

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
PEPAYA DENGAN METODE DPPH (1,1- *diphenyl-2-
picrylhydrazil*)**

SKIRPSI



Oleh :
Hafis Ali Naqsabandi
NIM. 17040063

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN PEPAYA
DENGAN METODE DPPH (1,1- *diphenyl-2-picrylhydrazil*)**

SKIRPSI

Untuk memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :
Hafis Ali Naqsabandi
NIM. 17040063

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
2021**

LEMBAR PERSETUJUAN

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

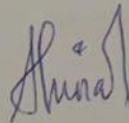
Jember, Agustus 2021

Pembimbing I



apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm
NIDN.0509088601

Pembimbing II



apt. Dhina ayu, Susanti, S. Farm., M. Kes
NIDN. 0729098401

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir yang berjudul (*Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pepaya Dengan Metode Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil).*)

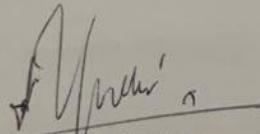
Telah diuji dan disahkan oleh Program Studi Sarjana Farmasi pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 31 Agustus 2021

Tempat : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

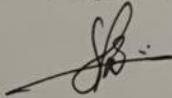
Tim Penguji Ketua,



Ariel Judi, M.Kes

NIK.196512179890031001

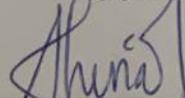
Penguji II,



apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm

NIDN.0509088601

Penguji III,



apt. Dhina Ayu, Susanti, S. Farm., M. Kes

NIDN. 0729098401

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi,



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

NIDN. 0706109104

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT. yang telah memberi rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan naskah tugas akhir ini.
2. Nabi Muhammad SAW. yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang;
3. Ayah, Ibu dan Alm Nenek yang telah memberikan doa, dorongan motivasi, semangat dan semua keluarga atau saudara lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu serta adikku yang selalu memberikan motivasi;
4. Suluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan sabar;
5. Para guru saya, dari TK sampai SMF yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
6. Para sahabatku yang selalu setia memberikan bantuan serta dukungan dan mengeluarkan banyak waktunya untuk menemani penulis;
7. Teman-teman angkatan 2017 Farmasi Universitas dr Soebandi Jember.

MOTTO

"Gantungkan cita-citamu setinggi langit! Bermimpilah setinggi langit. Jika engkau jatuh, engkau akan jatuh di antara bintang-bintang."

Soekarno

" Agama tanpa ilmu adalah buta. Ilmu tanpa agama adalah lumpuh."

Albert Einstein

"Berpikir adalah kegiatan tersulit yang pernah ada. Oleh karena itu hanya sedikit yang melakukannya."

Henry Ford

"Lebih baik jadi orang benar tetapi tidak pintar, daripada menjadi orang pintar tetapi tidak benar"

K.H. Maimun Zubair

"Pembelajaran tidak didapat dengan kebetulan. Ia harus dicari dengan semangat dan disimak dengan tekun."

Abigail Adams

KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Hafis Ali Naqsabandi

NIM : 17040063

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul (*Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pepaya Dengan Metode Dpph (1,1- Diphenyl-2-Picrylhydrazil)*) adalah benar benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari ini tidak benar.

Jember, Agustus 2021

Yang menyatakan,



Hafis Ali Naqsabandi

NIM. 17040063

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN PEPAYA DENGAN METODE DPPH (1,1- *diphenyl-2-picrylhydrazil*)

Oleh :

Hafis Ali Naqsabandi
Nim 17040063

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm

Dosen Pembimbing Kedua : apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes.

ABSTRAK

Naqsabandi, Hafis Ali,* Hidayati, Sholihatil,** Susanti, Dhina Ayu ***. 2021. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pepaya Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazi)*. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Daun Pepaya (*Carica papyia L.*) merupakan salah satu jenis tanaman dari familia *Caricaceae* dapat dikembangkan sebagai obat. Tanaman ini mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak daun pepaya (*Carica papyia L.*).

Penelitian ini diawali dengan melakukan ekstraksi senyawa pada daun pepaya menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dan dilanjutkan dengan skrining uji fitokimia meliputi flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpenoid dan steroid). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm. IC50 dihitung dengan memasukkan nilai 50 pada persamaan linier antara kadar dan persen inhibisi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun pepaya (*Carica papyia L.*) dengan dengan nilai IC50 sebesar 169.81 µg/ml. Ekstrak daun pepaya (*Carica papyia L.*) memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat dikembangkan sebagai obat, namun aktivitas antioksidan ekstrak daun pepaya (*Carica papyia L.*) masuk dalam kategori antioksidan lemah.

Kata kunci : Daun pepaya (*Carica papyia L.*), Aktivitas antioksidan, Tanin, DPPH, IC50 total, Spektrofotometer UV- Vis.

*peneliti

**pembimbing 1

***pembimbing 2

ABSTRAK

Naqsbandi, Hafis Ali, Hidayati, Sholihatil,** Susanti, Dhina Ayu ***. 2021. Antioxidant Activity Test of Papaya Leaf Extract Using DPPH Method (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil). Essay. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi Jember.*

Papaya leaf (*Carica papaya* L.) is a type of plant from the Caricaceae family that can be developed as a medicine. This plant contains secondary metabolites that have potential as antioxidants. Antioxidants are compounds that can inhibit free radical reactions in the body. This study aims to test the antioxidant activity of papaya leaf extract (*Carica papaya* L). Extraction of compounds in papaya leaves was carried out using maceration method with 70% ethanol and continued with phytochemical screening.

This research begins with extracting compounds in papaya leaves using the maceration method with 70% ethanol solvent and followed by screening phytochemical tests including flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, terpenoids and steroids). Measurement of antioxidant activity was carried out using the DPPH method. Absorbance measurement using UV-VIS Spectrophotometer with a wavelength of 517 nm. IC₅₀ was calculated by entering a value of 50 in the linear equation between the concentration and percent inhibition.

The results of this study indicate that the antioxidant activity of papaya leaf extract (*Carica papaya* L) with an IC₅₀ value of 169.81 g/ml. Papaya leaf extract (*Carica papaya* L) has antioxidant activity so that it can be developed as a drug, but the antioxidant activity of papaya leaf extract (*Carica papaya* L) is categorized as weak antioxidant.

Key words : Papaya leaf (*Carica papaya* L), Antioxidant activity, Flavonoids, Tannins, DPPH, total IC₅₀, UV-Vis Spectrophotometer.

KATA PENGANTAR

Allhamdulillah Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat, kasih dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Skripsi ini disusun untuk melengkapi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi, dengan judul “*Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pepaya Dengan Metode Dpph (1,1- Diphenyl-2-Picrylhydrazil). Di Kabupaten Jember*”

Tujuan penyusunan skripsi ini yaitu untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Studi sarjana Farmasi. Penyusunannya dapat terlaksana dengan baik berkat dukungan dari banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM selaku rektor Universitas dr. Soebandi Jember;
2. Hella Meldy Tursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi;
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember;
4. apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm selaku pembimbing I dan apt. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes. selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini;
5. Arief Judi, M.Kes selaku ketua dosen penguji yang telah bersedia menjadi dosen penguji dan memberikan saran serta kritik yang membangun bagi skripsi penulis;
6. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
7. Para dosen yang telah memberikan ilmu selama penulis menjadi mahasiswa;
8. Pak Edi selaku laboran laboratorium kimia STIKES dr Soebandi Jember yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian;

9. Ayah dan Ibu yang telah memberikan doa, dorongan motivasi, semangat dan Keluarga atau Saudara lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu serta adikku yang selalu memberikan motivasi;
10. Febri, Ginanjar, Anida, Heppy, Hestin, Reza yang telah memberi semangat dan banyak membantu penulis dalam melakukan persiapan bahan untuk penelitian serta banyak dukungan lain yang membantu penulis
11. Makrifa, Nabilla, Anida , Engguh yang menjadi teman pada saat peneliti sedang penelitian di Laboratorium.
12. Teman-teman angkatan 2017 Farmasi Universitas dr Soebandi Jember

Atas segala kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini, penulis sangat mengharapkan masukan, kritik dan saran yang bersifat membangun ke arah perbaikan dalam penyempurnaan skripsi ini, agar dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan dilapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut.

Jember, Agustus 2021
Penulis

Hafis Ali Naqsabandi
NIM. 17040063

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
KEASLIAN PENELITIAN	v
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
BAB 1.	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat bagi peneliti	4
1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain	4
1.4.3 Manfaat bagi masyarakat	5
1.5 Keaslian Penelitian	5
BAB 2.	6
TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Daun Pepaya (<i>Carica Papaya</i> L.)	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	6
2.1.2 Morfologi.....	6
2.1.3 Kandungan kimia daun pepaya.....	8
2.1.4 Kandungan gizi dan Manfaat daun pepaya	8
2.2 Radikal bebas	9

2.3 Antioksidan	10
2.3.1 Pengertian Antioksidan	10
2.3.2 Jenis Antioksidan Alam	12
1. Vitamin C	12
2. Flavonoid	12
4. Vitamin E	14
2.3.3 Mekanisme Kerja Antioksidan	14
2.4 Metode uji aktivitas antioksidan	15
2.5 Flavonoid	17
2.6 Metode Ekstraksi	19
2.6.1 Ekstrasi	20
2.6.2 Maserasi.....	20
2.6.3 Perkolasi	21
2.6.4 Reflux dan Destilasi uap.....	22
2.6.5 Soklet.....	23
2.6.6 Digesti	24
2.6.7 Infusa	24
2.7 Instrumen Spektrofotometri Uv-Vis	25
2.7.1 Sumber Radiasi	26
2.7.2 Monokromator	26
2.7.3 Sel atau Kuvet	27
2.7.4 Fotosel	27
2.7.5 Display.....	27
BAB 3.	33
KERANGKA KONSEPTUAL	33
3.1 Kerangka Konseptual.....	33
3.2 Hipotesis	34
BAB 4.	35
METODE PENELITIAN	35
4.1 Desain Penelitian	35
4.2 Populasi Sampel	35

4.3 Tempat Penelitian	35
4.4 Waktu Penelitian	35
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	35
4.5.1 Alat.....	35
4.5.2 Bahan.....	36
4.7 Definisi Operasional	37
4.7 Prosedur Kerja Dan Pengumpulan Data	37
4.7.1 Determinasi Tanaman	37
4.7.2 Pembuatan Ekstrak daun pepaya	37
4.7.3 Uji fitokimia.....	38
4.7.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	39
4.8 Analisis Data	42
BAB 5.	43
HASIL PENELITIAN	43
5.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	43
5.2 Hasil Pengumpulan dan Pengeringan Daun Pepaya.....	43
5.2.1. Hasil Pengumpulan Daun Pepaya	43
5.2.2. Hasil Pengeringan Daun Pepaya	43
5.2.3. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Pepaya	43
5.3. Skrining fitokimia.....	44
5.4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	45
5.4.1. Penentuan Absorpsi Blanko Ekstra Daun Pepaya dan Quersetin	45
5.4.2. Pengukuran Absorbansi Sampel Ekstrak Daun Pepaya	45
5.4.3. Pengukuran Absorbansi Quersetin.....	45
BAB 6.	50
PEMBAHASAN PENELITIAN	50
BAB 7.	56
KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
7.1. Kesimpulan	56
7.2. Saran	56

DAFTAR TABEL

Table 1. 1 Keaslian Penelitian	5
Table 2. 1 Nilai IC50.....	17
Table 4. 1 Definisi Operasional	37
Table 5. 1 Hasil Perhitungan Rendemen Daun Pepaya	44
Table 5. 2 Hasil Skrining.....	45
Table 5. 3 Hasil Ekstrak Daun Pepaya dan Quersetin.....	46
Table 5. 4 Hasil % inhibisi dan IC50 dari Ekstrak daun pepaya dan Quersetin	47
Table 5. 5 Ekstrak daun Pepaya dan Quersetin	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 daun pepaya (Sumber : dokumen pribadi, 2020).....	7
Gambar 2. 2 vitamin C (Ortega, 2006).	12
Gambar 2. 3 Struktur Flavonoid (Markham, 1988)	13
Gambar 2. 4 Struktur kimia polifenol (Sumber: Hamid dkk, 2010).....	14
Gambar 2. 5 DPPH (Tristantini <i>et al</i> , 2016).....	16
Gambar 2. 6 struktur dasar flavonoid (Harish, 2011)	17
Gambar 2.7 Reaksi pembentukan Kompleks Flavonoid-AlCl ₃ (Winahyu, 2019)	18
Gambar 2. 8 Maserasi (Humadi, 2020).....	21
Gambar 2. 9 perkolasi (Julianto, 2019).....	22
Gambar 2. 10 Refluks (Hidayat <i>et al.</i> , 2019)	23
Gambar 2. 11 Sokletasi (A. Guntero et al., 2017)	24
Gambar 2. 12 Proses Infusa (Valiant <i>et al.</i> , 2010).....	24
Gambar 2. 13 cahaya pembacaan spektrofotometer (Sumber: Arsyad 2013).....	29
Gambar 2. 14 Cahaya Pembacaan Spektrofotometer (Sumber: Arsyad 2013)	30
Gambar 3.1 kerangka konsep.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tumbuhan	60
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	61
Lampiran 3. Skirining Fitokimia	65
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	67
Lampiran 5. Perhitungan DPPH	67
Lampiran 6. Perhitungan Larutan Ekstrak dan Quercetin.....	67
Lampiran 7. Perhitungan % inhibisi	68
Lampiran 8. Grafik IC50 dan perhitungan IC50	73

BAB 1.

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pola hidup manusia telah banyak mengalami perubahan seiring berkembangnya zaman. Pola hidup yang berubah diantaranya adalah pola makan dimana zaman sekarang orang lebih cenderung untuk mengkonsumsi makanan cepat saji dan kurang memperhatikan kandungan zat gizi pada makanan (Reni, 2018). Makanan cepat saji biasanya diolah dengan cara digoreng, mengandung gula dan lemak yang tinggi. Sehingga makanan yang dikonsumsi mengandung radikal bebas. Senyawa radikal timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terkena polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemaran, dan radiasi matahari atau radiasi kosmis (Fauziah, 2012). Begitu juga global warming atau peningkatan suhu bumi akibat penipisan lapisan ozon yang berarti radiasi sinar ultraviolet semakin intensif menyerang manusia dan menginduksi terbentuknya suatu radikal (Jain dkk, 2004). Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas mengandung elektron yang tidak berpasangan akibatnya cenderung untuk mencari pasangan baru, mudah bereaksi dengan zat lain yang berada di sekitarnya. Radikal bebas berbahaya bagi sel karena dapat merusak sebagian besar komponen sel, terutama DNA (*Deoxyribonucleic Acid*), protein, dan lipid. Apabila radikal bebas dalam tubuh berlanjut dapat merusak asam lemak tak jenuh pada membran

sel, akibatnya sel menjadi rapuh. Senyawa ini juga mampu merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga menyebabkan pengendapan kolesterol (Winarsi, 2017). Radikal bebas tanpa disadari terdapat di dalam tubuh. Secara endogen, hal ini berkaitan dengan proses metabolisme sel, peradangan, kandungan gizi. Secara eksogen, radikal bebas berasal dari polutan, makanan dan minuman, ozon dan pestisida, kedua faktor tersebut secara sinergis dapat meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Oleh sebab itu tubuh memerlukan suatu substansi yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Yuslianti, 2018). Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya penyakit degeneratif antara lain kanker aterosklerosis, stroke, rematik, dan jantung (Christalina, 2014).

Indonesia memiliki berbagai macam kekayaan alam, diantaranya ialah tumbuh-tumbuhan yang termasuk di dalamnya tanaman berkhasiat obat. Sekitar 40.000 jenis tumbuhan yang mengandung bahan kimia yang berpotensi sebagai antioksidan, sehingga potensi pengembangan dan penelitian antioksidan alami dalam berbagai jenis tumbuhan sangat besar. Antioksidan merupakan senyawa yang secara signifikan dapat mencegah atau menunda proses terjadinya oksidasi senyawa lain yang mudah teroksidasi walaupun dengan konsentrasi rendah (Bulla, 2020).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan dalam jumlah berlebihan sehingga jika terjadi paparan radikal bebas yang berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan

dari luar. Berdasarkan sumber perolehnya antioksidan di bagi menjadi 2 kelompok yaitu, antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan alami lebih banyak diamati di bandingkan dengan antioksidan sintetik, karena antioksidan sintetik di khawatirkan memiliki efek samping sehingga antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat di butuhkan (Bulla, 2020).

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah pepaya (*Carica papaya* L.) yang merupakan tanaman yang memiliki pertumbuhan yang cepat dan mudah dibudidayakan sehingga keberadaannya sangat melimpah. Hampir semua bagian dari tanaman pepaya dapat digunakan sebagai obat tradisional seperti daun, batang, buah, dan akarnya. Bagian tanaman ini yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah daunnya, karena mengandung enzim papain (Bulla *et al*, 2020). Menurut Aini, et al., (2013) ekstrak daun pepaya memiliki potensi sebagai antioksidan, aktivitas ini diduga berasal dari metabolit sekunder yaitu senyawa alkaloid yang umumnya dapat memberi rasa pahit.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol dari daun pepaya (*Carica papaya* L.) mempunyai aktivitas antioksidan?
2. Berapa nilai aktivitas antioksidan (IC50) pada ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

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

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan metode DPPH
2. Menganalisis nilai aktivitas antioksidan (IC50) pada ekstrak etanol dari daun pepaya (*Carica papaya* L.)
3. Membandingkan nilai IC50 (*Inhibition Concertation*) dan menghitung persamaan regresi antara ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan kuersetin.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan diadakan hasil penelitian ini diharapkan mendapat beberapa manfaat.

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Dapat mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Sebagai sumber informasi dan referensi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Menambah pengetahuan masyarakat tentang bahan alam yang dapat digunakan alternatif lebih untuk menangkal radikal bebas..

1.5 Keaslian Penelitian :

Table 1. 1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Bulla et al., 2020	Menggunakan sampel daun pepaya Menggunakan Metode DPPH Metode ekstraksi menggunakan maserasi	Menggunakan pelarut etanol 70% Beda konsentrasi sampel
Sepriyani et al., 2020	Menggunakan sampel daun pepaya Menggunakan metode DPPH	Menggunakan pelarut metanol Beda konsentrasi sampel
Andriani <i>et al.</i> , 2016	Menggunakan sampel daun pepaya Metode ekstraksi menggunakan maserasi Pelarut yang digunakan etanol 70 %	Menggunakan sampel daun pepaya dan biji pepaya Metode ekstraksi menggunakan reflux Pemantauan Ekstrak dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

BAB 2. **TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Tanaman Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Pepaya (*Carica papaya* L.) termasuk keluarga caricaceae dan genus *Carica*. Genus *Carica* mempunyai kurang lebih 40 spesies, tetapi yang dapat dikonsumsi hanya tujuh spesies diantaranya *Carica papaya* (Budiyanti *et al.*, 2005).

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Class : Discotyledoneae
Ordo : Cistales
Famili : Cariceae
Genus : *Carica*
Spesies : *Carica papaya* L.
Nama lokal : Pepaya

2.1.2 Morfologi

Tanaman pepaya merupakan herba menahun dan tingginya mencapai 8 m. Batang tidak berkayu, bulat, berongga, bergetah dan terdapat bekas pangkal daun. Pepaya bisa hidup pada ketinggian tempat 1 m - 1.000 m dari permukaan laut dan pada suhu udara 22°C-26°C. Pada umumnya semua bagian dari tanaman baik akar, batang, daun, biji dan buah dapat dimanfaatkan (Warisno, 2003). Tanaman pepaya memiliki batang pohon yang tidak berbacabang,

berbentuk bulat berongga tidak berkayu dan terdapat bekas tangkai daun yang sudah rontok. Tanaman ini memiliki tangkai daun yang panjang dan terkumpul di ujung batang dan daun tunggal berbentuk menjari (Lutfhi Aulia, 2019).



Gambar 2. 1 daun pepaya (Sumber : dokumen pribadi, 2020).

Pepaya varietas cibinong buahnya berbentuk panjang, besar dan lancip pada bagian ujung, daging buah masak berwarna merah kekuning, agak keras dan cukup manis. Bentuk dan ukuran pepaya cibinong jauh berbeda dengan varietas solo dan jinggo karena buahnya panjang dan besar, bentuk buah membesar dari pangkal ke bagian tengah buah kemudian melancip kebagian ujung buah, kulit buahnya kasar, dan biasanya masak dari bagian ujung, sedangkan bagian pangkal tetap berwarna hijau dan lama untuk berubah menjadi kuning. Daging buah berwarna hijau dan lama untuk berubah menjadi kuning. Daging buah berwarna merah kekuningan dan rasanya kurang manis, berat buah mencapai 2,5-6 kg/buah. Varietas ini dikembangkan sebagai pepaya unggul sejak tahun 1983 oleh pusat penelitian dan pengembangan tanaman pangan (Kalie, 2006).

2.1.3 Kandungan kimia daun pepaya

Kandungan senyawa kimia dari daun pepaya yaitu enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo-karpaina, glikosid, karposid, flavonoid dan saponin. Berdasarkan penelitian suresh *et al.*, (2008) tentang analisis fitokimia terhadap daun pepaya, hasil yang di peroleh menunjukkan bahwa pada daun pepaya terkandung senyawa metabolit seperti alkaloid, antraquinon, flavonoid, saponin, steroid, dan triterpenoid. (Dian A *et al.*, 2011).

Daun pepaya mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat antiseptik, antinflamasi, antifungal, dan antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun pepaya diantaranya tanin, alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin (Duke, 2009). Selain itu daun pepaya mengandung zat aktif seperti alkaloid carpaine, asam-asam organik seperti *Lauric acid*, *caffeic acid*, *gentisic acid*, dan *asorbic acid*, serta terdapat juga β - sitosterol, flavonoid, saponin, tannin, dan polifenol (Duke, 2009).

2.1.4 Kandungan gizi dan Manfaat daun pepaya

Beberapa literatur telah menyebutkan bahwa banyak sekali kandungan yang bermanfaat didalam ekstrak daun pepaya diantaranya yaitu sebagai obat penyembuhan suatu luka karena mengandung beberapa zat seperti saponin. Saponin adalah salah satu senyawa yang memacu dalam pembentukan kolagen dalam proses penyembuhan suatu luka, selain saponin daun pepaya juga mengandung vitamin C, E, betakaroten serta enzim papain, dimana vitamin C, E, dan betakarogen berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas hasil dari fagositosis neutrofil terhadap debris dan bakteri dalam

proses penyembuhan suatu luka, sedangkan enzim papain berperan dalam membantu mempercepat kerja dari makrofag dengan meningkatkan produksi dari interleukin yang berfungsi sebagai proses penyembuhan suatu luka, serta menghambat untuk terjadinya infeksi yang luas (Ramadhian & Widiastini, 2018).

2.2 Radikal bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum digambarkan sebagai senyawa yang tidak memiliki elektron berpasangan (Tapan, 2005). Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh yang dapat dipicu oleh bermacam-macam faktor seperti pada hidrogen peroksida, ozon dan lain-lain. Senyawa-senyawa tersebut dapat dikelompokkan sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS). Spesies oksigen reaktif adalah istilah kolektif yang mencakup semua bentuk reaktif oksigen (Arief, 2006). Berbagai kemungkinan dapat terjadi sebagai akibat kerja radikal bebas, misalnya gangguan fungsi sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun, bahkan mutasi (Abduhasan *et al.*, 2014).

Radikal bebas berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang sangat singkat, karena ia akan segera menyatu dengan atom lain. Jika elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas berasal dari senyawa berikatan kovalen, maka akan sangat fatal akibatnya, karena ikatan tersebut digunakan bersama-sama. Biomakromolekul seperti lipid, protein, maupun DNA merupakan senyawa yang biasanya menggunakan ikatan kovalen ini. Bisa dibayangkan bagaimana kerusakan yang parah terjadi jika radikal bebas mengikat atau menyerang

biomakromolekul tersebut (Winarsi H, 2007). Sedangkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif, terdiri atas kelompok nonradikal (Eboh AS, 2014).

Radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang diproduksi dalam jumlah yang normal sebenarnya juga diperlukan untuk fungsi biologis tubuh seperti untuk melawan radang dan membunuh bakteri. Namun produksi radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan dalam tubuh dapat merusak membran sel, protein dan DNA yang akan berakibat fatal (Winarsi H, 2007).

Kerja radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan yakni zat yang dapat memperlambat dan mencegah terjadinya oksidasi molekul. Adanya senyawa antioksidan mengurangi timbulnya penyakit kronis yang disebabkan karena kerja radikal bebas dalam tubuh seperti kanker, disfungsi otak dan antiinflamasi yang dapat menyebabkan kematian. Tubuh dapat menghasilkan antioksidan dari metabolisme sel tubuh namun dengan meningkatnya jumlah radikal bebas, tubuh perlu didukung oleh asupan antioksidan. Hal tersebut melatarbelakangi dilakukannya penelitian sebagai upaya menemukan sumber baru antioksidan yang dapat mengimbangi peningkatan radikal bebas didalam tubuh (Ginting *et al*, 2009).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian Antioksidan

Menurut winarsi (2007), antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan suatu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas

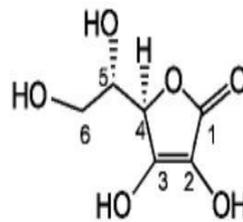
senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Saleh *et al.*, 2012). Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (Pratiwi *et al.*, 2010). Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal aktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk dalam tubuh memerlukan asupan antioksidan dari luar (Rahayu *et al.*, 2015). Radikal bebas yang dihasilkan secara terus menerus selama proses metabolisme normal, dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel-sel tubuh yang akhirnya menjadi pemicu timbulnya penyakit degeneratif (Juniarti *et al.*, 2009).

Antioksidan sintetik seperti BHA (*butylated hydroxy aniline*) dan BHT (*butylated hydroxy toluene*) telah diketahui memiliki efek samping yang besar antara lain menyebabkan kerusakan hati (Kikuzaki, dkk, 2002). Di sisi lain alam menyediakan sumber antioksidan yang efektif dan relatif aman seperti flavonoid, vitamin C, beta karoten dan lain-lain. Hal tersebut mendorong semakin banyak dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan. Menurut Molyneux (2004), antioksidan bereaksi dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPHH) yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Kemudian DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) yang stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Putrawan Nurdin Anang, 2014).

2.3.2 Jenis Antioksidan Alam

1. Vitamin C

Asam askorbat atau vitamin C adalah antioksidan monosakarida yang ditemukan pada tumbuhan. Asam askorbat adalah komponen yang dapat mengurangi dan menetralkan oksigen reaktif, seperti hidrogen peroksida Antioksidan dan Pencegahan Kanker (Ortega, 2006).



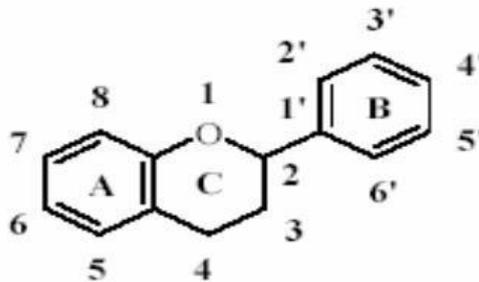
(1) L-Ascorbic acid

Gambar 2. 2 vitamin C (Ortega, 2006).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok antioksidan penting dan dibagi menjadi 13 kelas, dengan lebih dari 4000 senyawa ditemukan sampai tahun 1990 (Harborne, 1993). Flavonoid merupakan senyawaan fenol yang dimiliki oleh sebagian besar tumbuhan hijau dan biasanya terkonsentrasi pada biji, buah, kulit buah, kulit kayu, daun, dan bunga (Miller 1996). Flavonoid memiliki kontribusi yang penting dalam kesehatan manusia. Menurut Hertog (1992) disarankan agar setiap hari manusia mengkonsumsi beberapa gram flavonoid. Flavonoid diketahui berfungsi sebagai antimutagenik dan antikarsinogenik, selain itu

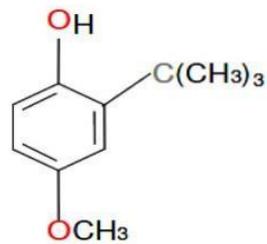
memiliki sifat sebagai antioksidan, anti peradangan, anti alergi, dan dapat menghambat oksidasi LDL (Low Density Lipoprotein) (Rahmat, 2009).



Gambar 2. 3 Struktur Flavonoid (Markham, 1988)

3. Polifenol

Karakteristik antioksidan yang berasal dari bahan pangan dilihat dari kandungan polifenol. Sampai saat ini, minat penelitian terhadap senyawa fenolik meningkat karena kemampuan ‘scavenging’ terhadap radikal bebas. Polifenol merupakan salah satu kelompok yang paling banyak dalam tanaman pangan, dengan lebih dari 8000 struktur fenolik dikenal saat ini (Harborne, 1993). Polifenol adalah produk sekunder dari metabolisme tanaman (Aulia, 2009).



Gambar 2. 4 Struktur kimia polifenol (Sumber: Hamid dkk, 2010)

4. Vitamin E

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan memiliki sifat antioksidan, diantara vitamin E, yang paling banyak dipelajari adalah β tokoferol karena memiliki ketersediaan hayati yang tinggi (Herrera dan Barbas, 2001).

2.3.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel, bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya (pemberi atom hidrogen) kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk

yang stabil. Antioksidan pada makanan digunakan untuk mencegah atau menghambat proses oksidasi yang terjadi pada produk makanan misalnya lemak, terutama yang mengandung asam lemak tidak jenuh, dapat teroksidasi sehingga menjadi tengik, selain itu berguna untuk mencegah reaksi browning pada buah dan sayuran (Hamid *et al.*, 2010).

Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas (R^*) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan adanya cahaya, oksigen atau panas. Pada tahap propagasi, radikal (R^*) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^*). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH (misalnya pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton (Nugroho, 2007).

2.4 Metode uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan mengetahui kapasitas senyawa aktif dalam ekstrak untuk menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun *Alocasia marcorrhizos* diukur menggunakan metode DPPH (1,1- *diphenyl-2-picrylhydrazil*). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini didasarkan pada hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan dalam sampel, sehingga menghasilkan senyawa DPP Hidrazin (DPPH) berwarna kuning. Metode ini tidak memerlukan substrat sehingga lebih sederhana dengan waktu

diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori kuat, nilai IC50 berada 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sedang, nilai IC50 berada diantar 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori lemah, sedangkan apabila nilai IC50 berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah (Molyneux, 2004).

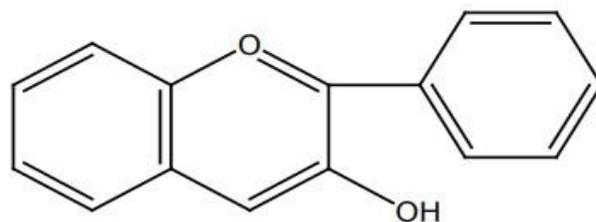
Table 2. 1 Nilai IC50

Nilai IC50	Sifat Antioksidan
50 ppm<	Sangat kuat
50 ppm – 100 ppm	Kuat
100 ppm – 150 ppm	Sedang
150 ppm- 200 ppm	Lemah

Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC50 (Sumber : Molyneux 2004)

2.5 Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu senyawa golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pasti ditemukan pada setiap telah ekstrak tumbuhan (Haris, 2011). Flavonoid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Redha, 2010).

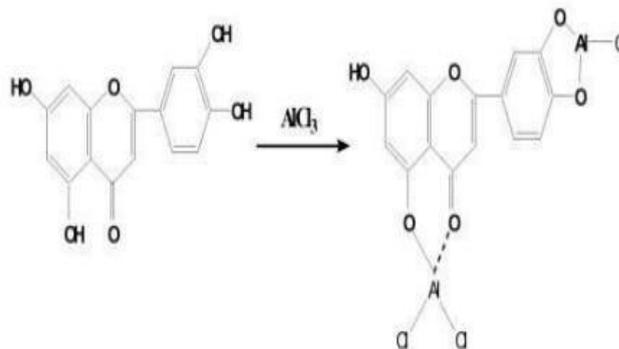


Gambar 2. 6 struktur dasar flavonoid (Harish, 2011)

Penentuan Flavonoid total dari ekstrak etanol daun kajajahi dilakukan dengan prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna dengan pereaksi $AlCl_3$. Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid

golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 sehingga dapat membentuk kompleks warna dengan AlCl_3 (Desmianty, 2009). Penambahan asam asetat agar pada C-4 keto dan 3 atau 5 – OH tetap stabil. Sebelum dilakukan penetapan kadar flavonoid total, terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum dan operating time yang akan digunakan (Ipandi *et al.*, 2016).

Prinsip dari metode AlCl_3 yaitu pembentukan kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Dalam penambahannya, aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid (Winahyu, 2019).



Gambar 2.7 Reaksi pembentukan Kompleks Flavonoid- AlCl_3 (Winahyu, 2019)

Panjang gelombang maksimu yang diperoleh adalah 415 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Das *et al* (2013) yang menentukan flavonoid total dengan menggunakan penambahan AlCl_3 yaitu 415 nm dan operating time yang diperoleh adalah 22 menit untuk waktu inkubasi. Hasil ini

memiliki selisih menit dengan operating time yang dapat oleh (Muhtadi *et al.*, 2014).

2.6 Metode Ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya (Sarker SD, *et al.*, 2006):

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Semua senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu sumber tetapi tidak dihasilkan oleh sumber lain dengan kontrol yang berbeda, misalnya dua jenis dalam marga yang sama atau jenis yang sama tetapi berada dalam kondisi yang berbeda. Identifikasi seluruh metabolit sekunder yang ada pada suatu organisme untuk studi sidik jari kimiawi dan studi metabolomik.

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya.

4. Pelarut semipolar: etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
5. Pelarut nonpolar: n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya.

2.6.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut :

2.6.2 Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di

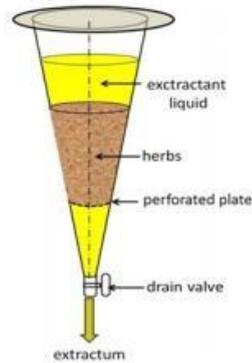
sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.



Gambar 2. 8 Maserasi (Humadi, 2020)

2.6.3 Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa 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 memakan banyak waktu.



Gambar 2. 9 perkolasi (Julianto, 2019)

2.6.4 Reflux dan Destilasi uap

Flux dan Destilasi Uap pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel, 2006).

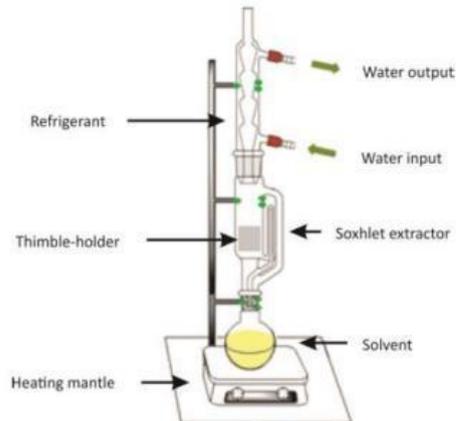


Gambar 2. 10 Refluks (Hidayat *et al.*, 2019)

2.6.5 Soklet

Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi. Soxletasi digunakan pada pelarut organik tertentu. Dengan cara pemanasan, sehingga uap yang timbul setelah dingin secara kontinyu akan membasahi sampel, secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali kedalam labu dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi tersebut (Anonim, 2015).

Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014). Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang di-peroleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).



Gambar 2. 11 Sokletasi (A. Guntero et al., 2017)

2.6.6 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Departemen Kesehatan RI, 2006).

2.6.7 Infusa



Gambar 2. 12 Proses Infusa (Valiant *et al.*, 2010)

Infusa merupakan suatu metode yang bertujuan untuk mendapatkan zat aktif polar dengan menggunakan pelarut yang paling sesuai dengan zat aktif yang terlibat ialah flavonoid dan polifenol yang merupakan antioksidan (Yulian dan Dienina, 2015). Ekstraksi infusa adalah dengan menggunakan pelarut air

pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Departemen Kesehatan RI, 2006).

Kelebihan dari metode infusa adalah singkat dan cepat, alat dan bahan yang digunakan mudah didapat dan kecil (Wahyuningsih dan Wiryosoendjoyo, 2019). Sedangkan kekurangan dari metode infusa adalah tidak dapat disimpan dan digunakan setelah 24 jam karena pelarut air yang tidak stabil dan mudah terkontaminasi oleh jamur dan kapang (Aristya, 2015).

2.6.8 Dekokta

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C selama 30 menit (Departemen Kesehatan RI, 2006).

2.7 Instrumen Spektrofotometri Uv-Vis

Dalam penelitian ini, uji DPPH dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 Nanometer dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penurunan nilai absorbansi sebagai akibat dari penurunan intensitas warna dari larutan yaitu dari warna ungu menjadi warna kuning. Penurunan intensitas warna itu terjadi karena penambahan radikal hidrogen dari senyawa antioksidan pada elektron yang tak berpasangan pada radikal nitrogen dalam struktur senyawa DPPH (Rorong, 2008). Spektrofotometer UV-VIS (Ultra Violet-Visible) atau spektrofotometer ultraviolet-sinar tampak memanfaatkan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah UV dan 380-780 nm untuk daerah visible atau sinar tampak.

Spektrofotometer ini jenisnya terdiri Was berkas tunggal (*single beam*) dan berkas rangkap (*double beam*). Perbedaan pada keduanya adalah pada spektrofotometer *double beam* pengukuran dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan contoh atau standar dan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang sehingga pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik karena blanko dan zat diukur pada saat yang bersamaan (Warono dan Syamsudin, 2013).

Secara umum sistem spektrofotometer terdiri atas sumber radiasi, monokromator, sel, foto sel, detektor, dan tampilan (display)

2.7.1 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 350 nm sampai sekitar 250 nm.

2.7.2 Monokromator

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

2.7.3 Sel atau Kuvet

Tempat bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet harus dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya terbuat dari kaca tembus sinar tetapi bisa pula terbuat dari plastik. Sel yang terbuat dari kuarsa baik untuk spektroskopi UV-VIS. Kuvet dari bahan kaca silikat biasa tidak dapat digunakan untuk spektroskopi ultraviolet karena bahan kaca silikat dapat menyerap ultraviolet.

2.7.4 Fotosel

Fotosel berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan zat dan 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.

2.7.5 Display

Display atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis. Prinsip kerja spektrofotometer adalah berdasarkan hukum Lambert-Beer, yaitu seberkas sinar dilewatkan suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan.

Pada spektrofotometer UV-VIS, zat diukur dalam bentuk larutan. Analit yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak adalah analit berwarna atau yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna adalah analit yang memiliki sifat menyerap cahaya secara alami. Analit yang dibuat berwarna adalah analit

yang tidak berwarna sehingga harus direaksikan dengan zat tertentu untuk membentuk senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna untuk zat atau senyawa yang tidak berwarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan cara oksidasi sehingga analit menjadi berwarna.

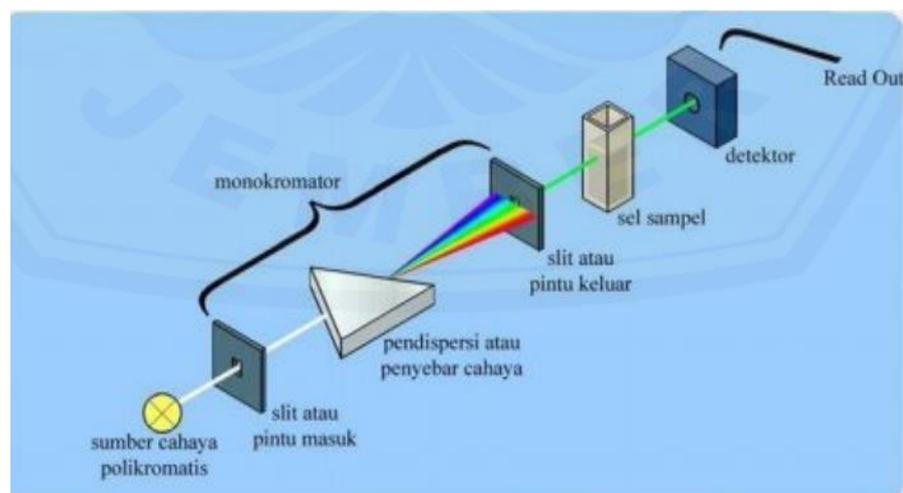
Tahap awal yang dilakukan pada penentuan aktivitas antioksidan ini adalah penetapan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) larutan DPPH. Penetapan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk mengetahui pada panjang gelombang larutan DPPH yang dapat menghasilkan absorbansi maksimum pada spektrofotometer UV-Vis. Hal ini berkenaan dengan kepekaan analisis, dimana perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar pada panjang gelombang maksimum sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimum (Chow *et al.*, 2003). Panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk pengujian antioksidan ini adalah 514 nm dengan absorbansi maksimum 0,692 A dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (Anita, 2015).

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki Asnah, 2012). Spektrum absorpsi dalam daerah daerah ultra ungu dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi

yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UV tampak. Oleh karena itu mereka mengandung electron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat electron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energy tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunas, 2011).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S, 2013). Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari :

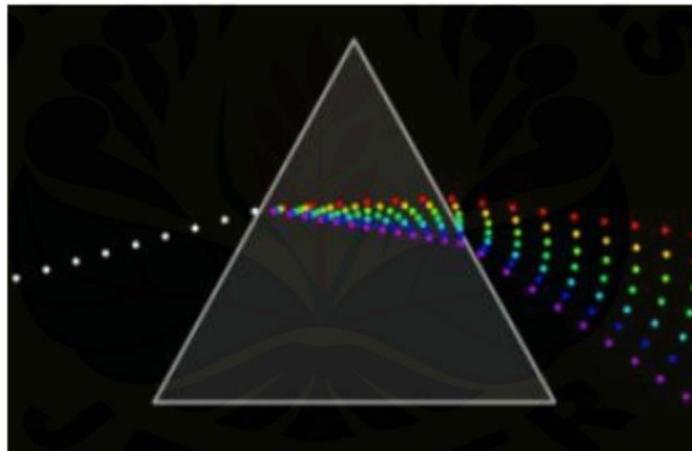
Sumber cahaya –monokromatis –sel sampel –detector- read out



Gambar 2. 13 cahaya pembacaan spektrofotometer (Sumber: Arsyad 2013)

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya seperti tertera pada gambar :



Gambar 2. 14 cahaya pembacaan spektrofotometer (Sumber: Arsyad 2013)

3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS dan UV VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas.
4. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.

5. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector.

Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energy yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Jika sinar monokromatik dilewatkan melalui suatu lapisan larutan dengan ketebalan (db), maka penurunan intensitas sinar (dI) karena melewati lapisan larutan tersebut berbanding langsung dengan intensitas radiasi (I), konsentrasi spesies yang menyerap (c), dan dengan ketebalan lapisan larutan (db). Secara matematis, pernyataan ini dapat dituliskan : $-dI = kIcdb$ bila diintegrasikan maka diperoleh persamaan ini :

$$I = I_0 e^{-kbc}$$

dan bila persamaan di atas diubah menjadi logaritma basis 10, maka akan diperoleh persamaan :

$$I = I_0 10^{-kbc} \text{ dimana : } k/2,303 = a ,$$

maka persamaan di atas dapat diubah menjadi persamaan

$$\text{Log } I_0/I = abc \text{ atau } A = abc \text{ (Hukum Lambert-Beer)}$$

Dimana :

A = Absorban

a = absorptivitas

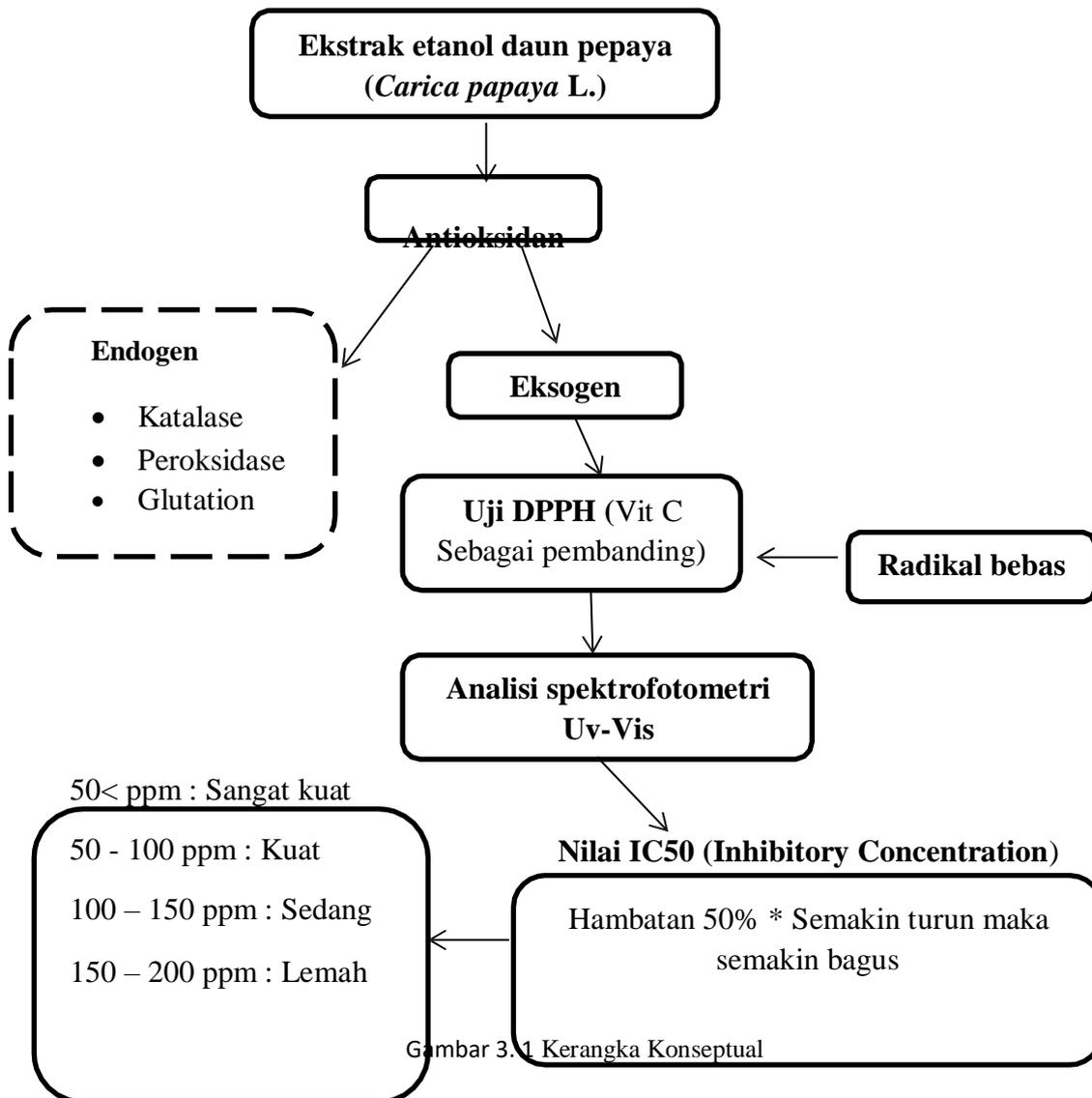
b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Bila Absorbansi (A) dihubungkan dengan Transmittan (T) = I/I_0 maka dapat diperoleh $A = \log 1/T$. Absorptivitas (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Tetapi tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang radiasi (Hariadi Aisysah, 2013).

BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

Keterangan :

□ : Yang diteliti

⌋ : Yang Tidak diteliti

3.2 Hipotesis

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

H₀ : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak daun pepaya dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

H_a : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak daun pepaya dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode *Diphenyl-picylhydrizyl-radical* (DPPH).

4.2 Populasi Sampel

Populasi penelitian ini adalah ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan metode *Diphenyl-picylhydrizyl-radical* (DPPH).

4.3 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini menggunakan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari Kecamatan Kaliwates, Kabupaten Jember. Karena Kota ini memiliki curah hujan lebih tinggi dengan rata-rata curah hujan cukup memadai sehingga bisa menambah tingkat kesuburan tanah, memiliki iklim yang sejuk.

4.3 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Instrumen Farmasi STIKES dr. Soebandi Jember .

4.4 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni – Juli 2021.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain destilator, spektrofotometer, *rotary evaporator*, ultrasonik, timbangan analitik, toples

maserasi, corong buchner, alat-alat gelas, aluminium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet disposable, mikropipet, blender, penyaring, cawan, desikator, dan stopwatch.

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun pepaya (*Carica papaya* L). Kertas saring, etanol 70%, terdestilasi, metanol, senyawa DPPH, serbuk Mg, HCL pekat, aquades, NaCl 10%, FeCl₃, reagen Dragendroff, kloroform, asetat anhidrat, H₂SO₄, natrium asetat dan AlCl₃.

4.5.3 Variable Penelitian

a. Variable bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

b. Variable Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration*).

c. Variable Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan, pengambilan sampel daun salam dan metode ekstraksi serbuk simplisia

4.7 Definisi Operasional

Table 4. 1 Definisi Operasional

Variable	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Konsentrasi Ekstrak daun pepaya (Carica papaya <i>L.</i>)	Hasil nilai absorbansi pada Sampel daun mangga (Carica papaya <i>L.</i>) yang kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC50)	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari masing- masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm dan 200 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 4 ml DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum	Spektrofotometri	Rasioanal	Sangat kuat, jika hasil yang di dapat <50 µg/mL Kuat, Jika yang di dapat 50-100 µg/mL Sedang, jika yang di dapat 101-150 µg/mL Lemah, jika yang didapat >150µg/mL

4.7 Prosedur Kerja Dan Pengumpulan Data

4.7.1 Determinasi Tanaman

Sebelum dilakukan penelitian terhadap Daun pepaya, terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran simplisia. Determinasi dilakukan di Politeknik Negeri Jember.

4.7.2 Pembuatan Ekstrak daun pepaya

Disiapkan toples untuk maserasi. Tahap pertama yang dilakukan dalam ekstraksi sampel yaitu penimbangan simplisia. Simplisia daun pepaya sebanyak

50 gram diekstrak dengan perbandingan pelarut 1:10 (b/v). Sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 70% lalu disimpan dalam suhu kamar selama 2x24 jam setelah itu disaring. Hasil yang diperoleh dari penyaringan tersebut di namakan filtrat. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan untuk kemudian tersebut dinamakan filtrat. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan untuk kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

4.7.3 Uji fitokimia

1. Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak daun pepaya dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1-2 ml metanol panas kemudian ditambahkan serbuk Mg, selanjutnya ditambahkan HCl sebanyak 0,5 ml. Terbentuknya warna merah ataupun jingga menunjukkan bahwa sampel positif mengandung flavonoid (Marliana, 2005).

2. Tanin

Ekstrak daun pepaya sebanyak 1,5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes aquades panas, didinginkan kemudian disaring. Selanjutnya ditambahkan NaCl 10% sebanyak 3 tetes, kemudian ditambahkan 2 tetes FeCl₃. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan bahwa sampel positif mengandung tanin (Marliana, 2005).

3. Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak daun pepaya dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquades, dikocok selama 30 detik. Jika

terdapat busa dan tidak hilang dalam 30 detik menunjukkan bahwa sampel positif mengandung saponin (Marliana, 2005).

4. Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak daun pepaya dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 3-5 tetes pereaksi Dragendroff. Terbentuknya endapan berwarna coklat atau jingga menunjukkan sampel positif mengandung alkaloid (Nursal, 2006)

5. Terpenoid atau Steroid

Sebanyak 1 ml ekstrak daun pepaya dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml kloroform, ditambahkan 0,5 ml asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pada campuran tersebut. Apabila terbentuk warna hijau atau biru, maka sampel positif mengandung steroid. Sedangkan apabila terbentuk warna ungu atau merah, maka sampel positif mengandung triterpenoid (Mojab, 2005).

4.7.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 ml etanol PA dalam labu tentukur. Larutan DPPH dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung cahaya (Handayani, 2014; Najihudin, 2017)

b. Penentuan Absorbansi DPPH

Penentuan absorbansi DPPH bertujuan untuk mengetahui seberapa besar absorbansi oleh senyawa DPPH. Alat yang digunakan adalah

spektrofotometer UV-VIS. Pegujian dilakukan dengan memipet 4 mL DPPH kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani *et al.*, 2014).

c. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Pepaya Menggunakan Etanol 70%

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang ekstrak daun pepaya 10 mg di larutkan dengan etanol PA di homgenkan lalu di cukupkan volumenya hingga 10 ml hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Pelarutan ekstrak dibantu dengan getaran ultrasonik agar ekstrak dapat larut seluruhnya. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan etanol hingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak (Handayani, 2014).

d. Pembuatan Larutan Pembanding Quersetin

Larutan pembanding Quersetin, dibuat dengan ditimbang sebanyak 2 mg Quersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml ditambahkan etanol PA 10 ml dikocok hingga homogen dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi larutan quersetin 200 ppm. Lalu di buat larutan uji pembanding dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dengan pipet sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, dan

2,5 ml dari larutan induk di masukan ke dalam labu ukur 50 ml ditambahkan etanol sampai tanda batas (Hasanah, 2017).

e. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu optimum saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm dan 200 ppm, 250ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 517nm yang didapat mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit (Handayani, 2014 ; Fatoni, 2019)

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan Larutan Quersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0, 5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm dan 200 ppm, 250 ppm) dan Quersetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum. (Handayani, 2014)

Persentase hambatan (IC50) terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} : \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan

A kontrol : absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel : absorbansi sampel

Adapun rumus persamaan linier sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

keterangan :

x : absorbansi sampel

y : konsentrasi sampel

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC50) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC50 didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50 (Zakky & Wahyu, 2008).

4.8 Analisis Data

Data pengamatan pada penelitian ini adalah berupa kuantitatif. Data kuantitatif berupa uji aktivitas antioksidan. Selanjutnya data hasil analisis aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding kemudian dideskripsikan hasilnya. Daya antioksidan dilihat dari nilai IC50 yang dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang didapatkan dari hubungan antara konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$) dengan % inhibisi dan pengolahan data dilakukan menggunakan Microsoft excel

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi Dilakukan di Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil dari determinasi menunjukkan apabila daun pepaya yang digunakan dalam peniltian dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *carica papaya* L. yang tergolong suku *Caricae* Marga. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

5.2 Hasil Pengumpulan dan Pengeringan Daun Pepaya

5.2.1. Hasil Pengumpulan Daun Pepaya

Daun pepaya yang digunakan dalam penelitian ini dikumpulkan dan diambil dari Kecamatan Kaliwates, Desa Sempusari, Kab. Jember. Hasil pengumpulan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.2. Hasil Pengeringan Daun Pepaya

Daun pepaya dikumpulkan sebanyak 1 kg. Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan menggunakan sinar matahari selama satu minggu, hingga diperoleh bobot simplisia kering sebanyak 200 gram.

5.2.3. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Pepaya

Daun pepaya yang sudah kering kemudian diblender sampai menjadi serbuk halus. Hasil Pembuatan serbuk daun pepaya dapat dilihat pada lampiran 4.

5.2.4. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pepaya

Sebanyak 200 gram serbuk yang sudah dihaluskan diekstrak menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter dimaserasi selama 3x24 jam. Setelah 3 hari dilakukan penyaringan. Dari hasil penyaringan didapat ekstrak cair yang kemudian dilakukan evaporasi di laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) Universitas Jember hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 8,55 gram. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada tabel 5.0

Table 5. 1 Hasil Perhitungan Rendemen Daun Pepaya

Berat Serbuk (gram)	Berat Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)
200	8,55	4,27

5.3. Skrining fitokimia

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder. Setelah memperoleh ekstrak kental, ekstrak tersebut kemudian diuji golongan senyawa kimia yang terkandung didalamnya menggunakan uji skrining fitokimia. Pada tahap ini dilakukan lima macam pemeriksaan yaitu pemeriksaan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil dari uji skrining fitokimia tersebut disajikan pada (Lampiran 3).

Table 5. 2 Hasil Skrining

Senyawa	Hasil
Alkaloid	Negatif
Terpenoid atau Steroid	Negatif
Flavonoid	Negatif
Saponin	Negatif
Tanin	Positif

5.4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

5.4.1. Penentuan Absorpsi Blanko Ekstra Daun Pepaya dan Quersetin

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani, 2014). Hasil dari pengukuran absorbansi yaitu 0,505 hasil dari DPPH untuk blanko ekstrak daun pepaya dan 0,874 untuk blanko Quercetin.

5.4.2. Pengukuran Absorbansi Sampel Ekstrak Daun Pepaya

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 517 nm yang dimulai dari menit ke 0 hingga menit ke 60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.3

5.4.3. Pengukuran Absorbansi Quersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan Quercetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30

ppm, 40 ppm dan 50 ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 517 nm yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.3.

Table 5. 3 Hasil Ekstrak Daun Pepaya dan Quersetin

Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi	Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi
DPPH			0.505	DPPH			0.874
Ekstrak daun pepaya	10	50	0.318	Quersetin	10	10	0.509
		100	0.288			20	0.499
		150	0.259			30	0.476
		200	0.248			40	0.396
		250	0.228			50	0.350
	20	50	0.317		20	10	0.508
		100	0.286			20	0.498
		150	0.258			30	0.476
		200	0.246			40	0.395
		250	0.226			50	0.351
	30	50	0.317		30	10	0.507
		100	0.285			20	0.497
		150	0.256			30	0.475
		200	0.246			40	0.394
		250	0.224			50	0.348
	40	50	0.316		40	10	0.505
		100	0.283			20	0.496
		150	0.255			30	0.474
		200	0.245			40	0.392
		250	0.223			50	0.346
	50	50	0.313		50	10	0.504
		100	0.281			20	0.495
		150	0.254			30	0.473
		200	0.244			40	0.392
		250	0.222			50	0.344
	60	50	0.310		60	10	0.503
		100	0.279			20	0.496
		150	0.253			30	0.471
		200	0.242			40	0.391
		250	0.221			50	0.343

Table 5. 4 Hasil % inhibisi dan IC50 dari Ekstrak daun pepaya dan Quersetin

Sampel	Menit	Konsentrasi	Inhibisi (%)	IC50	Sampel	Menit	Konsentrasi	Inhibisi (%)	IC50
Ekstrak Daun Pepaya	10	50	37.02	184.77 µg/ml	Quersetin	10	10	0.509	32.146 µg/ml
		100	42.97				20	0.499	
		150	48.71				30	45.53	
		200	50.89				40	54.69	
		250	54.85				50	59.95	
	20	50	37.22	181.82 µg/ml		20	10	41.87	32.075 µg/ml
		100	43.36				20	43.02	
		150	48.91				30	45.53	
		200	51.28				40	54.80	
		250	55.24				50	59.83	
	30	50	37.22	179.17 µg/ml		30	10	41.99	31.719 µg/ml
		100	43.56				20	43.13	
		150	49.30				30	45.65	
		200	51.28				40	54.91	
		250	55.64				50	60.18	
	40	50	37.42	176.60 µg/ml		40	10	42.21	31.341 µg/ml
		100	43.96				20	43.24	
		150	49.50				30	45.76	
		200	51.48				40	55.14	
		250	55.84				50	60.41	
	50	50	38.01	173.58 µg/ml		50	10	42.33	31.095 µg/ml
		100	44.35				20	43.36	
		150	49.70				30	45.88	
		200	51.68				40	55.14	
250		56.03	50		60.64				
60	50	38.61	169.81 µg/ml	60	10	42.44	30.908 µg/ml		
	100	44.75			20	43.24			
	150	44.90			30	46.10.			
	200	52.07			40	55.26			
	250	56.23			50	60.75			

Nilai IC50 masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: $Y = a + bX$. Untuk penentuan nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC50 = (50-a)/b$

Table 5. 5 Ekstrak daun Pepaya dan Quercetin

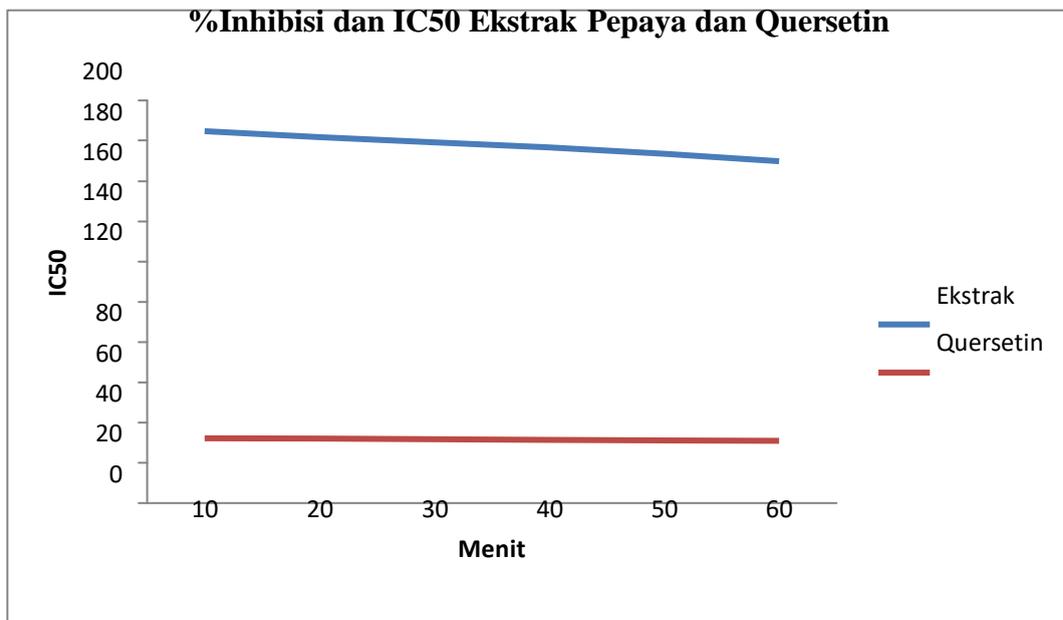
Sampel	Nilai IC50	Aktivitas Antioksidan
Ekstrak Daun Pepaya	169.81 $\mu\text{g/ml}$	Lemah IC50= $>150 \mu\text{g/ml}$
Quercetin	30.908 $\mu\text{g/ml}$	Sangat Kuat IC50= $<50 \mu\text{g/ml}$

Untuk IC50 Ekstrak paling rendah di dapatkan nilai: 169.81 $\mu\text{g/ml}$ yang didapatkan dari persamaan $y = 0,0851x + 35,544$ Sedangkan untuk IC 50 Quercetin paling rendah di dapatkan nilai: 30.908 $\mu\text{g/ml}$ yang didapatkan dari persamaan $y = 0,4864x + 34,966$

Untuk mengetahui apakah ada aktivitas antioksidan pada ekstrak daun mangga dapat di lihat pada grafik hubungan waktu dan IC 50, apabila grafik semakin turun berarti aktivitas antioksidan nya bekerja tetapi kalau grafik semakin naik menandakan aktivitas antioksidan nya tidak bekerja secara optimal.

Aktivitas antioksidan yang kuat ditandai dengan nilai IC 50 yang kecil, untuk itu semakin kecil nilai IC 50, semakin kuat juga aktivitas antioksidan nya, dan sebaliknya apabila nilai IC 50 semakin besar berarti menandakan aktivitas antioksidan nya lemah dilihat pada table 2.1.

Pada warna juga bisa diketahui aktivitas antioksidan nya. Semakin kuning warna yang dihasilkan semakin poten aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut. Pada warna DPPH berwarna ungu apabila tercampur senyawa yang mengandung senyawa antioksidan lama kelamaan akan berwarna kuning.



Hasil grafik antara hubungan waktu dan IC 50 yang bisa dilihat diatas. Untuk IC 50 Ekstrak daun pepaya berwarna biru yang dimulai dari IC 50 sebesar 184,77 $\mu\text{g/ml}$ dan berhenti di nilai 169,81 $\mu\text{g/ml}$ pada menit 60 sedangkan untuk quercetin grafik berwarna merah yang dimulai dari nilai IC 50 sebesar 32,146 $\mu\text{g/ml}$ dan berhenti di nilai 30,908 $\mu\text{g/ml}$

BAB 6.

PEMBAHASAN PENELITIAN

Tahapan pertama yaitu pembuatan simplisia. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman daun pepaya (*Carica papaya L.*) yang didapatkan secara acak dari daerah Jember. Daun pepaya segar dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel (sortasi basah), dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian ditiriskan untuk membebaskan daun dari sisa air cucian. Lalu, proses selanjutnya yaitu pengeringan daun pepaya untuk menghilangkan kadar air pada sampel serta untuk menghindari pertumbuhan mikroba. Sampel yang kering berwarna coklat kehijauan dihaluskan dengan mesin blender agar diperoleh serbuk sampel yang halus. Serbuk simplisia yang dihasilkan yaitu seberat 200 gram.

Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan etanol 70%. Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang digunakan untuk mengambil atau menarik senyawa yang diinginkan dari suatu sampel dengan melakukan perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi dengan pelarut organik selama beberapa waktu, sehingga dengan adanya perendaman tersebut, pelarut atau cairan penyari ini akan menembus dinding sel tanaman yang diekstraksi dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi didalam dan diluar sel maka larutan yang dengan konsentrasi terpekat akan didesak keluar (Riwanti *et, al* 2020). Etanol sebagai pelarut memiliki kelebihan di antaranya adalah tidak beracun, netral, absorbansinya baik, memerlukan panas yang lebih sedikit untuk

proses pemekatan, dan zat pengganggu yang larut terbatas. Metode ini dipilih karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diperoleh maseratnya, serta proses perendaman yang cukup lama diharapkan dapat menarik lebih banyak zat aktif yang terkandung di dalam simplisia.

Ekstraksi dengan maserasi dilakukan dengan cara memasukkan serbuk daun mangga seberat 200 g ke dalam wadah kaca, kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2 L. Selanjutnya, wadah ditutup dan dibiarkan selama 3 hari, terlindung dari cahaya matahari sambil diaduk-aduk satu kali dalam sehari. Kemudian dilakukan remaserasi dengan penambahan 2 L etanol. Remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Selanjutnya hasil maserasi disaring. Pemisahan dengan pelarut, dilakukan dengan cara diuapkan menggunakan vacuum rotary evaporator. Setelah didapatkan ekstrak kental dilakukan perhitungan persen rendemen. Penentuan rendemen bertujuan untuk mengetahui perbandingan hasil ekstrak terhadap simplisia yang dihasilkan. Berdasarkan nilai rendemen dapat diketahui jumlah ekstrak dari simplisia pada berat tertentu.

Ekstrak kental daun pepaya yang diperoleh sebanyak 8,55 gram dari 200 gram daun sirsak (rendemen 4,27 %). Rendemen merupakan nilai berat ekstrak kental yang diperoleh dibandingkan dengan berat simplisia atau serbuk awal (Fatoni, 2019).

Identifikasi kandungan kimia pada ekstrak kental dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui dan memastikan kembali bahwa senyawa-senyawa kimia yang

terdapat dalam daun pepaya tidak hilang pada saat melakukan proses penyaringan dan penguapan.

Identifikasi kandungan kimia dilakukan secara kualitatif. Kandungan kimia yang diuji dalam penelitian ini adalah alkaloid , flavonoid , Saponin , Tanin , Terpenoid dan Steroid. Berdasarkan hasil kualitatif kandungan fitokimia terlihat bahwa ekstrak etanol daun pepaya positif memiliki kandungan Tanin, Karena pada saat pengeringan daun pepaya di bawah sinar matahari waktu yang dikeringkan terlalu lama dan dapat mempengaruhi zat aktif dalam daun pepaya menghilang. Tanin dibagi menjadi dua golongan dan masing-masing golongan memberikan reaksi warna yang berbeda terhadap FeCl_3 1 %. Golongan tanin hidrolisis akan menghasilkan warna biru kehitaman dan tannin kondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman. Pada saat penambahannya, diperkirakan FeCl_3 1% bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tannin. Hasil reaksi itulah yang akhirnya menimbulkan warna. Pereaksi FeCl_3 1 % digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tannin. Pada daun pepaya diketahui terdapat adanya tannin kondensasi karena hasil pengamatan, daun pepaya menghasilkan warna biru kehitaman (Lampiran 3).

Secara umum, antioksidan dapat diartikan sebagai senyawa yang mana dapat memperlambat, menunda ataupun mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti yang lebih dalam lagi, antioksidan adalah zat yang dapat mencegah atau menunda terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron miliknya

tanpa terganggu sama sekali fungsinya karena radikal bebas dapat bertindak sebagai aseptor elektron. Hal ini menunjukkan bahwasanya antioksidan menjadi radikal dan radikal bebas menjadi non-radikal. Molekul radikal dari antioksidan kurang reaktif bila dibandingkan dengan radikal bebas yang sudah dinetralkan. Hal tersebut yang dapat menghentikan atau menghambat terjadinya kerusakan oksidatif terhadap suatu molekul target. Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas terlebih dahulu sebelum bereaksi dengan molekul lain.

DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl) merupakan radikal bebas yang bersifat stabil pada suhu kamar dan mempunyai panjang gelombang maksimum 515-517 nm. Antioksidan akan memberikan sebagian atom hidrogen ke radikal bebas DPPH agar menjadi lebih stabil (DPPH-H). Salah satunya senyawa bioaktif yang dapat diisolasi dan bersifat antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid akan menangkap radikal bebas DPPH. Radikal bebas DPPH akan mengoksidasi flavonoid sehingga terbentuk radikal dengan kereaktifan yang rendah. Flavonoid mendonorkan radikal hidrogen dari cincin aromatik dan menghasilkan radikal flavonoid yang bersifat tidak toksik. Prinsipnya pada metode DPPH melihat perubahan warna DPPH dalam larutan dari ungu pekat menjadi kuning pucat karena aktivitas sampel yang mengandung antioksidan yang mampu menangkap dan meredam aktivitas radikal bebas. Semakin banyak DPPH yang diredam, warna larutan semakin berubah menjadi pucat. Perubahan warna semakin banyak dilihat secara kualitatif juga menggunakan spektrofotometer UV-Vis (spektrofotometer ultraviolet visibel) dan dinilai absorbansinya. Pada spektrofotometer akan dilihat perubahan serapan warna (nilai absorbansi).

Absorbansi yang baik untuk larutan DPPH adalah kurang dari satu. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan pada sampel dilihat dari nilai efficient concentration (EC50) atau Inhibition Concentration (IC50) yaitu nilai dimana 50% DPPH kehilangan sifat radikal bebasnya. Semakin kecil nilai IC50 semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel. Pengerjaan menggunakan cahaya dan oksigen. Namun, metode DPPH lebih sederhana, akurat, cepat dan bisa dilakukan dengan sedikit sampel. Pengukuran antioksidan dengan menggunakan metode DPPH, merupakan metode pengukuran yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti metode-metode lainnya. Hasil pengukuran metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasarkan jenis radikal yang dihambat.

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan mereaksikan 3,5 mL DPPH dengan 0,5 mL larutan uji dengan konsentrasi yang beragam. Kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi sehingga diketahui nilai absorbansinya. Data absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung nilai persen inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. Data inhibisi dengan konsentrasi sampel kemudian digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier pada masing-masing larutan uji. Penetapan konsentrasi inhibisi 50 (IC50) dilakukan dengan memasukkan nilai $y = 50$ pada persamaan regresi linier.

Pada penelitian uji aktivitas daun pepaya didapatkan hasil perhitungan IC50 yang didapat dari absorbansi pada menit 60 yaitu menit yang paling optimal. Pada 50 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 38.61%, untuk 100 ppm sebesar 44.75 %, untuk 150 ppm sebesar 44.90%, untuk 200 ppm sebesar 52.08% dan 250 ppm

sebesar 56.23%. Data % inhibisi dari menit 60 dimasukkan kedalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC50. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 0,08513x + 35.544$. Setelah itu menghitung IC50 dengan cara Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: $Y = bx + a$. Hasil perhitungan yaitu Nilai IC50 169.81 g/ml. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai IC50 dari aktivitas antioksidan ekstrak daun pepaya bersifat lemah. Persyaratan nilai rentang IC50 $>150 \mu\text{g/ml}$ merupakan aktivitas antioksidan lemah.

Pada penelitian uji aktivitas quersetin didapatkan hasil perhitungan IC50 yang didapat dari absorbansi pada menit 60 yaitu menit yang paling optimal. Pada 10 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 42.44 %, untuk 20 ppm sebesar 43.24 %, untuk 30 ppm sebesar 46.10 %, untuk 40 ppm sebesar 55.26 % dan 50 ppm sebesar 60.75 %. Data % inhibisi dari menit 60 dimasukkan kedalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC50. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 0.4864x + 34.966$ Setelah itu menghitung IC50 dengan cara Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: $Y = bx + a$. Hasil perhitungan yaitu Nilai IC50 $30.908 \mu\text{g/ml}$. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai IC50 dari aktivitas antioksidan ekstrak daun pepaya bersifat sangat kuat. Persyaratan nilai rentang IC50 $<50 \mu\text{g/ml}$ merupakan aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

BAB 7.

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Nilai aktivitas antioksidan IC50 dari daun pepaya (*Carica papaya L.*) sebesar 169.81 µg/ml yang merupakan antioksidan lemah
2. Kandungan kimia yang terdapat di Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) adalah Tanin.

7.2. Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode yang lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan yang dimiliki pada masing-masing sampel.
2. Sebaiknya dalam proses pengeringan simplisia, perlu memperhatikan lokasi, jangan dijemur dibawah sinar matahari terlalu lama.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa lain dalam ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*).

DAFTAR PUSTAKA

- Andrian, Y. Y., et al. (2016). Kadar Fenol Total Ekstrak Daun Dan Biji Pepaya (*Carica Papaya L*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 73-78.
- Anliza, S., & Hamtini. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dari Daun *Alocasia Macrorrhizos* Dengan Metode Dpph. *Jurnal Medikes*, 101-106.
- Bahriul, P., et al. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *J. Akad. Kim.* , 143-149 .
- Febjislami, S., et al. (2018). Karakterisasi Morfologi Bunga, Buah, dan Kualitas Buah Tiga Genotipe Pepaya Hibrida. *Bul. Agrohorti* , 112 – 119.
- Inggrid, H., dan Santoso, H. (2014). Ekstraksi Antioksidan Dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia Deliciosa*). Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan.
- Ipandi, I., et al. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi. *Jurnal Pharmascience*, 93 - 100 .
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Miranti, M., et al. (t.thn.). Aktivitas Antioksidan Minuman Jeli Sari Buah. Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan, 40-50.
- Purwanto, et al. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia Arborea Blume.*) Dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*, 3(1), 24-32.
- Ramadhian, M. R., dan Widiastini, A. A. (2018). Kegunaan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) Pada Luka. *J Agromedicine* , 513-517.
- Sangkala, S., et al. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Merah (*Pandanus Baccari L*) Di Daerah Poso Sulawesi Tengah. *J. Akad. Kim*, 198-205.
- Setiawan, F., et al. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 82-89.
- Tristantini, D., et al. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L*). Program Studi Teknik Kimia, FTI, UPN “Veteran” Yogyakarta, 1-7.

- Wahdaningsih, S., Et Al. (2011). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila Glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 156 – 160.
- Warono, D., dan Syamsudin. (2013). Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *KONVERSI* , 57-65.
- Widyasanti, A., et al. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia Sinensis*) Dengan Metode Dpph (2,2 Difenil -1- Pikrilhidrazil). *FORTECH* 1 (1), 1-9.
- Wulansari, A. N. (t.thn.). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami. *Farmaka Suplemen Volume 16 Nomor 2*, 419-429.
- A'yun, Q., dan Laily, A. N. (t.thn.). Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak, Malang. A'yun et al., Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) , 134-137.
- Adawiah, Sukandar, D., dan Muawanah, A. (2016). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan*, 130-136.
- Bulla, R. M. (2020). Identifikasi dan Uji Aktifitas Antioksidan Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (*Carica Papaya* L) Kultivar Lokal. Program Studi Kimia, FST Undana Indonesia, 1.
- Deli Silvia, D., et al. (2016). Pengumpulan Data Base Sumber Antioksidan Alami Alternatif Berbasis Pangan Lokal Di Indonesia. *Surya Octagon Interdisciplinary Journal of Technology*, 181-198.
- Ferdinan, A., dan Prasetya, A. B. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Jantung Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca* L.) Pontianak. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 88-96.
- Jabbar, A., et al. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah, Daun, Batang Dan Rimpang Pada Tanaman Wualae (*Etlingera Elatior* (Jack) R.M Smith) . *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)* 5 (2), 189-197.
- Maziyyah, N., et al. (2015). Study On Optimization Of Drug Interactions Medication. 1-19.
- Mukhran. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi, 361-367.
- Neldawati, Ratnawulan , dan Gusnedi. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk. *Pillar Of Physics*, 76-83.
- Oktofani, L. A., dan Suwandi, J. F. (2019). Potensi Tanaman Pepaya (*Carica*

papaya) sebagai Antihelmintik. *Majority*, 246-250.

- Putri, D. D., dan Ashari, S. (2018). Keragaman Dua Varietas Pepaya (*Carica Papaya L.*) Berdasarkan Karakter Kuantitatif Dan Kualitatif. *Jurnal produksi Tanaman*, 1282-1287.
- Putri, L. E. (2017). Penentuan Konsentrasi Senyawa Berwarna $KMnO_4$ Dengan Metoda Spektroskopi UV Visible. *Natural Science Journal*, 391-398.
- Rahayu, S. E., et al. (t.thn.). Potensi Daun Pepaya *Carica pubescens* dan Pengaruhnya terhadap Serangga Hama. *MSOpen Sofia Ery Rahayu, dkk*, 113-121.
- Rehena, J. (2010). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*. LINN) sebagai Antimalaria in vitro . *Uji Aktivitas Ekstrak*, 96-100.
- Sepriyani, H., et al. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pepaya (*Carica Papaya L*) Dengan Metode 2, 2 -Diphenyl -1 -Picrylhydrazil (Dpph). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*9(1),Juni2020, 8-10.
- Sugito, dan Suwandi, E. (2017). Efektifitas Ekstrak Ethanol Daun Pepaya (*Carica Papaya L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi. *JURNAL LABORATORIUM*, 21-25.
- Suryadinata, R. V. (2018). Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). *Suryadinata. Amerta Nutr*,317-32.

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tumbuhan



LABORATORIUM BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI TERAPAN
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

Jl. Ringroad Selatan, Tamanan, Banguntapan, Bantul

SURAT KETERANGAN

Nomor : 053/Lab.Bio/B/II/2021

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan menerangkan bahwa :

Nama : Hafis Ali Naqsabandi
NIM : 17040063
Prodi, PT : Farmasi, STIKES dr. Soebandi Jember

Telah melakukan determinasi tanaman dengan bimbingan Hery Setiyawan, M.Si di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan, pada tanggal 18 Februari 2021

Tanaman tersebut adalah :
Carica papaya L.

Demikian Surat Keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 20 Februari 2021

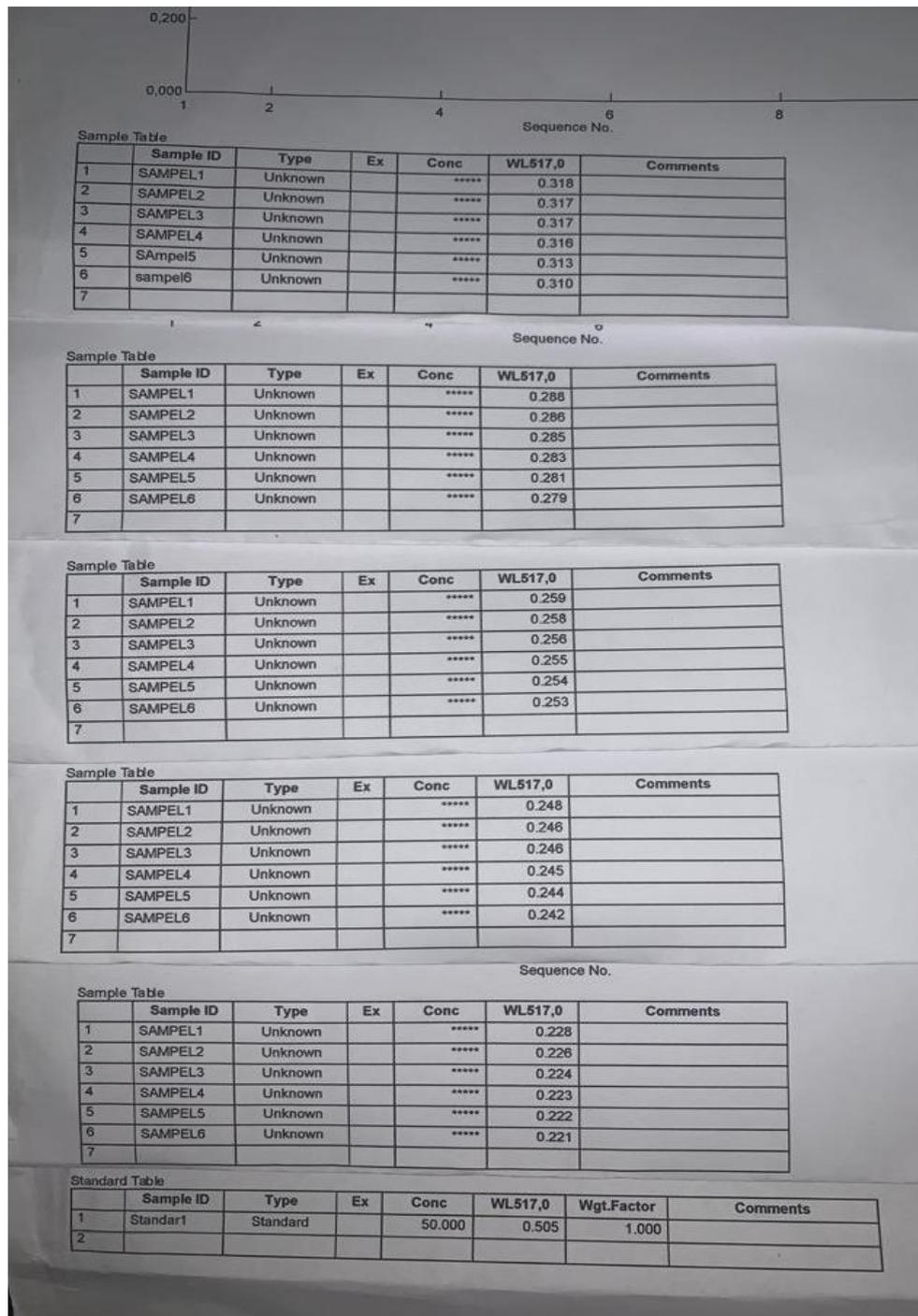
Kepala Lab. Biologi


Drs. Hadi Sasongko, M.Si.

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



(Proses Pengolahan Sampel)



(Data yang dihasilkan Spektro UV vis Untuk Ekstrak)

Sample Table						
Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments	
1	SAMPEL1	Unknown	*****	0.499		
2	SAMPEL2	Unknown	*****	0.498		
3	SAMPEL3	Unknown	*****	0.497		
4	SAMPEL4	Unknown	*****	0.498		
5	SAMPEL5	Unknown	*****	0.495		
6	SAMPEL6	Unknown	*****	0.495		
7						

Sample Table						
Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments	
1	SAMPEL1	Unknown	*****	0.509		
2	SAMPEL2	Unknown	*****	0.508		
3	SAMPEL3	Unknown	*****	0.507		
4	SAMPEL4	Unknown	*****	0.505		
5	SAMPEL5	Unknown	*****	0.504		
6	SAMPEL6	Unknown	*****	0.503		
7						

Sample Table						
Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments	
1	SAMPEL1	Unknown	*****	0.476		
2	SAMPEL2	Unknown	*****	0.476		
3	SAMPEL3	Unknown	*****	0.475		
4	SAMPEL4	Unknown	*****	0.474		
5	SAMPEL5	Unknown	*****	0.473		
6	SAMPEL6	Unknown	*****	0.471		
7						

Sample Table						
Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments	
1	SAMPEL1	Unknown	*****	0.396		
2	SAMPEL2	Unknown	*****	0.395		
3	SAMPEL3	Unknown	*****	0.394		
4	SAMPEL4	Unknown	*****	0.393		
5	SAMPEL5	Unknown	*****	0.392		
6	SAMPEL6	Unknown	*****	0.391		
7						

Sample Table						
Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments	
1	SAMPEL1	Unknown	*****	0.350		
2	SAMPEL2	Unknown	*****	0.351		
3	SAMPEL3	Unknown	*****	0.348		
4	SAMPEL4	Unknown	*****	0.346		
5	SAMPEL5	Unknown	*****	0.344		
6	SAMPEL6	Unknown	*****	0.343		
7						

Standard Table						
Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Wgt.Factor	Comments
1	DPPH	Standard	50.000	0.874	1.000	
2						

(Data yang dihasilkan Spektro UV vis Untuk Quersetin)



(Instrumen yang digunakan)



(Beberapa tahapan proses uji aktivitas antioksidan)



Lampiran 3. Skirining Fitokimia

Tidak ada perubahan saat pengujian senyawa alkaloid



Tidak ada perubahan saat skrining senyawasaponin



Warna biru tua atau hitam menandakan adasenyawa tanin



Tidak ada perubahan skrining flavonoid



Tidak ada perubahan saat pengujian Terpenoid atau steroid



Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen Ekstrak

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

$$\text{Rendemen: } \frac{8,55 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 4.27 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan DPPH

Penimbangan DPPH

$$\begin{aligned} 5 \text{ mg dilarutkan pada } 100 \text{ ml etanol pa} &= \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L} \\ &= 50 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan Larutan Ekstrak dan Quercetin

Perhitungan Sampel ekstrak daun pepaya

Larutan Induk : 10 mg ekstrak dilarutkan pada pada etanol pa 10 ml:

$$: \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L}$$

$$: 1000 \text{ ppm}$$

Kemudian diencerkan di berbagai konsentrasi

$$50 \text{ ppm} : \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} : 0,5 \text{ ml}$$

$$100 \text{ ppm} : \frac{100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} : 1 \text{ ml}$$

$$150 \text{ ppm} : \frac{150 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} : 1,5 \text{ ml}$$

$$200 \text{ ppm} : \frac{200 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} : 2 \text{ ml}$$

$$250 \text{ ppm} : \frac{250 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} : 2,5 \text{ ml}$$

1000 ppm

Perhitungan Quersetin

Larutan Induk : 2 mg ekstrak dilarutkan pada pada etanol pa 10 ml:

$$: \frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L} = 200 \text{ ppm}$$

: 200 ppm

Kemudian diencerkan di berbagai konsentrasi

$$10 \text{ ppm} : \frac{10 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

$$20 \text{ ppm} : \frac{20 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

$$30 \text{ ppm} : \frac{30 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$40 \text{ ppm} : \frac{40 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

$$50 \text{ ppm} : \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

Lampiran 7. Perhitungan % inhibisi

Perhitungan % inhibisi untuk ekstrak

Menit 10

$$50 : \frac{0,505 - 0,318}{0,505} \times 100\% = 37,02 \%$$

$$100 : \frac{0,505 - 0,288}{0,505} \times 100\% = 42,97 \%$$

$$150 : \frac{0,505 - 0,259}{0,505} \times 100\% = 48,71 \%$$

$$200 : \frac{0,505 - 0,248}{0,505} \times 100\% = 50,89 \%$$

$$250 : \frac{0,505 - 0,228}{0,505} \times 100\% = 54,85 \%$$

0,505

Menit 20

$$50 : \frac{0,505 - 0,317}{0,505} \times 100\% = 37,22 \%$$

$$100 : \frac{0,505 - 0,286}{0,505} \times 100\% = 43,36 \%$$

$$150 : \frac{0,505 - 0,258}{0,505} \times 100\% = 48,91 \%$$

$$200 : \frac{0,505 - 0,246}{0,505} \times 100\% = 51,28 \%$$

$$250 : \frac{0,505 - 0,226}{0,505} \times 100\% = 55,24 \%$$

Menit 30

$$50 : \frac{0,505 - 0,317}{0,505} \times 100\% = 37,22 \%$$

$$100 : \frac{0,505 - 0,285}{0,505} \times 100\% = 43,56 \%$$

$$150 : \frac{0,505 - 0,256}{0,505} \times 100\% = 49,30 \%$$

$$200 : \frac{0,505 - 0,246}{0,505} \times 100\% = 51,28 \%$$

$$250 : \frac{0,505 - 0,224}{0,505} \times 100\% = 55,64 \%$$

Menit 40

$$50 : \frac{0,505 - 0,316}{0,505} \times 100\% = 37,42 \%$$

$$100 : \frac{0,505 - 0,283}{0,505} \times 100\% = 43,96 \%$$

$$150 : \frac{0,505 - 0,255}{0,505} \times 100\% = 49,50 \%$$

$$200: \frac{0,505 - 0,245}{0,505} \times 100\% = 51,48 \%$$

$$250: \frac{0,505 - 0,223}{0,505} \times 100\% = 55,84 \%$$

Menit 50

$$50 : \frac{0,505 - 0,313}{0,505} \times 100\% = 38,01 \%$$

$$100: \frac{0,505 - 0,281}{0,505} \times 100\% = 44,35 \%$$

$$150: \frac{0,505 - 0,254}{0,505} \times 100\% = 49,70 \%$$

$$200: \frac{0,505 - 0,244}{0,505} \times 100\% = 51,68 \%$$

$$250: \frac{0,505 - 0,222}{0,505} \times 100\% = 56,03 \%$$

Menit 60

$$50 : \frac{0,505 - 0,310}{0,505} \times 100\% = 38,61 \%$$

$$100: \frac{0,505 - 0,279}{0,505} \times 100\% = 44,75 \%$$

$$150: \frac{0,505 - 0,253}{0,505} \times 100\% = 49,90 \%$$

$$200: \frac{0,505 - 0,242}{0,505} \times 100\% = 52,07 \%$$

$$250: \frac{0,505 - 0,221}{0,505} \times 100\% = 56,23 \%$$

Perhitungan % inhibisi untuk Quersetin

Menit 10

$$10 : \frac{0,874 - 0,509}{0,890} \times 100\% = 41,76 \%$$

$$20: \frac{0,874 - 0,499}{0,890} \times 100\% = 42,90 \%$$

$$30: \frac{0,874 - 0,476}{0,890} \times 100\% = 45,53 \%$$

$$40: \frac{0,874 - 0,396}{0,890} \times 100\% = 54,69 \%$$

$$50: \frac{0,890 - 0,350}{0,890} \times 100\% = 59,95 \%$$

Menit 20

$$10 : \frac{0,874 - 0,508}{0,890} \times 100\% = 41,87 \%$$

$$20: \frac{0,874 - 0,498}{0,890} \times 100\% = 43,02 \%$$

$$30: \frac{0,874 - 0,476}{0,890} \times 100\% = 45,53 \%$$

$$40: \frac{0,874 - 0,395}{0,890} \times 100\% = 54,80 \%$$

$$50: \frac{0,890 - 0,351}{0,890} \times 100\% = 59,83 \%$$

Menit 30

$$10 : \frac{0,874 - 0,507}{0,890} \times 100\% = 41,99 \%$$

$$20: \frac{0,874 - 0,497}{0,890} \times 100\% = 43,13 \%$$

$$30: \frac{0,874 - 0,475}{0,890} \times 100\% = 45,65 \%$$

$$40: \frac{0,874 - 0,394}{0,890} \times 100\% = 54,91 \%$$

$$50: \frac{0,890 - 0,348}{0,890} \times 100\% = 60,18 \%$$

Menit 40

$$10 : \frac{0,874 - 0,505}{0,890} \times 100\% = 42,21 \%$$

$$20: \frac{0,874 - 0,496}{0,890} \times 100\% = 43,24 \%$$

$$30: \frac{0,874 - 0,474}{0,890} \times 100\% = 45,76 \%$$

$$40: \frac{0,874 - 0,392}{0,890} \times 100\% = 55,14 \%$$

$$50: \frac{0,890 - 0,346}{0,890} \times 100\% = 60,41 \%$$

Menit 50

$$10: \frac{0,874 - 0,504}{0,890} \times 100\% = 42,33 \%$$

$$20: \frac{0,874 - 0,495}{0,890} \times 100\% = 43,36 \%$$

$$30: \frac{0,874 - 0,473}{0,890} \times 100\% = 45,88 \%$$

$$40: \frac{0,874 - 0,392}{0,890} \times 100\% = 55,14 \%$$

$$50: \frac{0,890 - 0,344}{0,890} \times 100\% = 60,64 \%$$

Menit 60

$$10: \frac{0,874 - 0,503}{0,890} \times 100\% = 42,33 \%$$

$$20: \frac{0,874 - 0,496}{0,890} \times 100\% = 43,24 \%$$

$$30: \frac{0,874 - 0,471}{0,890} \times 100\% = 46,10 \%$$

$$40: \frac{0,874 - 0,391}{0,890} \times 100\% = 55,26 \%$$

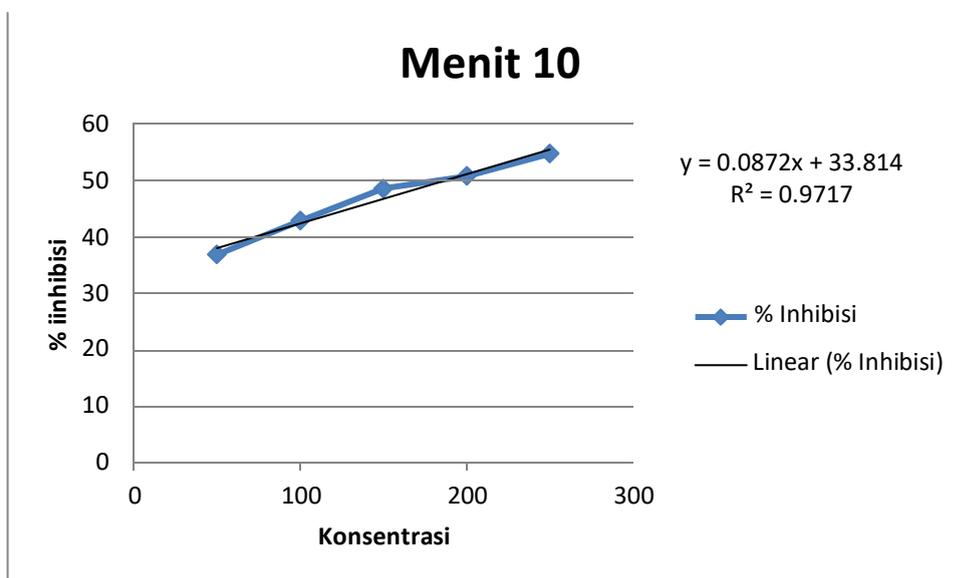
$$50: \frac{0,890 - 0,343}{0,890} \times 100\% = 60,75 \%$$

Lampiran 8 Grafik dan Perhitungan IC50

Perhitungan Ekstrak Daun Pepaya dan Quersetin

Menit 10

Konsentrasi	% Inhibisi
10	37.02 %
20	42.97 %
30	48.97 %
40	50.89 %
50	54.85 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

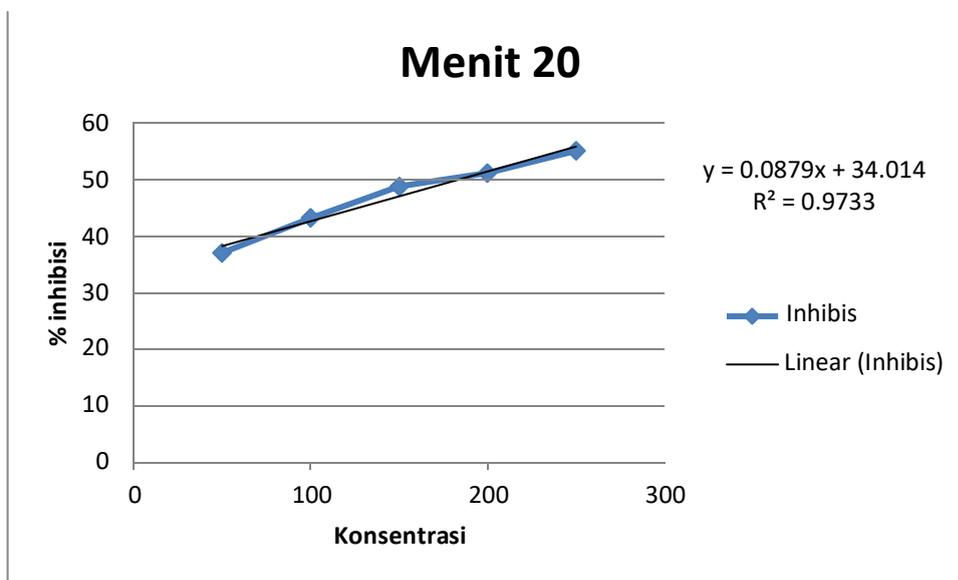
$$Y = 0,0872x + 33,814$$

$$\frac{50-A}{B} = 184,77 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 20

Konsentrasi	% Inhibisi
10	37.22 %
20	43.36 %
30	48.91 %
40	51.28 %
50	55.24 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

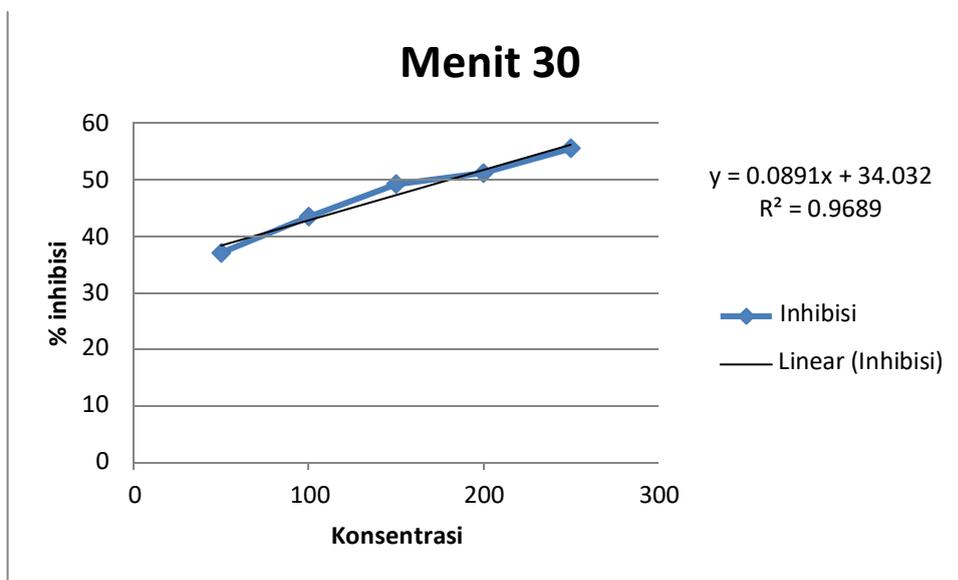
$$Y = 0,0879x + 34,014$$

$$\frac{50-A}{B} = 181.82 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 30

Konsentrasi	% Inhibisi
10	37.22 %
20	43.56 %
30	48.30 %
40	51.28 %
50	55.64 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

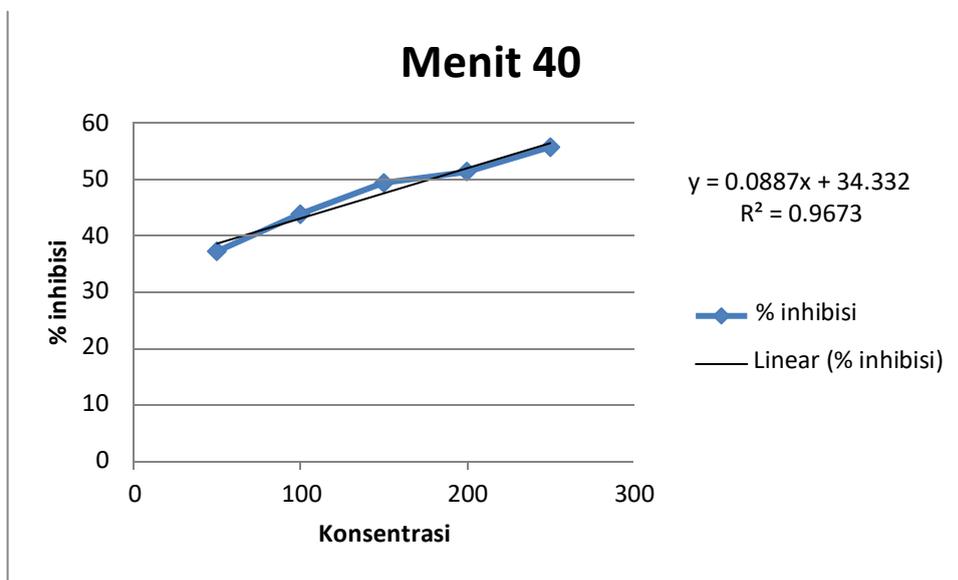
$$Y = 0,0891x + 34,032$$

$$\frac{50-A}{B} = 179.17 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 40

Konsentrasi	% Inhibisi
10	37.42 %
20	43.96 %
30	49.50 %
40	51.68 %
50	56.03 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

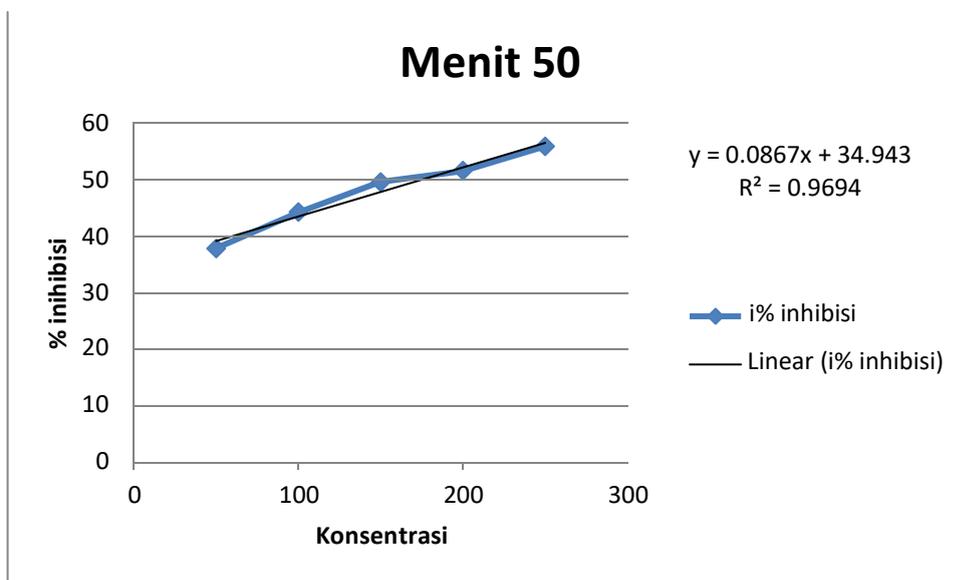
$$Y = 0,0887x + 34,332$$

$$\frac{50-A}{B} = 176.60 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 50

Konsentrasi	% Inhibisi
10	38.01 %
20	44.35 %
30	49.70 %
40	51.68 %
50	56.03 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

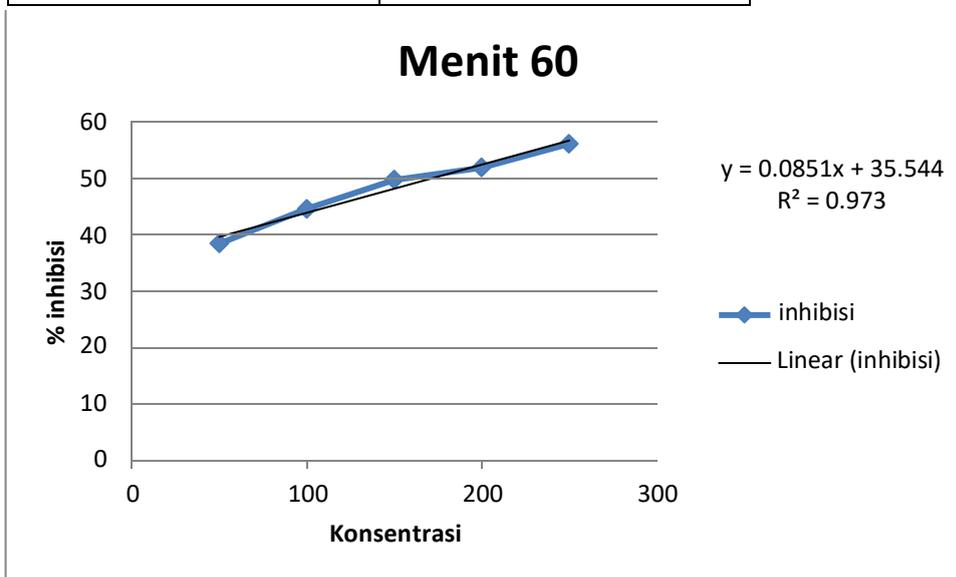
$$Y = 0,0867x + 34,943$$

$$\frac{50-A}{B} = 173.58 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 60

Konsentrasi	% Inhibisi
10	38.61 %
20	44.75 %
30	44.90 %
40	52.07 %
50	56.23 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

$$Y = 0,0851x + 35,544$$

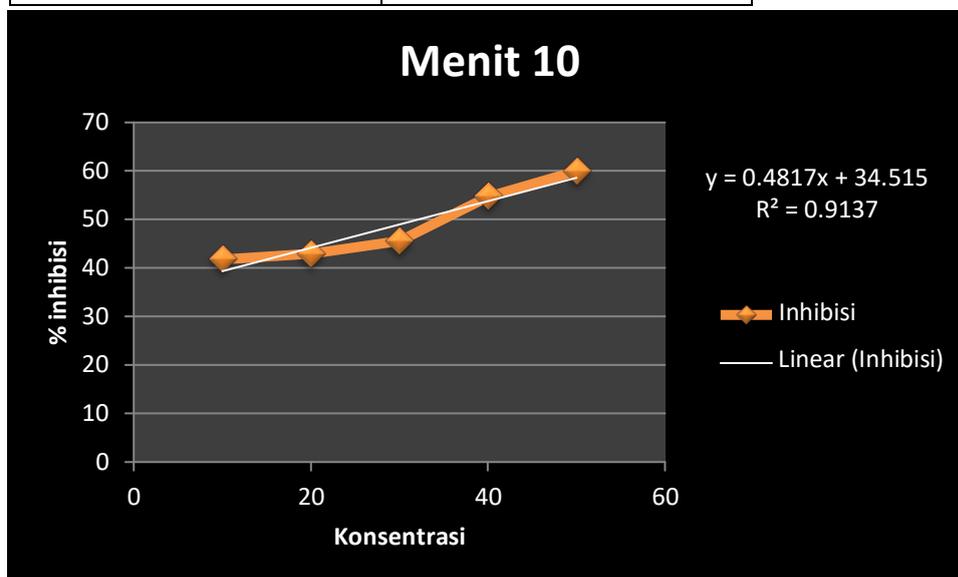
$$\frac{50-A}{B} = 173.58 \mu\text{g/ml}$$

B

Perhitungan Quersetin

Menit 10

Konsentrasi	% Inhibisi
10	0.509 %
20	0.499 %
30	45.53 %
40	54.69 %
50	59.95 %



Persamaan Linier

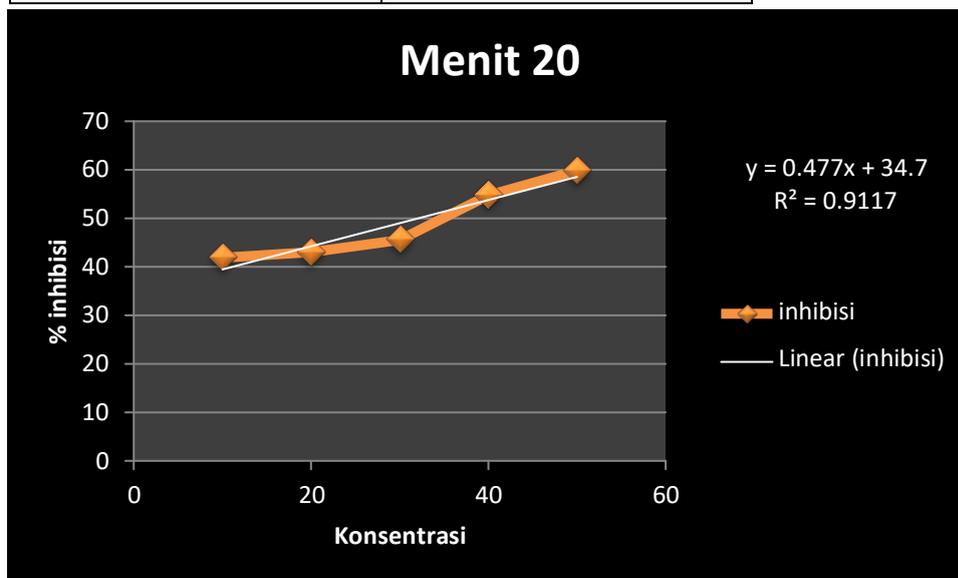
$$Y = bx + a$$

$$Y = 0,4817x + 34,515$$

$$\frac{50-A}{B} = 32.146 \mu\text{g/ml}$$

Menit 20

Konsentrasi	% Inhibisi
10	41.87 %
20	43.02 %
30	45.53 %
40	54.80 %
50	59.83 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

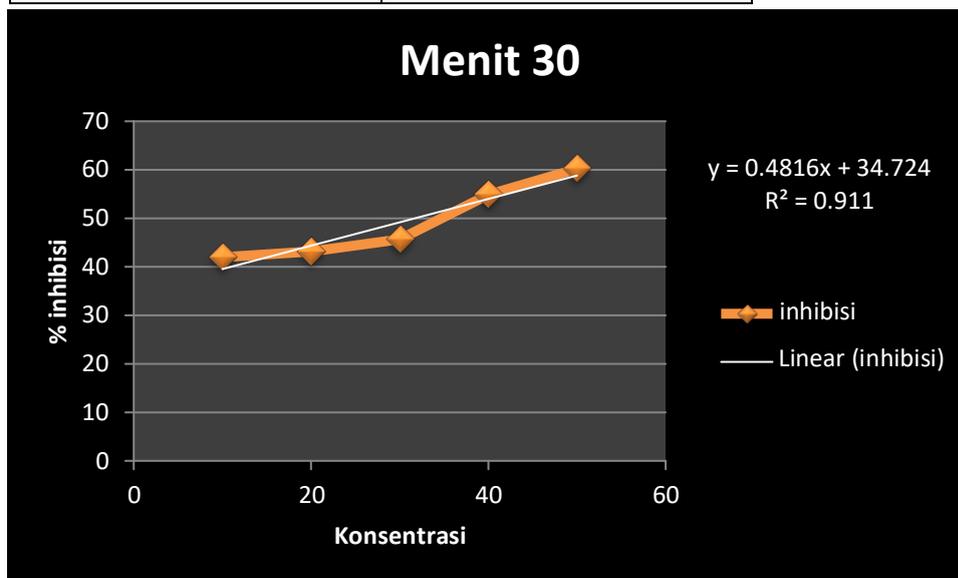
$$Y = 0,477x + 34,7$$

$$\frac{50-A}{B} = 32.075 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 30

Konsentrasi	% Inhibisi
10	41.99 %
20	43.13 %
30	45.63 %
40	54.91 %
50	60.18 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

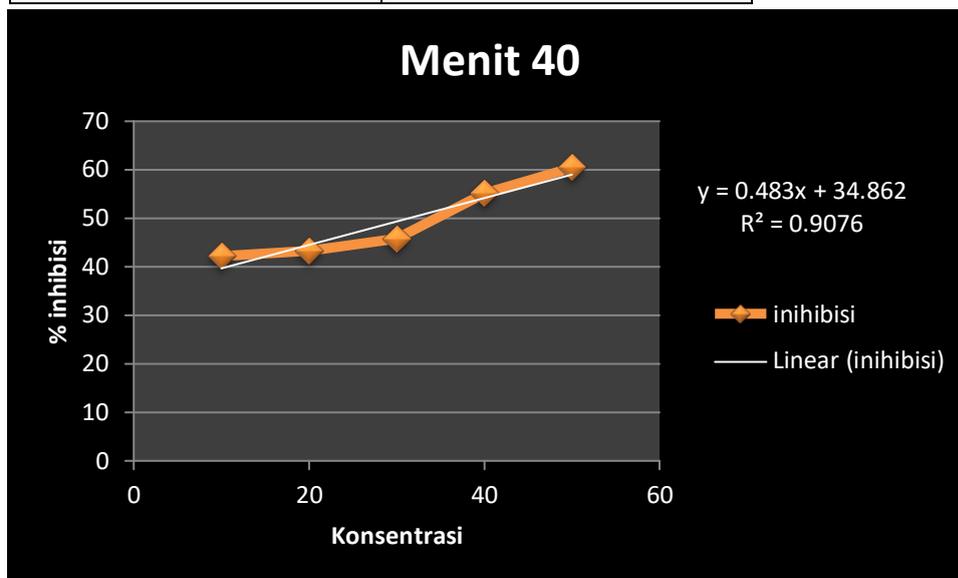
$$Y = 0,4816x + 34,724$$

$$\frac{50-A}{B} = 31.719 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 40

Konsentrasi	% Inhibisi
10	42.21 %
20	43.24 %
30	45.76 %
40	55.14 %
50	60.41 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

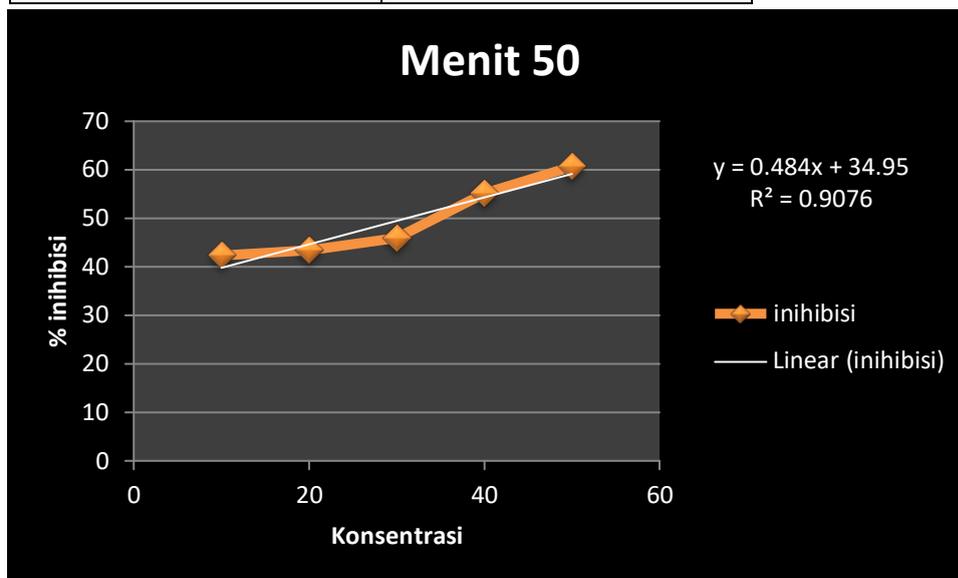
$$Y = 0,483x + 34,862$$

$$\frac{50-A}{B} = 31.341 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 50

Konsentrasi	% Inhibisi
10	42.33 %
20	43.36 %
30	45.88 %
40	55.14 %
50	60.64 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

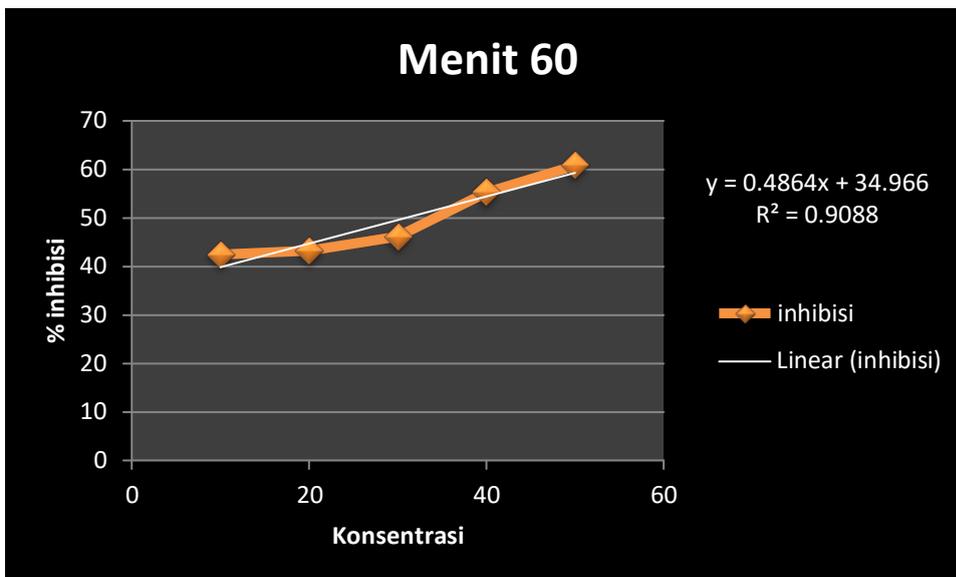
$$Y = 0,484x + 34,95$$

$$\frac{50-A}{B} = 31.095 \mu\text{g/ml}$$

B

Menit 60

Konsentrasi	% Inhibisi
10	42.44 %
20	43.24 %
30	46.10 %
40	55.26 %
50	60.75 %



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

$$Y = 0,4864x + 34,966$$

$$\frac{50-A}{B} = 30.908 \mu\text{g/ml}$$

B