

**PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL, KADAR FLAVONOID TOTAL,
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KOMBINASI FRAKSI
DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) DAN DAUN PEPAYA
(*Carica papaya* L.)**

(Skripsi)

Oleh

**Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu
2158031002**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL, KADAR FLAVONOID TOTAL,
DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KOMBINASI FRAKSI
DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) DAN DAUN PEPAYA
(*Carica papaya* L.)**

**Oleh
Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu**

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA FARMASI**

**Pada
Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL,
KADAR FLAVONOID TOTAL, DAN UJI
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI
KOMBINASI FRAKSI DAUN ALPUKAT
(*Persea americana* Mill.) DAN DAUN PEPAYA
(*Carica papaya* L.)**

Nama Mahasiswa

: **Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu**

No. Pokok Mahasiswa

: **2158031002**

Program Studi

: **Farmasi**

Fakultas

: **Kedokteran**



apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M. S. Farm.
NIP 1994 0518 202203 2 019

Atri Sri Ulandari, M. Farm.
NIP. 199407022023212053

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M. Sc.
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M. S. Farm.



Sekretaris : Atri Sri Ulandari, M. Farm.



Penguji

Bukan Pembimbing : apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 14 April 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL, KADAR FLAVONOID TOTAL, DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KOMBINASI FRAKSI DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.)”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 19 April 2025

Pembuat Pernyataan



Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu

NPM. 2158031002

RIWAYAT HIDUP

Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu lahir di Depok pada tanggal 21 Juni 2003. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Jhon Veri Pasaribu dan Ibu Marlina Pardede serta memiliki satu adik perempuan.

Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-kanak (TK) di TK Eka Wijaya pada tahun 2007 dan melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Eka Wijaya pada tahun 2009 hingga 2015. Lalu penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPK BPK Penabur Cibubur pada tahun 2015 hingga 2018. Pada tahun 2018 penulis kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 1 Cibinong dan lulus pada tahun 2021.

Penulis diterima menjadi mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SMM PTN-Barat) pada tahun 2021. Selama menjadi mahasiswa, penulis menjadi perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam beberapa organisasi kemahasiswaan. Penulis diberi kesempatan untuk bergabung dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) Universitas Lampung sebagai kepala Departemen Eksternal dan Sosial (EKSOS) pada tahun 2024 dan bergabung dalam *Lampung University Medical Research* (LUNAR) serta mengikuti banyak kepanitiaan dalam kampus seperti Pharmalation dan Mesenterica. Penulis juga aktif dalam aktivitas akademik sebagai asisten praktikum.

Penulis merasa bersyukur telah diberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan yang baik selama ini dan melalui proses yang panjang dan penuh tantangan, akhirnya penulis berhasil menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Kadar Fenolik Total, Kadar Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kombinasi Fraksi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)”.

Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh rasa syukur kepada kedua orang tua tercinta. Kepada mama dan papa yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan tanpa henti. Terima kasih atas segala kasih sayang yang selama ini telah diberikan.

“Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang”

Amsal 23:18

“Tetapi carilah dahulu Kerajaan Allah dan kebenarannya, maka semuanya itu akan ditambahkan kepadamu”

Matius 6:33

SANWACANA

Puji syukur penulis sampaikan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan berkat dan karunia sehingga penulis diberikan kekuatan dan kelancaran untuk menjalankan perkuliahan, penelitian, dan penyusunan naskah skripsi dengan judul **“Penentuan Kadar Fenolik Total, Kadar Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kombinasi Fraksi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)”**.

Dengan penuh ucapan syukur, penulis mengapresiasi kerja keras penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini. Dalam prosesnya, tentu penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan. Penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, bantuan, saran, kritik, dukungan, dan doa dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked, M. Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, SpM., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M. S. Farm., selaku pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis sejak penulisan proposal hingga penulisan skripsi ini selesai;
5. Atri Sri Ulandari, M. Farm., selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan,

arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis sejak penulisan proposal hingga penulisan skripsi ini selesai;

6. apt. Muhammad Iqbal, S. Farm., M. Sc., selaku pembahas skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan masukan, saran, serta kritik mengenai skripsi ini;
7. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S. Ked., M. Farm, selaku Pembimbing Akademik semester 1-8 yang selalu memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis selama masa pendidikan di Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
8. Purna Firdaus, S. Si., M. Si., selaku laboran Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan;
10. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyiapan penyusunan skripsi ini;
11. Papa, Jhon Veri Pasaribu dan Mama, Marlina Pardede, kedua orang tua penulis yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, dan nasihat yang sangat berarti bagi penulis. Terima kasih selalu menyertai dan menyediakan apa yang dibutuhkan oleh penulis hingga saat ini;
12. Jeanette Vania Malona Pasaribu, adik satu-satunya yang selalu bersama dengan penulis sejak bangku taman kanak-kanak hingga perkuliahan. Terima kasih selalu mau membantu dan memberikan semangat kepada penulis;
13. Keluarga besar Pasaribu dan Pardede yang selalu mendoakan dan mendukung penulis selama penulisan skripsi ini;
14. Teman-teman sejawat familiYaa, Gina, Jipa, Sania, Luki, Patiya, Mew, Pira, Irpan, Reja yang menjadi sahabat sekaligus keluarga selama penulis merantau di Bandar Lampung. Terima kasih telah memberikan banyak bantuan, motivasi, dan semangat selama menjalani perkuliahan hingga melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini;
15. Teman-teman Makasih Selalu Ada, Ociw, Kano, Tere, Dora, dan Jenet yang senantiasa mendukung, membantu, menguatkan, dan memberikan semangat

kepada penulis selama ini, terutama selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini;

16. Teman-teman penelitian di laboratorium, Umni, Ade, Ummi, Sania, Ilyas, Tiva, Ranesya, Mey, Pipit, Nopa, Nata, Aga yang selalu memberikan bantuan dan dukungannya kepada penulis selama proses penelitian di laboratorium;
17. Teman-teman EKSOS, Aga, Luki, Belda, Dipa, Fira, Patiya, Anisa, Anu, Ici, Bela, Farhan, Febi, Hanip, Karina, Melisa, Putik, Rahma, Nesya, Yuhe, dan Yumna yang memberikan banyak pengalaman berharga bagi penulis serta selalu mendukung dan memberikan semangat selama proses penulisan skripsi;
18. Teman-teman jauh penulis, Dean, Ayu, Kayla, Dila, Pina, Shafira Pramudita, dan Amaldo Lumban Toruan yang selalu memberikan motivasi, dukungan, dan semangat kepada penulis selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini;
19. Keluarga Purin-Pirimidin Angkatan 2021 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas semangat dan kebersamaannya selama perkuliahan.
20. Teman-teman KKN Desa Sriwijaya yang memberikan banyak pelajaran berharga bagi penulis selama 40 hari bersama-sama dan selalu mendukung penulis dalam penulisan skripsi ini;
21. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah mendukung serta membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua orang dan menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 19 April 2025

Penulis,

Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu

ABSTRACT

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC CONTENTS, TOTAL FLAVONOID CONTENTS, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COMBINATION OF AVOCADO LEAF (*Persea americana* Mill.) AND PAPAYA LEAVES (*Carica papaya* L.) FRACTIONS

Oleh

Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu

Background: Degenerative diseases are often associated with free radicals because they damage cells and can be treated with antioxidant therapy. Avocado leaves and papaya leaves are medicinal plants that contain phenolic and flavonoid compounds that can be developed as antioxidants. This study aims to determine the total phenolic content and total flavonoid content as well as the antioxidant activity of a combination of n-hexane, ethyl acetate, and aquadest fractions from avocado leaves (*Persea americana* Mill.) and papaya leaves (*Carica papaya* L.).

Methods: The combination fraction of avocado and papaya leaves with a ratio of 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, and 0:2 with a total weight of the thick fraction of 50 mg (%w/w) was tested for total phenolic content (mg GAE/g extract) using the *folin-ciocalteu* method, total flavonoid content (mg QE/g extract) using the aluminum chloride colorimetric method, and antioxidant activity ($\mu\text{g/ml}$) using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. *One-way ANOVA* or *Kruskal-wallis* statistical tests and *Pearson* or *Spearman* correlation tests with a 95% confidence level were used for data analysis in this study.

Results: The highest total phenolic content of the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and aquadest fraction was found in the combination of 1:2, 1:2, and 2:0 (986.429; 5764.359; and 1429.286 mg GAE/g extract). The highest total flavonoid content of the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and aquadest fraction was found in the combination of 2:0 with values of 926.250; 3201.250; and 1197.083 mg QE/g extract. The strongest antioxidant activity of the n-hexane, ethyl acetate, and aquadest fractions was obtained in the combination ratios of 2:0, 2:1, and 1:1 (86.805; 28.287; and 69.991 $\mu\text{g/ml}$). All test results have significant differences between the combination comparisons. There is a negative correlation with a range of -1 to 1 between total phenolic content and total flavonoid content with antioxidant activity in avocado leaves and papaya leaves.

Conclusion: The combination of n-hexane, ethyl, and aquades fractions of avocado and papaya leaves has a total phenolic and flavonoid content and there is a negative correlation with the antioxidant activity produced.

Keywords: Avocado leaf, papaya leaves, fraction, total phenolic, total flavonoid, antioxidant

ABSTRAK

PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL, KADAR FLAVONOID TOTAL, DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KOMBINASI FRAKSI DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.)

Oleh

Michelle Jovelyna My Angel Pasaribu

Latar Belakang: Penyakit degeneratif sering dikaitkan dengan radikal bebas karena merusak sel dan dapat diatasi dengan terapi antioksidan. Daun alpukat dan daun pepaya merupakan tanaman obat yang mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat dikembangkan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar fenolik total dan kadar flavonoid total serta aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

Metode: Fraksi kombinasi daun alpukat dan daun pepaya dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 dengan total berat fraksi kental 50 mg (%b/b) dilakukan uji kadar fenolik total (mg GAE/g ekstrak) dengan metode *folin-ciocalteu*, kadar flavonoid total (mg QE/g ekstrak) dengan metode kolorimetri aluminium klorida, dan aktivitas antioksidan ($\mu\text{g/ml}$) dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Uji statistik *one-way ANOVA* atau *Kruskal-wallis* serta uji korelasi *Pearson* atau *Spearman* dengan taraf kepercayaan 95% digunakan untuk analisis data dalam penelitian ini.

Hasil: Kadar fenolik total fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi aquades tertinggi ditemukan pada kombinasi 1:2, 1:2, dan 2:0 (986,429; 5764,359; dan 1429,286 mg GAE/g ekstrak). Kadar flavonoid total fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi aquades tertinggi ditemukan pada kombinasi 2:0 dengan nilai sebesar 926,250; 3201,250; dan 1197,083 mg QE/g ekstrak. Aktivitas antioksidan terkuat dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades diperoleh pada perbandingan kombinasi 2:0, 2:1, dan 1:1 (86,805; 28,287; dan 69,991 $\mu\text{g/ml}$). Semua hasil pengujian memiliki perbedaan yang signifikan antar perbandingan kombinasinya. Terdapat korelasi yang bernilai negatif dengan rentang -1 hingga 1 antara kadar fenolik total dan kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan yang ada pada daun alpukat dan daun pepaya.

Kesimpulan: Kombinasi fraksi n-heksan, etil, dan aquades daun alpukat dan daun pepaya memiliki kadar fenolik dan flavonoid total serta terdapat korelasi negatif dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Kata Kunci: daun alpukat, daun pepaya, fraksi, fenolik total, flavonoid total, antioksidan

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Bagi Institusi	5
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti.....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat	5
1.5 Batasan Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	7
2.1.1. Klasifikasi Alpukat.....	7
2.1.2. Morfologi Alpukat.....	8
2.1.3. Khasiat Daun Alpukat	9
2.2 Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	9
2.2.1. Klasifikasi Pepaya	9
2.2.2. Morfologi Pepaya.....	10
2.2.3. Khasiat Daun Pepaya	11
2.3 Ekstraksi	12

2.3.1 Definisi Ekstraksi	12
2.3.2 Metode Maserasi	12
2.4 Fraksinasi	14
2.4.1 Definisi Fraksinasi.....	14
2.4.2 Metode Fraksinasi Cair-Cair	14
2.5 Senyawa Metabolit Sekunder	15
2.6 Kadar Fenolik Total	20
2.6.1 Metode Folin-Ciocalteu.....	20
2.7 Kadar Flavonoid Total	21
2.7.1 Metode Kolorimetri Aluminium Klorida	21
2.8 Radikal Bebas dan Stress Oksidatif.....	21
2.9 Antioksidan.....	23
2.9.1 Definisi	23
2.9.2 Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	24
2.10. Spektrofotometri UV-Vis.....	25
2.10 Kerangka Teori	27
2.11 Kerangka Konsep	28
2.12 Hipotesis.....	28
BAB III METODE PENELITIAN	29
3.1. Desain Penelitian	29
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.2.1 Tempat Penelitian	29
3.2.2 Waktu Penelitian	29
3.3. Alat dan Bahan Penelitian	30
3.3.1 Alat Penelitian	30
3.3.2 Bahan Penelitian	30
3.4. Variabel Penelitian.....	30
3.4.1 Variabel Bebas	30
3.4.2 Variabel Terikat.....	30
3.4.3 Variabel Kontrol.....	31
3.5. Etik Penelitian	31
3.6. Definisi Operasional.....	31

3.7. Prosedur Penelitian.....	33
3.7.1 Pengambilan Sampel.....	33
3.7.2 Uji Determinasi Tanaman.....	33
3.7.3 Pembuatan Simplisia.....	34
3.7.4 Pembuatan Ekstrak.....	34
3.7.5 Pembuatan Fraksi.....	35
3.7.6 Uji Skrining Fitokimia.....	36
3.7.7 Pembuatan Larutan Uji.....	37
3.7.8 Uji Kadar Fenolik Total.....	37
3.7.9 Uji Kadar Flavonoid Total.....	39
3.7.10 Uji Aktivitas Antioksidan.....	40
3.8. Alur Penelitian.....	43
3.9. Pengolahan dan Analisis Data.....	44
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
4.1. Hasil.....	45
4.1.1. Determinasi Tanaman.....	45
4.1.2. Pembuatan Simplisia Serbuk.....	45
4.1.3. Ekstraksi dan Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	46
4.1.4. Fraksinasi dan Perhitungan Rendemen Fraksi.....	47
4.1.5. Hasil Skrining Fitokimia.....	47
4.1.6. Hasil Uji Kadar Fenolik Total.....	49
4.1.7. Hasil Uji Kadar Flavonoid Total.....	53
4.1.8. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan.....	56
4.1.9. Analisis Data Hubungan Kadar Fenolik Total Terhadap Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan.....	59
4.1.10. Analisis Data Hubungan Kadar Flavonoid Total Terhadap Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan.....	61
4.2. Pembahasan.....	63
4.2.1. Ekstraksi dan Fraksinasi.....	63
4.2.2. Skrining Fitokimia.....	64
4.2.3. Uji Kadar Fenolik Total.....	65
4.2.4. Uji Kadar Flavonoid Total.....	66
4.2.5. Uji Aktivitas Antioksidan.....	67

4.2.6. Analisis Data Hubungan Kadar Fenolik Total dan Kadar Flavonoid Total Terhadap Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan	71
---	----

BAB V SIMPULAN DAN SARAN	73
5.1. Simpulan.....	73
5.2. Saran	75

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Definisi Operasional	31
Tabel 3.2. Perbandingan Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya	37
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Alpukat dan Daun Pepaya.....	45
Tabel 4.2 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Alpukat dan Daun Pepaya.....	46
Tabel 4.3 Hasil Fraksi Kental serta Nilai Rendemen Daun Alpukat dan Daun Pepaya.....	47
Tabel 4.4 Hasil Skrinning Fitokimia Daun Alpukat	48
Tabel 4.5 Hasil Skrinning Fitokimia Daun Pepaya	48
Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi N-heksan	50
Tabel 4.7 Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat.....	51
Tabel 4.8 Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Aquades.....	52
Tabel 4.9 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi N-Heksan	53
Tabel 4.10 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat.....	54
Tabel 4.11 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi Aquades.....	55
Tabel 4.12 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan.....	56
Tabel 4.13 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat	57
Tabel 4.14 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Aquades	58
Tabel 4.15 Hasil Uji Korelasi Kadar Fenolik Total Fraksi N-Heksan Terhadap Nilai IC ₅₀	60
Tabel 4.16 Hasil Uji Korelasi Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Terhadap Nilai IC ₅₀	60
Tabel 4.17 Hasil Uji Korelasi Kadar Fenolik Total Fraksi Aquades Terhadap Nilai IC ₅₀	61
Tabel 4.18 Hasil Uji Korelasi Kadar Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Terhadap Nilai IC ₅₀	62
Tabel 4.19 Hasil Uji Korelasi Kadar Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat Terhadap Nilai IC ₅₀	62
Tabel 4.20 Hasil Uji Korelasi Kadar Flavonoid Total Fraksi Aquades Terhadap Nilai IC ₅₀	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	7
Gambar 2.2 Daun Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	10
Gambar 2.3 Jalur Biosintesis Metabolit Sekunder	16
Gambar 2.4 Contoh-contoh alkaloid	17
Gambar 2.5 Kelas utama golongan fenolik atau polifenol	17
Gambar 2.6 Struktur flavonoid	18
Gambar 2.7 Struktur saponin	19
Gambar 2.8 Struktur tanin.	19
Gambar 2.9 Struktur dasar steroid dan triterpenoid	20
Gambar 2.10 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	24
Gambar 2.11 Kerangka teori	27
Gambar 2.12 Kerangka konsep	28
Gambar 3.1 Alur Penelitian	43
Gambar 4.1 <i>Structure-Activity Relationship</i> (SAR) dari Flavonoid dengan antioksidan	69
Gambar 4.2 Struktur Molekul Kuersetin dan Kaempferol yang Berkontribusi sebagai Antioksidan.	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Etik	94
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	95
Lampiran 3. Hasil Determinasi Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	97
Lampiran 4. Diagram Penelitian	99
Lampiran 5. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel.....	107
Lampiran 6. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan	109
Lampiran 7. Dokumentasi	137
Lampiran 8. Hasil Analisis Data Statistika Menggunakan SPSS.....	146
Lampiran 9. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Galat.....	154
Lampiran 10. <i>Certificate of Analysis</i> Folin-Ciocalteu.....	155
Lampiran 11. <i>Certificate of Analysis</i> Kuersetin	156
Lampiran 12. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Askorbat	157
Lampiran 13. <i>Certificate of Analysis</i> DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)..	158
Lampiran 14. <i>Certificate of Analysis</i> Aluminium Klorida	159
Lampiran 15. <i>Certificate of Analysis</i> Sodium Nitrat.....	160
Lampiran 16. <i>Certificate of Analysis</i> Sodium Karbonat	161

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif merupakan kondisi menurunnya kesehatan organ atau jaringan di dalam tubuh yang terjadi karena adanya perubahan pada sel-sel tubuh yang dapat mempengaruhi fungsi organ secara menyeluruh (Setyawati *et al.*, 2024). Menurunnya aktivitas fisik, pola hidup dan pola makan yang tidak sehat, serta tingkat stressor yang tinggi memiliki pengaruh terhadap timbulnya penyakit degeneratif (Amila *et al.*, 2021). Terdapat contoh terkait penyakit degeneratif antara lain: asma, kanker, stroke, ginjal kronis, sendi, diabetes mellitus (DM), jantung, hipertensi, dan obesitas yang mengalami kenaikan prevalensi dari waktu ke waktu (Damayanti & Wijayati, 2023). Menurut hasil Riskesdas (Riset Kesehatan Dasar) pada tahun 2018, jumlah persentase penduduk Indonesia yang menderita penyakit asma mencapai 2,4%, kanker 1,8%, stroke 10,9%, ginjal kronis 3,8%, sendi 7,3%, DM 2%, jantung 1,5%, hipertensi 34,1%, dan obesitas (IMT $\geq$ 27) 21,8% (Linda & Sri Rahayu, 2021).

Penyebab penyakit degeneratif sering dikaitkan dengan adanya radikal bebas pada tubuh manusia yang dapat mengakibatkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul seperti DNA, protein, dan lipoprotein (Salamah & Widyasari, 2015). Radikal bebas merupakan suatu molekul tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu elektron yang tidak berpasangan sehingga akan mengambil elektron dari molekul lain agar tercapai kondisi yang stabil (Zeb, 2020). Penyakit degeneratif dapat diatasi dengan antioksidan yang dapat menyumbangkan atom hidrogennya sehingga radikal bebas menjadi stabil (Kingne *et al.*, 2019).

Seiring berjalannya waktu dan semakin populernya istilah *back to nature* membuat banyaknya masyarakat Indonesia mulai memanfaatkan tanaman obat berkhasiat untuk pengobatan penyakit. Alasan ini diperkuat dengan banyaknya referensi penelitian terkait tanaman obat berkhasiat yang dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit. Selain itu, terdapat stigma yang berkembang di masyarakat bahwa pengobatan penyakit berbasis bahan alam tidak memerlukan biaya yang besar, serta efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan obat lebih minimal jika dibandingkan dengan penggunaan obat kimia (Kumontoy *et al.*, 2023). Sebagai contoh penggunaan antioksidan sintetik secara terus menerus dapat memunculkan efek samping negatif, seperti munculnya kerusakan pada hati dan menimbulkan efek karsinogen (Sepriyani *et al.*, 2020; Ngibad & Lestari, 2020). Oleh karena itu dibutuhkan pengembangan produk obat berkhasiat sebagai antioksidan alami yang dapat diperoleh dari eksplorasi kandungan senyawa aktif yang berasal dari tumbuhan (Utami *et al.*, 2024).

Tanaman obat tradisional yang memiliki khasiat sebagai antioksidan yaitu daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). Menurut Awaad *et al.* (2023), daun alpukat telah digunakan untuk mengobati diuresis, peradangan, hipertensi, hipoglikemia, radang tenggorokan, dan pendarahan. Sementara itu, daun pepaya banyak digunakan untuk mengobati hipertensi, diare, dan telah terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang baik (Kingne *et al.*, 2019). Adapun berdasarkan data hasil penelitian diperoleh informasi bahwa ekstrak daun alpukat dan daun pepaya memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan steroid (Deuschla *et al.*, 2019; Meylinda *et al.*, 2022).

Penggunaan daun alpukat dan daun pepaya dalam pengobatan penyakit telah didukung dengan berbagai hasil penelitian yang dilakukan. Penelitian sebelumnya menginformasikan bahwa ekstrak etanol daun alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 86,70% ppm serta jumlah kadar fenolik total sebesar 1199,08 mg GAE/g dan kadar flavonoid total sebesar 71,55 mg QE/g (Awaad *et al.*, 2023; Gopalan & Tyug, 2021). Hasil penelitian lain

juga menginformasikan bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 100 ppm serta jumlah kadar fenolik total sebesar 13,5 mgGAE/g dan kadar flavonoid total sebesar 15,65 mgQAE/g (Farida & Iswahyuni, 2018; Nandini *et al.*, 2020). Fenolik dan flavonoid merupakan zat yang banyak terdapat dalam tanaman dan berkontribusi besar terhadap aktivitas antioksidan pada tanaman karena sifat redoksnya yang berperan dalam penyerapan dan netralisasi radikal bebas (Muflihah *et al.*, 2021; Solís-Salas *et al.*, 2021).

Selain itu didapatkan juga hasil dari aktivitas antioksidan dari daun alpukat dengan pelarut etil asetat dan n-heksan didapatkan nilai IC_{50} 157,30 μ g/ml dan 440,80 μ g/ml (Fatmawaty *et al.*, 2019). Pada penelitian Asghar *et al.* (2016), didapatkan aktivitas antioksidan daun pepaya dengan pelarut etil asetat dan n-heksan dengan persen inhibisi sebesar 65% dan 50%. Penggunaan pelarut berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan, selain itu proses pemurnian ekstrak dengan cara fraksinasi juga akan meningkatkan aktivitas antioksidan daun alpukat dan daun pepaya (Bhar, 2024). Pemanfaatan dari kombinasi dua tanaman obat untuk mengobati penyakit tertentu sering dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan efek dan khasiat dari tanaman obat tersebut (Kefalau *et al.*, 2021). Penelitian telah yang dilakukan oleh Rikantara, *et al.* (2022) terkait kombinasi ekstrak sirsak dan pepaya memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada perbandingan 1:1 dengan nilai IC_{50} sebesar 25,66 μ g/ml. Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Douw & Wardani (2023), didapatkan informasi bahwa aktivitas antioksidan pada kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan daun jambu biji memiliki nilai IC_{50} sebesar 89,28 ppm.

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, didapatkan informasi bahwa ekstrak dari daun alpukat dan pepaya memiliki aktivitas antioksidan alami yang baik dan banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit. Akan tetapi, hingga saat ini masih belum tersedia penelitian yang secara spesifik membuktikan terkait jumlah kadar total fenolik, total flavonoid, serta aktivitas

antioksidan dari kombinasi fraksi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). dengan perbandingan series konsentrasi 1:1, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, rumusan masalah yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Berapa jumlah kadar fenolik total dan kadar flavonoid total dari kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.)?
- 1.2.2 Bagaimana gambaran aktivitas antioksidan (nilai IC₅₀) dari kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.)?
- 1.2.3 Apakah terdapat hubungan antara peningkatan kadar fenolik total dan kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar fenolik total, kadar flavonoid flavonoid, dan aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kadar fenolik total dan kadar total flavonoid dari kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

2. Mengetahui gambaran aktivitas antioksidan (nilai IC₅₀) kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang memiliki senyawa antioksidan yang paling baik.
3. Mengetahui hubungan antara peningkatan kadar fenolik total dan kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Institusi

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam mendukung peran institusi untuk mengembangkan potensi pemanfaatan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber diperolehnya antioksidan alami.

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti

Diharapkan penelitian ini dapat dijadikan dasar dalam pengembangan obat baru berbasis bahan alam selanjutnya berdasarkan data terkait kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi aquades, etil asetat, n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Diharapkan penelitian ini dapat menambah informasi dan edukasi bagi masyarakat tentang pemanfaatan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang dapat digunakan sebagai sumber diperolehnya antioksidan alami.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini dibuat untuk menghindari pelebaran fokus penelitian sehingga lebih terarah dan tujuan dari penelitian ini dapat tercapai. Adapun batasan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.5.1 Metode pengujian kadar fenolik total dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode *folin-ciocalteu*
- 1.5.2 Metode pengujian kadar flavonoid total dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida
- 1.5.3 Metode pengujian aktivitas antioksidan dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-picrylhydrazil*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.)

2.1.1. Klasifikasi Alpukat

Klasifikasi Daun Alpukat menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2024) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Magnoliales
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Persea</i> Mill.
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.



Gambar 2.1 Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) (Setiyanto *et al.*, 2021)

2.1.2. Morfologi Alpukat

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) berasal dari dataran tinggi Amerika Tengah dan Meksiko. Tanaman alpukat juga merupakan salah satu jenis tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis maupun subtropis. Tanaman alpukat juga tersebar di banyak wilayah di Indonesia seperti Jawa Barat, Jawa Timur, Jawa Tengah, Sumatera Barat, Sulawesi Selatan, Lampung, dan Nusa Tenggara Timur (Verti *et al.*, 2021). Banyaknya manfaat dari tanaman ini menjadikan banyak masyarakat Indonesia menggunakannya sebagai obat tradisional untuk beberapa pengobatan seperti sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering, sakit gigi, bengkak karena peradangan, dan kencing manis. Hal ini diperkuat juga dengan penelitian-penelitian yang menyatakan bahwa tanaman alpukat mengandung senyawa-senyawa yang mempunyai khasiat terutama untuk meningkatkan kesehatan (Anggorowati *et al.*, 2016).

Tanaman alpukat merupakan tanaman yang memiliki tinggi 3-10 meter, berakar tunggang, batang berkayu, berbentuk bulat, berwarna coklat, bercabang banyak, serta memiliki ranting berambut halus. Daun alpukat merupakan daun tunggal dengan tangkai yang memiliki panjang 1-5,5 cm, terletak pada ujung ranting, berbentuk jorong sampai bundar telur memanjang, ujung dan pangkal daun runcing, serta memiliki tulang daun menyirip. Panjang daun alpukat sekitar 10-20 cm dan lebar 3-10 cm (Damayanti *et al.*, 2022). Buah alpukat sendiri berbentuk lonjong yang menyerupai buah pir dengan ujung buah tumpul dan pangkal buah meruncing. Warna kulit buah alpukat ketika masih mentah berwarna hijau tua dan ketika sudah masak akan berwarna hijau muda. Daging buah alpukat tebal, bertekstur lunak dan berwarna kuning. Berat dari buah alpukat yaitu sekitar 300-500 gr dengan panjang buah 11,5-19 cm dan diameter buah 6,5-10 cm (Azilla, 2023).

2.1.3. Khasiat Daun Alpukat

Daun alpukat memiliki potensi besar dalam dunia kesehatan. Daun alpukat memiliki kandungan fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan alami dan positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid (Fatmawaty et al., 2019). Antioksidan dapat menangkal radikal bebas, meningkatkan sistem imun, antiinflamasi, dan dapat mencegah terjadinya osteoporosis (Arwanda et al., 2021). Selain itu, daun alpukat juga memiliki kandungan senyawa aktif yang memiliki beragam khasiat terapeutik. Senyawa-senyawa ini terbukti efektif dalam mengatasi berbagai penyakit seperti batu ginjal, radang tenggorokan, menurunkan tekanan darah, anti hipertensi, anti radang, anti diuretik, anti hipoglikemia, dan anti bakteri (Rauf et al., 2017).

Flavonoid pada daun alpukat berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh manusia sehingga sangat baik dalam mencegah kanker. Manfaat dari flavonoid yaitu melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, dan mencegah pengeroposan tulang. Salah satu turunan metabolit sekunder flavonoid yaitu kuersetin yang merupakan senyawa yang dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak dengan cara menangkap radikal bebas dan mengkelat ion logam transisi (Anggorowati et al., 2016).

2.2 Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.)

2.2.1. Klasifikasi Pepaya

Klasifikasi Daun Pepaya menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2024) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta

Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Rosanae
Ordo	: Brassicales
Famili	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i> L.
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L.



Gambar 2.2 Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) (Sudarwati & Fernanda, 2019)

2.2.2. Morfologi Pepaya

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman tropika yang dapat ditemui pada semua daerah di Indonesia dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena mengandung vitamin A, vitamin C, dan serat (Mutryarny & Rizal, 2022). Tanaman pepaya termasuk golongan tanaman tidak bermusim sehingga terjadi peningkatan produksi pepaya di Indonesia (Wardoyo *et al.*, 2024). Tanaman pepaya juga memiliki manfaat yang sangat banyak bagi kesehatan tubuh manusia. Akar dari tanaman pepaya dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing kremi, ginjal, dan kandung kencing. Daun dari tanaman pepaya dapat dimanfaatkan sebagai sumber vitamin A, menambah nafsu makan, obat demam berdarah, malaria, dan sakit panas. Buah pepaya dapat dimanfaatkan sebagai sumber vitamin A dan C. Biji dari buah pepaya dapat

dimanfaatkan untuk mengurangi berat badan dan sebagai obat cacing (Siagian *et al.*, 2019).

Tanaman pepaya merupakan merupakan jenis tanaman perdu yang memiliki tinggi sekitar 2-10 meter. Tanaman ini juga termasuk jenis tanaman tropis yang mampu tumbuh subur di daerah yang memiliki ketinggian 0-1500 meter diatas permukaan laut (Siagian *et al.*, 2019). Tanaman pepaya memiliki batang yang tegak dan besar, memiliki daun majemuk berbentuk seperti telapak tangan dan memiliki diameter rata-rata 50-70 cm, serta memiliki buah yang umumnya berwarna oranye kekuningan dengan rasa yang manis ketika sudah matang (Amalia, 2021).

2.2.3. Khasiat Daun Pepaya

Daun pepaya memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh manusia, diantaranya yaitu sebagai anti-tumor, mengobati demam berdarah, dan memiliki antioksidan (Fauziah & Wakidah, 2019). Selain itu, daun pepaya juga dapat dimanfaatkan sebagai antikanker terhadap kanker payudara, pankreas, prostat, kulit, paru, dan serviks yang dipengaruhi juga oleh karakteristik sel dan sampel uji (Rahmawati *et al.*, 2023). Daun pepaya juga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri untuk beberapa bakteri, contohnya *Bacillus subtilis* yang dapat menyebabkan infeksi *gastroenteritis* (Sudarwati, 2018).

Menurut Amalia (2021), daun pepaya memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan terpenoid. Daun pepaya kaya akan zat – zat aktif yang dapat melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dan dapat melawan stress oksidatif seperti manghaslin, clitoriin, rutin, nicotiflorin, papain, chymopapain, cystatin, α -tokoferol, p -coumaric acid, dan *caffeic acid* (Khor *et al.*, 2021).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan suatu komponen atau senyawa tertentu dari suatu matriks berdasarkan perbedaan sifat fisikokimia, terutama kelarutan (Zhang *et al.*, 2018). Proses ekstraksi dilakukan sebagai tahap pertama untuk mendapatkan ekstrak murni atau ekstrak yang hanya terdiri dari satu komponen tunggal (Sari *et al.*, 2021). Adapun faktor-faktor yang perlu diperhatikan dalam memilih suatu metode ekstraksi yaitu sifat senyawa, struktur senyawa, pelarut yang digunakan, stabilitas terhadap panas, dan lama waktu ekstraksi (Abubakar & Haque, 2020).

Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada senyawa target yang diinginkan setelah melakukan proses ekstraksi. Secara umum metode ekstraksi dapat dibedakan berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan, yaitu ekstraksi cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin contohnya yaitu maserasi dan perkolasi. Sedangkan ekstraksi cara panas yaitu refluks, soxhlet, dan infusa (Sudarwati & Fernanda, 2019). Selain pemilihan metode ekstraksi, pemilihan pelarut juga penting dalam proses ini. Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut yaitu memiliki selektivitas tinggi untuk mengekstrak senyawa yang diinginkan, tidak toksik dan tidak mudah terbakar, memiliki viskositas rendah untuk meningkatkan penetrasi ke dalam bahan baku, biaya yang relatif rendah, dan memiliki titik didih rendah agar menghindari kerusakan senyawa akibat panas (Abubakar & Haque, 2020).

2.3.2 Metode Maserasi

Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang tidak melewati proses pemanasan yang dapat merusak senyawa aktif (Sudarwati & Fernanda, 2019). Metode maserasi juga dapat dilakukan dengan mudah dan sederhana, selain itu juga rendemen ekstrak yang

dihasilkan cukup baik (Alfauzi *et al.*, 2022). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut dan disimpan selama tiga hari yang dilakukan pengadukan secara berkala sehingga pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel (Abubakar & Haque, 2020; Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

Pada akhir proses maserasi nantinya akan didapatkan rendemen yang merupakan perbandingan antara berat akhir ekstrak yang dihasilkan dengan berat serbuk simplisia kering yang digunakan. Nilai rendemen ini juga menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak, semakin tinggi nilai rendemennya maka semakin tinggi juga kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku (Senduk *et al.*, 2020). Nilai rendemen dapat ditingkatkan dengan melakukan remaserasi atau pengulangan dalam maserasi sebanyak dua atau tiga kali dengan menggunakan sisa atau ampas dari hasil ekstraksi tahap pertama (Nugroho, 2017).

Proses maserasi memerlukan waktu yang cukup lama untuk satu kali ekstraksi, yaitu satu hari hingga satu minggu. Hal ini bergantung pada jenis bahan yang akan diekstrak. Maserasi juga memerlukan banyak pelarut dan ada peluang hilangnya metabolit selama proses maserasi yang dikarenakan adanya penempelan pada kertas saring maupun bejana yang digunakan. Selain itu, apabila dilakukan dengan waktu yang terlalu lama tanpa adanya penggantian pelarut memungkinkan adanya perubahan struktur kimia dari metabolit yang tidak stabil karena lamanya kontak dengan pelarut yang digunakan (Nugroho, 2017).

2.4 Fraksinasi

2.4.1 Definisi Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak tanaman sehingga diperoleh senyawa tunggal (Abubakar & Haque, 2020). Sebuah ekstrak dari suatu bahan dapat mengandung banyak senyawa di dalamnya, sehingga dapat dilakukan suatu proses untuk memisahkan senyawa tersebut sehingga menjadi lebih murni dan bebas dari pengotor lainnya (Nugroho, 2017). Proses penarikan senyawa ini didasari oleh sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan (Sudarwati & Fernanda, 2019).

2.4.2 Metode Fraksinasi Cair-Cair

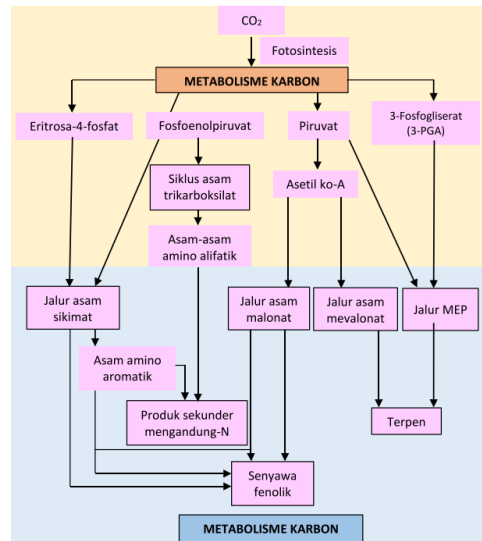
Fraksinasi cair-cair merupakan metode pemisahan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat bercampur antara keduanya. Metode fraksinasi ini dilakukan dengan menggunakan labu pisah (*separating funnel*) yang bertujuan agar memudahkan pemisahan dari kedua fase atau fraksi (Nugroho, 2017).

Prinsip fraksinasi yaitu adanya dua pelarut (pelarut awal dan pelarut tambahan) yang memiliki perbedaan polaritas, pada saat dimasukkan dalam labu pemisah maka akan terbentuk dua fase atau fraksi yang terpisah pada bagian atas dan bawah. Fase bagian atas akan ditempati oleh pelarut yang memiliki massa jenis lebih rendah sedangkan fase bagian bawah akan ditempati oleh pelarut dengan massa jenis yang lebih tinggi. Senyawa dari ekstrak yang ingin dipisahkan akan bergerak dan terpisah dengan mengikuti sifat dari pelarut yang digunakan. Senyawa yang bersifat polar akan tertarik pada pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan tertarik pada pelarut non polar (Nugroho, 2017).

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa organik yang dihasilkan oleh tumbuhan itu sendiri namun tidak berfungsi langsung pada proses fotosintesis, pertumbuhan atau respirasi, translokasi, transportasi zat terlarut, sintesis protein, asimilasi nutrisi, diferensiasi, pembentukan karbohidrat, protein dan lipid. Senyawa metabolit sekunder ini memiliki jumlah serta jenis yang beragam dan diantaranya dapat memberikan efek fisiologi dan farmakologi yang lebih dikenal dengan senyawa aktif. Fungsi dari metabolit sekunder bagi tanaman salah satunya untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan dan melindungi dari serangan organisme penyebab penyakit (Putri *et al.*, 2023). Metabolit sekunder secara umum dibagi menjadi tiga kelompok yaitu, terpen, senyawa fenolik, dan produk sekunder yang mengandung nitrogen (Perangin-Angin *et al.*, 2019).

Terpen atau terpenoid merupakan kelompok metabolit sekunder yang disintesis melalui jalur asam mevalonat (MVA) dan metileritritol fosfat yang memiliki sifat antimikroba, antijamur, antivirus, antiparasit, antialergenik, anti radang, imunomodulator, dan lain sebagainya (Anggraito *et al.*, 2018). Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang disintesis melalui dua jalur yaitu, jalur asam sikimat dan jalur asam malonat yang memiliki karakteristik cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi (Anggraito *et al.*, 2018; Julianto, 2019). Sedangkan senyawa metabolit sekunder yang mengandung nitrogen disintesis dari asam-asam amino yang umum dan memiliki nitrogen sebagai bagian dari strukturnya (Anggraito *et al.*, 2018).

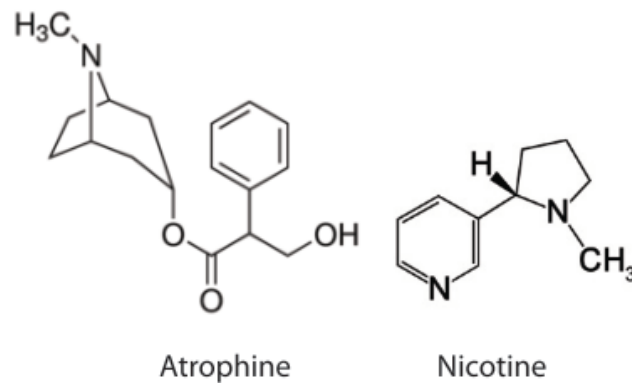


Gambar 2.3 Jalur Biosintesis Metabolit Sekunder (Anggraito *et al.*, 2018)

Berdasarkan struktur kimianya, senyawa metabolit sekunder dikelompokkan menjadi beberapa golongan yaitu:

a. Alkaloid

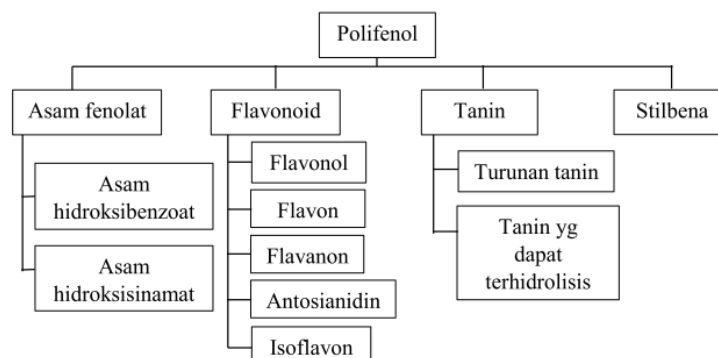
Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen dan berperan dalam metabolisme tumbuhan. Alkaloid memiliki struktur kimia berupa heterosiklik yang tersusun atas karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen (Oktaviani *et al.*, 2021). Alkaloid memiliki beberapa aktivitas fisiologis seperti dapat digunakan sebagai antibakteri yang dapat merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Tjandra *et al.*, 2020). Senyawa alkaloid juga berfungsi sebagai antioksidan karena dapat menghentikan proses oksidasi (Oktaviani *et al.*, 2021).



Gambar 2.4 Contoh-contoh alkaloid (Julianto, 2019)

b. Fenolik

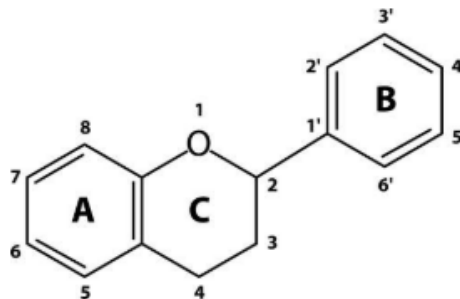
Fenolik merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan. Fenolik mencakup polifenol dan asam fenolik serta turunannya yang terikat pada gula atau gugus alkil (Elufioye *et al.*, 2019). Senyawa fenolik disintesis melalui dua jalur, yaitu jalur asam sikimat dan jalur asam malonat. Pada tumbuhan, senyawa fenolik berfungsi sebagai respon pertahanan, aktivitas antibakteri, dan antifungi (Anggraito *et al.*, 2018). Pada manusia, senyawa fenolik dapat digunakan sebagai antioksidan yang bermanfaat untuk pencegahan dan pengobatan penyakit degeneratif, kanker, penuaan dini, dan gangguan sistem imun tubuh (Andriani & Murtisiwi, 2018).



Gambar 2.5 Kelas utama golongan fenolik atau polifenol (Anggraito *et al.*, 2018)

c. Flavonoid

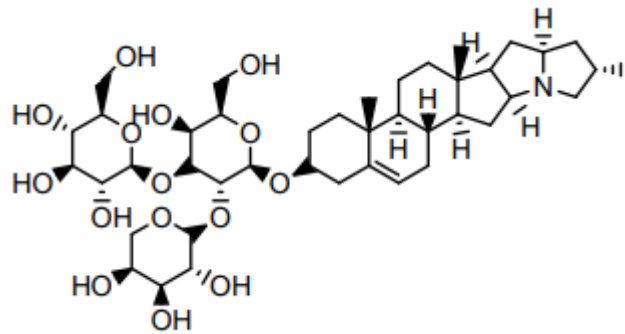
Flavonoid merupakan golongan polifenol yang terdiri dari 15 atom karbon yang tersusun dalam tiga cincin (C₆-C₃-C₆) dan disintesis melalui jalur metabolisme fenilpropanoid. Flavonoid dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan struktur molekulnya yaitu, flavones, flavanones, isoflavones, flavonols, chalcones, flavanols, dan antosianin (Chen *et al.*, 2023). Senyawa flavonoid berpotensi sebagai antioksidan karena dapat menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif melalui mekanisme merusak sistem imunitas tubuh, oksidasi lipid dan protein (Aminah *et al.*, 2017).



Gambar 2.6 Struktur flavonoid (Nugroho, 2017)

d. Saponin

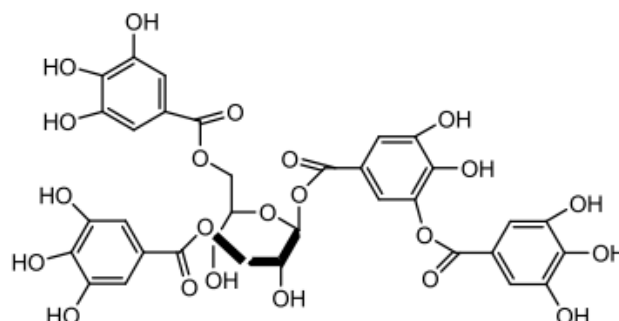
Saponin merupakan suatu senyawa yang memiliki karakteristik untuk membentuk busa serta mengandung galikon polisiklik yang berikatan dengan satu atau lebih gula (Suleman *et al.*, 2022). Saponin tersebar luas pada berbagai bagian tumbuhan, termasuk akar, batang, daun, buah, dan biji. (Yulia *et al.*, 2023). Senyawa saponin memiliki manfaat secara farmakologi seperti dapat mengobati penyakit rematik, anemia, diabetes, impotensi, antifungi, antibakteri, dan sebagai antioksidan. Saponin berfungsi sebagai antioksidan dikarenakan mampu bereaksi dengan superoksida dan membentuk intermediat hiperoksida yang lebih stabil, sehingga mencegah terjadinya reaksi yang dapat merusak biomolekul (Putri *et al.*, 2023).



Gambar 2.7 Struktur saponin (Noer *et al.*, 2018)

e. Tanin

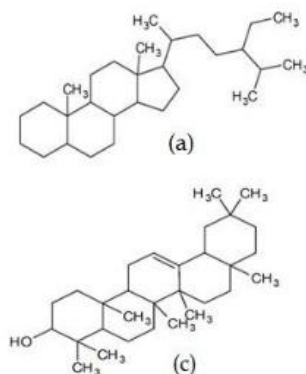
Tanin merupakan senyawa organik yang termasuk dalam kelompok polifenol. Molekul tanin memiliki struktur yang kompleks dan berukuran besar, tersusun atas atom karbon, hidrogen, dan oksigen. Berdasarkan struktur kimianya, tanin dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Nofita & Dewangga, 2022). Tanin juga memiliki efek farmakologis bagi tubuh seperti sebagai antibakteri, antidiare, astringent, dan antioksidan. Tanin memiliki kemampuan untuk mencegah kerusakan pada beta-karoten serta dapat menetralkan berbagai jenis radikal bebas sehingga dapat membantu melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Sunani & Hendriani, 2023).



Gambar 2.8 Struktur tanin (Noer *et al.*, 2018).

f. Steroid dan terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa yang berasal dari terpen setelah mengalami proses pengurangan atom hidrogen (dehidrogenasi) dan penambahan atom oksigen (oksidasi). Terpen merupakan kelompok hidrokarbon yang dapat ditemukan pada tumbuhan dan beberapa jenis serangga. Sedangkan steroid merupakan turunan golongan senyawa dari terpenoid yang memiliki tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana (Melati & Parbuntari, 2022). Senyawa terpenoid dan turunannya memiliki beberapa aktivitas farmakologis seperti antiviral, antibakteri, dan antiinflamasi (Nola *et al.*, 2021).



Gambar 2.9 Struktur dasar steroid dan triterpenoid (Liem *et al.*, 2013).

2.6 Kadar Fenolik Total

2.6.1 Metode Folin-Ciocalteu

Reagen *folin-ciocalteu* merupakan larutan kompleks ion polimetrik yang terbentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat. Metode *folin-ciocalteu* didasarkan pada reaksi transfer elektron dimana fenolik akan mendonasikan elektron kepada kompleks asam fosfat dan fosfomolibdat yang terkandung dalam reagen *folin-ciocalteu*. Hal ini akan mengakibatkan kompleks asam fosfat dan fosfomolibdat berubah menjadi kompleks heteropolimolibdenum biru (Pérez *et al.*, 2023). Semakin pekat warna biru yang dihasilkan maka semakin besar juga konsentrasi senyawa fenolik karena semakin banyaknya ion fenolat yang akan mereduksi

asam heteropoli menjadi kompleks molibdenum-tungsten (Andriani & Murtisiwi, 2018).

2.7 Kadar Flavonoid Total

2.7.1 Metode Kolorimetri Aluminium Klorida

Metode kolorimetri aluminium klorida merupakan metode untuk menentukan kadar flavonoid total dengan kuersetin sebagai pembandingnya. Senyawa flavonoid dapat membentuk kompleks stabil apabila berikatan dengan aluminium klorida. Pembentukan kompleks ini akan mengubah kemampuan penyerapan radiasi elektromagnetik senyawa tersebut, terutama pada daerah UV-Vis melalui mekanisme eksitasi ion logam, eksitasi molekul ligan, dan transfer muatan (Bachtiar *et al.*, 2023).

Metode kolorimetri aluminium klorida didasarkan pada pembentukan kompleks berwarna kuning stabil antara aluminium dan gugus keto yang ditemukan dalam flavon dan flavonol. Gugus pada senyawa flavonoid akan menghasilkan kompleks asam yang stabil ketika aluminium klorida ditambahkan. Kuersetin dipilih sebagai pembanding karena merupakan salah satu molekul flavonoid yang dapat bereaksi dengan aluminium klorida dan menghasilkan kompleks yang stabil. Kompleks aluminium klorida dan kuersetin dapat menyerap panjang gelombang antara 400-500 nm (Utami *et al.*, 2024).

2.8 Radikal Bebas dan Stress Oksidatif

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga menyebabkan suatu senyawa atau molekul menjadi lebih reaktif. Hal ini dikarenakan adanya pengikatan elektron molekul yang berada di sekitarnya untuk mencari pasangan (Anggarani *et al.*, 2023). Radikal bebas dapat berada di dalam tubuh dikarenakan adanya hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung selama bernafas, metabolisme sel, olahraga atau aktivitas fisik yang berlebihan, peradangan, serta terpapar

polusi dari luar tubuh seperti asam kendaraan, asap rokok, makanan, dan radiasi matahari (Wiyono *et al.*, 2023).

Radikal bebas dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). ROS merupakan senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif dan terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok radikal bebas dan kelompok non radikal (Sinaga, 2016). ROS radikal bebas mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, contohnya superoksida. Sedangkan ROS non radikal tidak mempunyai elektron yang tidak berpasangan namun merupakan senyawa reaktif yang dapat berubah menjadi ROS radikal bebas (Hikmah & Hardiany, 2021).

Perubahan struktur DNA dapat disebabkan oleh radikal bebas yang mengambil elektron dari tubuh manusia sehingga menimbulkan sel-sel mutan. Salah satunya, yaitu kerusakan lipid peroksida yang terjadi apabila asam lemak tak jenuh terserang radikal bebas. Hal ini menyebabkan reaksi antar zat gizi di dalam tubuh menghasilkan peroksida yang menyebabkan kerusakan sel dan dapat dianggap sebagai salah satu penyebab terjadinya berbagai penyakit degeneratif. Selain itu, radikal bebas juga dapat menyebabkan kerusakan protein yang dapat mengakibatkan katarak, dapat menimbulkan autoimun, dan menyebabkan kerusakan pada membran sel (Fakriah *et al.*, 2019)

Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas (ROS dan RNS) dengan sistem antioksidan tubuh akan menyebabkan stress oksidatif (Vinha *et al.*, 2023). ROS berperan sebagai pemicu berbagai reaksi biokimia penting di dalam sel. Namun, peningkatan kadar ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stress oksidatif dan merusak makromolekul seluler (Pizzino *et al.*, 2017). Keadaan stress oksidatif akan memicu berbagai penyakit seperti *stroke*, *alzheimer*, *diabetes*, *parkinson*, *kanker*, *penyakit neurodegeneratif*, *penyakit jantung*, *paru*, *rheumatoid arthritis* dan *autoimun* (Prasetyaningsih *et al.*, 2023). Stress oksidatif yang semakin tinggi dalam tubuh disebabkan oleh semakin banyaknya

radikal bebas yang dihasilkan sehingga dapat memperparah penyakit yang diderita (Triandita & Putri, 2019).

2.9 Antioksidan

2.9.1 Definisi

Antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah atau menunda kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara mengurangi stress oksidatif (Elufioye *et al.*, 2019). Senyawa antioksidan diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas yang berkontribusi terhadap penuaan dan perkembangan beberapa patologi seperti penyakit kardiovaskular, penyakit inflamasi kronis, penyakit paru-paru, diabetes, kanker, dan penyakit neurodegeneratif lainnya (Vinha *et al.*, 2023).

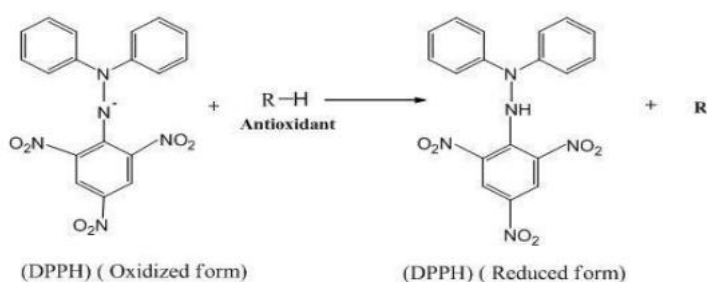
Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi antioksidan primer, sekunder, dan tersier berdasarkan mekanisme kerjanya. Antioksidan primer digunakan sebagai pelindung terhadap jenis radikal bebas yang baru dengan cara membentuk molekul yang tidak terlalu berbahaya dan terdapat pada intraseluler. Contoh dari antioksidan primer yaitu, superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPX), katalase, dan koenzim Q (ubiquinon). Antioksidan sekunder berguna untuk mengikat radikal bebas seperti vitamin E (alfa-tokoferol), vitamin C (asam askorbat), beta karoten, asam yurik, bilirubin, dan albumin. Sedangkan antioksidan tersier berguna untuk memperbaiki biomolekul yang rusak oleh radikal bebas, contohnya yaitu, enzim perbaikan DNA dan metionin sulfoksida reduktase (Mu'nisa, 2023).

Berdasarkan bentuknya, antioksidan dapat digolongkan menjadi dua yaitu, antioksidan yang berbentuk enzim dan non enzim. Contoh antioksidan yang berbentuk enzim yaitu katalase, glukosa 6 fosfat, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase (SOD). Sedangkan

yang berbentuk non enzim yaitu asam askorbat, ferritin, dan alfa tokoferol (Prasetyaningsih *et al.*, 2023).

2.9.2 Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan salah satu metode pengujian antioksidan yang paling umum digunakan karena lebih mudah dilakukan, lebih stabil, dan lebih sensitif. Mekanisme metode ini melibatkan transfer elektron dan reduksi oksidan berwarna (Elufioye *et al.*, 2019). DPPH akan berwarna ungu karena adanya delokalisasi, setelah bereaksi dengan antioksidan dan mengalami proses reduksi, maka akan berubah warna menjadi kuning. Hal ini terjadi karena pada saat proses reduksi terjadi donor hidrogen dari substrat sehingga warna ungu pada DPPH akan berkurang (Mu'nisa, 2023).



Parameter yang digunakan pada pengujian antioksidan dengan metode DPPH ini yaitu IC_{50} (*inhibition concentration 50*). Hal ini merupakan konsentrasi dari sampel yang diperlukan untuk mengurangi 50% radikal bebas DPPH. Apabila nilai dari IC_{50} semakin kecil maka aktivitas antioksidannya semakin besar, begitu juga sebaliknya (Mu'nisa, 2023). Adapun tingkatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} menurut Adiprahara Anggarani *et al.* (2023) yaitu:

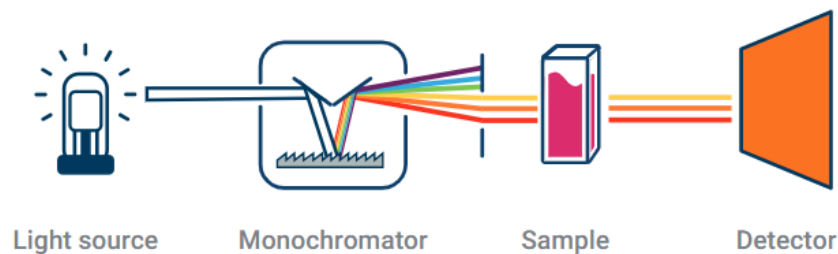
- a. Sangat kuat: <50 ppm
- b. Kuat: 50-100 ppm
- c. Sedang: 100-250 ppm
- d. Lemah: 250-500 ppm

2.10. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan teknik analisis yang memanfaatkan pengukuran absorbansi radiasi elektromagnetik oleh analit dalam larutan untuk menentukan konsentrasi senyawa dalam suatu larutan (González-Morales *et al.*, 2020). Prinsip dasar metode spektrofotometri UV-Vis yaitu pengukuran panjang gelombang dan intensitas cahaya *ultraviolet* (UV) dengan panjang gelombang 200-400 nm dan cahaya tampak (*Visible*) dengan panjang gelombang 400-800 nm yang diserap oleh sampel dan menghasilkan spektrum yang digunakan untuk menganalisis unsur dan senyawa kimia, memeriksa struktur molekul, dan menentukan komposisi suatu material (Pratiwi & Nandiyanto, 2022). Pada spektrofotometer UV-Vis, cahaya dalam rentang *ultraviolet* atau *visible* akan diserap oleh sampel dan menyebabkan perubahan keadaan elektronik molekul di dalam sampel sehingga elektron dalam molekul atau ion berpindah dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi (Verma & Mishra, 2018).

Spektrofotometer UV-Vis memiliki beberapa komponen yang meliputi sumber cahaya seperti lampu deuterium, tempat sampel (*kuvet*), pemisah gelombang cahaya (monokromator), dan detektor seperti pada **Gambar 2.11** (Toledo, 2015). Sumber cahaya seperti lampu deuterium, lampu tungsten, dan

lampu xenon akan menghasilkan sinar elektromagnetik pada panjang gelombang *ultraviolet* dan *visible* lalu diteruskan ke dalam monokromator yang terdiri dari celah masuk, lensa kolimasi, perangkat pendispersi, lensa pemfokus, dan celah keluar (Verma & Mishra, 2018). Cahaya polikromatis akan masuk ke dalam monokromator melalui celah dan akan memilih serta mengarahkan satu panjang gelombang tertentu untuk diteruskan ke dalam *kuvet* yang berisi sampel dan sumber cahaya akan diubah menjadi sinyal listrik oleh detektor untuk dapat menentukan jumlah radiasi yang diserap oleh sampel (González-Morales *et al.*, 2020; Chakravarthi *et al.*, 2023).



Gambar 2.11 Prinsip pengukuran dalam spektrofotometer UV-Vis (Agilent, 2021)

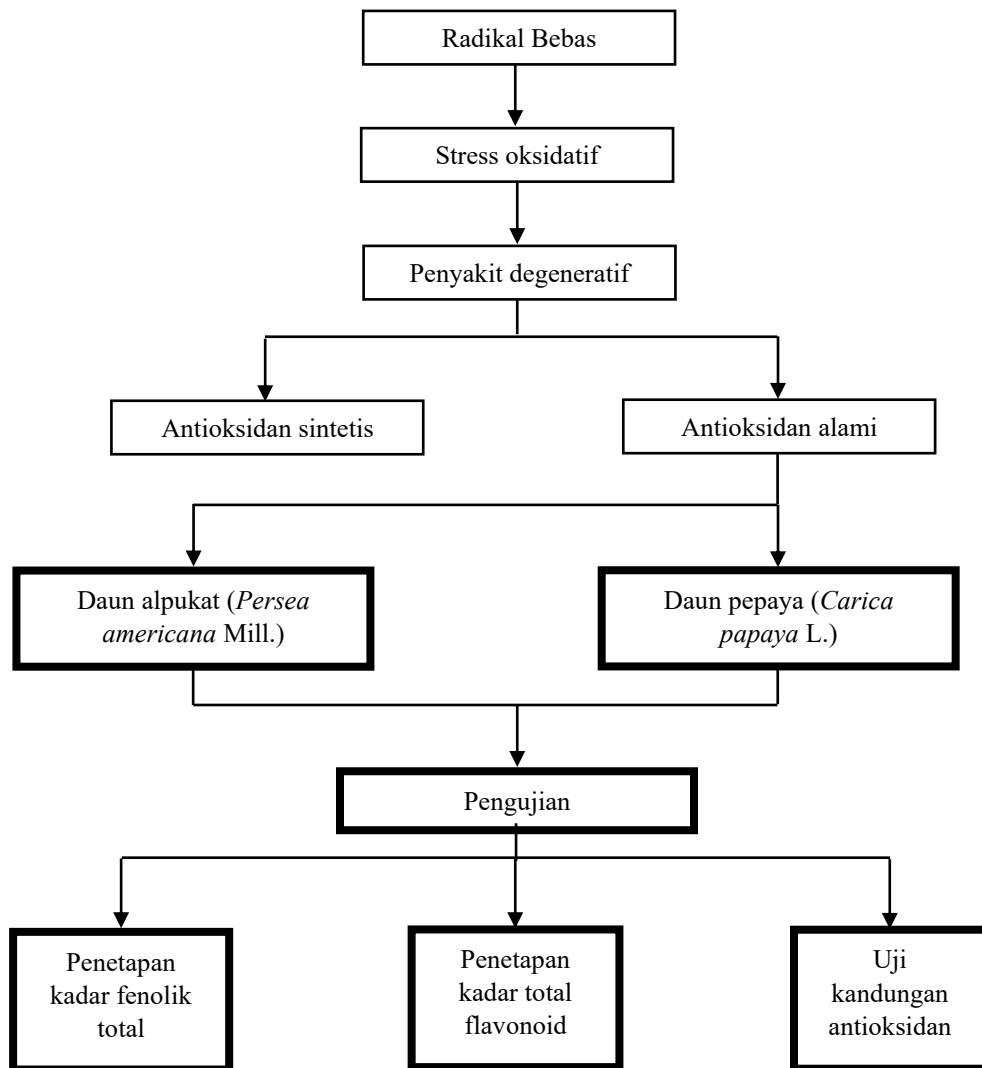
Pengukuran absorbansi pada sampel didasari oleh hukum *Lambert-Beer* yang mana nilai konsentrasi suatu zat kimia berbanding lurus dengan jumlah cahaya yang diserapnya saat terkena radiasi monokromatik (González-Morales *et al.*, 2020). Hukum *Lambert-Beer* ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa dengan persamaan sebagai berikut (Pratiwi & Nandiyanto, 2022)

$$A = \epsilon \times b \times C$$

Keterangan:

- A: absorbansi
- ϵ : absorptivitas molar ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)
- b: ketebalan kuvet (cm)
- C: konsentrasi (M)

2.10 Kerangka Teori



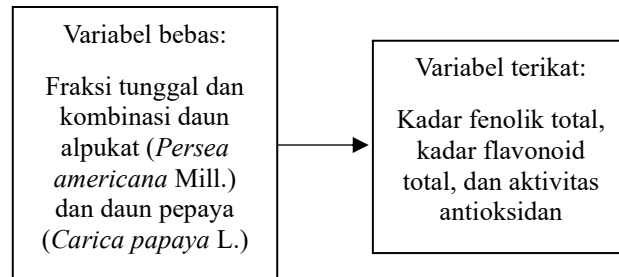
Gambar 2.11 Kerangka teori

Keterangan:

: Variabel yang akan diteliti

: Variabel yang tidak diteliti

2.11 Kerangka Konsep



Gambar 2.12 Kerangka konsep

2.12 Hipotesis

H0: Tidak terdapat perbedaan antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dengan beberapa perbandingan kombinasi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

H1: Adanya perbedaan antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dengan beberapa perbandingan kombinasi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

H0: Tidak terdapat hubungan antara antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dengan beberapa perbandingan kombinasi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

H1: Terdapat hubungan antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dengan beberapa perbandingan kombinasi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1.Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium untuk mengetahui kadar fenolik total, kadar flavonoid total, serta aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). Penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan kadar fenolik total dan kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀). Penelitian ini menggunakan tiga jenis fraksi yaitu fraksi n-heksan, etil asetat, serta aquades. Dalam pengukuran kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan lima variasi perbandingan yaitu 1:1, 1:2, 2:1, 1:0, dan 0:1 %b/b antara kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya.

3.2.Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk melakukan determinasi tanaman, Laboratorium Farmasetika FK Unila untuk melakukan proses pengeringan tanaman dengan oven dan Laboratorium Kimia Farmasi FK Unila untuk melakukan proses penguapan ekstrak cair, pengujian total fenolik, flavonoid, dan uji aktivitas antioksidan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024 hingga Februari 2025.

3.3. Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol vial, *erlenmeyer* (Pyrex[®]), pipet volume (Iwaki[®]), labu ukur (Pyrex[®]), gelas kimia (Iwaki[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), batang pengaduk, tabung reaksi (Pyrex[®]), *chopper/blender*, *oven*, *kuvet* (Shimadzu[®]), spektrofotometer UV – Vis (Shimadzu UV-1900i[®]), corong (Pyrex[®]), kertas saring, neraca analitik, aluminium foil, dan *rotary evaporator* (IKA[®]).

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat dan daun pepaya yang diambil dari Kalianda, DPPH (2,2-*diphenyl-picrylhydrazil*) (Sigma-aldrich[®]), etanol 70%, aquades, vitamin C (Merck[®]), asam galat (Sigma-aldrich[®]), *folin-ciocalteu* (Merck[®]), natrium karbonat (Merck[®]), kuersetin (Sigma-aldrich[®]), NaNO₂ (sodium nitrite) (Merck[®]), AlCl₃ (aluminium klorida) (Sigma-aldrich[®]), NaOH (natrium hidroksida) (Merck[®]), n-heksan, etil asetat.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis pelarut dan konsentrasi kombinasi fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan uji aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini terdiri dari kontrol positif pada uji total fenolik yaitu asam galat, uji total flavonoid yaitu kuersetin, dan uji aktivitas antioksidan yaitu asam askorbat.

3.5. Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor persetujuan etik yaitu 98/UN26.18/PP.05.02.00/2025 yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

3.6. Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini dijelaskan pada **Tabel 3.1** dibawah ini.

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel bebas				
Jenis pelarut pada kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.	Jenis pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksan, etil asetat, dan aquades.	Melihat nilai polaritas dari tiap pelarut	Jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda	Ordinal
Variasi Perbandingan kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.	Kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dengan perbandingan 1:1, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2.	Timbangan/Neraca analitik	Kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dengan keterangan kombinasi pada tabel 2, 3, dan 4.	Ordinal
Variabel terikat				
Kadar fenolik total	Jumlah total senyawa fenolik yang diperoleh pada kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i>	Menggunakan metode <i>Folin – Ciocalteu</i> untuk mengukur kadar senyawa fenolik yang ada pada kombinasi fraksi	Kadar fenolik total dengan pembanding asam galat (mg GAE/g)	Rasio

	Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)		
Kadar flavonoid total	Jumlah total senyawa flavonoid yang diperoleh pada kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	Menggunakan metode kolorimetri untuk mengukur kadar senyawa flavonoid yang ada pada kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	Kadar flavonoid total dengan pembanding kuersetin (<i>Quercetine Equivalent/QE</i>)	Rasio
Uji aktivitas antioksidan	Nilai yang diperoleh pada kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dalam menghambat 50% radikal bebas DPPH.	Menggunakan metode DPPH untuk mengukur IC_{50} kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.).	Nilai IC_{50} pada kombinasi fraksi daun alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) dan daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dengan keterangan: $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ = sangat kuat $IC_{50} 50\text{-}100 \mu\text{g/mL}$ = kuat $IC_{50} 101\text{-}150 \mu\text{g/mL}$ = sedang $IC_{50} 151\text{-}200 \mu\text{g/mL}$ = lemah (Adiprahara Anggarani <i>et al.</i> , 2023).	Interval
Variabel Kontrol				
Asam galat	Asam galat digunakan sebagai pembanding karena termasuk senyawa fenolik alami dan stabil (Tommy <i>et al.</i> , 2022)	Membuat larutan stok yang nantinya akan diukur absorbansinya pada spektrometer UV-Vis.	Kurva standar asam galat	Rasio
Kuersetin	Kuersetin digunakan sebagai	Membuat larutan stok yang nantinya akan diukur	Kurva standar kuersetin	Rasio

	pembanding karena merupakan senyawa yang penyebarannya paling luas pada tumbuhan (Tommy <i>et al.</i> , 2022)	absorbansinya pada spektrometer UV-Vis.		
Asam askorbat	Asam askorbat digunakan sebagai pembanding karena merupakan senyawa antioksidan alami yang murni sehingga kemampuannya dalam menghambat radikal bebas DPPH sangat tinggi	Membuat larutan stok yang nantinya akan diukur absorbansinya pada spektrometer UV-Vis.	Nilai IC ₅₀ dari asam askorbat dengan keterangan: IC ₅₀ < 50 µg/mL = sangat kuat IC ₅₀ 50-100 µg/mL = kuat IC ₅₀ 101-150 µg/mL = sedang IC ₅₀ 151-200 µg/mL = lemah (Adiprahara Anggarani <i>et al.</i> , 2023).	Interval

3.7. Prosedur Penelitian

Prosedur dari penelitian ini dijelaskan pada tahapan di bawah ini dan akan dilampirkan dalam bentuk diagram pada **Gambar 3.1**.

3.7.1 Pengambilan Sampel

Sampel penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari Kalianda, Lampung Selatan, Provinsi Lampung.

3.7.2 Uji Determinasi Tanaman

Uji determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kesesuaian dan kebenaran identitas dari suatu tanaman. Determinasi tanaman dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.7.3 Pembuatan Simplisia

Daun pepaya dan alpukat ditimbang masing-masing sebanyak 8 kg lalu dibersihkan dan dipisahkan dengan rantingnya. Lalu dicuci dengan air mengalir hingga kotoran-kotoran yang menempel pada daun pepaya dan alpukat bersih. Kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3 hari. Setelah kering, daun pepaya dan daun alpukat dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu 50°C selama 4 jam. Sampel yang sudah kering lalu disortasi untuk menghilangkan pengotor yang masih tersisa lalu dihaluskan menggunakan *chopper* hingga menjadi serbuk simplisia (Wijaya & Noviana, 2022).

3.7.4 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun alpukat dan daun pepaya dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% selama 3 x 24 jam dengan perbandingan pelarut dan simplisia yaitu 1:5 (Sentat & Permatasari, 2015).

1. Ekstrak Etanol Daun Alpukat dan Daun Pepaya

Daun alpukat dan daun pepaya dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi yang telah dilakukan Herlina, *et al.* (2022). Sebanyak 1 kg serbuk daun alpukat dimasukkan ke dalam wadah kaca lalu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 5 liter dan direndam selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan. Hasil ekstrak cair disaring menggunakan kain saring lalu ditampung dalam wadah kaca. Sisa ampasnya kemudian dilakukan remaserasi dengan merendam sisa ampas dengan etanol 70% sebanyak 5 liter selama 2 hari. Proses remaserasi dilakukan agar didapatkan ekstrak yang lebih banyak dan akan meningkatkan hasil rendemen karena semakin banyak pelarut yang diserap oleh simplisia (Rikantara *et al.*, 2022; Tommy *et al.*, 2022). Hasil remaserasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C

dengan kecepatan 100 rpm hingga diperoleh ekstrak kental (Andrie & Taurina, 2024).

2. Rendemen Ekstrak

Dilakukan perhitungan rendemen dengan persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia. Perhitungan rendemen diperlukan untuk mengetahui berapa banyak ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi (Alfauzi *et al.*, 2022). Rendemen ekstrak yang baik ditunjukkan oleh nilai persentase hasil ekstraksi yang lebih dari 10% (Saerang *et al.*, 2023). Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan perhitungan rendemen ekstrak dengan rumus sebagai berikut (Sobari *et al.*, 2022).

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

3.7.5 Pembuatan Fraksi

Metode fraksinasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah fraksinasi cair-cair sesuai prosedur Nafi'ah, *et al.* (2024). Sebanyak 20 gr ekstrak dilarutkan dalam 10 mL etanol sampai terlarut sempurna, lalu ditambahkan aquades sebanyak 100 ml dan dimasukkan di dalam corong pisah 250 ml. Kemudian dimasukkan 100 ml n-heksan ke dalam corong pisah lalu campur hingga homogen. Selanjutnya corong pisah diberdirikan sampai terpisah menjadi 2 lapisan, yaitu fraksi air dan fraksi n-heksan. Kemudian fraksi n-heksan dikeluarkan dari corong pisah, sedangkan fraksi air ditambahkan etil asetat sebanyak 100 ml pada corong pisah dan dicampur hingga homogen. Lalu didiamkan hingga terpisah hingga menjadi dua bagian yaitu fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi yang diperoleh lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Setelah didapatkan fraksi kental, dilakukan perhitungan rendemen fraksi dengan rumus sebagai berikut (Fauzi *et al.*, 2017):

$$\text{Rendemen fraksi} = \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$$

3.7.6 Uji Skrining Fitokimia

Untuk mengetahui apakah fraksi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung metabolit sekunder atau tidak maka perlu dilakukan uji skrining fitokimia sebagai berikut:

a. Uji Saponin

Fraksi 1000 ppm dicampur dengan 10 ml aquadest lalu dipanaskan dan dikocok. Lalu diamati, apabila terbentuk busa yang stabil selama kurang lebih 15 menit maka dapat dikatakan fraksi tersebut mengandung saponin (Suarjo Putri *et al.*, 2023).

b. Uji Alkaloid

Fraksi diambil sebanyak 2 ml lalu diuapkan di atas cawan penguap sampai terbentuk residu lalu dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Diambil 1 ml fraksi tersebut lalu ditambahkan 3 tetes reagen *Mayer* dan akan terbentuk endapan putih (Maulana *et al.*, 2022).

c. Uji Flavonoid

Dilakukan uji *Shinoda*. Fraksi sebanyak 1 mg dilarutkan dalam etanol 5 ml dan 2 gr bubuk magnesium. Setelahnya akan ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat dan akan terjadi perubahan warna menjadi orange, merah muda atau merah (Suarjo Putri *et al.*, 2023).

d. Uji Fenolik

Fraksi dimasukkan ke dalam *droplate* (plat tetes) sebanyak 10 tetes. Lalu ditambahkan larutan FeCl₃ 5% dan akan terjadi perubahan warna menjadi biru, biru kehitaman, hijau, hijau kehitaman, ungu atau kemerahan (Tommy *et al.*, 2022).

e. Uji Tanin

Fraksi sebanyak 1 ml direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10% dan akan terjadi perubahan warna menjadi biru tua atau hitam kehijauan (Maulana *et al.*, 2022).

f. Uji Terpenoid dan Steroid

Dilakukan dengan reaksi *Liebermann – Burchard*. Fraksi sebanyak 2 ml diuapkan dengan cawan penguap sampai terbentuk residu lalu

dilarutkan dengan 0,5 kloroform, kemudian ditambahkan 10,5 ml asam asetat anhidrat. Lalu ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung dan akan terbentuk cincing kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan yang menunjukkan adanya triterpenoid. Apabila muncul cincin biru kehijauan makan menunjukkan adanya sterol (Maulana *et al.*, 2022).

3.7.7 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji yang dibuat yaitu larutan uji kombinasi fraksi daun pepaya dan daun alpukat serta fraksi tunggal dari masing-masing tanaman dengan perbandingan antara daun pepaya dan alpukat sebesar 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 %b/b seperti pada **Tabel 3.2** (Suprijono & Wulan, 2024).

Tabel 3.2. Perbandingan Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya

Perbandingan Daun Alpukat dan Daun Pepaya	Fraksi N-heksan (mg)	Fraksi Etil Asetat (mg)	Fraksi Aquades (mg)
2:2	25:25	25:25	25:25
1:2	17:33	17:33	17:33
2:1	33:17	33:17	33:17
2:0	50:0	50:0	50:0
0:2	0:50	0:50	0:50

3.7.8 Uji Kadar Fenolik Total

Pada penelitian ini dilakukan analisis terhadap kadar fenolik total dengan menggunakan metode *Folin Ciocalteu* yang telah dilakukan oleh Febrianti, *et al.* (2023) dengan modifikasi. Tahapan uji fenolik total ini meliputi pembuatan larutan standar asam galat, pembuatan kurva standar asam galat, pengukuran kadar fenolik total menggunakan spektrofotometer UV – Vis.

1. Pembuatan larutan standar asam galat

Dibuat larutan asam galat dengan konsentrasi 500 ppm dengan melarutkan 50 mg asam galat dengan etanol hingga 100 ml. Lalu

dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 20, 140, 260, 380, dan 500 ppm untuk membuat kurva baku yang nantinya akan didapatkan persamaan regresi linear untuk menghitung persen kadar (Al-Rimawi *et al.*, 2024).

2. Penentuan panjang gelombang maksimum asam galat

Diambil 0,5 ml dari larutan standar asam galat dan ditambahkan 0,4 ml pereaksi *folin ciocalteu* lalu diinkubasi selama 5-8 menit. Selanjutnya ditambahkan 4 ml natrium karbonat 7% dan ditambahkan aquades sampai tanda batas labu ukur 10 ml. Lalu diinkubasi selama 45 menit dan diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm (Martono *et al.*, 2019).

3. Pembuatan kurva baku asam galat

Diambil 0,5 ml dari masing-masing konsentrasi larutan standar asam galat dan ditambahkan 0,4 ml pereaksi *folin ciocalteu* lalu diinkubasi selama 5-8 menit. Selanjutnya ditambahkan 4 ml natrium karbonat 7% dan ditambahkan aquades sampai tanda batas labu ukur 10 ml. Lalu diinkubasi selama 45 menit dan diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm (Martono *et al.*, 2019). Kurva standar dibuat dengan menghubungkan antara konsentrasi larutan standar asam galat dengan hasil serapan yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis.

4. Pengukuran kadar fenolik total menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Dibuat larutan kombinasi fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dengan perbandingan 2:2, 1:2, 2:1, 2:0, 0:2 %b/b seperti pada **Tabel 3.2**, lalu dilarutkan dalam 30 ml etanol hingga diperoleh larutan 100 ppm. Lalu diambil 0,5 ml larutan sampel dari masing-masing kombinasi fraksi dan ditambahkan 0,4 ml pereaksi *folin ciocalteu* lalu diinkubasi selama 5-8 menit. Selanjutnya ditambahkan 4 ml

natrium karbonat 7% dan ditambahkan aquades sampai tanda batas labu ukur 10 ml. Lalu diinkubasi selama 45 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali replikasi (Elkader *et al.*, 2022; Martono *et al.*, 2019).

3.7.9 Uji Kadar Flavonoid Total

Pada penelitian ini dilakukan analisis terhadap kadar flavonoid total dengan metode yang telah dilakukan oleh Tommy *et al.* (2022) dengan modifikasi. Pengujian ini menggunakan kuersetin sebagai pembanding dan reagen $AlCl_3$. Tahapan dalam pengujian ini yaitu pembuatan larutan baku induk kuersetin, penetapan λ optimum kuersetin, pembuatan kurva baku kuersetin, dan penetapan kadar total flavonoid sampel.

1. Pembuatan larutan baku induk kuersetin

Membuat larutan baku induk kuersetin 1000 ppm dengan cara menimbang 50 mg kuersetin lalu dilarutkan menggunakan etanol dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas. Selanjutnya larutan standar kuersetin dibuat series konsentrasi 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol sampai tanda batas (Ha *et al.*, 2020)

2. Penentuan panjang gelombang maksimum asam galat

Diambil 1 ml dari larutan standar asam galat dan ditambahkan 0,3 ml sodium nitrit 5% dan 0,3 ml aluminium klorida 10 % lalu diinkubasi selama 5 menit dengan suhu ruang. Lalu dimasukkan 2 ml sodium hidroksida 1 M dan diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm.

3. Pembuatan kurva baku asam galat

Diambil larutan standar kuersetin 1 ml dari masing-masing series konsentrasi (200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm). Selanjutnya

ditambahkan 0,3 ml sodium nitrit 5% dan 0,3 ml aluminium klorida 10% dan diinkubasi selama 5 menit dengan suhu ruang. Lalu dimasukkan 2 ml sodium hidroksida 1 M dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 456 nm (Al-Rimawi *et al.*, 2024).

4. Penetapan kadar flavonoid total

Dibuat larutan kombinasi fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dengan perbandingan 2:2, 1:2, 2:1, 2:0, 0:2 %b/b seperti pada **Tabel 3.2**, lalu dilarutkan dalam 30 ml etanol sehingga didapatkan larutan 100 ppm. Lalu diambil 1 ml larutan sampel dari masing-masing kombinasi fraksi dan ditambahkan 0,3 ml sodium nitrit 5% dan 0,3 ml aluminium klorida 10% dan diinkubasi selama 5 menit dengan suhu ruang. Lalu dimasukkan 2 ml sodium hidroksida 1 M dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 456 nm (Al-Rimawi *et al.*, 2024)

3.7.10 Uji Aktivitas Antioksidan

Dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (2,2 – diphenyl – 1 – picrylhydrazyl) yang telah dilakukan oleh Rahmah, Putri Rahayu, & Sartika Daulay (2023). Tahapan pada uji aktivitas antioksidan dijelaskan sebagai berikut

1. Pembuatan DPPH

Ditimbang 10 mg DPPH dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas. Didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm.

2. Pembuatan larutan blanko

Diambil 2 ml larutan standar DPPH dengan konsentrasi 100 ppm dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 2 ml

3. Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan blanko yang sudah dibuat dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400 – 800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

4. Pengukuran absorbansi DPPH fraksi

Dibuat larutan kombinasi fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades dengan perbandingan 2:2, 1:2, 2:1, 2:0, 0:2 seperti pada tabel 4. Lalu dilarutkan dalam 150 ml etanol sehingga didapatkan larutan 100 ppm. Dari masing-masing larutan kombinasi dibuat series konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm untuk fraksi etil asetat dan konsentrasi 80, 100, 120, 140, dan 160 ppm untuk fraksi aquades dan fraksi n-heksan. Kemudian diambil 2 ml dari masing-masing konsentrasi fraksi dan ditambahkan 2 ml larutan DPPH 100 ppm. Larutan dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimal dan prosedur diulang sebanyak tiga kali (Rikantara *et al.*, 2022).

5. Pengukuran absorbansi DPPH setelah penambahan vitamin C

Sebanyak 5 mg vitamin C kristal ditimbang dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur berkapasitas 50 ml hingga tanda batas sehingga menghasilkan konsentrasi sebesar 100 ppm. Dipipet 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, dan 1 ml larutan dan ditempatkan ke dalam labu berukuran 10 ml. Dalam setiap labu ditambahkan 2 ml DPPH 100 ppm. Kemudian absorbansi dari masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang yang sudah ditentukan dan dilakukan replikasi tiga kali.

6. Penentuan persentase penghambatan DPPH

Perubahan nilai absorbansi DPPH sebelum dan sesudah penambahan sampel dihitung untuk menentukan penurunan serapan. Persentase penurunan serapan dihitung dengan membandingkan perbedaan absorbansi sebelum dan sesudah penambahan sampel terhadap absorbansi awal larutan DPPH dengan persamaan berikut (Rahmah *et al.*, 2023):

$$\% \text{Penghambatan} = \frac{A_{\text{kontrol (DPPH)}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol (DPPH)}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{kontrol} : absorbansi tidak mengandung sampel

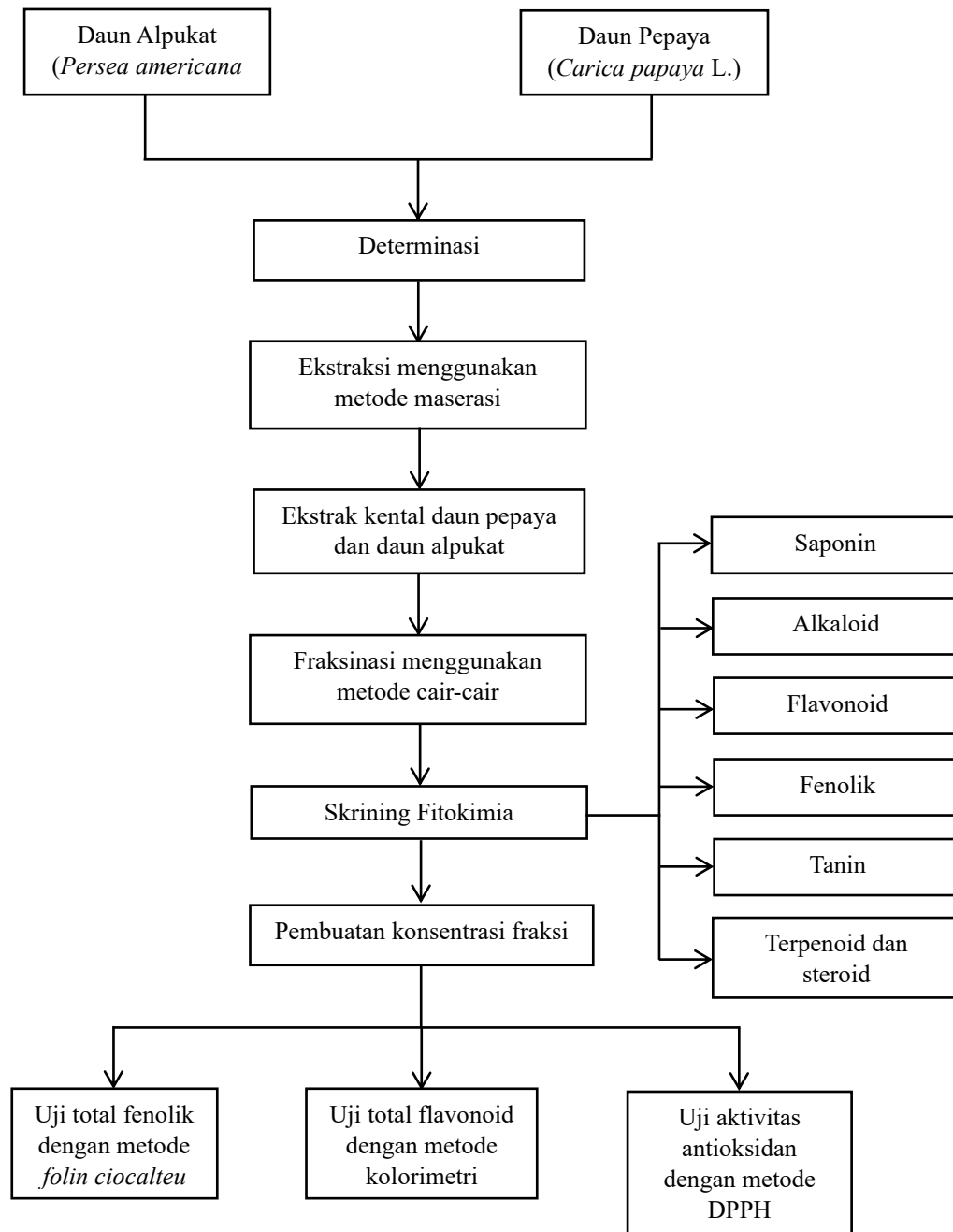
A_{sampel} : absorbansi mengandung sampel

Kemampuan antioksidan dapat diukur dengan memonitor penurunan absorbansi larutan DPPH yang ditunjukkan dengan penurunan intensitas warna ungu. Perbedaan absorbansi antara kondisi awal dan setelah pemberian sampel dianalisis untuk melihat penurunan serapan. Menghitung persentase penurunan serapan dapat dilakukan dengan membandingkan antara absorbansi sebelum dan sesudah pemberian sampel.

7. Penentuan nilai IC₅₀ antioksidan

Nilai IC₅₀ merupakan indikator konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/ml}$) yang mengakibatkan penurunan DPPH sekitar 50%. Apabila suatu nilai aktivitas antioksidan sebesar 0% maka menandakan ketiadaan aktivitas antioksidan, sementara nilai 100% menandakan penurunan oksidasi yang sempurna. Hasil analisis dimasukkan ke dalam model regresi dengan konsentrasi sampel ($\mu\text{g/ml}$) sebagai sumbu X dan persentase penurunan aktivitas antioksidan sebagai sumbu Y.

3.8. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.9. Pengolahan dan Analisis Data

Data kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dilakukan uji normalitas terlebih dahulu dengan uji *Saphiro – Wilk* karena sampel kurang dari lima puluh. Apabila nilai probabilitas lebih dari 0,05 maka data terdistribusi normal (Agustin & Permatasari, 2020). Analisis data dilanjutkan dengan uji *one – way ANOVA* apabila data terdistribusi normal dan uji *Kruskal – wallis* apabila data tidak terdistribusi normal. Uji ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar total fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dari beberapa jenis pelarut dan perbandingan kombinasi fraksi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) (Ate *et al.*, 2019).

Analisis data dilanjutkan dengan uji korelasi untuk melihat hubungan antara kadar total fenolik dan flavonoid dengan nilai IC_{50} pada uji aktivitas antioksidan. Data yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *Pearson*, sedangkan apabila data tidak terdistribusi normal maka dilakukan dengan uji *Spearman* pada taraf kepercayaan 95% (Puspitasari *et al.*, 2019). Nilai uji korelasi yang didapatkan kemudian dikelompokkan menjadi beberapa kategori seperti pada **Tabel 3.3** (Schober & Schwarte, 2018).

Tabel 3.3. Tabel Nilai Koefisien Korelasi

Nilai Koefisien Korelasi	Interpretasi
0,00-0,10	Korelasi dapat diabaikan
0,10-0,39	Korelasi lemah
0,40-0,69	Korelasi sedang
0,70-0,89	Korelasi kuat
0,90-1,00	Korelasi sangat kuat

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1.Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

- 5.1.1 Kadar fenolik total dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquades daun alpukat dan daun pepaya didapatkan hasil sebagai berikut

Kadar Fenolik Total (mg GAE/g ekstrak)			
	Fraksi N-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Aquades
Daun Alpukat Tunggal (2:0)	553,095	3495,182	1429,286
Daun Pepaya Tunggal (0:2)	222,143	1497,692	848,333
Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya (1:1)	353,095	1961,795	11191,190
Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya (1:2)	986,429	5764,359	1045,952
Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya (2:1)	353,095	2099,048	1126,905

	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g ekstrak)		
	Fraksi N-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Aquades
Daun Alpukat Tunggal (2:0)	926,250	3201,250	1197,083
Daun Pepaya Tunggal (0:2)	226,250	959,583	838,750
Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya (1:1)	913,750	1897,083	1084,583
Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya (1:2)	442,917	1447,083	942,917
Kombinasi Daun Alpukat dan Daun Pepaya (2:1)	772,083	2417,917	1084,583

5.1.2 Aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) dari fraksi aquades daun alpukat dan daun pepaya dengan kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 menunjukkan hasil sebesar 69,99 $\mu\text{g/ml}$, 87,76 $\mu\text{g/ml}$, 123,32 $\mu\text{g/ml}$, 112,71 $\mu\text{g/ml}$, dan 229,54 $\mu\text{g/ml}$. Pada fraksi etil asetat dengan kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 menunjukkan hasil sebesar 49,36 $\mu\text{g/ml}$, 116,75 $\mu\text{g/ml}$, 28,287 $\mu\text{g/ml}$, 44,70 $\mu\text{g/ml}$, dan 199,63 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan pada fraksi n-heksan dengan kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 menunjukkan hasil sebesar 163,84 $\mu\text{g/ml}$, 193,05 $\mu\text{g/ml}$, 134,82 $\mu\text{g/ml}$, 86,80 $\mu\text{g/ml}$, dan 231,30 $\mu\text{g/ml}$.

5.1.3 Setelah dilakukan analisis statistik, didapatkan bahwa terdapat hubungan antara jumlah kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) dan hubungan antara jumlah kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) dengan koefisien korelasi bernilai negatif yang artinya seiring dengan peningkatan kadar fenolik

total dan kadar flavonoid total pada tiap-tiap fraksi maka semakin rendah nilai IC_{50} yang artinya semakin tinggi aktivitas antioksidan pada fraksi tersebut.

5.2.Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka peneliti menyarankan beberapa hal, sebagai berikut:

- 5.2.1 Perlu dilakukannya standarisasi ekstrak atau fraksi untuk memastikan kualitas ekstrak atau fraksi yang akan diuji sehingga hasil dari pengujian dapat lebih baik.
- 5.2.2 Dapat dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan beberapa metode pengujian seperti FRAP (*Feric Reducing Antioxidant Power*) dan ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) untuk melihat aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd Elkader, A. M., Labib, S., Taha, T. F., Althobaiti, F., Aldhahrani, A., Salem, H. M., Saad, A., & Ibrahim, F. M. (2022). Phytogetic Compounds From Avocado (*Persea Americana* L.) Extracts; Antioxidant Activity, Amylase Inhibitory Activity, Therapeutic Potential Of Type 2 Diabetes. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 29(3), 1428–1433.
- Abou Baker, D. H. (2022). An Ethnopharmacological Review On The Therapeutical Properties Of Flavonoids And Their Mechanisms Of Actions: A Comprehensive Review Based On Up To Date Knowledge. *Toxicology Reports*, 9(November 2020), 445–469.
- Abubakar, A., & Haque, M. (2020a). Preparation Of Medicinal Plants: Basci Extraction And Fractionation Procedures Of Experimental Purposes. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*, 1(12), 1–10.
- Abubakar, A., & Haque, M. (2020b). Preparation Of Medicinal Plants: Basic Extraction And Fractionation Procedures For Experimental Purposes. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*, 7(10), 1–5.
- Adiprahara Anggarani, M., Ilmiah, M., & Nasyaya Mahfudhah, D. (2023). Antioxidant Activity Of Several Types Of Onions And Its Potensial As Health Supplements. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 12(1), 103–111.
- Agilent. (2021). The Basics Of Uv-Vis Spectrophotometry. In *The Basics Of Uv-Vis Spectrophotometry*. Agilent Technologies.

- Agustin, P., & Permatasari, R. (2020). Pengaruh Pendidikan Dan Kompensasi Terhadap Kinerja Divisi New Product Development (Npd) Pada Pt. Mayora Indah Tbk. *Jurnal Ilmiah M-Progress*, 10(2), 174–184.
- Al-Rimawi, F., Khalid, M., Salah, Z., Zawahreh, M. A. A., Alnasser, S. M., Alshammari, S. O., Wedian, F., Karimulla, S., Almutairi, A., Alanazi, F. I. B., Alanazi, H. O., Al-Mazaideh, G. M., Nafidi, H. A., Salamatullah, A. M., Mekonnen, A. B., & Bourhia, M. (2024). Anticancer, Antioxidant, And Antibacterial Activity Of Chemically Fingerprinted Extract From Cyclamen Persicum Mill. *Scientific Reports*, 14(1), 1–10.
- Alfauzi, R., Hartati, L., Suhendra, D., Rahayu, T. P., & Hidayah, N. (2022). Ekstraksi Senyawa Bioaktif Kulit Jengkol (Archidendron Jiringa) Dengan Konsentrasi Pelarut Metanol Berbeda Sebagai Pakan Tambahan Ternak Ruminansia. *Jurnal Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan*, 20(3), 95–103.
- Amalia, S. (2021). Perbedaan Daya Antibakteri Bagian Tumbuhan Pepaya (Carica Papaya L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Medika Hutama*, 2(4),
- Amila, Sembiring, E., & Aryani, N. (2021). Deteksi Dini Dan Pencegahan Penyakit Degeneratif Pada Masyarakat Wilayah Mutiara Home Care. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (Pkm)*, 4(1), 102–112.
- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (Persea Americana Mill.) Dengan Metode
- Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (Clitoria Ternatea L.) Dengan Spektrofotometri Uv Vis. *Cendekia Journal Of Pharmacy*, 2(1), 32–38.
- Andrie, M., & Taurina, W. (2024). Nanoencapsulation Of Ethanol Extract Of Papaya Leaf (Carica Papaya Linn .) Using Chitosan And Testing Its Effectiveness As An Anti-Inflammatory. *International Journal Of Applied Pharmaceutics*, 16(2), 264–271.

- Anggorowati, D., Priandini, G., & Thufail. (2016a). Potensi Daun Alpukat (*Persea Americana* Miller) Sebagai Minuman Teh Herbal Yang Kaya Antioksidan. *Industri Inovatif*, 6(1), 1–7.
- Anggraito, U., Susanti, R., Iswari, R., Yuniastuti, A., Lisdiana, & Wh, N. (2018). *Metabolit Sekunder Dari Tanaman* (A. Faris (Ed.)). Fakultas Matematika Dan Ilmi Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Anonim. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi Ii. In *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia* (Ii). Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. (2022). *Farmakope Herbal Indonesia* (Ii).
- Arwanda, S., Wibisono, & Sari, R. (2021). Efektivitas Daun Alpukat Untuk Kesehatan. *Nusantara Hasana Journal*, 1(2), 40–45.
- Asghar, N., Naqvi, S. A. R., Hussain, Z., Rasool, N., Khan, Z. A., Shahzad, S. A., Sherazi, T. A., Janjua, M. R. S. A., Nagra, S. A., Zia-Ul-Haq, M., & Jaafar, H. Z. (2016). Compositional Difference In Antioxidant And Antibacterial Activity Of All Parts Of The Carica Papaya Using Different Solvents. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 1–11.
- Ate, O. T., Putra, I. M. W. A., Kusumawati, I. G. A. W., & Nursini, N. W. (2019). Analisis Kadar Total Flavonoid Dan Fenolik Dari Ekstrak Air Kombinsi Daun Papasan (*Coccinia Grandis* L) Dan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Blimbi* L). *Jurnal Media Sains*, 3(2), 57–62.
- Awaad, M. M., Mahmoud, E. A. M., Khalil, E. M., & Hanafy, E. A. (2023). Biochemical Assessment Of *Persea Americana* Leaves Extracts: Antioxidant, Antimicrobial And Cytotoxic Effects. *Egyptian Journal Of Chemistry*, 66(5), 169–179.
- Azilla, S. N. (2023). *Morfologi Tanaman Alpukat (Persea Americana Mill)*.
- Bachtiar, R. A., Handayani, S., & Roskiana Ahmad, A. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengan (*Dillenia Serrata*) Menggunakan Metode

- Spektrofotometri Uv-Vis. *Makassar Natural Product Journal*, 1(2), 86–101.
- Bastola, K. P., Guragain, Y. N., Bhadriraju, V., & Vadlani, P. V. (2017). Evaluation Of Standards And Interfering Compounds In The Determination Of Phenolics By Folin-Ciocalteu Assay Method For Effective Bioprocessing Of Biomass. *American Journal Of Analytical Chemistry*, 08(06), 416–431.
- Bhar, R. (2024). Basic Extraction And Fractionation Procedures For Experimental Purposes Of Medicinal Plants. *Futuristic Trends In Biotechnology Volume 3 Book 14*, 3, 68–74.
- Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability And Anticarcinogenic Effects. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(7).
- Chaijan, S., Chaijan, M., Uawisetwathana, U., Panya, A., Phonsatta, N., Shetty, K., & Panpipat, W. (2024). Phenolic And Metabolic Profiles, Antioxidant Activities, Glycemic Control, And Anti-Inflammatory Activity Of Three Thai Papaya Cultivar Leaves. *Foods*, 13(11), 1–19.
- Chakravarthi, K., Ilango, K. B., Maria Thomas, A. S., & Devi, K. M. (2023). Uv-Visible Spectroscopy: A Comprehensive Review On Instrumentation. *Certified Journal | Chakravarthi Et Al. World Journal Of Pharmaceutical Research*, 12(19), 1342.
- Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H., & Chen, X. (2023). Tinjauan Klasifikasi, Biosintesis, Aktivitas Biologis Dan Potensi Penerapan Flavonoid. *Molecules*, 28(13), 1–27.
- Damayanti, N. A., Ngurah, G., Dewantara Putra, A., & Setyawan, E. I. (2022). Tablet Effervescent Dari Ekstrak Daun Alpukat (Persea Americana Mill.) Sebagai Peluruh Batu Ginjal Pada Tikus Jantan Galur Wistar (Ratus Norvegicus). *Jurnal Ilmiah Multi Disiplin Indonesia*, 2(3), 485492.
- Damayanti, N., & Wijayati, E. W. (2023). Tinjauan Pengetahuan Dokter Dalam Pengelolaan Penyakit Degeneratif. *Jurnal Riset Pengembangan Dan*

Pelayanan Kesehatan, 2(1), 8–14.

- Deuschla, V. C. N., Cruz, R. D., Flores, V. C., Denardi, L. B., Deuschle, R. A. N., Rossi, G. G., Alves, S. H., Campos, M. M. A., & Viena, C. (2019). Persea Americana: Phenolic Profile, Antioxidant Potential, Antimicrobial Activity And In Silico Prediction Of Pharmacokinetic And Toxicological Properties. *Indian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 81(4), 766–775.
- Douw, D. D., & Wardani, T. S. (2023). Uji Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea Americana Mill.) Dan Daun Jambu Biji (Psidium Guajava L.) Metode Dpph Dan Frap. *Medfarm: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 12(1), 93–104.
- Elufioye, T. O., Olusola, D. M., & Oyedeji, A. O. (2019). Correlation Of Total Phenolic, Flavonoid And Tannin Content Of Bryophyllum Pinnatum (Lam.) (Crassulaceae) Extract With The Antioxidant And Anticholinesterase Activities. *Pharmacognosy Journal*, 11(5), 1003–1009.
- Fakriah, Kurniasih, E., Adriana, & Rusydi. (2019). Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *Jurnal Hasil-Hasil Penerapan Ipteks Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1).
- Farida, Y., & Iswahyuni, I. (2018). Isolation, Identification, And Antioxidant Activity Of Chemical Compound In Ethanol Extract Of Papaya Leaves (Carica Papaya L.). *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*, 11(Special Issue 1), 118–121.
- Fatmawaty, Anggreni, N. G. M., Fadhil, N., & Prasasty, V. D. (2019). Potential In Vitro And In Vivo Antioxidant Activities From Piper Crocatum And Persea Americana Leaf Extracts. *Biomedical And Pharmacology Journal*, 12(2), 661–667.
- Fauzi, N. P., Sulistiyaningsih, & Runadi, D. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Jawer Kotok (Coleus Atropurpureus (L) Benth.) Terhadap Bakteri Propionibacterium Acnes Attc 1223 Dan

- Staphylococcus Epidermidis* Attc 12228. *Farmaka*, 15(3), 45–55.
- Fauziah, L., & Wakidah, M. (2019). Extraction Of Papaya Leaves (*Carica Papaya* L.) Using Ultrasonic Cleaner. *Eksakta: Jurnal Ilmu-Ilmu Mipa*, 9(1), 35–45.
- Febrianti, S., Sahidin, & Pusmarani, J. (2023). Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Dari Ekstrak Akar Tapak Dara (*Catharanthus Roseus*) Serta Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Dpph. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 2(6), 325–333.
- González-Morales, D., Valencia, A., Díaz-Núñez, A., Fuentes-Estrada, M., López-Santos, O., & García-Beltrán, O. (2020). Development Of A Low-Cost Uv-Vis Spectrophotometer And Its Application For The Detection Of Mercuric Ions Assisted By Chemosensors. *Sensors (Switzerland)*, 20(3).
- Gopalan, N., & Tyug, T. (2021). Antioxidant Activities, Total Phenolic Content And Colour Parameters In The Aqueous Extract Of Avocado, Banana, And Papaya Leaves. *Jurnal Sains Kesihatan Malaysia*, 19(1), 137–142.
- Ha, P. T. T., Tran, N. T. B., Tram, N. T. N., & Kha, V. H. (2020). Total Phenolic, Total Flavonoid Contents And Antioxidant Potential Of Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) In Vietnam. *Aims Agriculture And Food*, 5(4), 635–648.
- Herlina, Solihah, I., Wijaya, D. P., & Nurrahmah, A. N. (2022). Antidiarrheal Activity Of Extract Ethanol Melinjo Leaves (*Gnetum Gnemon* L . (Linn .)) In Wistar Male White Rats Induced By *Escherichia Coli* And Extract Standardization. *International Journal Of Applied Pharmaceutics*, 14(3), 60–66.
- Hikmah, F., & Hardiany, N. (2021). Peran Reactive Oxygen Species (Ros) Dalam Sel Punca Kanker. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 29(3), 120–134.
- Hujjatusnaini, N., Ardiansyah, Indah, B., Afitri, E., & Widyastuti, R. (2021). *Buku Referensi Ekstraksi* (N. Lestariningsih (Ed.)). Institut Agama Islam Negeri Palangkaraya.

- Indarti, K., Apriani, E. F., Wibowo, A. E., & Simanjuntak, P. (2019). Antioxidant Activity Of Ethanolic Extract And Various Fractions From Green Tea (*Camellia Sinensis* L.) Leaves. *Pharmacognosy Journal*, 11(4), 771–776.
- Iqbal, E., Salim, K. A., & Lim, L. B. L. (2015). Phytochemical Screening, Total Phenolics And Antioxidant Activities Of Bark And Leaf Extracts Of *Goniothalamus Velutinus* (Airy Shaw) From Brunei Darussalam. *Journal Of King Saud University - Science*, 27(3), 224–232.
- Jan, R., Khan, M., Asaf, S., Lubna, Asif, S., & Kim, K. M. (2022). Bioactivity And Therapeutic Potential Of Kaempferol And Quercetin: New Insights For Plant And Human Health. *Plants*, 11(19), 1–18.
- Julianto, T. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder Dan Skrining Fitokimia*. Universitas Islam Indonesia (Islamic University Of Indonesia).
- Kefalau, M., Kopon, A., Baunsele, A., Tukan, M., Leba, M., Komisia, F., & Boelan, E. (2021a). Indonesian Journal Of Chemical Research. *Indonesian Journal Of Chemical Research*, 9(2), 129–136.
- Kefalau, M., Kopon, A., Baunsele, A., Tukan, M., Leba, M., Komisia, F., & Boelan, E. (2021b). Phytochemical Screening And Tlc Profiling Of Combination Extracts Of Avocado (*Persea Americana* Mill.) And Papaya (*Carica Papaya*) Leaves From Timor Island. *Indonesian Journal Of Chemical Research*, 9(2), 129–136.
- Khafid, A., Dwijunianto Wiraputra, M., Christyaji Putra, A., Khoirunnisa, N., Awalia Kirana Putri, A., & Widodo Agung Suedy, S. (2023). Uji Kualitatif Metabolit Sekunder Pada Beberapa Tanaman Yang Berkhasiat Sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 8(1), 61–70.
- Khor, B. K. K., Chear, N. J. Y., Azizi, J., & Khaw, K. Y. (2021). Chemical Composition, Antioxidant And Cytoprotective Potentials Of *Carica Papaya* Leaf Extracts: A Comparison Of Supercritical Fluid And Conventional Extraction Methods. *Molecules*, 26(5), 1–18.

- Kingne, F. K., Djikeng, F. T., Tsafack, H. D., Karuna, M. S. L., & Womeni, H. M. (2019). Phenolic Content And Antioxidant Activity Of Young And Mature Mango (*Mangifera Indica*) And Avocado (*Persea Americana*) Leave Extracts. *International Journal Of Phytomedicine*, 10(4), 181.
- Kumontoy, G., Deeng, D., & Mulianti, T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal Holistik*, 16(3), 1–20.
- Liem, A. F., Holle, E., Y, I., Gemnafle, & Wakum, S. (2013). Isolasi Senyawa Saponin Dari Mangrove Tanjang (*Bruguiera Gymnorhiza*) Dan Pemanfaatannya Sebagai Pestisida Nabati Pada Larva Nyamuk. *Jurnal Biologi Papua*, 5(1), 27–34.
- Linda, O., & Sri Rahayu, L. (2021). *Prevensi Awal Dan Lanjutan Penyakit Degeneratif Untuk Usia Dewasa Di Masa Pandemi Covid-19 Early And Continued Prevention Of Degenerative Diseases For Adults Age In Covid-19 Pandemic*.
- Martono, Y., Yanuarsih, F. F., Aminu, N. R., & Muninggar, J. (2019). Fractionation And Determination Of Phenolic And Flavonoid Compound From Moringa Oleifera Leaves. *Journal Of Physics: Conference Series*, 1307(1).
- Maulana, M., Hidayah, N., Nugraha, D., & Kusuma, I. Ketut. (2022). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya* Linn) Sebagai Biolarvasida Ae. Aegypti. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 9(1), 14–21.
- Melati, M., & Parbuntari, H. (2022). Screening Fitokimia Awal (Analisis Qualitative) Pada Daun Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb) Asal Siguntur Muda. *Jurnal Periodic Jurusan Kimia Unp*, 11(3), 88.
- Meylinda, H., Wardani, T. S., & Sari, D. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Kloroform, Hasil Isolasi Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Dengan Dpph (2, 2-Difenil-1-

- Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Warta Bhakti Husada Mulia: Jurnal Kesehatan*, 9(2).
- Moazzen, A., Öztinen, N., Ak-Sakalli, E., & Koşar, M. (2022). Structure-Antiradical Activity Relationships Of 25 Natural Antioxidant Phenolic Compounds From Different Classes. *Heliyon*, 8(9).
- Mu'nisa. (2023). Antioksidan Pada Tanaman Dan Peranannya Terhadap Penyakit Degeneratif. In *Brilian Internasional Surabaya*.
- Muflihah, Y. M., Gollavelli, G., & Ling, Y. C. (2021). Correlation Study Of Antioxidant Activity With Phenolic And Flavonoid Compounds In 12 Indonesian Indigenous Herbs. *Antioxidants*, 10(10), 1–15.
- Mutryarny, E., & Rizal, M. (2022). Korelasi Karakteristik Kuantitatif Morfologi Dengan Jumlah Buah Tanaman Pepaya (Carica Pepaya). *Jurnal Agrotela*, 1(2), 21–27.
- Nafi'ah, L., Rahmawati, I., & Sunarni, T. (2024). The Potential Of Parijoto Fruit Extract Fraction (Medinilla Speciosa Blume) As Antibiofilm Against Staphylococcus Aureus Bacteria. *Open Access Indonesian Journal Of Medical Reviews*, 609–618.
- Nandini, G., Gopenath, T., Prasad, N., Karthikeyan, M., Gnanasekaran, A., Ranjith, M., Palanisamy, P., & Basalingappa, K. (2020). Phytochemical Analysis And Antioxidant Properties Of Leaf Extracts Of Carica Papaya. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*, 13(November), 58–62.
- Ngibad, K., & Lestari, L. P. (2020). Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Daun Zodia (Evodia Suaveolens). *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 94.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid) Sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Ingg (Ruta Angustifolia L.). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19–29.

- Nofita, D., & Dewangga, R. (2022). Optimasi Perbandingan Pelarut Etanol Air Terhadap Kadar Tanin Pada Daun Matoa (*Pometia Pinnata* J.R & G. Forst) Secara Spektrofotometri. *Chimica Et Natura Acta*, 9(3), 102–106.
- Nola, F., Putri, G. K., Malik, L. H., & Andriani, N. (2021). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Steroid Dan Terpenoid Dari 5 Tanaman. *Syntax Idea*, 3(7), 1612–1619.
- Nugroho, A. (2017). *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*. Lambung Mangkurat University Press.
- Oktaviani, D., Yuniastuti, A., & Christijanti, W. (2021). Aktivitas Antioksidan Dari Pati Umbi Gembili (*Dioscorea Esculenta* L.) Pada Tikus Hiperkolestrolemia. *Prosiding Semnas Biologi*, 9, 29–34.
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., & Adella, F. (2018). Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) Of Cacao Leaves (*Theobroma Cacao* L.). *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang Mipa*, 19(2), 40–45.
- Perangin-Angin, Y., Purwaningrum, Y., Asbur, Y., Rahayu, M., & Nurhayati. (2019). Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder Yang Dihasilkan Tanaman Pada Cekaman Biotik. *Agriland*, 7(1), 39–47.
- Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The Chemistry Behind The Folin-Ciocalteu Method For The Estimation Of (Poly)Phenol Content In Food: Total Phenolic Intake In A Mediterranean Dietary Pattern. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553.
- Phuyal, N., Jha, P. K., Raturi, P. P., & Rajbhandary, S. (2020). Total Phenolic, Flavonoid Contents, And Antioxidant Activities Of Fruit, Seed, And Bark Extracts Of *Zanthoxylum Armatum* Dc. *Scientific World Journal*, 2020.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms And Benefits For Human Health. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*,

2017, 1–13.

- Polat Kose, L., Bingol, Z., Kaya, R., Goren, A. C., Akincioglu, H., Durmaz, L., Koksall, E., Alwasel, S. H., & Gülçin, İ. (2020). Anticholinergic And Antioxidant Activities Of Avocado (Folium Perseae) Leaves–Phytochemical Content By Lc-MS/MS Analysis. *International Journal Of Food Properties*, 23(1), 878–893.
- Prasetyaningsih, N., Hartanti, M., & Bella, I. (2023). Radikal Bebas Sebagai Faktor Risiko Penyakit Katarak Terkait Umur. *Jurnal Penelitian Dan Karya Ilmiah*, 8(1), 1–7.
- Pratiwi, R. A., & Nandiyanto, A. B. D. (2022). How To Read And Interpret Uv-Vis Spectrophotometric Results In Determining The Structure Of Chemical Compounds. *Indonesian Journal Of Educational Research And Technology*, 2(1), 1–20.
- Pujiastuti, E., & El'zebra, De. (2021). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Dan 96% Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus Polyrrhizus) Dengan Spektrofotometri. *Cendekia Journal Of Pharmacy*, 5(1), 28–43.
- Puspitasari, A. D., Anwar, F. F., & Faizah, N. G. A. (2019). Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksan Daun Petai (Parkia Speciosa Hassk.). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(1), 1–8.
- Putri, P., Chatri, M., Advinda, L., & Violita. (2023). Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*, 8(2), 2023.
- Putri, Y., Nasution, M., Ridwanto, & Daulay, A. (2023). Determination Of Total Phenolic Content Of Ethanol Extract, Ethyl Acetate And N-Hexan Fraction Of Robusta Coffee Leaves (Coffea Canephora Pierre Ex A. Froehner) Using Uv-Vis Spectrofotometry Method. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 6(4), 1709–1716.
- Rahmah, R., Putri Rahayu, Y., & Sartika Daulay, A. (2023). Skrining Fitokimia

- Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Metode Dpph. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 1(1), 9–25.
- Rahmawati, A. M., Anam, K., & Sasikirana, W. (2023). Review Artikel : Potensi Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Sebagai Antikanker. *Generics: Journal Of Research In Pharmacy*, 3(1), 27–35.
- Rauf, A., Pato, U., & Fortuna Ayu, D. (2017). Aktivitas Antioksidan Dan Penerimaan Panelis Teh Bubuk Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Berdasarkan Letak Daun Pada Ranting. In *Jom Faperta* (Vol. 4, Issue 2).
- Rikantara, F. S., Utami, M. R., & Kasasiah, A. (2022). Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Dengan Metode Dpph. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 124–133.
- Saerang, M. F., Edy, H. J., & Siampa, J. P. (2023). Formulasi Sediaan Krim Dengan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus Manihot* L.) Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Pharmacon*, 12(3), 350–357.
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria Longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25–34.
- Sari, B. P., & Kustiawan, P. M. (2023). Antioxidant Activity Of Extract Combination From *Averrhoa Bilimbi* L. Leaves And Stingless Bee Honey. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science And Technology*, 1(1), 28–34.
- Sari, Y., Syahrul, & Iriani, D. (2021). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Pada Kijing (*Pylosbryoconcha* Sp) Dengan Pelarut Berbeda. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 13(1), 16–20.
- Schober, P., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation Coefficients: Appropriate Use And Interpretation. *Anesthesia And Analgesia*, 126(5), 1763–1768.

- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The Rendement Of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove Sonneratia Alba. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9.
- Sentat, T., & Permatasari, R. (2015). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea Americana Mill.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Punggung Mencit Putih Jantan (Mus Musculus). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 100–106.
- Sepriyani, H., Devitria, R., Surya, A., & Sari, S. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pepaya (Carica Papaya L) Dengan Metode. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(1), 2018–2021.
- Septiawan, A. N., Emelda, E., & Husein, S. (2021). Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Lidah Buaya (Aloe Vera L.) Dan Ganggang Hijau (Ulva Lactuca L.). *Inpharmmed Journal (Indonesian Pharmacy And Natural Medicine Journal)*, 4(1), 11.
- Setiyanto, A. E., Abdullah, Sakti, M. W., Ranti, A., Cahyani, S., & Zulfatim, H. (2021). *Buah-Buahan Indonesia Tinjauan Biologi Dan Kesehatan*. Media Nusa Creative.
- Setyawati, T., Putrie, I., Walanda, R., Oktafiani, D., Listawati, Zahid, S., Saleh, A., & Esa, M. (2024). Pemahaman Penyakit Degeneratif Pada Masyarakat Di Kelurahan Talise. *Jurnal Kolaboratif Sains*, 7(1), 3374–3383.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination Of Total Flavonoid Content By Aluminum Chloride Assay: A Critical Evaluation. *Elsevier*, 150(April), 111932.
- Siagian, D., Herlina, S., & Sidoretno, W. (2019). Kandungan Vitamin A Pada Buah Pepaya Hijau: Solusi Meningkatkan Produksi Asi. *Prosiding Seminar Nasional Poltekkes Karya Husada Yogyakarta*, 129–134.
- Sinaga, F. (2016). Stress Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Generasi Kampus*, 9(2), 176–189.

- Sobari, E., Ramadhan, M. G., & Destiana, I. D. (2022). Menentukan Nilai Rendemen Pada Proses Ekstraksi Daun Murbei (*Morus Albal.*) Dengan Pelarut Berbeda. *Jurnal Ilmiah Ilmiah Dan Teknologi Rekayasa*, 4(September), 36–41.
- Solís-Salas, L. M., Sierra-Rivera, C. A., Cobos-Puc, L. E., Ascacio-Valdés, J. A., & Silva-Belmares, S. Y. (2021). Antibacterial Potential By Rupture Membrane And Antioxidant Capacity Of Purified Phenolic Fractions Of *Persea Americana* Leaf Extract. *Antibiotics*, 10(5), 2–21.
- Suarjo Putri, N. M., Sutiningsih, D., & Mochamad Hadi. (2023). Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Salmonella Typhi*. *Jurnal Bios Logos*, 13(3), 141–149.
- Sudarwati, T. (2018). Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (*Carica Papaya*) Menggunakan Pelarut Etanol Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis*. *Journal Of Pharmacy And Science*, 3(2), 13–16.
- Sudarwati, T. P., & Fernanda, H. (2019). *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica Papaya) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Aedes Aegypti* (N. Hariyanti (Ed.)). Graniti.
- Sukma, M., Nurlansi, & Nasrudin. (2022). Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Seduhan Kulit Batang Soni (*Dillenia Serrata Thunb*). *Jurnal Ilmu Kimia Dan Pendidikan Ilmu Kimia*, 11(1), 27–34.
- Suleman, I. F., Sulistijowati, R., Manteu, S. H., & Nento, W. R. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun (*Thalassia Hemprichii*). *Jambura Fish Processing Journal*, 4(2), 94–102.
- Sunani, S., & Hendriani, R. (2023). Classification And Pharmacological Activities Of Bioactive Tannins. *Indonesian Journal Of Biological Pharmacy*, 3(2), 130–136.
- Suprijono, A., & Wulan, A. (2024). Antioxidant Activity Test Combination Sarang

- Semut Extract (*Myrmecodia Pendans*) And Rosella Flower Extract (*Hibiscus Sabdariffa* L.) With Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Method. *International Journal Of Life Science And Agriculture Research*, 1(4), 46–49.
- Syukur, M., Prahasiwi, M. S., Nurkhasanah, Yuliani, S., Purwaningsih, Y., & Indriyanti, E. (2023). Profiling Of Active Compounds Of Extract Ethanol, N-Hexane, Ethyl Acetate And Fraction Ethanol Of Star Anise (*Illicium Verum* Hook. F.) And Determination Of Total Flavonoids, Total Phenolics And Their Potential As Antioxidants. *Science And Technology Indonesia*, 8(2), 219–226.
- Taufiq, N., & Sulfiani. (2023). Antioxidant Activity Of Ethanol And N-Hexane Extract Of Javanese Bark (*Lannea Coromandelica*) Using The Dpph Method. *Indonesian Journal Of Chemical Research*, 11(1), 43–48.
- Theafelicia, Z., & Narsito Wulan, S. (2023). Perbandingan Berbagai Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan (Dpph, Abts Dan Frap) Pada Teh Hitam (*Camellia Sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 35–44.
- Tjandra, R. F., Fatimawali, ., & Datu, O. S. (2020). Analisis Senyawa Alkaloid Dan Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Sirih (*Piper Betle* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal E-Biomedik*, 8(2), 173–179.
- Toledo, M. (2015). Uv / Vis Spectrophotometry. *Mettler-Toledo International*, November, 56.
- Tommy, M., Putra Pratama, N., & Purnomo Sari, K. R. (2022). Perbandingan Kadar Total Fenolik Dan Flavonoid Ekstrak Etanol Daun, Batang, Dan Akar Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L.) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 1(5), 217–231.
- Triandita, N., & Putri, N. E. (2019). Peran Kedelai Dalam Mengendalikan Penyakit Degeneratif. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 1(1), 6.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Dpph Pada Daun Tanjung (*Mimusops Elengi* L). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*

“Kejuangan,” 1–7.

- Utami, Y. P., Yulianty, R., Djabir, Y. Y., & Alam, G. (2024). Antioxidant Activity, Total Phenolic And Total Flavonoid Contents Of Etlingera Elatior (Jack) R.M. Smith From North Luwu, Indonesia. *Tropical Journal Of Natural Product Research*, 8(1), 5955–5961.
- Verma, G., & Mishra, M. (2018). Development And Optimization Of Uv-Vis Spectroscopy - A Review. *World Journal Of Pharmaceutical Research*, 7(11), 1170–1180.
- Verti, E. A., Mustikarini, E. D., & Lestari, T. (2021). *Diversity Of Avocado Germplasm (Persea Americana) In Bangka Island Based On Morphological Character*.
- Vinha, A. F., Sousa, C., & Costa, C. (2023). Oxidative Stress, Antioxidants And Biomarkers. *Res. J Int. Med Pub Hlth*, 4(3), 47–55.
- Wahyono, A., Dewi, A. C., Oktavia, S., Jamilah, S., & Kang, W. W. (2020). Antioxidant Activity And Total Phenolic Contents Of Bread Enriched With Pumpkin Flour. *Iop Conference Series: Earth And Environmental Science*, 411(1).
- Wardoyo, E. R. P., Oktavia, V., & Turnip, M. (2024). Keragaman Pepaya (Carica Papaya L.) Di Kotamadya Pontianak Berdasarkan Karakter Morfologi. *Jurnal Biologi Papua*, 16(1), 42–50.
- Wibowo, R. A., & Kurniawan, A. A. (2020). Analisis Korelasi Dalam Penentuan Arah Antar Faktor Pada Pelayanan Angkutan Umum Di Kota Magelang. *Theta Omega : Journal Of Electrical Engineering, Computer And Information Technology*, 1(2), 45–50.
- Wijaya, A., & Noviana. (2022). Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (Ocimum Basilicum L .) Berdasarkan Perbedaan Metode. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 185–199.

- Wijaya, Y. A., Widyadinata, D., Irawaty, W., & Ayucitra, A. (2017). Fractionation Of Phenolic Compounds From Kaffir Lime (*Citrus Hystrix*) Peel Extract And Evaluation Of Antioxidant Activity. *Reaktor*, 17(3), 111.
- Wiyono, E. A., Rukmasari, D., Ruriani, E., Herlina, Aryani, T., Aulia, I., Mu, U., Amalia, L., Masyarakat, D. G., Manusia, F. E., Maharani, A. I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K. A., Rahman, N. A., Ilahi, N. F., Farma, S. A., Pratiwi, A. ., Yusran, ... Lestari, K. (2023). Karakteristik Mutu Serbuk Pewarna Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Hasil Foam Mat Drying Dengan Variasi Rasio Daging Dan Kulit Buah. *Prosiding Seminar Nasional Bio*, 17(2), 171–178.
- Wulan Kusumo, D., Kusuma Ningrum, E., & Hayu Adi Makayasa, C. (2022). *Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Etanol Bunga Pepaya (Carica Papaya L.) (Phytochemical Screening Of Secondary Metabolites In Papaya Flowers / Carica Papaya L.)* (Vol. 5, Issue 2).
- Yulia, R., Chatri, M., Advinda, L., & Handayani, D. (2023). Saponins Compounds As Antifungal Against Plant Pathogens. *Serambi Biologi*, 8(2), 2023.
- Zeb, A. (2020). Concept, Mechanism, And Applications Of Phenolic Antioxidants In Foods. *Journal Of Food Biochemistry*, 44(9), 1–22.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques For Extraction And Isolation Of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26.