppm REP 2
6	515,0	0,498	31,8	29/06/2022 10:20:50	1 ppm REP 3

- 1,5 ppm

Photometry Test Report

File Name:1,5 ppm Dwi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,462	34,5	29/06/2022 10:21:02	1,5 ppm REP 1
2	515,0	0,453	35,3	29/06/2022 10:21:21	1,5 ppm REP 2
3	515,0	0,450	35,4	29/06/2022 10:21:44	1,5 ppm REP 3
4	515,0	0,455	35,2	29/06/2022 10:22:07	1,5 ppm REP 1
5	515,0	0,465	34,3	29/06/2022 10:22:26	1,5 ppm REP 2
6	515,0	0,444	35,9	29/06/2022 10:22:50	1,5 ppm REP 3

- 2 ppm

Photometry Test Report

File Name:2 ppm Dwi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,420	38,1	29/06/2022 10:24:51	2 ppm REP 1
2	515,0	0,409	39,0	29/06/2022 10:25:13	2 ppm REP 2
3	515,0	0,412	38,6	29/06/2022 10:25:30	2 ppm REP 3
4	515,0	0,417	38,3	29/06/2022 10:25:48	2 ppm REP 1
5	515,0	0,415	38,4	29/06/2022 10:26:06	2 ppm REP 2
6	515,0	0,422	37,9	29/06/2022 10:26:24	2 ppm REP 3

- 2,5 ppm

Photometry Test Report

File Name:2,5 ppm Dwi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,389	40,8	29/06/2022 10:26:43	2,5 ppm REP 1
2	515,0	0,386	41,1	29/06/2022 10:27:01	2,5 ppm REP 2
3	515,0	0,383	41,3	29/06/2022 10:27:20	2,5 ppm REP 3
4	515,0	0,380	41,7	29/06/2022 10:27:37	2,5 ppm REP 1
5	515,0	0,385	41,2	29/06/2022 10:27:57	2,5 ppm REP 2
6	515,0	0,377	41,9	29/06/2022 10:28:20	2,5 ppm REP 3

- 3 ppm

Photometry Test Report

File Name:3 ppm Dwi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,340	45,8	29/06/2022 10:28:38	3 ppm REP 1
2	515,0	0,337	46,0	29/06/2022 10:28:56	3 ppm REP 2
3	515,0	0,332	46,4	29/06/2022 10:29:14	3 ppm REP 3
4	515,0	0,347	44,9	29/06/2022 10:29:33	3 ppm REP 1
5	515,0	0,339	45,8	29/06/2022 10:29:50	3 ppm REP 2
6	515,0	0,342	45,5	29/06/2022 10:30:09	3 ppm REP 3

Lampiran 13. Hasil Uji Statistik

Tests of Normality							
	REPLIKASI	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	EKSTRAK	.241	3	.	.973	3	.688
	KUERSETI	.205	3	.	.993	3	.840

a. Lilliefors Significance Correction

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances					t-test for Equality of Means		95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
IC50	Equal variances assumed	6.862	.059	30.480	4	.000	68.038667	2.232273	61.840883	74.236450
	Equal variances not assumed			30.480	2.001	.001	68.038667	2.232273	58.436828	77.640506