

**SKRINING DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI
ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*) DENGAN METODE DPPH
(2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)**

SKRIPSI



**Oleh :
Iqbal Gifar Maulana
NIM 18040047**

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

**SKRINING DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI
ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis*) DENGAN METODE DPPH
(2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)**

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi
Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



**Oleh :
Iqbal Gifar Maulana
NIM 18040047**

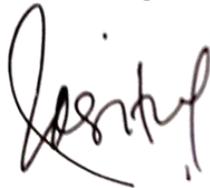
**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

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

Jember, September 2022

Pembimbing Utama



Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm

NIDN. 0001028102

Pembimbing Anggota



apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M. Farm

NIDN. 0703028901

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi Tugas akhir yang berjudul “*Skrining Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)* ” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 21 September 2022

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

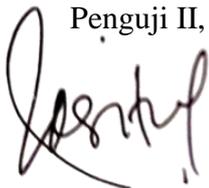
Tim Penguji

Ketua Penguji,



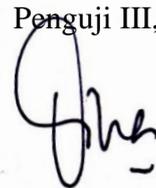
Susilawati, M.Kes
NIDN. 4003127401

Penguji II,



Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm
NIDN. 0001028102

Penguji III,



apt. Dina Trianggaluh, M. Farm
NIDN. 0703028901

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas dr. Soebandi,



Ns. Nela Melly Tursina, S.Kep., M.Kep
NIDN. 0706109104

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Iqbal Gifar Maulana

NIM : 18040047

Program Studi : Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

Menyatakan bahwa Skripsi saya yang berjudul “Skринing Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Dengan Metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*)” adalah karya saya sendiri dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan suatu perguruan tinggi manapun. Selain itu, sumber informasi yang dikutip penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari ditemukan adanya kecurangan dalam penyusunan Skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jember, September 2022

Yang menyatakan,



Iqbal Gifar Maulana
NIM. 18040047

SKRIPSI

SKRINING DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*) DENGAN METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)

Oleh:

Iqbal Gifar Maulana
NIM. 18040047

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr.apr.Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh, M.Farm

PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur yang mendalam telah diselesaikannya Skripsi ini.

Skripsi ini dengan penuh hati saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan karunianya, serta kepada junjungan nabi besar Muhammad SAW yang selalu menginspirasi penulis.
2. Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya yang sangat berjasa dalam hidup saya, serta keluarga besar terimakasih yang selalu memberikan doa, kasih sayang, nasihat, pengorbanan yang senantiasa memberikan kekuatan sehingga membuat segalanya terselesaikan dengan baik dan saya bisa sampai tahap dimana skripsi ini selesai.
3. Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm selaku dosen pembimbing utama, apt. Dina Trianggaluh, M.Farm selaku dosen pembimbing anggota, dan Ibu Susilawati, M.kes selaku dosen penguji saya yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.
4. Kepada segenap Ibu dan Bapak Dosen Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman selama perkuliahan.
5. Wahyu Febri Nugroho, Insome Coffee serta jajarannya, dan Dharma Ayu Ningtyas yang selalu menjadi penyemangat suka maupun duka dan terimakasih selalu menjadi pendengar yang baik dan tempat berbagi keluh kesah bagi saya.

6. Terimakasih juga kepada teman-temanku yang telah banyak menemani selama menempuh pendidikan farmasi di Universitas dr. Soebandi, canda, tawa, dan banyak momen yang telah kita lewati bersama.
7. Untuk teman-teman seperjuangan Indra Wahyu, Dio Anggi, Naufal Fidaus, Fuad Shufi, Bagus Yoga, Dista Rini, Hasisah, Aurelia, Anya, Tiara, Cita, Hamdan, Aden, Dhea Melani dan masih banyak lagi terimakasih untuk kerja samanya dalam 4 tahun ini, semoga kita juga bisa berkerja sama selalu sampai kapanpun.
8. Teman kuliah satu angkatan terutama kelas 18A Farmasi terimakasih untuk perjuangan yang telah kita lewati bersama dan sukses untuk kita semua.
9. Kepada rekan-rekan dan staf di Laboratorium Teknologi yang menerima dengan sepenuh hati sehingga membantu kelancaran dalam proses penyelesaian skripsi ini.
10. Untuk Iqbal Gifar Maulana kamu sangat keren sekali dengan mengerjakan skripsi sangat sungguh-sungguh, semoga kehidupanmu nanti akan lebih baik dan terkabul doa harapan dan cita-citamu.

MOTTO

“Hidup akan jauh lebih mudah dengan cara berbagi hal-hal yang positif”

(Dharma Ayu Ningtyas)

“Jalan sesulit apapun yang kamu lalui tetaplah supportif dalam menyelesaikan sesuatu. Pengalaman sulit akan berarti pada waktu sukses nanti ”

(Wahyu Febri Nugroho)

“Untuk mencari sesuatu hal yang baik perlu proses yang tidak mudah. Banyak perjuangan dibalik kenikmatan V60 yang kita nikmati.”

(Insome Coffee)

“Sejatinya hidup adalah bermanfaat bagi lingkungan sekitar.”

(Ma’ul)

ABSTRAK

Gifar, Iqbal Maulana*, Puspaningtyas, Ayik Rosita**, Fauziah, Dina Triangguluh***. 2022. **Skrining Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang : Stres oksidatif berperan penting dalam patofisiologi proses penuaan dan berbagai penyakit degeneratif seperti hipertensi, diabetes mellitus dan komplikasinya. Tubuh membutuhkan antioksidan yang dapat mengatasi stres oksidatif. Antioksidan bisa diperoleh dari buah-buahan, sayuran dan biji-bijian. Dan salah satu antioksidan dari tumbuhan yaitu daun sukun. Perlu pengujian untuk melihat intensitas antioksidan daun sukun.

Metode : Ekstraksi daun sukun dengan pelarut etanol 96% dan frkasinasi menggunakan etil asetat. Dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan. Dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) dideteksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil Penelitian : Aktivitas antioksidan (IC50) fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebesar 98,189 µg/mL. Skrining fitokimia menunjukkan hasil hasil positif flavonoid, fenolik, tanin, dan saponin.

Kesimpulan : Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan antioksidan kuat. Memiliki kandungan berupa senyawa flavonoid, fenolik, tanin, dan saponin.

Kata Kunci : Daun sukun (*Artocarpus altilis*) , DPPH , IC50, Skrining fitokimia.

*Peneliti

** Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Gifar, Iqbal Maulana*, Puspaningtyas, Ayik Rosita**, Fauziah, Dina Triangguluh***. 2022. **Screening and IC50 (Inhibition Concentration 50%) of Ethyl Acetate Fraction Ethanol Extract of Breadfruit Leaves (*Artocarpus altilis*) With the DPPH Method (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)**. Essay. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi.

Introduction : Oxidative stress plays an important role in the pathophysiology of the aging process and various degenerative diseases such as hypertension, diabetes mellitus and its complications. The body needs antioxidants that can cope with oxidative stress. Antioxidants can be obtained from fruits, vegetables and whole grains. And one of the antioxidants from plants is breadfruit leaves. It is necessary to test to see the antioxidant intensity of breadfruit leaves.

Methods : Extraction of breadfruit leaves with 96% ethanol solvent and fractionation using ethyl acetate. Phytochemical screening was carried out to determine the compounds that provide antioxidant activity. Antioxidant activity was tested using the DPPH method (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) and detected using a UV-Vis spectrophotometer.

Result : Antioxidant activity (IC50) of the ethyl acetate fraction of the ethanol extract of breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*) was 98.189 g/mL. Phytochemical screening showed positive results for flavonoids, phenolics, tannins, and saponins.

Conclusion: Antioxidant activity of the ethyl acetate fraction of the ethanol extract of breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*) is a strong antioxidant. It contains flavonoid, phenolic, tannin, and saponin compounds.

Keywords: Breadfruit (*Artocarpus altilis*) leaves, DPPH, IC50, Phytochemical screening.

*Author

** Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “SKRINING DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*) DENGAN METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)”. Skripsi ini disusun guna untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar sarjana di Universitas dr. Soebandi Jember.

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Said Mardijanto, S.Kep., MM selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
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
4. Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm Selaku pembimbing utama
5. apt. Dina Trianggaluh, M.Farm selaku pembimbing anggota
6. Susilawati, M.Kes selaku ketua penguji

Penulis sejatinya menyadari akan kekurangan atau keterbatasan pengetahuan penulis maka dengan itu penulis mengharap kritik dan saran semua pihak demi kelengkapan dan kesempurnaan proposal skripsi ini . Terlepas dari itu penulis berharap semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak . Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, September 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	ix
ABSTRAK	x
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Keaslian Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	7
2.1.1 Morfologi tanaman.....	7
2.1.2 Klasifikasi	9
2.1.3 Kandungan kimia dan manfaat untuk kesehatan.....	9
2.1.4 Efek samping	10
2.2 Radikal Bebas	10
2.2.1 Teori.....	10
2.2.2 Mekanisme.....	11

2.2.3 Sumber	11
2.2.4 Penyakit yang ditimbulkan radikal bebas	12
2.3 Antioksidan.....	13
2.3.1 Teori.....	13
2.3.2 Mekanisme.....	14
2.3.3 Sumber	14
2.4 Uji aktivitas antioksidan.....	16
2.5 DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)	16
2.5.1 Definisi.....	17
2.5.2 Reaksi DPPH Dengan Antioksidan.....	17
2.5.3 Parameter antioksidan	18
2.6 Ekstraksi	18
2.6.1 Definisi.....	18
2.6.2 Macam-macam metode ekstraksi.....	19
2.7 Instrumen.....	23
2.7.1 Spektrofotometer UV-Vis	23
2.7.2 Jenis	24
2.7.3 Bagian-bagian	25
2.7.4 Syarat penggunaan	27
2.7.5 Hasil	27
2.7.6 Pengujian secara In Vitro.....	28
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	29
3.1 Kerangka Konsep.....	29
3.2 Hipotesis	30
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....	31
4.1 Desain Penelitian	31
4.2 Populasi dan Sampel.....	31
4.3 Variabel Penelitian.....	31
4.3.1 Variabel Bebas	31
4.3.2 Variabel Terikat	31
4.3.3 Variabel Terkendali	32
4.4 Tempat Penelitian	32
4.5 Waktu Penelitian.....	32

4.6 Definisi Oprasional	32
4.7 Teknik Pengumpulan Data	33
4.7.1 Alat dan Bahan.....	33
4.7.2 Determinasi Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	34
4.7.3 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	34
4.7.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	35
4.7.5 Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	35
4.7.6 Skrining Fitokimia	36
4.7.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan	37
4.8 Teknik Analisis Data.....	40
BAB 5 HASIL PENELITIAN	41
5.1 Hasil Determinasi Tanaman	41
5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel	41
5.3 Ekstraksi	41
5.3.1 Maserasi	41
5.3.2 Fraksinasi	42
5.4 Skrining Fitokimia	43
5.5 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	43
5.6 Optimasi Waktu Inkubasi	44
5.7 Nilai Absorbansi dan Persentase Peredaman.....	45
5.8 Nilai IC50	46
5.9 Analisa Data.....	47
BAB 6 PEMBAHASAN	48
6.1 Pengumpulan Sampel	48
6.2 Skrining Fitokimia	49
6.3 Pengukuran Panjang Gelombang DPPH.....	51
6.4 Optimasi Waktu Inkubasi	52
6.5 Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Sukun ..	52
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	55
7.1 Kesimpulan	55
7.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2.1 Contoh sumber makanan yang mengandung flavonoid.....	15
Tabel 2.2 Macam-macam cara uji antioksidan.....	16
Tabel 2.3 Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan metode.....	18
Tabel 2.4 Spektrum cahaya dan warna komplementer.....	28
Tabel 4.1 Definisi oprasional.....	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Daun sukun (<i>Artocarpus altilis</i>).....	8
Gambar 2.2 Pembentukan radikal bebas.....	10
Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan antioksidan.....	17
Gambar 2.4 Spektrometer UV-Vis (single beam).....	23
Gambar 2.5 Skema alat spektrometer UV-Vis (single beam).....	24
Gambar 2.6 Skema alat spektrofotometer UV-Vis (Double-beam).....	25
Gambar 3.1 Kerangka konseptual.....	29
Gambar 5.1 Panjang gelombang maksimum DPPPH.....	43
Gambar 5.2 Absorbansi kuersetin menit ke-10 sampai menit ke-60.....	43

DAFTAR SINGKATAN

BHA	: <i>Butylated hydroxyanisole</i>
BHT	: <i>Butylated hydroxytoluene</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPPH	: <i>2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl</i>
GSH.Prx	: <i>Glutation peroksidase</i>
IC50	: <i>Inhibisi Concentration 50%</i>
NAC	: <i>N-acetylcysteine</i>
RKD	: <i>Rekening Khas Desa</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Spesies</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoksida dismutase</i>
TBHQ	: <i>Tert-Butil Hidoksi Quinon</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Pola hidup manusia di saat ini sudah mengalami perubahan seiring dengan perkembangan waktu. Pola hidup yang sangat berubah ialah pola makan. Pola makan yang tak sehat serta tak jarang terpaparnya zat bahaya kedalam tubuh bisa mengakibatkan penyakit serta kondisi degeneratif. Sebagian besar penyakit diawali oleh reaksi oksidasi berlebihan pada sel tubuh manusia (Yuslianti, 2018).

Indonesia sebagai negara berkembang memiliki keterbatasan mengatasi penyakit degeneratif dalam pencegahannya. Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, menunjukkan prevalensi penyakit degeneratif mengalami kenaikan jika dibandingkan Riskesdas 2013, antara lain hipertensi sebesar 25,8% dan meningkat menjadi 34,1%, untuk diabetes melitus menurut perkeni 2011 ditahun 2013 sebanyak 6,9% dan meningkat ditahun 2018 sebanyak 8,5% dan menurut perkeni 2015 ditahun 2018 berkisar 10,9% (Kemenkes RI, 2018) (Kemenkes RI, 2018). Stres oksidatif berperan penting dalam patofisiologi proses penuaan dan berbagai penyakit degeneratif seperti hipertensi, diabetes mellitus dan komplikasinya. Tubuh membutuhkan antioksidan untuk mengatasi dan mencegah stres oksidatif.

Untuk menghentikan radikal bebas tubuh manusia mempunyai sistem pertahanan salah satunya pembentukan antioksidan endogen (Wijaya & Junaidi, 2011). Antioksidan endogen dapat dibedakan menjadi dua yaitu

antioksidan endogen non-enzimatik dan antioksidan endogen enzimatis, contoh antioksidan non-enzimatik adalah asam urat, glutathione, bilirubin, tiol, albumin, dan faktor nutrisi termasuk di antaranya vitamin dan fenol dan untuk contoh antioksidan enzimatis yaitu, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, dan catalase. Pada orang normal, antioksidan endogen akan menyeimbangkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Zalukhu *et al.*, 2016). Tubuh memiliki sistem pertahanan lain yang dapat melindungi dari radikal bebas adalah kulit, namun kulit yang terpapar sinar UV (*Ultraviolet*) matahari secara terus menerus berpotensi menyebabkan terbentuknya radikal bebas, untuk itu diperlukan antioksidan dari luar yang berfungsi untuk menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai (Sari, 2015). Hasil penelitian ilmiah menunjukkan buah-buahan, sayuran dan biji-bijian adalah sumber antioksidan yang baik dan bisa meredam reaksi berantai radikal bebas dalam tubuh. Tubuh supaya mendapatkan pasokan antioksidan yang cukup dianjurkan konsumsi makanan yang kaya akan kandungan antioksidan, itu suatu hal yang mutlak dilakukan (Momuat *et al.*, 2019).

Bahan-bahan alami banyak di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai antioksidan tapi belum diteliti, salah satunya yaitu fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun sukun. Perlu pemanfaatan bahan alam yang berasal dari Indonesia sebagai antioksidan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif terjangkau. Berbagai obat sintetik

yang mengandung antioksidan, antara lain NAC (N-acetylcysteine), BHA (Butylated hydroxyanisole), BHT (Butylated hydroxytoluene), TBHQ (Tert-Butil Hidrosi Quinon) dan ada antioksidan semisintetik yaitu kuersetin (Simanjuntak, 2012 ; Werdhasari, 2014).

Pernah dilakukan skrining fitokimia pada bunga sukun mengandung metabolit sekunder flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol yang memiliki potensi sebagai bahan antioksidan (Kurniawati & Sutoyo, 2021). Dan pernah dilakukan skrining pada tanaman kluwih bagian daun mengandung metabolit sekunder flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol (Nurlaila *et al.*, 2017). Kluwih merupakan tanaman dengan genus yang sama seperti sukun. Oleh karena itu kami dalam penelitian ini melakukan skrining ekstrak daun sukun untuk mengetahui kandungan metabolitnya.

Bahwa daun sukun sebelumnya sudah diteliti tetapi berbeda dengan penelitian yang kami lakukan. Penelitian dilakukan oleh Misfadhila (2019) dalam menentukan aktivitas antioksidan daun sukun menggunakan ekstrak metanol beda dengan penelitian yang kami lakukan yaitu menggunakan fraksi etil asetat ekstrak etanol. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Misfadhila (2019) didapatkan hasil antioksidan yang sangat lemah, sehingga dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol sebagai pembeda, pelarut etanol digunakan dalam penelitian oleh Verdiana (2018) pada kulit lemon memiliki persentase aktivitas tertinggi dibanding dengan pelarut metanol dan melakukan fraksi etil asetat dengan harapan memperoleh intensitas antioksidan yang kuat (Khaerunnisa & Fakhrudin,

2015). Dalam penelitian juga dilakukan skrining fitokimia yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu, alkaloid, fenolik, tanin, saponin, dan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan. Dari hasil uraian penelitian tersebut maka dilakukan skrining dan uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan dan kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun sukun (*Artocarpus altilis*). Dengan menggunakan DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) untuk melihat penghambatan ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap DPPH yang fungsinya sebagai antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil skrining fitokimia pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) ?
2. Berapa nilai IC50 (*Inhibisi Concentration* 50%) pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap DPPH ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara kualitatif skrining fitokimia pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*).
2. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisa persen hambatan pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap DPPH.
3. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan intensitas antioksidan daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang kuat dengan cara pengekstrakan menggunakan pelarut etanol dan fraksinasi etil asetat.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mendapat beberapa manfaat, sebagai berikut :

1. Mengetahui hasil skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan yang terkandung pada fraksi etil asetat ekstrak etanol dari daun sukun (*Artocarpus altilis*).
2. Dapat dijadikan sumber pengetahuan alam akan kandungan didalam tanaman sukun sebagai antioksidan.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Judul	Persamaan	Perbedaan
Misfadhila (2019)	Penggunaan Metode DPPH dalam Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dan Fraksi Daun Sukun	a. Menggunakan metode DPPH. b. Menggunakan sampel daun sukun	a. Menggunakan pelarut metanol sedangkan penelitian ini menggunakan pelarut etanol b. Menggunakan baku pemabnding vitamin c, sedangkan pada penelitian ini menggunakan pembanding kuersetin
Kapitan (2018)	Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Afrika Dengan Metode DPPH	a. Menggunakan metode DPPH. b. Ekstraksi dengan metode fraksinasi ekstrak etanol	a. Menggunakan sampel daun afrika, sedangkan dalam penelitian ini menggunakan sampel uji dari daun sukun b. Menggunakan baku pemabnding vitamin c, sedangkan pada penelitian ini menggunakan pembanding kuersetin.
Nugroho (2021)	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Arum Manis Dengan Metode DPPH	a. Menggunakan metode DPPH. b. Langkah-langkah penelitian.	a. Menggunakan sampel tanaman manggan arum manis sedangkan penelitian ini menggunakan tanaman sukun b. Ekstraksi dengan cara maserasi saja, sedangkan dalam penelitian ini menggunakan prooses ekstraksi fraksinasi

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis*)

2.1.1 Morfologi tanaman

Penyebaran tanaman sukun di Indonesia sangat luas mulai dari Aceh sampai Papua. Sukun sangat cocok tumbuh di daerah panas dan beriklim tropis. Penanaman pada lahan terbuka tidak ternaungi akan membantu pertumbuhan dan produksi sukun. Buah sukun lokal rata-rata memiliki berat 1-2 kg/buah dan jumlah buah sekali panen ± 50 buah/pohon. Di Indonesia keberadaan sukun ini masih bersifat sporadis dan tidak dibudidayakan. Permasalahan yang sering muncul yaitu sukun tumbuh di tepian hutan, sawah dan sungai serta ditanam tanpa ada tujuan komersil di kebun atau pekarangan rumah, padahal kondisi iklim tergolong cocok untuk membudidayakan sukun secara intensif (Helna Estalansa, Endang Yuniastuti, 2018).

Tanaman sukun memiliki tinggi yang bervariasi, rata-rata berkisaran ± 17 m dan tanaman sukun diperkirakan bisa mencapai umur 11-30 tahun. Daun sukun memiliki bentuk bulat telur dengan pangkal membaji seperti segitiga sama kaki membalik, ujung meruncing, dan bertulang daun menyirip. daun sukun bagian atas memiliki warna hijau tua dengan tulang daun yang berwarna hijau atau hijau kekuningan, sedangkan bagian bawah daun sukun berwarna hijau kusam. bagian atas daun sukun licin, mengkilap dan halus, sedangkan untuk bagian bawah daun memiliki rambut-rambut halus dan bertekstur kasar.

Daun sukun memiliki lebar 22 cm hingga 90 cm. Tanaman sukun juga memiliki bunga , sukun termasuk tanaman berumah satu dengan kelamin tunggal, karena bunga jantan dan bunga betinanya terpisah tetapi masih dalam satu tanaman. Diameter bunga jantan sukun terbesar yaitu 3,0 dan yang terkecil yaitu 1,7 cm. Bunga sukun keluar dari ketiak daun pada ujung cabang. Bunga betina sukun berbentuk bulat dengan tangkai yang pendek dan biasa disebut dengan babal. Bentuk bunga jantan sukun seperti gada atau tongkat panjang yang biasa disebut dengan ontel. Bunga betina memiliki warna hijau muda. Bunga betina pada sukun bertangkai pendek, kaku, dan berwarna hijau. Bunga jantan sukun memiliki warna yaitu hijau muda ketika muda, kuning tua ketika masak, dan coklat ketika tua. Tanaman sukun juga memiliki buah berbentuk bujur dan bulan berwarna hijau dan hijau kekuningan jika buah sudah masak (Helna Estalansa, Endang Yuniastuti, 2018).



Gambar 2.1 Daun sukun (*Artocarpus altilis*)

2.1.2 Klasifikasi

Sukun disebut juga buah roti (breadfruit) karena teksturnya mirip roti setelah dimasak. Berikut adalah klasifikasi tanaman sukun menurut (Ir.Kasma Iwari, 2020):

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheophyta (tumbuhan berpembuluh)
Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Subdivisi	: Magnoliopsida (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledoneae (berkeping dua)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Urticales
Famili	: Manaceae (suku nangka-nangkaan)
Genus	: Artocarpus
Species	: <i>Artocarpus altilis</i>

2.1.3 Kandungan kimia dan manfaat untuk kesehatan

Kandungan kimia pada daun sukun berupa flavonoid, saponin, polifenol, tanin, asam hidrosianat, asetilkolin dan riboflavin (Aulia & Sinata, 2019). Daun sukun dapat dimanfaatkan untuk kesehatan karena mengandung senyawa flavonoid yang dahsyat dalam penyembuhan penyakit diantaranya yaitu antioksidan, antiinflamasi, antiplatelet, antidiabetes, dan antikanker. Daun sukun juga memiliki kandungan kuersetin, kaporol, dan artoindonesianin yang dapat menghambat serta

membunuh pertumbuhan mikroorganisme yang merugikan bagi tubuh (Sariyem *et al.*, 2015).

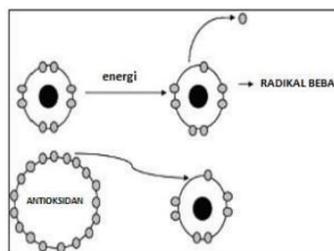
2.1.4 Efek samping

Mengonsumsi daun sukun sampai saat ini masih belum ada laporan tentang adanya efek samping atau belum ada penelitian lebih lanjut mengenai efek samping yang terjadi saat mengonsumsi daun sukun.

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Teori

Radikal bebas atau ROS adalah molekul yang terbentuk ketika molekul oksigen bergabung dengan molekul lain menghasilkan elektron ganjil. Molekul oksigen memiliki elektron berpasangan yang stabil, bila terdapat elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya maka oksigen akan bersifat reaktif dan tidak stabil. Molekul oksigen yang tidak berpasangan ini akan mencari dan merebut elektron dari komponen vital didekatnya untuk melepaskan energi ekstra dan kembali ke kondisi stabil. Apabila radikal bebas tidak berikatan dengan antioksidan maka reaksi oksidasi akan terus berlanjut atau membentuk kaskade yang menyebabkan kerusakan sel (Andarina & Djauhari, 2017).



Gambar 2.2 Pembentukan radikal bebas dan peran antioksidan menstabilkan radikal bebas (Andarina & Djauhari, 2017).

2.2.2 Mekanisme

Bentuk ROS yang dikenal adalah *singlet oxygen* ($^1\text{O}_2$), anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan hidroksil (OH^-). *Singlet oxygen* adalah oksigen yang mempunyai satu elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya dan memiliki tingkat energi lebih besar, sehingga membentuk oksigen yang lebih reaktif. *Singlet oxygen* memiliki dua pilihan yaitu mentransfer energi tersebut ke bahan organik disekitarnya atau terus membentuk *oxygen spesies* yang lebih reaktif. Anion superoksida dibentuk bila satu elektron ditambahkan pada atom oksigen. Hidrogen peroksida dibentuk bila O_2^- mendapat elektron lain ditambahkan dua atom oksigen dan dua atom hidrogen. Hidrogen peroksida memiliki life span hingga dengan 10 detik, waktu ini pada skala molekular sangat lama sehingga menyebabkan kerusakan sel. Apabila satu elektron ditambahkan lagi maka akan terbentuk hidroksil yang memiliki life span sangat singkat yaitu 10^{-9} detik tetapi merupakan bentuk oksidan paling reaktif dan memiliki afinitas paling tinggi (Andarina & Djauhari, 2017).

2.2.3 Sumber

Radikal bebas bisa berasal dari endogenus dan eksogenus. Oksigen untuk metabolisme aerobik digunakan sekitar 95-98 %, sisanya 2-5 % akan berubah menjadi radikal bebas endogen. Sumber radikal bebas eksogen berasal dari lingkungan berupa asap rokok, bahan kimia karsinogen dan radiasi. Jenis-jenis radikal bebas yang dihasilkan oleh

tubuh dan radikal bebas dari lingkungan berupa *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) terdiri dari radikal bebas; superoksida anion (O_2^-), hidroksil (OH), alkoksil (RO), peroksil (RO_2), serta senyawa bukan radikal yang berfungsi sebagai pengoksidasi atau senyawa yang mudah mengalami perubahan senyawa radikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon (O_3) dan HOCl, *Reactive Nitrogen Spesies* (RNS) terdiri dari radikal bebas nitrooksida (NO_2), peroksinitrit (ONOO), dan senyawa bukan radikal seperti HNO_2 dan N_2O_4 . Produksi berlebih dari NO dapat menyebabkan stroke (Simanjuntak, 2012).

2.2.4 Penyakit yang ditimbulkan radikal bebas

Pada konsentrasi rendah sampai pada konsentrasi menengah, radikal bebas memberikan efeknya melalui regulasi kaskade pensinyalan sel. Di konsentrasi tinggi, mereka merusak semua makromolekul, menyebabkan kerusakan DNA, peroksidasi lipid, protein modifikasi, dan akhirnya kematian sel dan menyebabkan berbagai macam penyakit (Santo *et al.*, 2016).

Penyakit yang disebabkan radikal bebas bersifat kronis yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi parah atau bersifat akumulatif. Contoh penyakit yang sering dihubungkan dengan radikal bebas adalah serangan jantung, kanker, katarak, dan menurunnya fungsi ginjal (Fakriah *et al.*, 2019).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Teori

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, tubuh memiliki mekanisme pertahanan tubuh terhadap pembentukan ROS dengan membentuk antioksidan. Antioksidan adalah inhibitor dari proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil. Antioksidan merupakan komponen kimia yang terdiri atas monohidroksil atau polihidroksil fenol. Antioksidan bekerja pada beberapa cara berbeda terhadap proses oksidatif yaitu *scavenging* radikal bebas secara enzimatis atau dengan reaksi kimia langsung, *scavenging* radikal lipid peroksil berikatan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif. Antioksidan berfungsi menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi (Andarina & Djauhari, 2017).

Kulit manusia merupakan gabungan antara mekanisme pertahanan antioksidan enzimatis dan non enzimatis terhadap ROS. Antioksidan enzimatis terdiri atas *superoksida dismutase* (SOD), katalase dan *glutathione peroksidase* (GSH peroksidase). Antioksidan enzimatis bekerja untuk menstabilkan H_2O_2 . Superoksida dismutase mengkatalisis anion superoksida menjadi H_2O_2 yang merupakan ROS yang kurang reaktif. Hidrogen peroksida ini kemudian oleh katalase dan GSH peroksidase akan diuraikan menjadi H_2O dan O_2 . Antioksidan non enzimatis adalah

glutation, ubiquinon, dan faktor nutrisi termasuk di antaranya vitamin dan fenol (Zalukhu *et al.*, 2016).

2.3.2 Mekanisme

Antioksidan melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan mendonorkan satu elektron bebas ke radikal bebas atau menerima satu elektron yang tidak stabil sehingga menjadi stabil dan menghentikan reaksi rantai serta mencegah kerusakan lipid, protein dan DNA. Antioksidan yang mendonorkan elektron untuk radikal bebas akan menjadi antioksidan “radikal”. Meskidemikian antioksidan merupakan radikal yang paling tidak reaktif. Antioksidan “radikal” dapat distabilkan oleh antioksidan lain. Antioksidan enzimatik dan non enzimatik bekerja sama secara sinergis untuk menetralkan ROS (Andarina & Djauhari, 2017).

2.3.3 Sumber

Antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi SOD (*Superoksida Dismutase*), katalase dan GSH.Prx (*Glutation peroksidase*) (Zalukhu *et al.*, 2016). Enzim GSH.Prx mengandung mineral Selenium (Se). Sumber Se ada pada ikan, telur, ayam, bawang putih, biji gandum, jagung, padi, dan sayuran. Dosis Se yang terlalu tinggi dapat bersifat racun. Antioksidan vitamin mencakup alfa tokoferol (vitamin E), beta karoten dan asam askorbat (vitamin C) (Simanjuntak, 2012) .

Antioksidan eksogen berupa antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diijinkan penggunaannya untuk

makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu BHA (*Butylated hydroxyanisole*), BHT (*Butylated hydroxytoluene*), propil galat, TBHQ (*Tert-Butil Hidrosi Quinon*) dan tokoferol. Antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dari golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lainlain. Di samping penggolongan antioksidan di atas, ada pula senyawa lain yang dapat menggantikan vitamin E, yaitu flavonoid (Simanjuntak, 2012).

Tabel 2.1 Contoh sumber makanan yang mengandung flavonoid

GUGUS	SENYAWA	SUMBER MAKANAN
Flavon	Flavon	Kulit apel
	Krisin	Berries
	Kaemferol	Brokoli
	Luteolin	Celery
	Mirisetin	Fruit peels
	Kuersetin	Bawang
Flavonon	Fisetin	Jeruk
	Hesperetin	Jeruk
	Narigin	
	Taxifolin	
Katekin	Katekin	Anggur merah
	Epikatekin	Teh
	Epigalokatekin	
Antosianin	Sianidin	Berries
	Delpinidin	Ceri
	Malvidin	Anggur
	Ponidin	Rasberri
	Petunidin	Stoberi, Teh

(Simanjuntak, 2012)

2.4 Uji aktivitas antioksidan

Metode dan alat yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan telah berkembang pesat. Sampai saat ini uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan berbagai pengujian reaksi kimia yang digabungkan dengan teknologi deteksi yang sensitif dan otomatis digunakan untuk mengevaluasi. Aktivitas antioksidan dapat dipantau dengan berbagai pengujian dengan mekanisme yang berbeda, termasuk HAT (*Hydrogen Atom Transfer*), single ET (*Electron Transfer*), daya pereduksi, dan khelasi (Shahidi & Zhong, 2015).

Tabel 2.2 Macam-macam cara uji antioksidan.

Nama Pengujian	Mekanisme	Oksidan	Uji	Deteksi
ROS				
ORAC	HAT	Generasi radikal peroxy (AAPH)	Fluoresen	Florometri
Chemiluminescence	HAT	Hidrogen peroksida	Luminol	Florometri
DPPH	ET	Radikal dpph	Radikal DPPH	Spektrofotometri
TEAC	ET	Radikal kation (ABTS)	Radikal kation (ABTS)	Spektrofotometri
Redox				
CUPRAC	ET	Cu ³⁺	Neokuproin	Spektrofotometri
Ag ⁺ reducing	ET	Ag ³⁺	Nanopartikel Ag	Surface plasmon resonance
Au ³⁺ reducing	ET	Au ³⁺	Nanopartikel Au	Voltametri siklik
CERAC	ET	Ce ³⁺	Indigo carmin dye	Spektrofotometri
CHROMAC	ET	Cr ³⁺	Cr ³⁺ komplek	Spektrofotometri

(Shahidi & Zhong, 2015)

2.5 DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini dengan menggunakan metode DPPH. Metode pengujian antioksidan DPPH sering

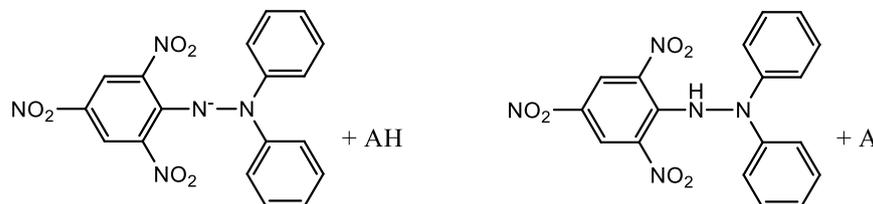
digunakan karena memiliki teknik yang sederhana dan hanya membutuhkan alat spektrofotometri UV untuk deteksinya (Shahidi & Zhong, 2015).

2.5.1 Definisi

DPPH merupakan salah satu radikal bebas yang paling stabil. Metode DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk aktivitas antioksidan secara *in vitro*. Metode ini bisa digunakan untuk sampel padat atau cair. Prinsip metode DPPH didasarkan pada kemampuan penstabil radikal DPPH yang bereaksi dengan hidrogen. DPPH memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dan memiliki warna ungu (Dontha, 2016).

2.5.2 Reaksi DPPH Dengan Antioksidan

Ketika antioksidan bereaksi dengan DPPH, radikal bebas yang stabil menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen dan direduksi menjadi DPPHH dan akibatnya absorbansi menurun dari DPPH (Dontha 2016).



Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Alam *et al.*, 2013).

Radikal DPPH menampilkan penyerapan spektrum UV-Vis yang intens. Ketika larutan DPPH dicampur dengan suatu zat yang dapat

menyumbangkan atom hidrogen, radikal bebas akan tereduksi dengan ditandai perubahan perubahan larutan dari ungu menjadi kuning terang (Dontha, 2016).

2.5.3 Parameter antioksidan

Nilai IC50 didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas (Agustina *et al.*, 2020). Semakin kecil nilai IC50, maka semakin aktif sampel tersebut sebagai antioksidan.

Tabel 2.3 Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan

Intesitas	Nilai IC50	Warna
Sangat Kuat	<50 µg/mL	Kuning pucat
Kuat	50-100 µg/mL	Kuning
Sedang	101-150 µg/mL	Ungu
Lemah	>150 µg/mL	Ungu gelap

(Agustina *et al.*, 2020)

2.6 Ekstraksi

2.6.1 Definisi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen/zat aktif dari suatu campuran padatan dan/atau cairan dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ini merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian tanaman obat, karena preparasi ekstrak kasar tanaman merupakan titik awal untuk isolasi dan pemurnian komponen kimia yang terdapat pada tanaman (Febrina *et al.*, 2015). Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Ibrahim *et al.*, 2016).

2.6.2 Macam-macam metode ekstraksi

Menurut (Febrina *et al.*, 2015), ada beberapa cara metode ekstraksi yang paling umum digunakan yaitu maserasi, perkolasi, sokhletasi dan refluktasi. Pada penelitian ini memakai metode maserasi. Metode ini dipilih karena prinsipnya yang mudah dan sederhana.

1. Maserasi

Maserasi dilakukan dengan melakukan perendaman bagian tanaman secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah alkohol atau kadang-kadang juga air. Campuran ini kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dipress untuk memperoleh bagian cairnya saja. Cairan yang diperoleh kemudian dijernihkan dengan penyaringan atau dekantasi setelah dibiarkan selama waktu tertentu (Endarini, 2016).

Keuntungan proses maserasi diantaranya adalah bahwa bagian tanaman yang akan diekstraksi tidak harus dalam wujud serbuk yang halus, tidak diperlukan keahlian khusus dan lebih sedikit kehilangan alkohol sebagai pelarut seperti pada proses perkolasi atau sokhletasi. Sedangkan kerugian proses maserasi adalah perlunya dilakukan penggojogan/pengadukan, pengepresan dan penyaringan, terjadinya residu pelarut di dalam ampas, serta mutu produk akhir yang tidak konsisten (Endarini, 2016).

2. Fraksinasi

Fraksinasi yaitu proses memisahkan senyawa utama dari kandungan yang satu dengan kandungan yang lain dengan memanfaatkan sifat kepolaran suatu zat. Fraksinasi dapat dilakukan secara partisi maupun kromatografi. Pemisahan senyawa dengan proses partisi dipengaruhi terutama oleh perbedaan polaritas solut yang dipisahkan. Hal ini disebabkan karena polaritas merupakan faktor yang menentukan daya larut. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Kapitan, 2018).

3. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel di basahi secara perlahan dalam sebuah perkolator. 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 membutuhkan banyak waktu (Ibrahim *et al.*, 2016).

4. Sokletasi

Pada teknik ekstraksi ini, bagian tanaman yang sudah digiling halus dimasukkan ke dalam kantong berpori (thimble) yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan dimasukkan ke dalam alat sokhlet untuk dilakukan ekstraksi. Pelarut yang ada dalam labu akan dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada kondenser. Embunan pelarut ini akan merayap turun

menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak. Kontak antara embunan pelarut dan bagian tanaman ini menyebabkan bahan aktif terekstraksi. Ketika ketinggian cairan dalam tempat ekstraksi meningkat hingga mencaapai puncak kapiler maka cairan dalam tempat ekstraksi akan tersedot mengalir ke labu selanjutnya. Proses ini berlangsung secara terus-menerus (kontinyu) dan dijalankan sampai tetesan pelarut dari pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan (Endarini, 2016).

Keuntungan dari proses ini adalah sampel bagian tanaman terusmenerus berkontak dengan embunan pelarut segar yang turun dari kondenser sehingga selalu mengubah kesetimbangan dan memepercepat perpindahan massa bahan aktif, suhu ekstraksi cenderung tinggi karena panas yang diberikan pada labu destilasi akan mencapai sebagian ruang ekstraksi, tidak memerlukan penyaringan setelah tahap leaching, kapasitas alat ekstraksi dapat ditingkatkan dengan melakukan ekstraksi secara kontinyu atau paralel karena harga peralatannya cukup murah dan dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit. Hal ini sangat menguntungkan jika ditinjau dari segi kebutuhan energi, waktu dan ekonomi. Kelemahan ekstraksi dengan sokhlet ini adalah jika dibandingkan dengan teknik ekstraksi yang lain maka teknik ekstraksi ini memerlukan ekstraksi yang panjang dan pelarut yang banyak (Endarini, 2016).

5. Refluksi

Pada metode reflux, sampel di masukkan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali kedalam labu. Kerugian dari metode yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Ibrahim *et al.*, 2016).

Umumnya refluks dilakukan pada reaksi yang lambat terbentuk produk. Refluks dilakukan menggunakan seperangkat alat refluks. Dua bahan atau lebih yang akan direaksikan biasanya termasuk katalis dan batu didih dimasukkan ke dalam labu alas bulat (leher satu, dua atau tiga tergantung kebutuhan). Labu kemudian disambungkan dengan pendingin bola yang telah disambungkan dengan selang untuk air pendingin. Setelah alat terpasang semua, labu dipanaskan sampai campuran mendidih. Uap pelarut atau uap campuran akan naik sampai pendingin bola, dan akan terkondensasi kembali ke dalam labu. Begitu seterusnya sampai beberapa menit atau beberapa jam sampai diperoleh hasil yang diinginkan (Supaya, 2019).

6. Pelarut

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut. Larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan (Suryani, 2015). Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah etanol atau

campurannya dengan air karena merupakan pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid (Arifianti *et al.*, 2014). Senyawa flavonoid bersifat polar sehingga dibutuhkan pelarut yang bersifat polar. Pelarut yang bersifat polar diantaranya adalah etanol, metanol, air dan sebagainya (Ibrahim *et al.*, 2016). Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama (Verdiana *et al.*, 2018). Penggunaan jenis pelarut atau kekuatan ion pelarut dapat memberikan pengaruh terhadap rendemen senyawa yang dihasilkan (Kemit *et al.*, 2016).

2.7 Instrumen

2.7.1 Spektrofotometer UV-Vis

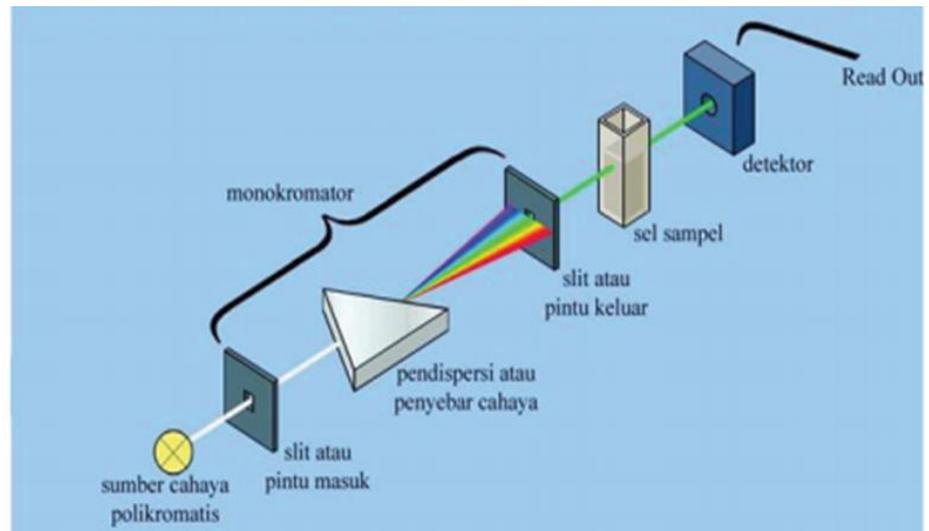
Penetapan aktivitas antioksidan metode DPPH pada penelitian ini menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-VIS. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengkaji sifat absorpsi dari material dalam rentang panjang gelombang ultraviolet (sekitar 200 nm) hingga mencakup semua panjang gelombang cahaya tampak (sampai sekitar 700 nm) (Due *et al.*, 2019). 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 (Warono & Syamsudin, 2013).



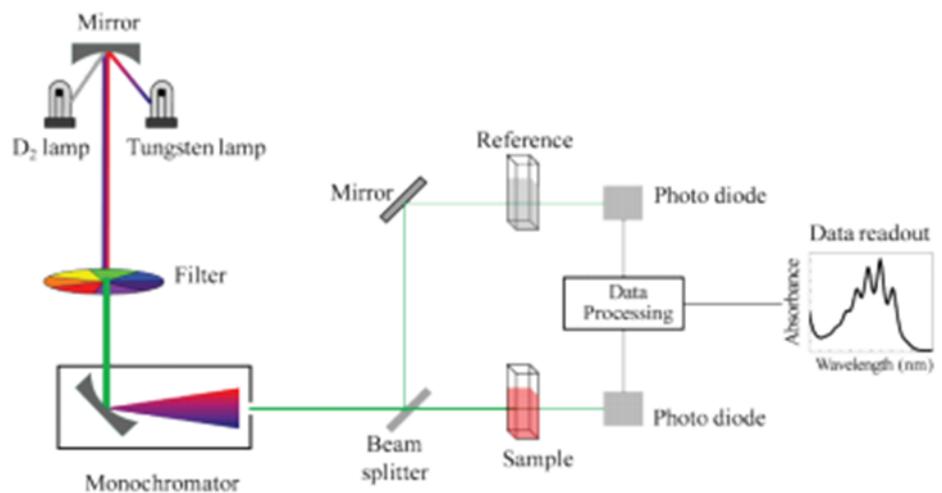
Gambar 2.4 Spektrometer UV-Vis (single beam) (Karnakar *et al.*, 2020).

2.7.2 Jenis

Instrumen ini terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam. Single-beam instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya. Beberapa instrumen menghasilkan single-beam instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. Double-beam instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel. Double beam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm (Suhartati, 2017). Berikut skema dari instrument spektrofotometri UV-VIS Single Beam dan Double Beam.



Gambar 2.5 Skema alat spektrometer UV-Vis (single beam) (Suhartati, 2017).



Gambar 2.6 Skema alat spektrofotometer UV-Vis (Double-beam) (Suhartati, 2017).

2.7.3 Bagian-bagian

Secara umum sistem spektrofotometer terdiri atas sumber radiasi, monokromator, sel, foto sel, detektor, dan tampilan (display) (Warono & Syamsudin, 2013).

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 (Warono & Syamsudin, 2013).

2. Monokromator

Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar (Warono & Syamsudin, 2013).

3. Sel atau kuvet

Sel atau kuvet adalah 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 (Warono & Syamsudin, 2013).

4. Foto sel

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 (Warono & Syamsudin, 2013).

5. Display atau tampilan

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

2.7.4 Syarat penggunaan

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain: Harus melarutkan sampel dengan sempurna, pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel), tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, kemurniannya harus tinggi (Suhartati, 2017).

2.7.5 Hasil

Hasil analisis dari instrumen spektrofotometer UV-VIS adalah absorbansi. Pembacaan absorbansi hendaknya berada diantara 0,2-0,8 atau 15-70% jika dibaca sebagai Transmitan (T). Hal ini karena pada kisaran daerah tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi akibat pembiasan cahaya paling minimal sehingga penyimpangan yang terjadi sangat rendah (0,005%

atau 0,5%) (Anggraini, 2013). Spektrofotometer UV-VIS hanya dapat mengukur sampel dalam bentuk larutan atau analit yang berwarna. Puncak panjang gelombang yang muncul berbeda-beda tergantung dari warna dari analit tersebut.

Tabel 2.4 Spektrum cahaya dan warna komplementer

Puncak gelombang (nm)	Warna
393	Kuning muda
405	Kuning
427	Oranye muda
461	Merah oranye
502	Merah
518	Merah tua
536	Ungu
552	Ungu violet
572	Violet
606	Biru
646	Biru muda
738	Hijau

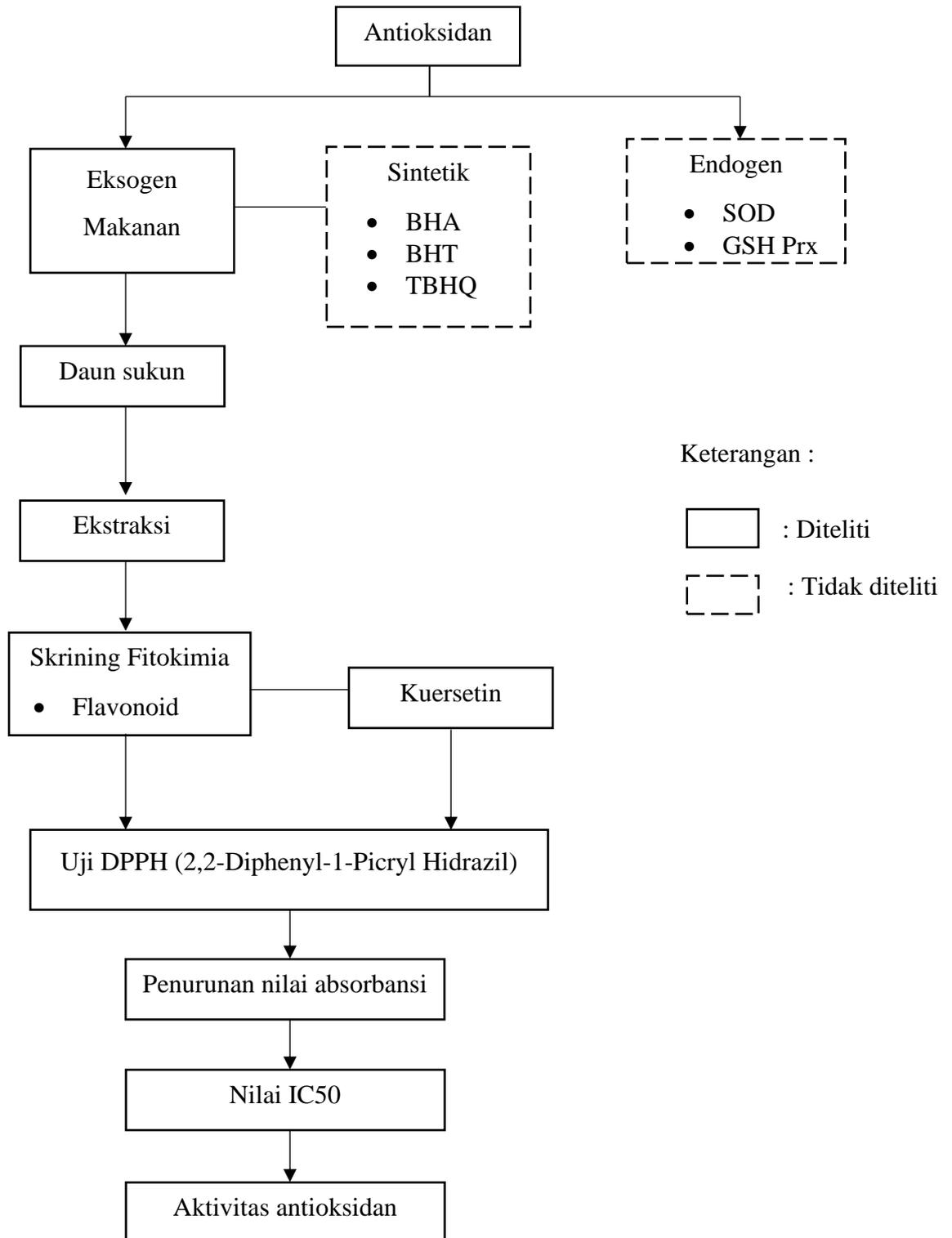
(Huang & Xu, 2010)

2.7.6 Pengujian secara In Vitro

Uji in vitro merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan (Ikrom *et al.*, 2014). Pada pengujian ini menggunakan In Vitro dengan metode DPPH. Metode evaluasi aktivitas antioksidan menggunakan In Vitro karena cepat, dapat direproduksi, dan membutuhkan sejumlah kecil senyawa kimia untuk dianalisis. Pengujian In Vitro juga tidak dipengaruhi oleh sifat fisik senyawa tersebut (Francenia Santos-Sánchez *et al.*, 2019).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

3.2 Hipotesis

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

H0 : Tidak terdapat aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

H1 : Terdapat aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*).

4.2 Populasi dan Sampel

Populasi merupakan keseluruhan dari kumpulan elemen yang memiliki sejumlah karakteristik umum, yang terdiri dari bidang-bidang untuk di teliti (Amirullah, 2015). Populasi dalam penelitian ini adalah fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang telah dibuat berbagai macam konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm).

Sampel merupakan suatu sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015). Sampel pada penelitian ini menggunakan daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang di dapat dari Tembukur Kecamatan Pesanggaran Banyuwangi, Jawa Timur.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang digunakan.

4.3.2 Variabel Terikat

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

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan dan cara ekstraksi dari simplisia daun sukun (*Artocarpus altilis*).

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium, yaitu Laboratorium Terpadu Universitas dr.Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April 2022 sampai selesai.

4.6 Definisi Oprasional

Tabel 4.1 Definisi oprasional

Variabel	Pengertian	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Sampel ekstrak	Tumbuhan sukun yang diperoleh dari daerah pesanggaran Banyuwangi. Bagian dari sampel yang digunakan adalah bagian daun tumbuhan sukun yang kemudian di maserasi dengan pelarut etanol	Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun dibuat berbagai macam konsentrasi	Maserator	Rasio	Diperoleh angka dari masing-masing konsentrasi yang telah diukur kemudian dipipet dari larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel
Skrining fitokimia	Identifikasi secara kualitatif dengan tujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada sampel ekstrak	Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun ditambahkan reagen-reagen	Diamati secara organoleptis	Indikator	Alkaloid = terbentuk endapan kuning jingga Flavonoid = Terjadi perubahan warna menjadi merah

					Saponin = terbentuk busa Tanin = Terjadi perubahan warna menjadi hitam kehijauan
Aktivitas antioksidan	Hasil nilai absorbansi pada Sampel daun sukun yang kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC50)	Memipet dari masing-masing larutan uji ekstrak kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH, selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum.	Spektrofotometri UV-Vis	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • 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 di dapat >150µg/mL

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, spektrofotometer, rotary evaporator, ultrasonik, timbangan analitik, toples maserasi, corong buchner, alat-alat gelas, alumunium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet disposable, mikropipet, blender, penyaring, cawan, desikator, dan stopwatch.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang diambil dari Banyuwangi, Jawa Timur, kertas

saring, etanol terdestilasi, etanol *pro analysis* (p.a), etil asetat dan senyawa DPPH.

4.7.2 Determinasi Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Determinasi daun sukun dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian dari tumbuhan. Tujuan dari determinasi adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benar-benar spesies dari (*Artocarpus altilis*).

4.7.3 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Pengambilan daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang digunakan sebagai simplisia yaitu seluruh bagian daun dengan kriteria daun masih segar, berwarna hijau, dan tidak terlalu tua. Diambil 4 – 5 tangkai dari pucuk (Cahaya Himawan *et al.*, 2020).

Pembuatan simplisia daun sukun (*Artocarpus altilis*) dilakukan berdasarkan metode yang tertera pada Depkes RI (2008), serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan simplisia halus dengan nomor pengayak 60 mesh.

4.7.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Proses ekstraksi daun sukun dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan etanol sebagai pelarutnya. Sejumlah bagian serbuk daun sukun ditimbang dan dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut etanol. Perbandingan serbuk dan pelarut yang digunakan adalah 1:10 dan dilakukan selama 5 hari. dilanjutkan dengan remaserasi hingga diperoleh maserat yang jernih. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesering mungkin agar semua simplisia dapat larut dalam pelarut. Ekstrak selanjutnya disaring menggunakan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental (Nugroho, 2021).

4.7.5 Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Dalam fraksinasi menggunakan pelarut etanol dengan aquadest dengan perbandingan (2:3) dan Etil-Asetat. 30 gram ekstrak etanol daun sukun dilarutkan dalam 100 mL campuran pelarut etanol dengan air. Larutan selanjutnya dipartisi dengan menambahkan 100 mL pelarut Etil-Asetat, diaduk/digojok dalam corong pisah, didiamkan selama 30-60 menit dan dipisahkan lapisan yang terbentuk (lapisan etil asetat di bagian atas dan lapisan etanol-air di bagian bawah). Proses penambahan etil asetat pada lapisan etanol-air dilakukan pengulangan tiga kali dan lapisan etil asetat yang diperoleh ditampung menjadi satu sebagai fraksi etil asetat.

Hasil fraksinasi kemudian dipekatkan dengan water bath hingga diperoleh ekstrak kental (Kapitan, 2018).

4.7.6 Skrining Fitokimia

1. Uji alkaloid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambah 2 mL HCl kemudian diaduk dan disaring. Filtrat ditambahkan 2 tetes HgCl_2 . Apabila terbentuk endapan kuning jingga atau putih menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid (Kurang & Adang, 2018).

2. Uji Fenolik

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Kurang & Adang, 2018).

3. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan HCL pekat 4 mL kemudian ditambahkan Mg. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid (Kurang & Adang, 2018).

4. Uji Saponin

Sebanyak 1 mg sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 mL air tambahkan 1 tetes HCl lalu di kocok selama 20 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa (tidak hilang selama 20 menit) maka menunjukkan adanya saponin (Kurang & Adang, 2018).

5. Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 1 mg ditambahkan 10 mL air dan dididihkan selama 5- 10 menit. Selanjutnya campuran disaring dan filtratnya ditambahkan FeCl₃. Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Kurang & Adang, 2018).

4.7.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 ml etanol *pro analysis* (p.a) dalam labu tentukur. Larutan DPPH dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung cahaya (Handayani *et al.*, 2014).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH bertujuan untuk mengetahui seberapa besar panjang gelombang yang dapat diabsorpsi oleh senyawa DPPH. Untuk alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-VIS. Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu ruang pada ruangan gelap. Ukur serapan dengan spektrofotometer UV- Visibel pada panjang gelombang Vis 400-800 nm (Misfadhila *et al.*, 2019).

3. Pembuatan Larutan Sampel Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang fraksi etil asetat daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol *pro analysis* (p.a) sambil diaduk dan di homogenkan lalu

dicukupkan 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 *pro analysis* (p.a) hingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak (Nugroho, 2021).

4. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan uji kuersetin dibuat dengan konsentrasi sebesar 200 ppm dengan cara sebanyak 2 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dengan metanol absolut dalam labu ukur 10 mL. Larutan uji kuersetin konsentrasi 200 ppm diencerkan menjadi konsentrasi uji 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50ppm (Nugroho, 2021).

5. 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 kuersetin dan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun pada setiap konsentrasi, kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang maksimum yang didapat mulai dari menit ke-10 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit (Nugroho, 2021).

6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Kuersetin dan Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*).

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji fraksi etil asetat dan larutan kuersetin kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga homogen. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu dan dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Nugroho, 2021).

7. Perhitungan Nilai IC50

Perhitungan Nilai IC50 menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A \text{ Blanko} - A \text{ Sampel}}{A \text{ Blanko}} \times 100 \%$$

(Chanda & Dave, 2009).

Keterangan :

A Blanko : absorbansi DPPH (blanko) pada panjang gelombang maksimum.

A Sampel : absorbansi sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum.

Kemudian diperoleh % inhibisi dari setiap konsentrasi larutan uji selanjutnya dilakukan perhitungan regresi linier dengan persamaan :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = Persentase inhibisi (%)

x = Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)

Parameter aktivitas antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai IC50 (*Inhibisi Concentration 50%*), dapat diartikan sebagai konsentrasi sampel yang dapat meredam 50% radikal DPPH (Agustina *et al.*, 2020). Nilai IC50 didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50, atau persamaan :
$$IC50 = \frac{(50-a)}{b}$$
 (Tejowati, 2021).

4.8 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan membandingkan aktivitas antioksidan (*Inhibisi Concentration 50%*) dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun. Pertama-tama dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji dengan *One Way ANOVA*. Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan transformasi data terlebih dahulu, untuk kemudian dapat diuji dengan *One Way ANOVA*. Apabila data telah signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan *Independent T-test*. Perbedaan dianggap signifikan apabila nilai $p < 0,05$ dan tingkat kepercayaan 95% (Tejowati, 2021) .

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil dari determinasi menunjukkan apabila daun sukun yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *Artocarpus altilis* yang tergolong dalam suku Manaceae. Hasil identifikasi daun mangga dapat dilihat pada lampiran 1.

5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Kabupaten Banyuwangi. Bagian yang digunakan dalam penelitian yaitu daun sukun segar berwarna hijau yang tidak terlalu tua. Tahap selanjutnya dilakukan sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, dan proses pengecilan ukuran partikel sampai simplisia dihaluskan menjadi serbuk halus. Diperoleh serbuk simplisia kering sebanyak 700 gram dapat dilihat pada lampiran 2.

5.3 Ekstraksi

5.3.1 Maserasi

Ditimbang serbuk simplisia daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebanyak 85 gram, kemudian dimasukkan didalam maserator dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 850 mL. serbuk dan pelarut di maserasi selama 5 hari, Selama proses maserasi dilakukan pengadukan agar semua simplisia dapat larut dalam pelarut. Ekstrak selanjutnya disaring dan didapat filtrat yang jernih. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan rotary

evaporator. Pada proses ekstraksi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dengan bobot simplisia dan volume pelarut yang sama. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.1. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat dipada lampiran 2 dan perhitungan hasil % randemen dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 5.1 Hasil ekstrak etanol daun sukun

Replikasi	Simplisia (gram)	Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)
1	85	11,5	13,52
2	85	11,35	13,35
3	85	11,42	13,43
Rata – Rata ± SD		11,423 ± 0,075056	

5.3.2 Fraksinasi

Ditimbang sebanyak 10 gram ekstrak kental dari hasil maserasi. Fraksinasi menggunakan pelarut campuran etanol 96% dengan aquadest sebanyak 35 mL (2:3) kemudian ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan kedalamnya dan dimasukkan kedalam corong pisah. Selanjutnya dipartisi dengan menambahkan etil asetat diaduk/digojok dalam corong pisah, didiamkan selama 30-60 menit. Pisahkan antara lapisan bawah dengan atas. Setelah didapat lapisan atas kemudian dipekatkan dengan menggunakan water bath pada suhu 50 °C sampai didapat ekstrak kental. Pada proses fraksinasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Hasil fraksi dapat dilihat pada tabel 5.2 Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada lampiran 2 dan Perhitungan hasil % randemen dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 5.2 Hasil Fraksi Etil Asetat ekstrak daun sukun

Replikasi	Ekstrak Etanol (gram)	Fraksi Etil Asetat (gram)	Rendemen (%)
1	10	4,62	46,2
2	10	4,5	45
3	10	4,55	45,5
Rata – Rata ± SD		4,556 ± 0,060277	

5.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada masing-masing sampel dan juga untuk memperkirakan senyawa apa saja yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan data yang dihasilkan, daun sukun memiliki golongan senyawa Flavonoid, Fenolik, Tanin, dan Saponin yang merupakan senyawa antioksidan. Dapat dilihat pada tabel 5.3 dan tertera pada lampiran 4.

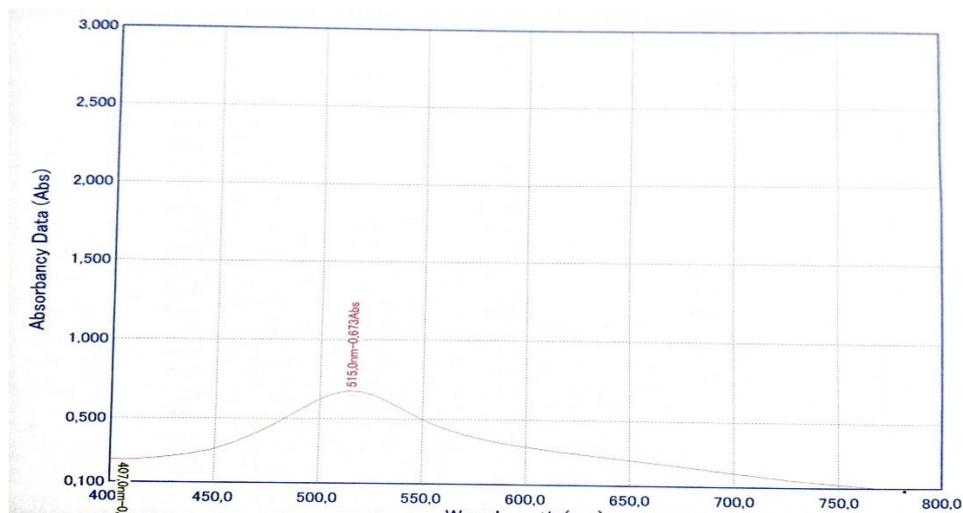
Tabel 5.3 Hasil Skrining Fitokimia fraksi Etil Asetat daun sukun

Senyawa	Hasil
Alkaloid	Negatif
Fenolik	Positif
Flavonoid	Positif
Saponin	Positif
Tanin	Positif

5.5 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Optimasi panjang gelombang perlu dilakukan sebelum pengukuran sampel pada spektrofotometer UV-Vis untuk memberikan kepekaan terhadap sampel dan mengetahui daerah serapan yang akan dihasilkan (Sukmawati *et al.*, 2018). Optimasi panjang gelombang dilakukan pada daerah panjang gelombang 400-

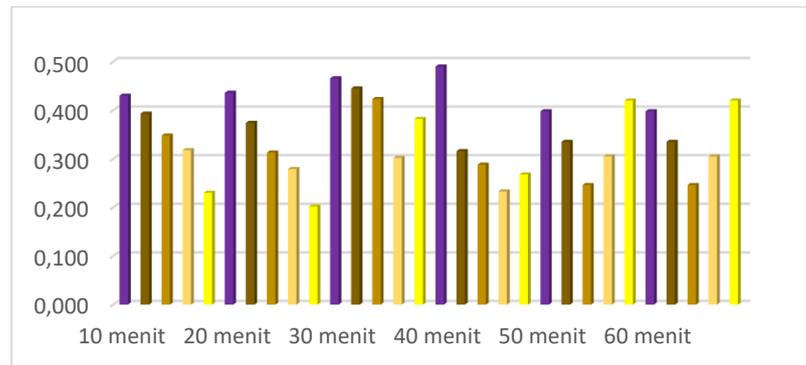
800 nm dengan blanko yang digunakan adalah larutan DPPH 50 ppm dapat dilihat pada gambar 5.1 menunjukkan puncak panjang gelombang yang berada di titik 515 nm dengan absorbansi 0,673 sehingga panjang gelombang yang dapat digunakan dalam penelitian ini yaitu 515 nm.



Gambar 5.1 Panjang gelombang maksimum DPPH

5.6 Optimasi Waktu Inkubasi

Sampel yang digunakan dalam optimasi waktu inkubasi penelitian ini yaitu kuersetin 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Dapat dilihat pada gambar 5.2 yang menunjukkan hasil absorbansi kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada menit ke-10 sampai menit ke-60 dan pada keenam data tersebut yang dipilih yaitu nilai R^2 0,9898 dengan persamaan regresi yaitu $y = 4,5997x + 19,984$ dan hasil tersebut terdapat pada menit ke-20 dapat dilihat pada tabel 5.4.



Gambar 5.2 Absorbansi kuersetin menit ke-10 sampai menit ke-60

Tabel 5.4 Persamaan regresi linier dan nilai IC50 kuersetin dari menit ke-10 sampai menit ke-60

Menit	Persamaan	R ²	IC 50 (µg/ml)
10	$y = 3,8807x + 20,539$	0,9607	7,592
20	$y = 4,5997x + 19,984$	0,9898	6,526
30	$y = 2,5408x + 18,807$	0,5766	12,277
40	$y = 4,3056x + 22,042$	0,6907	6,493
50	$y = 2,9575x + 30,392$	0,9699	6,630
60	$y = -0,1144x + 45,00$	0,0010	-43,706

5.7 Nilai Absorbansi dan Persentase Peredaman

Dalam penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap fraksi etil asetat ekstrak daun sukun dan kuersetin terhadap DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk melihat nilai absorbansi dan. Absorbansi kemudian dihitung persentase peredaman radikal bebas untuk melihat persamaan regresi $y = bx + a$.

Pengujian kuersetin dilakukan sebanyak tiga kali replikasi menghasilkan persamaan regresi. Pada replikasi 1 $y = 4,5988x + 19,391$ $R^2 = 0,9992$, replikasi 2 $y = 4,4279x + 20,654$ $R^2 = 0,9995$, replikasi 3 $y = 4,4651 + 20,906$ $R^2 = 0,9997$ dapat dilihat pada lampiran 7.

Pengujian fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun juga dilakukan replikasi sebanyak tiga kali replikasi menghasilkan persamaan regresi. Pada replikasi 1 $y = 0,1464x + 35,572$ $R^2 = 0,9985$, replikasi 2 $y = 0,1449X + 35,708$ $R^2 = 0,9991$, replikasi 3 $y = 0,1449X + 35,889$ $R^2 = 0,9993$ dapat dilihat pada lampiran 7.

5.8 Nilai IC50

Pada pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dihasilkan rata-rata IC50 kuersetin dari ketiga replikasi yaitu sebesar 6,603 $\mu\text{g/mL}$ seperti yang ditunjukkan pada tabel 5.5.

Tabel 5.5. Nilai IC50 Kuersetin

Replikasi	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-Rata	SD	CV	Kategori
1	6,655				
2	6,627	6,603	0,07879	1,19325	Sangat kuat ($<50 \mu\text{g/mL}$)
3	6,515				

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun dihasilkan rata-rata nilai IC50 ekstrak dari ketiga replikasi yaitu sebesar 98,189 $\mu\text{g/mL}$ seperti yang ditunjukkan pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Nilai IC50 fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun

Replikasi	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-Rata	SD	CV	Kategori
1	98,551				
2	98,634	98,189	0,69881	0,7117	Kuat (50 - 100 $\mu\text{g/mL}$)
3	97,348				

5.9 Analisa Data

Pengolahan data IC50 kuersetin dan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun menggunakan SPSS untuk pengujian normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas untuk dilanjutkan analisis independent *T-test*. Pada uji normalitas data dikatakan terdistribusi normal karena nilai signifikansi p yang dihasilkan $> 0,05$ yaitu kuersetin 0,363 dan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun 0,112. Pada uji homogenitas data dikatakan homogen karena nilai p yang dihasilkan $> 0,05$ yaitu 0,071. Pada uji independent t-test nilai p yang dihasilkan $< 0,05$ yaitu 0,000 maka menunjukkan bahwa adanya perbedaan signifikan pada taraf 95% antara fraksi etil asetat ekstrak daun sukun, gantung dan kuersetin. Artinya kuersetin memiliki aktivitas antioksidan lebih baik daripada aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun. SPSS yang digunakan pada penelitian ini yaitu IBM SPSS Statistics Version 22[®]. Analisis data dapat dilihat pada lampiran 8.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Pengumpulan Sampel

Penelitian ini memerlukan beberapa tahapan yang diantaranya yaitu dimulai dari pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pembuatan larutan DPPH, pembuatan larutan uji ekstrak dan kuersetin sebagai kontrol positif untuk pengukuran aktivitas antioksidan. Penelitian dilakukan di laboratorium terpadu Universitas dr.Soebandi Jember dan Politeknik Negeri Jember.

Tahap pertama melakukan pengambilan sampel daun sukun, kemudian dicuci dengan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada daun (sortasi basah). Daun sukun yang sudah bersih dirajang untuk memudahkan pada saat proses pengeringan. Daun sukun dikeringkan untuk mengurangi atau menghilangkan kadar air pada sampel dan untuk menghindari pertumbuhan mikroba, pengeringan dilakukan selama 4 hari ditempat yang teduh untuk menghindari sinar matahari secara langsung yang bisa merusak kandungan yang berkhasiat dari daun. Daun sukun kering disortasi ada sebagian yang berjamur dibuang atau tidak dipakai. Daun sukun kering selanjutnya diblender untuk memperkecil ukuran sampai halus sehingga pelarut terserap luas pada saat maserasi (Nurlaila *et al.*, 2017)

Serbuk simplisia daun sukun dimaserasi dengan cara penelitian yang dilakukan oleh Nugroho (2021) serbuk direndam selama 5 hari menggunakan pelarut etanol 96% untuk mengambil sari dari simplisia atau kandungan metabolit sekunder didalamnya dan disaring diperoleh filtrat jernih. Untuk menghilangkan

etanol 96% dengan menggunakan rotary evaporator di suhu 40°C - 50°C sehingga didapat ekstrak kental (Nugroho, 2021).

Ekstrak etanol yang telah dipekatkan kemudian difraksinasi dengan cara penelitian yang pernah dilakukan oleh Kapitan (2018) menggunakan pelarut campuran etanol:air (2:3) dan dipartisi dengan pelarut Etil Asetat menggunakan corong pisah dengan 3 kali pengulangan. Hasil partisi diperoleh 2 fase, fase yang berada dibagian bawah merupakan fraksi campuran etanol air dan fraksi etil asetat yang berada dibagian atas. Hal ini dikarenakan berat jenis pelarut Etil Asetat lebih kecil dari berat jenis air sehingga fraksi Etil Asetat berada di bagian atas dan campuran etanol-air berada di bagian bawah dalam labu corong pisah. Hasil fraksi Etil Asetat tiap pengulangan ditampung pada satu wadah tertutup, Setelah itu hasil fraksinasi yang ditampung dipekatkan di atas waterbath pada suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak pekat fraksi Etil Asetat (Kapitan, 2018)

6.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk memastikan kandungan metabolit sekunder apa saja yang ada didalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun. Pertaman melakukan uji alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung atom nitrogen dan bersifat basa sehingga untuk mengekstraknya dibutuhkan penambahan asam klorida (Sulistyarini *et al.*, 2019). Penambahan asam klorida bertujuan untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam sebanyak 1 mg ekstrak ditambah 2 mL HCl kemudian diaduk dan disaring. Filtrat ditambahkan 2 tetes HgCl₂ (Kurang & Adang, 2018; Sulistyarini *et al.*, 2019). Pengujian menunjukkan hasil negatif alkaloid. Hasil

negatif alkaloid ditunjukkan dengan tidak adanya endapan putih warna larutan tetap bening, tidak menjadi keruh dan tidak terbentuk endapan putih. Tidak adanya endapan putih tersebut karena tidak terbentuk kompleks kalium-alkaloid.

Pengujian fenolik dilakukan dengan cara 1 mg ekstrak ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1% (Kurang & Adang, 2018). Hasil pengujian positif fenolik karena terjadi perubahan warna ungu kehitaman pekat pada saat penambahan FeCl_3 1%. Hal ini karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis.

Pengujian flavonoid menggunakan Mg dan HCl pekat. Penambahan Mg dan HCl , dilakukan pada ekstrak, dan terbentuk warna merah, hal ini menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung flavonoid. Menurut Harborne (1987) senyawa flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl sehingga menghasilkan warna merah (Sulistyarini *et al.*, 2019).

Pengujian saponin ekstrak menunjukkan hasil positif karena timbul busa selama 20 menit tidak hilang (Kurang & Adang, 2018). Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. Komponen ikatan glikosida yang terdapat didalam saponin menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat polar (Harborne, 1987). Buih yang dihasilkan pada pengujian ini bersifat stabil. Penambahan HCl mampu membuat busa lebih mantap dan stabil. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (*hidrofilik*) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (*hidrofobik*) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan (Harborne, 1987). Saat digojok, gugus

hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih (Sulistyarini *et al.*, 2019).

Pengujian tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, oleh karena itu ketika sampel ditambahkan FeCl₃ 10% akan terjadi perubahan warna seperti hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa (Sulistyarini *et al.*, 2019).

Dari kelima pengujian skrining tersebut bahwa ekstrak positif mengandung flavonoid, fenolik, tanin, saponin dan hasil negatif pada pengujian alkaloid. Hasil sama pernah dilakukan oleh Kurniawati (2021) tetapi menggunakan pada bagian yang berbeda yaitu pada bagian bunga sukun dan hasil yang sama juga dilakukan oleh Nurlaila (2017) menggunakan tanaman dengan genus yang sama (*Artocarpus*) yaitu daun kluwih dilakukan skrining fitokimia dengan hasil positif mengandung flavonoid, tanin, fenolik, saponin dan hasil negatif pada pengujian alkaloid (Kurniawati & Sutoyo, 2021; Nurlaila, *et al* 2017).

6.3 Pengukuran Panjang Gelombang DPPH

Pengukuran dilakukan pada daerah gelombang Vis 400-800 nm karena larutan DPPH tampak berwarna ungu dengan tujuan menentukan panjang gelombang ketika sampel yang akan diukur memberikan absorbansi yang optimal. Dalam penelitian ini didapat panjang gelombang maksimum 515 nm. Sedikit berbeda dengan literatur lain yaitu 517 nm (Misfadhila, 2019). Kondisi seperti ini bisa terjadi karena beberapa faktor seperti perbedaan instrumen atau alat-alat yang digunakan.

6.4 Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk menentukan waktu yang paling optimum suatu zat atau sampel bereaksi dengan maksimal. Dibuat sampel kuersetin dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm masing-masing dipipet dan ditambahkan larutan DPPH kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada menit ke-10, 20, 30, 40, 50, dan 60. Hasil absorbansi kemudian diolah untuk memperoleh persamaan regresi linier antara menit ke-10 sampai menit ke-60. Pemilihan waktu yang optimum sama seperti yang dilakukan oleh Setiani (2017) dengan menggunakan parameter nilai R^2 mendekati 1 dan persamaan regresi yang memiliki nilai IC50 yang terbaik (Setiani, 2017).

6.5 Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Sukun

Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun masing-masing sampel dilakukan sebanyak tiga kali replikasi dengan panjang gelombang 515 nm dan waktu inkubasi dipilih sesuai hasil optimasi yaitu 20 menit. Dibuat kuersetin dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan ekstrak dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm. Masing-masing dibuat lima konsentrasi sama seperti penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh Kapitan (2018), Misfadhila (2019) dan Nugroho (2021) dengan tujuan membuat kurva baku sehingga menghasilkan persamaan regresi linier yang dapat digunakan untuk menghitung persentase peredaman radikal bebas.

Menurut Nugroho (2021) konsentrasi pada sampel juga dapat mempengaruhi nilai absorbansi, semakin meningkat konsentrasi sampel maka nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil sehingga menghasilkan persentase peredaman yang lebih besar. Antioksidan bereaksi dengan DPPH, radikal bebas yang stabil menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen dan direduksi akibatnya absorbansi menurun dari DPPH, radikal bebas yang tereduksi ditandai adanya perubahan larutan dari ungu menjadi kuning terang (Dontha, 2016).

Hasil persamaan regresi diketahui bahwa nilai R^2 kuersetin dan fraksi etilasetat ekstrak etanol daun sukun mendekati angka 1, sama seperti yang dilakukan oleh Setiani (2017) dalam penentuannya menggunakan parameter R^2 mendekati angka 1 sehingga menunjukkan korelasi persamaan regresi linier yang baik antara konsentrasi dan persentase peredaman radikal bebas (Wahyuni, 2018 ; Setiani, 2017). Dari persamaan regresi yang dihasilkan dapat dihitung nilai IC50. IC50 merupakan konsentrasi yang bisa menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC50 didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas, semakin kecil nilai IC50, maka semakin aktif sampel tersebut sebagai antioksidan (Agustina *et al.*, 2020).

Parameter aktivitas peredaman radikal bebas dapat dilihat pada tabel 2.3. Dari nilai IC50 yang dihasilkan maka kuersetin termasuk aktivitas antioksidan dalam kategori yang sangat kuat karena nilai IC50 < 50 $\mu\text{g/mL}$ yaitu 6,603 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun masuk dalam kategori kuat karena nilai IC50 50 - 100 $\mu\text{g/mL}$ yaitu 98,189 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Misfadhila (2019) ekstraksi daun sukun

menggunakan pelarut metanol menghasilkan nilai IC₅₀ 4196,528 µg/mL yang masuk dalam kategori antioksidan sangat lemah. Dan hasil antioksidan masuk dalam kategori kuat dilakukan oleh Nurlaila (2017) menggunakan tanaman berbeda tetapi dengan genus (*Artocarpus*) yang sama seperti sukun yaitu kluwih menghasilkan nilai IC₅₀ 54,719 µg/mL (Misfadhila *et al.*, 2019; Nurlaila, *et al.*, 2017)

Jika dilakukan perbandingan terhadap nilai IC₅₀ kuersetin dan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun maka kuersetin memiliki nilai IC₅₀ lebih kecil. Dan aktivitas antioksidan kuersetin lebih besar dari pada fraksi etil asetat daun sukun. Hal tersebut dikarenakan kuersetin merupakan senyawa tunggal flavonoid golongan flavonol dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Simanjuntak, 2012). Oleh karena itu pada penelitian ini, kuersetin digunakan sebagai baku pembanding dalam metode penangkapan radikal bebas DPPH.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Aulia (2019) juga menunjukkan kandungan metabolit sekunder daun sukun yaitu berupa, flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin (Aulia & Sinata, 2019) . Flavonoid merupakan senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan dengan mekanisme kerja mendonorkan ion hidrogen sehingga efek toksik pada radikal bebas dapat ternetralisir (Widiastini *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini daun sukun memiliki aktivitas antioksidan dalam rentang kuat dan kemungkinan besar senyawa flavonoid yang memberikan efek aktivitas tersebut.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Kandungan kimia yang terdapat didalam Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) adalah flavonoid, fenol, tanin, dan saponin.
2. Nilai aktivitas IC50 (*Inhibisi Concentration 50%*) dari Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebesar 99,189 µg/mL yang merupakan antioksidan kuat.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode yang lain seperti ABTS, CHROMAC, dan Chemiluminescence untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan pada daun sukun (*Artocarpus altilis*).
2. Perlu dilakukan uji analisis kuantitatif penetapan kadar hasil skrining pada daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan metode KLT, HPLC, dan Spektrofotometri UV-Vis.
3. Direkomendasikan menggunakan pelarut etanol dengan fraksi etil asetat untuk mendapatkan intensitas antioksidan yang kuat pada daun sukun (*Artocarpus altilis*).

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black Garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 13(1), 39–50.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review On In Vivo And In Vitro Methods Evaluation Of Antioxidant Activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152.
- Amirullah. (2015). *Metode Penelitian Manajemen*. Malang : Bayumedia Publisng.
- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan Dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(1), 39–48.
- Arifianti, L., Oktarina, R. D., Kusumawati, I., Farmakognosi, D., Farmasi, F., & Airlangga, U. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *Journal Planta Husada Vol.2,No.1 April 2014. E-Journal Planta Husada*, 2(1), 3–6.
- Aulia, N., & Sinata, N. (2019). Uji efek analgetik infusa daun sukun (*artocarpus altilis* forst) terhadap mencit putih (*Mus musculus* L) jantan diinduksi asam asetat 1%. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 8(1), 32–40.
- Cahaya Himawan, H., Ramani, S., & Hamonangan, A. (2020). Aktivitas Antelmintik Ekstrak Etanol 96% Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap *Ascaridia Galli* Secara In Vitro. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 5(1), 1–7.
- Chanda, S., & Dave, R. (2009). In vitro models for antioxidant activity evaluation.pdf. *Afr. J. Microbiol. Res.* 3(13), 981–996.
- Dontha, S. (2016). A review on antioxidant methods. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 9(2), 14-32.
- Due, Y. P., Bukit, M., & Johannes, A. Z. (2019). Kajian Awal Spektrum Serapan

- Uv-Vis Senyawa Hasil Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Asal Tarus Kabupaten Kupang. *Jurnal Fisika : Fisika Sains Dan Aplikasinya*, 4(1), 40–47.
- Endarini, L.H. (2016). *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Fakriah, Kurniasih, Adriana, & Rusdi (2019). Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi*, 3(1), 1.
- Febrina, L., Rusli, R., & Mufliah, F. (2015). Optimalisasi Ekstraksi Dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus variegata Blume*). *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 3(2), 74–81.
- Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. *Antioxidants*, 1–28.
- Handayani, V., Ahmad, A. R., Sudir, M., Etlingera, P., & Sm, R. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R . M . Sm) Menggunakan Abstrak. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86–93.
- Helna Estalansa, Endang Yuniastuti, S. H. (2018). The Diversity Of Breadfruit Plants (*Artocarpus altilis*) Based On Morphological Characters. *Agrotech Res J*, 2(2), 22–23.
- Huang, T., & Xu, X. H. N. (2010). Synthesis and Characterization Of Tunable Rainbow Colored Colloidal Silver Nanoparticles Using Single-Nanoparticle Plasmonic Microscopy And Spectroscopy. *Journal of Materials Chemistry*, 20(44), 9867–9876.
- Ibrahim, W., Mutia, R., Nurhayati, N., Nelwida, N., & Berliana, B. (2016). Penggunaan Kulit Nanas Fermentasi dalam Ransum yang Mengandung Gulma Berkhasiat Obat Terhadap Konsumsi Nutrient Ayam Broiler. *Jurnal Agripet*, 16(2), 76.

- Ikrom, Asih, D., Wira, R., Perkasa, B., Tiara, R., & Wasito. (2014). Studi In Vitro Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sain Veteriner*, 32(1), 105–116.
- Ir.Kasma Iwari, M. (2020). *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian SUMBAR*.
- Kapitan, H. P. (2018). *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Afrika (Vernonia amygdalina Del) Dengan Metode DPPH*.
- Karnakar, N., Ramana, H., Amani, P., Tharun, D. S., Nagaraju, M., & Sharma, S. B. (2020). Analytical Method Development And Validation Of Diclofenac Sodium By UV- Visible Spectroscopy Using AUC Method. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 7(1), 20–24.
- Kemit, N., Widarta, I. W. R., & Nocianitri, K. A. (2016). Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana mill*). *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 5(2), 130–141.
- Khaerunnisa & Fakhrudin, N. (2015). Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Ekstrak Etil Asetat, Etanolik, Dan Air Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Park.) Fosberg) Serta Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Totalnya.
- Kurang, R. Y., & Adang, B. (2018). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Dengan Metode *1,1-Difenil-2-Pikrylhidrazyl* (Dpph). *Partner*, 23(1), 567.
- Kurniawati, I. F., & Sutoyo, S. (2021). Potensi Bunga Tanaman Sukun (*Artocarpus Altilis*) Sebagai Bahan Antioksidan Alami. *UNESA Journal of Chemistry*, 10(1), 1–11.
- Momuat, L., Fatimah, F., & Wehantouw, F. (2019). Total Antioksidan Dari Beberapa Jenis Sayuran Tinutuan Yang Ditanam Di Daerah Berbeda

Ketinggian. *Chemistry Progress*, 4(1), 5–10.

- Nugroho, W. F. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Arum Manis Daerah Kabupaten Banyuwangi Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikryl Hidrazyl)*.
- Nurlaila, Yayuk, Dedy. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penapisan Fitokimia Dari Ekstrak Daun Pakoasi Dan Kluwih Sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*.
- Santo, A., Zhu, H., & Li, Y. R. (2016). Free Radicals: From Health to Disease. *Reactive Oxygen Species*, January.
- Sari, A. N. (2015). Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Journal of Islamic Scienc and Technology*, 1(1), 63–68.
- Sariyem, Sadimin, Sunarjo, L., & Haniyati, M. (2015). Efektifitas Ekstrak Daun Sukun Hasil Perebusan Terhadap Pertumbuhan Koloni Bakteri Streptococcus Mutans. *Jurnal Kesehatan Gigi*, 02(2), 104–109.
- Setiani. (2017). *Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulitbawang Merah (Allium cepa L.) Dengan Metode Maserasi Dan Mae (Microwave assisted extraction)*. 7(2), 15–22.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781.
- Simanjuntak. (2012). Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*, 23 nomor 3(4), 328–331.
- Suhartati. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIS dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*.
- Supaya, S. S. (2019). Refdes Kombinasi Alat Refluks dan Distilasi, Upaya Efisiensi Proses Refluks dan Distilasi untuk Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(4), 41.

- Suryani. (2015). *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (Pometia Pinnata)*.
- Tejowati, H. Z. P. (2021). *Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku Dikabupaten Jombang Dengan Menggunakan Metode DPPH*.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213.
- Warono, D., & Syamsudin. (2013). Analisis Kimia Kuantitatif. Ed ke-5. *Konversi*, 2(2), 57–65.
- Werdhasari. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3.2.2014.
- Wijaya, H., & Junaidi, L. (2011). Antioksidan: Mekanisme Kerja dan Fungsinya dalam Tubuh Manusia. In *Journal of Agro-Based Industry* (Vol. 28, Issue 2, pp. 44–55).
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish.
- Zalukhu, M. L., Phyma, A. R., & Pinzon, R. T. (2016). *Proses Menua , Stres Oksidatif , dan Peran Antioksidan*. 43(10), 733–736.

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



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

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 094/PL17.8/PG/2022

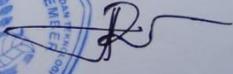
Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 1196/FIKES.UDS/U/V/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Iqbal Gifar Maulana
 NIM : 18040047
 Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Urticales; Famili: Moraceae; Genus: Artocarpus; Spesies: Artocarpus altilis

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 13 Juni 2022
 UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu


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

Lampiran 2. Pengolahan Sampel



Pengumpulan Sampel dan Sortasi Basah



Pencucian



Perajangan



Pengeringan



Sortasi Kering



Pengecilan ukuran



Maserasi



Evaporasi



Ekstrak Etanol



Fraksinasi



Penguapan di waterbath



Fraksi Etil Asetat

Lampiran 3. Rendemen Ekstraksi

4. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sukun

a. Replikasi 1

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Bobot simplisia} = 85 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot Ekstrak} = 11,50 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{11,50 \text{ gram}}{85 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 13,52 \% \end{aligned}$$

b. Replikasi 2

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Bobot simplisia} = 85 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot Ekstrak} = 11,35 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{11,35 \text{ gram}}{85 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 13,35 \% \end{aligned}$$

c. Replikasi 3

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Bobot simplisia} = 85 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot Ekstrak} = 11,42 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{11,42 \text{ gram}}{85 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 13,43 \% \end{aligned}$$

5. Perhitungan rendemen fraksi Etil Asetat ekstrak etanol daun sukun

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot fraksi Etil Asetat ekstrak etanol (gram)}}{\text{Bobot ekstrak etanol (gram)}} \times 100\%$$

a. Replikasi 1

Bobot Ekstrak = 10 gram

Bobot fraksi = 4,62 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{4,62 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 46,2 \% \end{aligned}$$

b. Replikasi 2

Bobot Ekstrak = 10 gram

Bobot fraksi = 4,50 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{4,50 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 45 \% \end{aligned}$$

c. Replikasi 3

Bobot Ekstrak = 10 gram

Bobot fraksi = 4,55 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{4,55 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 45,5 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Sukun

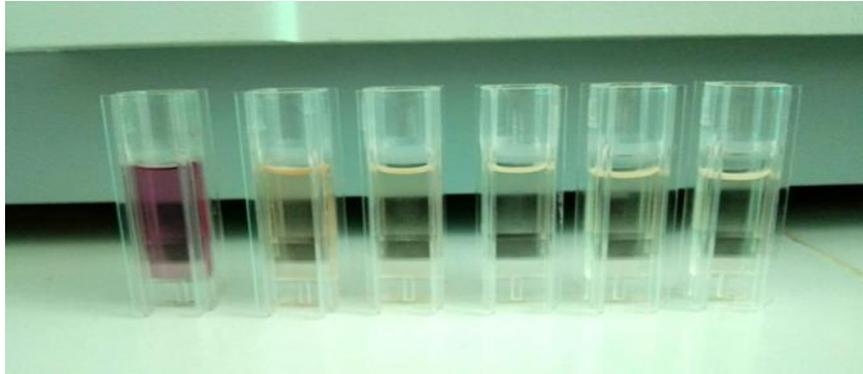
Alkaloid (-)	Fenolik (+)	Flavonoid (+)
		
Tidak terjadi endapan berwarna putih	Terbentuk warna hitam pekat	Terbentuk warna merah

Saponin (+)	Tanin (+)
	
Terjadi atau timbul busa	Terjadi perubahan warna hitam

Lampiran 5 Optimasi Waktu Inkubasi

Menit	Konsentrasi	A-Blanko	A-Sampel	%Inhibisi	Persamaan regresi
10	2	0,612	0,430	29,739	$y = 3,8807x + 20,539$ $R^2 = 0,9607$
	4	0,612	0,393	35,784	
	6	0,612	0,348	43,137	
	8	0,612	0,318	48,039	
	10	0,612	0,230	62,418	
20	2	0,612	0,436	28,758	$y = 4,5997x + 19,984$ $R^2 = 0,9898$
	4	0,612	0,374	38,889	
	6	0,612	0,313	48,856	
	8	0,612	0,279	54,412	
	10	0,612	0,202	66,993	
30	2	0,612	0,466	23,856	$y = 2,5408x + 18,807$ $R^2 = 0,5766$
	4	0,612	0,445	27,288	
	6	0,612	0,423	30,882	
	8	0,612	0,302	50,654	
	10	0,612	0,382	37,582	
40	2	0,612	0,490	19,935	$y = 4,3056x + 22,042$ $R^2 = 0,6907$
	4	0,612	0,316	48,366	
	6	0,612	0,288	52,941	
	8	0,612	0,233	61,928	
	10	0,612	0,268	56,209	
50	2	0,612	0,398	34,967	$y = 2,9575x + 30,392$ $R^2 = 0,9699$
	4	0,612	0,335	45,261	
	6	0,612	0,246	59,804	
	8	0,612	0,305	50,163	
	10	0,612	0,420	31,373	
60	2	0,612	0,398	34,967	$y = -0,1144x + 45$ $R^2 = 0,001$
	4	0,612	0,335	45,261	
	6	0,612	0,246	59,804	
	8	0,612	0,305	50,163	
	10	0,612	0,420	31,373	

Lampiran 6 Perhitungan DPPH Dan Larutan Uji



(pengujian aktivitas antioksidan)

1. Membuat larutan DPPH 50 ppm

$$\text{Ppm} = \frac{X (\text{Berat bahan})}{V (\text{volume yang akan dibuat})} \times 1000$$

$$x = \frac{50 \text{ ppm}}{1000} \times 20 \text{ mL} = 1 \text{ mg}$$

2. Pembuatan larutan kuersetin

- a. Pembuatan larutan induk kuersetin 100 ppm

$$\text{Ppm} = \frac{X (\text{Berat bahan})}{V (\text{volume yang akan dibuat})} \times 1000$$

$$x = \frac{100 \text{ ppm}}{1000} \times 20 \text{ mL} = 2 \text{ mg}$$

- b. Pengenceran seri konsentrasi kuersetin (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm)

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

- Pengenceran 2 ppm

$$V_1 = \frac{2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} = 0,2 \text{ mL} = 200 \mu\text{L}$$

- Pengenceran 4 ppm

$$V_1 = \frac{4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} = 0,4 \text{ mL} = 400 \mu\text{L}$$

- Pengenceran 6 ppm

$$V_1 = \frac{6 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} = 0,6 \text{ mL} = 600 \mu\text{L}$$

- Pengenceran 8 ppm

$$V_1 = \frac{8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL} = 800 \mu\text{L}$$

- Pengenceran 10 ppm

$$V_1 = \frac{10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} = 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{L}$$

3. Pembuatan larutan fraksi etil asetat ekstrak daun sukun

- a. Pembuatan larutan induk ekstrak 100 ppm

$$\text{Ppm} = \frac{X (\text{Berat bahan})}{V (\text{volume yang akan dibuat})} \times 1000$$

$$x = \frac{1000 \text{ ppm}}{1000} \times 20 \text{ mL} = 20 \text{ mg}$$

- b. Pengenceran seri konsentrasi ekstrak (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm)

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

- Pengenceran 50 ppm

$$V_1 = \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ mL} = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{L}$$

- Pengenceran 100 ppm

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{L}$$

- Pengenceran 150 ppm

$$V_1 = \frac{150 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ mL} = 0,75 \text{ mL} = 750 \mu\text{L}$$

Pengenceran 200 ppm

$$V_1 = \frac{200 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ mL} = 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{L}$$

- Pengenceran 250 ppm

$$V_1 = \frac{250 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ mL} = 1,25 \text{ mL} = 1250 \mu\text{L}$$

Lampiran 7 Perhitungan Persen Peredaman DPPH Dan IC50

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A \text{ Blanko} - A \text{ Sampel}}{A \text{ Blanko}} \times 100 \%$$

Sampel	IC50 (µg/mL)	Rata-rata	SD	CV (%)
Kuersetin	6,655	6,603	0,07879	1,19325
	6,627			
	6,515			
Fraksi etil asetat ekstrak daun sukun	98,551	98,189	0,69881	0,7117
	98,634			
	97,348			

1. Hasil pengujian kuersetin pada spektrofotometer UV-Vis

a. Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	A-Blanko	A-Sampel	% Inhibisi	IC50
2	0,673	0,484	28,083	6,655
4	0,673	0,416	38,187	
6	0,673	0,354	47,400	
8	0,673	0,295	56,166	
10	0,673	0,235	65,082	

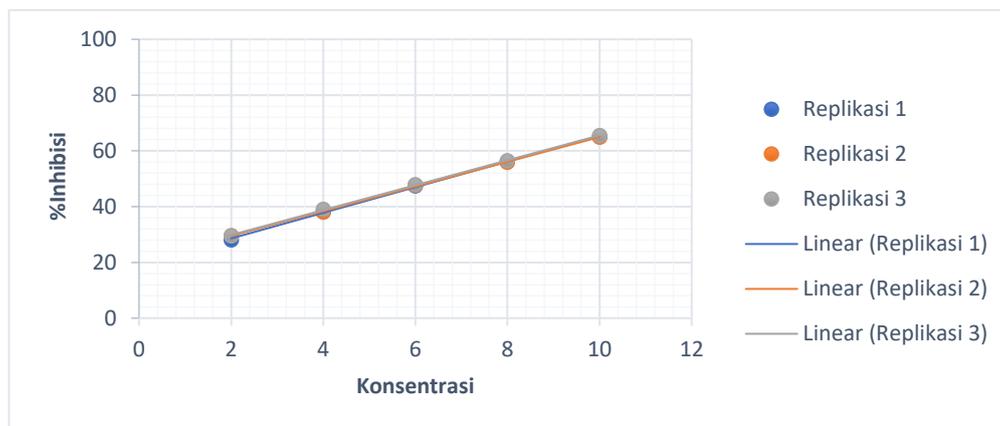
b. Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	A-Blanko	A-Sampel	% Inhibisi	IC50
2	0,673	0,474	29,569	6,627
4	0,673	0,417	38,039	
6	0,673	0,352	47,697	
8	0,673	0,297	55,869	
10	0,673	0,236	64,933	

c. Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	A-Blanko	A-Sampel	% Inhibisi	IC50
2	0,673	0,474	29,569	6,515
4	0,673	0,410	39,079	
6	0,673	0,351	47,845	
8	0,673	0,293	56,464	
10	0,673	0,232	65,527	

Replikasi	Persamaan	R ²	IC50 (µg/mL)
1	$y = 4,5988x + 19,391$	0,9992	6,655
2	$y = 4,4279x + 20,654$	0,9995	6,627
3	$y = 4,4651 + 20,906$	0,9997	6,515



Kurva persen peredaman dan konsentrasi kuersetin

2. Perhitungan IC50 kuersetin

a. Replikasi 1

$$y = 4,5988x + 19,391$$

$$50 = 4,5988x + 19,391$$

$$x = \frac{50 - 19,391}{4,5988} = 6,655$$

$$\text{IC50} = 6,655 \mu\text{g/mL}$$

b. Replikasi 2

$$y = 4,4279x + 20,654$$

$$50 = 4,4279x + 20,654$$

$$x = \frac{50 - 20,654}{4,4279} = 6,627$$

$$\text{IC50} = 6,627 \mu\text{g/mL}$$

c. Replikasi 3

$$y = 4,4651 + 20,906$$

$$50 = 4,4651 + 20,906$$

$$x = \frac{50 - 20,906}{4,4651} = 6,515$$

$$\text{IC50} = 6,515 \mu\text{g/mL}$$

3. Hasil pengujian fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sukun

a. Replikasi 1

Konsentrasi	A-Blanko	A-Sampel	% Inhibisi	IC50
50	0,664	0,380	42,771	
100	0,664	0,328	50,602	
150	0,664	0,282	57,530	98,551
200	0,664	0,238	64,157	
250	0,664	0,182	72,590	

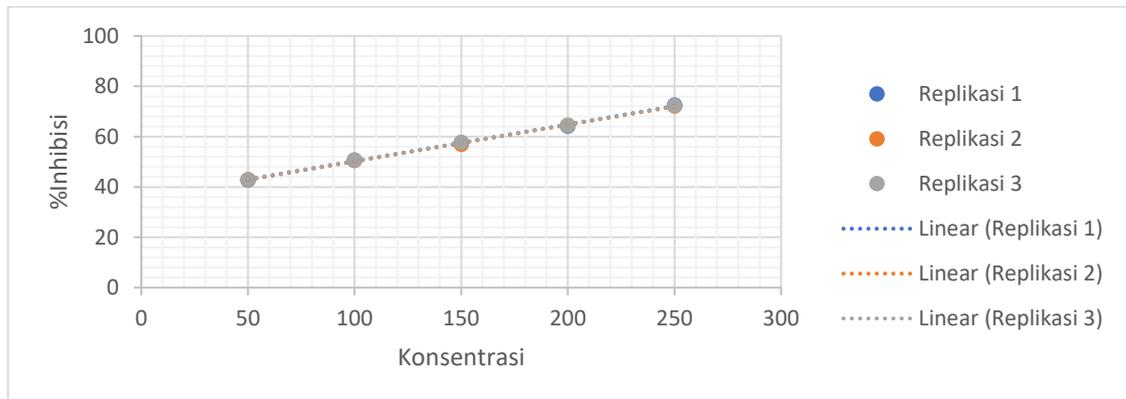
b. Replikasi 2

Konsentrasi	A-Blanko	A-Sampel	% Inhibisi	IC50
50	0,664	0,379	42,922	
100	0,664	0,328	50,602	
150	0,664	0,286	56,928	98,634
200	0,664	0,235	64,608	
250	0,664	0,185	72,139	

c. Replikasi 3

Konsentrasi	A-Blanko	A-Sampel	% Inhibisi	IC50
50	0,664	0,379	42,922	
100	0,664	0,327	50,753	
150	0,664	0,281	57,681	97,384
200	0,664	0,236	64,458	
250	0,664	0,184	72,289	

Replikasi	Persamaan	R ²	IC50
1	$y = 0,1464x + 35,572$	0,9985	98,551
2	$y = 0,1449X + 35,708$	0,9991	98,634
3	$y = 0,1449X + 35,889$	0,9993	97,384



Kurva persen peredaman dan konsentrasi ekstrak daun sukun

4. Perhitungan IC₅₀ ekstrak daun sukun

a. Replikasi 1

$$y = 0,1464x + 35,572$$

$$50 = 0,1464x + 35,572$$

$$x = \frac{50 - 35,572}{0,1464} = 98,551$$

$$\text{IC}_{50} = 98,551 \mu\text{g/mL}$$

b. Replikasi 2

$$y = 0,1449x + 35,708$$

$$50 = 0,1449x + 35,708$$

$$x = \frac{50 - 35,708}{0,1449} = 98,634$$

$$\text{IC}_{50} = 98,634 \mu\text{g/mL}$$

c. Replikasi 3

$$y = 0,1449x + 35,889$$

$$50 = 0,1449x + 35,889$$

$$x = \frac{50 - 35,889}{0,1449} = 97,384$$

$$\text{IC}_{50} = 97,384 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 8 Hasil Analisis Data Dengan SPSS

1. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	Kuersetin	,314	3	.	,893	3	,363
	Ekstrak daun sukun	,364	3	.	,799	3	,112

Data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi > 0,05

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,783	1	6	,071

Data terdistribusi homogen dengan nilai signifikansi > 0,05

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16772,877	1	16772,877	95984,234	,000
Within Groups	1,048	6	,175		
Total	16773,925	7			

Terdapat perbedaan yang signifikan antara kuersetin dengan ekstrak daun sukun dengan nilai signifikansi < 0,05

3. Uji Independen *T-test*

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
IC50	Equal variances assumed	4,783	,071	-309,813	6	,000	-91,577500	,295589	-92,300781	-90,854219
	Equal variances not assumed			-309,813	3,072	,000	-91,577500	,295589	-92,505865	-90,649135