

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
BUNGA PEPAYA (*Carica papaya L.*) DENGAN METODE ABTS
(2,2 *azinobis* (3-*etilbenzotiazolin*)-6-*asam sulfonat*)**



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
TIKA AYU LUSIYANINGRUM
NIM.2181028**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
BUNGA PEPAYA (*Carica papaya L.*) DENGAN METODE ABTS
(2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)**

**THE ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF PAPAYA FLOWER
Carica papaya L ETHANOLIC EXTRACT USING ABTS
METHOD (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)**



**KARYA TULIS ILMIAH
DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN JENJANG
PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH
TIKA AYU LUSIYANINGRUM
NIM. 2181028**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

KARYA TULIS ILMIAH

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA PEPAYA (*Carica papaya L.*) DENGAN METODE ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)

Disusun Oleh :

TIKA AYU LUSIYANINGRUM
NIM. 2181028

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada tanggal 02 Maret 2021

Tim Penguji :

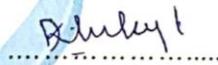
Drs. Suharyanto, M.Si

(Ketua)



apt. Ika Trisharyanti Dian K, M.Farm

(Anggota)



Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si

(Anggota)



Menyetujui,
Pembimbing Utama



Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si.

Mengetahui,
Ketua Program Studi
DIII Farmasi



apt. Dwi Saryanti, M.Sc

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

UJI AKTIVITAS ANTOXIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA PEPAYA (*Carica papaya L.*) DENGAN METODE ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan/atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar pada Program Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 02 Maret 2021



Tika Ayu Lusyaningrum
NIM. 2181028

MOTTO

Man Jadda, Wajada

Barangsiapa yang bersungguh-sungguh, maka dia akan berhasil

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini kupersembahkan untuk :

1. Yang paling pertama terima kasih kepada Allah SWT atas segala nikmat berupa kesehatan, kekuatan, dan memberikan inspirasi dalam proses penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Keluargaku tercinta, Ayahku tercinta Sariyo, Ibuku tercinta Titik Sundari dan Adikku tersayang, Muhammad Fahri Kurniawan terima kasih atas doa, semangat, motivasi, pengorbanan, nasehat serta kasih sayang yang tidak pernah henti sampai saat ini.
3. Dosen Pembimbing tersabar Ibu Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si yang sudah membimbing serta memberi masukkan selama ini, sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Partner Kimia Amami (Agatha, Alifia, Mailani, Risza, Wahyu, Yusril) terima kasih atas semangat, saran, dan bantuan dari awal sampai akhir.
5. Teman dekatku Trio Buru-Buru (Elin, Widya) terima kasih untuk semangat, dukungan, hiburan, dan bantuannya.
6. Saudara-saudaraku tercinta Tatik, Mbak Rina, terima kasih selalu ada dan membantu saat aku butuh.
7. Mahasiswa Prodi DIII Farmasi STIKES Nasional terkhusus teman-teman Reg A angkatan 2018.
8. Kepada semua teman-teman, saudara yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, saya persembahkan Karya Tulis Ilmiah ini untuk kalian semua.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis masih diberikan kesempatan, kekuatan dan kemampuan untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA PEPAYA (*Carica papaya L.*) DENGAN METODE ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)**”. Adapun maksud dan tujuan Karya Tulis Ilmiah ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan Program Pendidikan Diploma III Farmasi STIKES Nasional Surakarta.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak atas segala bantuan, bimbingan, serta motivasi yang telah diberikan, sehingga penulis berhasil menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.

Ucapan terima kasih tersebut penulis tujuhan kepada :

1. Bapak Hartono, M.Sc.,Apt., selaku ketua STIKES Nasional Surakarta.
2. Ibu Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si., selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Bapak Drs. Suharyanto, M.Si., selaku Ketua penguji Karya Tulis Ilmiah DIII Farmasi STIKES Nasional Surakarta.
4. Ibu Ika Trisharyanti Dian Kusumawati., M.Farm., Apt., selaku penguji Karya Tulis Ilmiah DIII Farmasi STIKES Nasional Surakarta.

5. Yohana Tri W, A.md., selaku pembimbing praktek yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Petrus Rizky P, A.Md., Wibowo, A,Md., selaku tenaga laboran di Laboratorium Kimia Analisis dan Obat Tradisional DIII Farmasi STIKES Nasional Surakarta.
7. Sahabat dan teman-teman tercinta Angkatan 2018 yang telah membantu selama penelitian.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan Karya Tulis Ilmiah yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini tidak lepas dari kekurangan dan kesalahan, untuk itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhir kata, semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya dan bagi penulis pada khususnya.

Surakarta, 02 Maret 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
MOTTO.....	v
PERSEMBAHAN.....	vi
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Sistematika Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya L.</i>).....	4

2. Radikal bebas.....	9
3. Antioksidan.....	9
4. Flavonoid	11
5. Ekstraksi.....	12
6. Pelarut	13
7. Metode ABTS	14
8. Spektrofotometri UV-Vis	16
B. Kerangka Pikir.....	18
BAB III METODE PENELITIAN	19
A. Desain Penelitian	19
B. Tempat dan Waktu Penelitian	19
C. Instrumen Penelitian	19
1. Alat	19
2. Bahan.....	20
D. Populasi dan Sampel	20
E. Besar Sampel.....	21
F. Identifikasi Variabel Penelitian	21
G. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	22
H. Alur Penelitian.....	23
1. Bagan.....	23
2. Cara Kerja	24
I. Analisis Data Penelitian	30

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. Determinasi	32
B. Penyiapan bahan	32
C. Ekstraksi.....	33
D. Uji Fitokimia	35
E. Uji Aktivitas Antioksidan	38
F. Penentuan Kurva Baku.....	42
G. Penetapan Nilai IC ₅₀	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
A. Kesimpulan.....	47
B. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	52

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Pepaya	7
Tabel 2. Klasifikasi Daya Antioksidan.....	11
Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia ekstrak etanol bunga pepaya.....	35
Tabel 4. Hasil operating time	40
Tabel 5. Hasil pengukuran gelombang maksimal	41
Tabel 6. Hasil penentuan regresi linier vitamin C.....	42
Tabel 7. Hasil regresi linier ekstrak etanol bunga pepaya	43
Tabel 8. Nilai IC ₅₀ ekstrak bunga pepaya dan vitamin C	45
Tabel 9. Hasil % KV	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bunga Pepaya.....	6
Gambar 2. Struktur Flavonoid.....	12
Gambar 3. Alur Kerangka Pikir	18
Gambar 4. Alur Kerja Penelitian	23
Gambar 5. Reaksi flavonoid dengan Mg dan HCl.....	36
Gambar 6. Reaksi uji polifenol	36
Gambar 7. Reaksi hidrolisis saponin	37
Gambar 8. Hasil uji fitokimia bunga pepaya	37
Gambar 9. Reaksi oksidasi ABTS oleh kalium persulfat ($K_2S_2O_8$)	38
Gambar 10. Grafik panjang gelombang maksimal dan nilai absorbansi	41
Gambar 11. Grafik linieritas kurva baku Vitamin C	44
Gambar 12. Grafik linieritas ekstrak bunga pepaya	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Sampel.....	53
Lampiran 2. Perhitungan dalam uji antioksidan	54
Lampiran 3. Perhitungan konsentrasi kurva baku dan sampel	55
Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak etanol bunga pepaya.....	57
Lampiran 5. Penentuan OT dan panjang gelombang maksimum	58
Lampiran 6. Perhitungan % Inhibisi vitamin C	59
Lampiran 7. Perhitungan % Inhibisi ekstrak etanol bunga pepaya	60
Lampiran 8. Penentuan kurva baku Vitamin C	61
Lampiran 9. Penentuan kurva ekstrak etanol bunga pepaya.....	62
Lampiran 10. Perhitungan Nilai IC ₅₀ ekstrak bunga pepaya	63
Lampiran 11. Perhitungan % KV Vitamin C dan ekstrak	64
Lampiran 12. Penentuan absorbansi blanko	66
Lampiran 13. Penentuan absorbansi kurva baku vitamin C	67
Lampiran 14. Penentuan absorbansi ekstrak bunga pepaya	68
Lampiran 15. Dokumentasi penelitian	69

INTISARI

Bunga pepaya (*Carica papaya L.*) diketahui mengandung senyawa flavonoid yang tinggi, salah satu efek dari flavonoid adalah sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) dengan metode ABTS (2,2-Azinobis(ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) dan diuji fitokimianya. Bunga pepaya dibuat menjadi ekstrak kental dengan menggunakan metode maserasi. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dilakukan menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang maksimum 734 nm untuk memperoleh nilai IC₅₀ menggunakan pembanding vitamin C sebagai kontrol positif. Adanya senyawa flavonoid diidentifikasi dengan serbuk magnesium dan HCl pekat sebagai pereaksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga pepaya memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,2755 ppm, sedangkan pembanding vitamin C memiliki nilai IC₅₀ sebesar 4,8946 ppm. Ekstrak etanol bunga pepaya dan vitamin C termasuk dalam antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci : *Carica papaya L*, antioksidan, ABTS, IC₅₀

ABSTRACT

Papaya flower are known to contain high flavonoid compounds, in which one of the effects of flavonoids is as antioxidant. This study aims to determine antioxidant activity of papaya flower by ABTS method (*2,2-Azinobis(ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid*), and tested its phytochemicals. Papaya flower are made into a thick extract using maceration. The antioxidant activity was measured by ABTS method with visible spectrophotometer at maximum wavelength of 734 nm to obtain IC₅₀ using vitamin C standard as positive control. The presence of flavonoid compound was identified with magnesium powder and concentrated HCl as reagen. The results showed that papaya flower had antioxidant activity with IC₅₀ value of 13,2755 ppm, whereas vitamin C standard had IC₅₀ value of 4,8946 ppm. Papaya flower ethanol extract and vitamin C are very powerful antioxidants.

Keywords : *Carica papaya L*, antioxidants, ABTS, IC₅₀

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Dewasa ini kondisi masyarakat Indonesia cenderung memprihatinkan. Telah kita ketahui pada awal tahun 2020, Corona Virus Disease 2019 (Covid-19) menjadi masalah kesehatan dunia. Indonesia merupakan salah satu Negara yang terdampak wabah Covid-19 yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2* (SARS-COV-2) umumnya disebut virus corona. Jumlah kasus Covid-19 terus bertambah dengan beberapa melaporkan kesembuhan dan tidak sedikit yang meninggal. Usaha penanganan dan pencegahan terus dilakukan untuk melawan Covid-19.

Penyebabnya yaitu antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralisir peningkatan radikal bebas. Radikal bebas dapat diikat dengan antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menangkal efek negatif radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas sangat berbahaya bagi tubuh manusia karena dapat merusak komponen-komponen sel tubuh seperti lipid, protein, dan DNA. (Oktarini,2014).

Indonesia memiliki peluang dalam pencarian sumber obat baru dari bahan alam untuk meningkatkan imunitas tubuh dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan tinggi, salah satunya yaitu bunga pepaya, masyarakat memanfaatkan bunganya sebatas untuk dijadikan bahan makanan. Hassan (2014) melaporkan uji perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak

etanol simplisia bunga pepaya gantung saat kuncup dan mekar, hasilnya didapatkan nilai aktivitas antioksidan bunga kuncup sebesar 3,49 ppm dan bunga mekar sebesar 1,63 ppm. Jadi dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan bunga kuncup lebih besar daripada bunga mekar.

Menurut Indrawati, dkk (2002) dan Vijay, dkk (2014), bunga pepaya mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan steroid/triterpenoid. Annegowda dan Bhat, (2015) melaporkan bahwa tanaman pepaya memiliki manfaat sebagai *anticancer, antimicrobical, anti-inflammatory, antioxidant, dan antidiabetic activities*. Berdasarkan uji klinis, ternyata senyawa yang terdapat dalam bunga pepaya ampuh dalam mengurangi pengaruh radikal bebas. Hajli, (2011) melaporkan senyawa flavonoid memiliki potensi memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi.

Puspitasari, (2019) melaporkan metode ABTS memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain, yaitu pengujian sederhana dan yang paling penting adalah fleksibel dan dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik dalam ekstrak makanan dan cairan. Metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi dibandingkan DPPH, prosesnya cepat, dapat dilakukan pada rentang pH yang besar. Aktivitas penangkapan radikal bebas ABTS dinyatakan dengan nilai IC₅₀.

Dari uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) menggunakan metode ABTS. Hasil penelitian ini diharapkan dapat

memberikan informasi ilmiah dalam bidang kimia bahan alam dan farmasi dalam upaya pemanfaatan senyawa antioksidan dari bunga pepaya.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ABTS?
2. Berapakah nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap ABTS?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) dengan metode ABTS.
2. Mengetahui nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap ABTS.

D. Manfaat Penelitian

1. Menambah ilmu pengetahuan tentang antioksidan dalam bidang kesehatan serta referensi bagi penelitian selanjutnya.
2. Memberikan informasi mengenai potensi bunga pepaya sebagai antioksidan alami.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) dengan metode ABTS.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Determinasi tanaman pepaya (*Carica papaya L.*) dilakukan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional sedangkan uji aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Kimia, Kualitatif, Kuantitatif, Instrumen, dan Obat Tradisional Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta. Penelitian ini dilaksanakan selama tiga bulan dari bulan November hingga Januari 2021.

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : blender, neraca analitik (*Ohaus. EP214*), pipet ukur (*Pyrex*), waterbath, seperangkat alat gelas (*Pyrex*), pipet tetes, pipet ukur

(*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), sendok tanduk, batang pengaduk, kertas saring, corong kaca (*Pyrex*), *rotary evaporator*, cawan porselein, aluminium foil, tisu, kuvet, seperangkat spektrofotometer visibel (Pharmaspec UV-1240 Mini Shimidzu. Jepang).

2. Bahan

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak kental bunga pepaya (*Carica papaya L.*). Bahan kimia yang digunakan adalah ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) p.a (Merck), kalium persulfat ($K_2S_2O_8$), vitamin C, etanol p.a, aquadest, etanol teknis (70%), serbuk magnesium, asam klorida pekat, $FeCl_3$, $NaOH$, Kloroform, H_2SO_4 .

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga pepaya (*Carica papaya L.*) jenis California diambil pada bulan September 2020 di Desa Puntuk, Kecamatan Bendosari, Kabupaten Sukoharjo, Provinsi Jawa Tengah.
2. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga pepaya (*Carica papaya L.*) pada penelitian ini sampel diambil secara *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel dengan kriteria yang ditentukan peneliti. Adapun kriteria yang dimaksud adalah bunga pepaya jenis California, dipilih bunga pepaya yang masih kuncup.

Hassan (2014) menyatakan bahwa % antioksidan bunga pepaya kuncup lebih besar daripada bunga pepaya yang mekar, bunga pepaya yang diambil kira-kira usia 8 bulan dengan warna bunga putih atau kuning cerah.

E. Besar Sampel

Banyaknya sampel bunga pepaya yang digunakan pada penelitian ini sebesar 1 kg, bunga pepaya yang diambil dalam keadaan masih segar tidak kering.

F. Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*), variabel terkendali dalam penelitian ini adalah metode ABTS dan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan atau sampel yang mampu mereduksi radikal ABTS sebesar 50% .

G. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) dengan konsentrasi 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, dan 16 ppm.

2. Variabel Terkendali

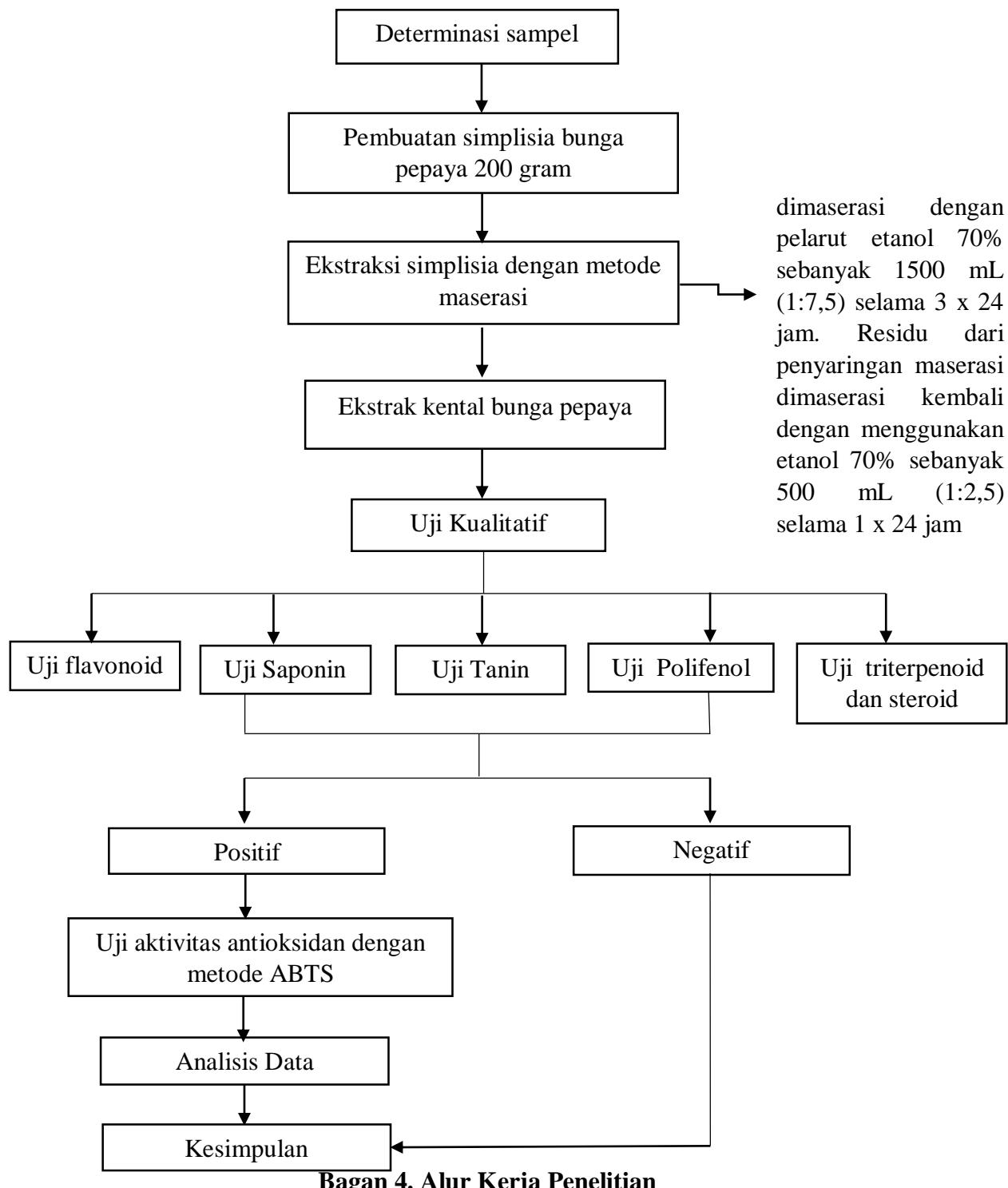
Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah metode ABTS. Metode ABTS adalah metode penentuan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas ABTS.

3. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) dan dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan atau sampel yang mampu mereduksi radikal ABTS sebesar 50%.

H. Alur Penelitian

1. Bagan



2. Cara Kerja

a. Determinasi sampel

Determinasi dari suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari. Bunga pepaya (*Carica papaya L.*) yang digunakan untuk penelitian ini dideterminasi di B2P2TOOT (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional).

b. Penyiapan Bahan

Bagian tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga pepaya yang masih kuncup. Bunga pepaya yang digunakan diambil dari Desa Puntuk Toriyo, Bendosari, Sukoharjo. Sampel segar disortasi basah kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir agar terpisah dari kotoran yang menempel pada bunga pepaya. Lalu dikeringanginkan (tidak terkena sinar matahari), bunga kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan disaring menggunakan ayakan 60 mesh. Ekstrak kental yang dihasilkan disimpan dalam wadah tertutup agar mengurangi fotodegradasi senyawa fitokimia akibat paparan cahaya. (Gunawan,D.& Mulyani,S., 2004).

c. Pembuatan Ekstrak Etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*)

Pembuatan ekstrak etanol bunga pepaya dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 200 gram serbuk bunga pepaya (*Carica papaya L.*) dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1500 mL (1:7,5). Maserasi dilakukan 3 x 24 jam dengan pengadukan beberapa kali dan disaring. Residu dari penyaringan maserasi dimaserasi kembali atau remaserasi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 500 mL (1:2,5) selama 1 x 24 jam dan disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan diuapkan dengan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental bunga pepaya dihitung % Rendemen ekstrak. Ekstrak kental bunga pepaya yang telah dihasilkan disimpan dalam wadah tertutup agar mengurangi fotodegradasi senyawa fitokimia akibat paparan cahaya (Lindawati,Y.N dan Ma'ruf,H.S.,2020).

d. Uji Kualitatif

1) Identifikasi Senyawa Flavonoid

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 1 ml etanol, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya senyawa flavon, kalkon dan auron (Fansworth, 1996).

2) Identifikasi Senyawa Polifenol

Ekstrak bunga pepaya (*Carica papaya L.*) yang telah diencerkan dengan aquadest dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 . Jika terjadi perubahan warna menjadi warna hijau-biru, hitam-hijau, atau biru-hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol. (Rahayu,2012).

3) Identifikasi Senyawa Saponin

Sampel sebanyak 2 ml ditambahkan 2 ml NaOH, kemudian dididihkan. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin(Sastrawan,dkk.,2013).

4) Identifikasi Senyawa Tanin

Sampel sebanyak 2 ml ditambahkan 1 ml metanol dan beberapa tetes FeCl_3 . Terbentuknya warna coklat kehijauan menunjukkan adanya tanin (Sastrawan,dkk.,2013).

5) Identifikasi Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 0,5 g dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml kloroform dan disaring. Filtrat ditambahkan beberapa tetes asam sulfat dan dikocok. Terbentuknya warna kuning emas mengindikasikan positif terpenoid sedangkan untuk steroid setelah filtrat disaring dan ditambahkan asam sulfat maka akan terbentuk cincin berwarna coklat (Tiwari,dkk.,2011).

e. Uji Aktivitas Antioksidan bunga pepaya (*Carica papaya L.*)

1) Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Bunga Pepaya

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara ditimbang seksama 50 mg ekstrak kental bunga pepaya dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan, volume akhir dicukupkan dengan etanol p.a sampai 50 ml dalam labu ukur.

2) Pembuatan Larutan Stok Vitamin C Murni

Larutan 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang seksama 10 mg vitamin C murni dan dilarutkan dengan etanol p.a, volume akhir dicukupkan hingga 10 ml labu ukur.

3) Pembuatan Larutan Stok ABTS 7 mM

Larutan a : ditimbang seksama 18 mg ABTS, dilarutkan dalam 5 ml aquadest.

Larutan b : ditimbang seksama 3,5 mg $K_2S_2O_8$, dilarutkan dalam 5 ml aquadest.

Larutan a dan larutan b dicampur dalam ruang gelap dan volumenya dicukupkan dengan etanol p.a sampai 25 ml. kemudian diinkubasi selama 12-16 jam.

4) Penentuan Operating Time (OT)

Larutan ABTS dipipet sebanyak 0,1 ml lalu ditambahkan 1 ml vitamin C pada konsentrasi 4 ppm ke dalam labu ukur 5,0 ml, kemudian amati absorbansinya pada panjang gelombang

734 nm dengan interval waktu 1 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil.

5) Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

Larutan ABTS dipipet sebanyak 0,1 ml lalu ditambahkan ke dalam vitamin C 4 ppm ke dalam labu ukur 5,0 ml. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 700-750 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

6) Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal bebas ABTS dengan Vitamin C murni.

Larutan intermediet dengan konsentrasi 100 ppm dibuat dengan mengencerkan larutan baku induk 1000 ppm. Larutan baku kerja Vitamin C dibuat dari larutan intermediet 100 ppm, dipipet masing-masing sebanyak 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm dan 6 ppm. Larutan baku kerja pada masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 1,0 ml kemudian ditambah 0,1 ml larutan radikal ABTS dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a ke dalam labu ukur 5,0 ml. Selanjutnya dihomogenkan lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada waktu operating time dan panjang gelombang maksimal yang telah didapatkan.

- 7) Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal bebas ABTS dengan sampel ekstrak kental bunga pepaya.

Larutan intermediet dengan konsentrasi 100 ppm dibuat dengan mengencerkan larutan ekstrak 1000 ppm. Larutan ekstrak kental dibuat dari larutan intermediet 100 ppm dipipet masing-masing sebanyak 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; 0,7 ml; 0,8 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml dan ditambah 0,1 ml larutan ABTS kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm dan 16 ppm.. Selanjutnya dihomogenkan lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada waktu operating time dan panjang gelombang maksimal yang telah didapatkan.

I. Analisis Data Penelitian

1. Perhitungan % Rendemen Ekstrak

Setelah didapatkan ekstrak kental, selanjutnya dapat dihitung rendemen dari ekstrak. Tujuan dari perhitungan rendemen ini adalah untuk mengetahui presentase perolehan hasil ekstrak sehingga nantinya dapat diketahui jumlah simplisia yang dibutuhkan untuk membuat sejumlah ekstrak kental tertentu. Untuk perhitungan % rendemen ekstrak yaitu sebagai berikut (Samudra, Arum., 2014) :

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot Ekstrak Kental}}{\text{bobot serbuk}} \times 100 \%$$

2. Perhitungan % Inhibisi

Parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS adalah dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas ABTS (Molyneux, 2004). Untuk menghitung nilai IC₅₀ diperlukan data persen inhibisi dari pengujian yang dilakukan. Persen inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100 \%$$

3. Perhitungan Nilai IC₅₀

Konsentrasi sampel dan persen inhibisi yang diperoleh diplot masing-masing pada sumbu x dan y, kemudian didapat persamaan regresi linier $y = bx + a$. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai nilai IC₅₀. (Nurjannah, Izzati, & Abdullah, 2011). Perhitungan IC₅₀ dapat dituliskan dengan cara mengubah nilai Y = 50.

$$Y = Bx + A$$

$$50 = Bx + A$$

$$X = \frac{50 - A}{B} = IC50$$

4. % KV

Tujuan dihitung % KV yaitu untuk mengetahui kesesuaian hasil kadar satu dengan hasil kadar lain dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampling acak secara berulang-ulang dari sampel yang homogen. Koefisien variasi dirumuskan sebagai berikut :

$$\% KV = \frac{sd}{\text{rata-rata kadar sampel}} \times 100 \%$$

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*) mengandung senyawa flavonoid dan memiliki potensi aktivitas antioksidan dengan metode ABTS.
2. Metode uji aktivitas antioksidan yang memberikan nilai IC₅₀ sebesar 4,8946 ppm untuk Vitamin C dan 13,2755 ppm untuk ekstrak etanol bunga pepaya (*Carica papaya L.*). Vitamin C dan ekstrak etanol bunga pepaya mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan kombinasi dengan ekstrak lainnya yang mengandung senyawa antioksidan

DAFTAR PUSTAKA

- Annegowda, H.V., & Bhat,R. 2015. *Composition of Pepaya Fruit and Pepaya Cultivars. Nutritional Composition of Fruit Cultivars.* Elsevier Inc.
- Blois, MS. 1958. *Antioxidant Determinations by The Use of A Stable Free Radical.* Nature. Vol. 181:1199-1200.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dalimarta, S., 2003. Atlas tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3. Puspa Swara. Jakarta.
- Endarto,O., dan Martini,E., 2016. Pedoman Budi Daya Jeruk Sehat, World Agroforestry Centre (ICRAF), Bogor.
- Fitriana, W.D., Ersam, T., Shimizu, K., & Fatmawati, S. 2016. Antioxidant Activity of Moringa oleifera Extracts. Indonesian Journal of Chemistry, 16(3):297-301.
- Fransworth,N.R. 1996. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science.* Vol. 55 (3): 257-259
- Gillespie, R.J. paul, 2001. Chemical Bonding and Molecular Geometry. Oxford university Press, London.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gunawan,D.& Mulyani,S. 2004. Farmakognosi. Swadaya: Jakarta.
- Hajli,Z.2011. isolasi senyawa golongan flavonoid biji mahoni (*Swietenia mahagoni Jacq.*) yang berpotensi sebagai antioksidan (Skripsi). Institute Pertanian Bogor.

- Hassan, M.N & Laily,A.N. 2014. Uji kandungan flavonoid dan perbandingan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol simplisia bunga papaya gantung saat kuncup dan mekar. Biologi Saintek UIN Maliki Malang.
- Ilmiati, Illing, 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dingen. Program Studi Kimia Fakultas Sains Universitas Cokroaminotopalopo.
- Indrawati, Y., kosasih, Soetarno, S., & Gana, S. A, 2002. Telaah Fitokimia Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya L.*) dan Uji Aktivitas Antioksidannya. <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id/detail.php?id=69>. [18 September 2020].
- Ikeyi, A.P., A.O.Ogbonna and F.U, Eze. 2013. Phytochemical Analysis of Paw-Paw (*Carica papaya*) Leaves. Int. J.LifeSc.Bt and Pharm. Res.,2(3):347-351.
- Lindawati,N,Y & Ma'ruf ,H,S. 2020. Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) Dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrofotometri Visibel. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Surakarta.
- Lukmanto, 2015. Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi daun kenari (*Canarium indicum L.*). Skripsi. Fakultas Farmasi: Universitas Jember.
- Magfira, 2018. Analisis penghambatan ekstrak etanol batang kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap reaksi oksidasi dari radikal bebas dengan metode DPPH ABTS dan FRAP. Program Studi Farmasi. Fakultas Farmasi; Universitas Hasanuddin Makassar.
- Muhlisah, F. 2007. Tanaman Obat Keluarga. Swadaya.Jakarta.
- Molyneux, R. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. SongklaNakarin Journal of Sciences. 2:211-219.
- Nurjannah, Izzati dan Abdullah. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen sp.*). Jurnal Ilmu Kelautan Vol 16 (3); hal. 119-124. ISSN.

- Nuswamarheni, S., Phihartini, D., & Pohan, E.P. 1999. Mengenal buah unggul Indonesia. Jakarta: Swadaya.
- Oktarini, N.W, A.C. Dewi, N.M. puspaawati, I.M.D. Swantara,L.A.R.A. Asih& W.S. Rita.2014. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, Syn) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar. Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry) 2:7-16.
- Oliveira, S.D., Souza, G.A. 2006. Evaluation of Antiradical Assays Used Indetermining The Antioxidant Capacity of Pure Compounds and Plant Extracts.
- Puspitasari, A.D & Sumantri. 2019. Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) dan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) menggunakan Metode ABTS.
- Putra, D.A.D. 2012. Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Bunga Tahi Ayam (*Tagetes Erecta L.*) serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan. Skripsi Tidak Diterbitkan. Universitas Sumatera Utara.
- Sandhiutami dan Dwi, N.M. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam.*) Secara In Vitro dan In Vivo pada Tikus yang diberi Beban Aktivitas Fisik Maksimal. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 15:1,1-5.
- Sari, K.R.P.,& Nugroho, A.E. 2015. Effect of Herbal Combination of Andrographis paniculata (Burm. F) Ness and Gynura procumbens (Lour.) Merr Ethanolic Extracts in Alloxan-Induced Hyperglycemic Rats. International Food Research Journal, 22(4):1332-1337.
- Sembiring, B.B., Ma'mun & E.l. Ginting. 2006. Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorhiza Roxb*). Bul. Litro 17(2) : 53-58.
- Septiana, A.T., & Ansani, A. 2016. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Agrointek, 6(1): 22-28.

- Septyaningsih, D. 2010. Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (*Pandanus conoideus lamk*). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Shalaby, E.A., and Shanab, S.M.M. 2013. Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action. AJPP. 7(10).
- Suparni dan Ari. 2012. Herbal Nusantara : 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia. Raphe Publishing. Yogyakarta.
- Setiabudi, D. A., dan Tukiran. 2017. Uji Skrining Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*). UNESA Journal of Chemistry, 6,3.
- Torar GMJ, Lolo WA & Citraningtyas G.(2017). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji (*Carica papaya L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Kesehatan. 7 (3), 1-5.
- Umirna,2016. Analisis Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Dari Kulit Buah Kecombrang (Etlingera Elatior) Dengan Metode Spektrofotometer Uv-Vis. Skripsi. Program Studi Kimia Fakultas Sains Universitas Cokroaminotopalog.
- Vijay, Y., Pradeep K.G., Chetan S.C., Anju.G., & Bhupendra Vyas. 2014. Carica papaya Linn:An Overview. International Journal of Herbal Medicine. 2:01-08.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Zuhran, C.T., J.B. Taringan&H.Sihotang.2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauvopus androgynus (L) Merr.*) Jurnal Biologi Sumatera. 1:1907-5537.