

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Determinasi sampel penelitian dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, dengan nomor 235/Lab.Bio/B/IV/2025. Hasil identifikasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian ini benar daun dan buah carica dengan nama latin *Carica pubescens* Solms. (Lampiran 2).

2. Penyiapan Simplisia

Daun dan buah carica yang telah dipanen dari Perkebunan Warga di Desa Sembungan, Kecamatan Kejajar, Kabupaten Wonosobo, Jawa Tengah pada ketinggian 2400 MDPL. Hasil dari keseluruhan pengayakan didapatkan serbuk daun dan buah carica dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Serbuk Simplisia Kering

Sampel	Tanaman Segar	Serbuk Kering (setelah pengayakan)
Daun	3 kg	460 g
Buah	10 kg	324 g

3. Ekstraksi Daun dan Buah Carica

Pada penelitian ini ekstraksi buah dan daun carica menggunakan etanol 96% sebagai pelarut dan metode ekstraksi maserasi. Tabel 4 menampilkan data persentase rendemen untuk setiap sampel, dan Lampiran 4 menampilkan perhitungan rendemen.

Tabel 4. Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun dan Buah Carica

Sampel	Rendemen (%)	Syarat % Rendemen (Kemenkes RI, 2017)
Daun	24,893%	>10%
Buah	15,863%	

4. Penetapan Kadar Air

Batas minimum atau kisaran jumlah air dalam sampel yang berkaitan dengan potensi pertumbuhan jamur atau fungi merupakan tujuan dari proses penentuan kadar air. Hasil dapat dilihat pada Tabel 5 dan Lampiran 5.

Tabel 5. Hasil Kadar Air Daun dan Buah Carica

Sampel	Kadar Air	Syarat Kadar air (Kemenkes RI, 2017)
Daun	5,93%	<10%
Buah	0,89%	<15%

5. Uji Organoleptik

Dari pengujian yang dilakukan pada sampel ekstrak buah dan daun carica didapatkan sifat fisik dari ekstrak buah dan daun carica pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Organoleptik Ekstrak Daun dan Buah Carica

Uji	Ekstrak Daun		Ekstrak Buah	
	Hasil	Teori (Indranila & Ulfah, 2022)	Hasil	Teori (Laily <i>et al.</i> , 2012)
Warna	Hijau tua	Hijau tua	Coklat	Coklat
Bau	Khas daun carica	Khas daun carica	Khas buah carica	Khas buah carica
Tekstur	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental

6. Skrining Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 7 dan Lampiran 6.

Tabel 7. Hasil Skrining Fitokimia

No	Jenis Uji	Reagen	Daun		Buah	
			Hasil	Teori (Indranila & Ulfah, 2022)	Hasil	Teori (Cho <i>et al.</i> , 2020)
1.	Alkaloid	Mayer	+++ Endapan kuning	+++ Endapan kuning	- Tidak membentuk endapan	- Tidak membentuk endapan
		Wagner	+++ Endapan coklat	+++ Endapan coklat	+++ Endapan coklat	- Tidak membentuk endapan
		Dragendroff	++ Endapan jingga	+++ Endapan jingga	+++ Endapan jingga	- Tidak membentuk endapan
2.	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	++ Jingga kemerahan	+++ Jingga kemerahan	+++ Jingga kemerahan	+++ Jingga kemerahan
3.	Fenolik	FeCl ₃ 1%	+++ Hijau kehitaman	+++ Hijau kehitaman	++ Hijau kehitaman	+++ Hijau kehitaman
4.	Tanin	FeCl ₃ 1%	+++ Hijau kehitaman	+++ Hijau kehitaman	++ Hijau kehitaman	+++ Hijau kehitaman
5.	Saponin	Akuades + HCl 1M	- Tidak membentuk buih	- Tidak membentuk buih	- Tidak membentuk buih	- Tidak membentuk buih

Keterangan:

- + = Positif terjadi perubahan warna
- ++ = Positif terjadi perubahan warna yang intens
- +++ = Positif terjadi perubahan warna yang lebih intens
- = Negatif mengandung senyawa

7. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Menentukan panjang gelombang maksimum merupakan langkah pertama dalam mengevaluasi aktivitas penangkal radikal bebas DPPH. Sebagaimana ditunjukkan pada (Lampiran 7), hasil pengukuran panjang gelombang maksimum penelitian ini adalah 517 nm.

b. Penentuan *operating time*

Pada penelitian ini didapatkan waktu yang optimal untuk larutan tetap stabil yaitu pada menit ke 34 – 37, sehingga *operating time* yang diperoleh adalah 34 menit (Lampiran 8).

c. Pengujian aktivitas peredaman radikal bebas DPPH

Nilai peredaman radikal bebas standar kuersetin, ekstrak buah dan daun carica dapat dilihat pada Tabel 8 dan Lampiran 9.

Tabel 8. Hasil Rata-rata Nilai IC₅₀ Standar Kuersetin, Ekstrak Daun dan Buah Carica

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm) ± SD	Keterangan
Kuersetin	1,655 ± 0,042	Sangat Kuat
Daun carica	23,731 ± 0,119	Sangat Kuat
Buah carica	17,347 ± 0,184	Sangat Kuat

8. Analisis Data

Hasil analisis IC₅₀ pada standar kuersetin, sampel ekstrak buah dan daun carica menggunakan SPSS didapatkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi >0,05. Maka selanjutnya dilakukan uji statistik *One Way ANOVA* yang menghasilkan perbedaan yang signifikan dilanjutkan *Post Hoc Tukey* dengan hasil terdapat perbedaan yang bermakna antara sampel yang dianalisis yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi <0,05 seperti yang dimaksud pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Uji Statistik Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH

Sampel	Normalitas	P-value Homogenitas	One Way ANOVA
Kuersetin	0,557 ^a	0,144 ^b	0,000 ^c
Buah carica	0,612 ^a		
Daun carica	0,207 ^a		

Keterangan:

a = Data terdistribusi normal (P <0,05%)

b = Data terdistribusi homogen (P <0,05%)

c = Data berbeda signifikan (P >0,05%)

Tabel 10. Hasil Uji *Post Hoc Tukey* Kuersetin, Ekstrak Daun dan Buah Carica

Sampel	Sampel	Sig.
Kuersetin	Daun Carica	0,000
	Buah Carica	0,000
Daun Carica	Kuersetin	0,000
	Buah Carica	0,000
Buah Carica	Kuersetin	0,000
	Daun Carica	0,000

Keterangan:

Sig. <0,05 = ada perbedaan signifikan

B. Pembahasan

Buah dan daun carica yang digunakan berasal dari Perkebunan Warga di Desa Sembungan, Kecamatan Kejajar, Kabupaten Wonosobo, Jawa Tengah pada ketinggian 2400 MDPL. Sampel diambil pada daerah dengan ketinggian 2400 MDPL dikarenakan pada penelitian Laily *et al.*, (2012) menghasilkan aktivitas peredaman radikal bebas yang lebih kuat dibandingkan sampel yang diambil pada ketinggian 1900 MDPL dan 1400 MDPL. Sebelum melakukan penelitian, tanaman harus di determinasi terlebih dahulu untuk memastikan morfologi yang sesuai sehingga dapat meminimalisir terjadinya kesalahan dalam pengumpulan sampel penelitian (Syamsiah *et al.*, 2025). Hasil dari deteminasi tanaman sampel yang digunakan benar merupakan tanaman carica (*Carica pubescens* Solms.). Buah carica sebanyak 10 kg dan daun carica sebanyak 3 kg dipanen pada pukul 06.00-08.00 WIB. Pemanenan dilakukan pada pagi hari dengan tujuan untuk memperoleh kandungan metabolit sekunder yang optimal. Hal ini karena pada pagi hari, proses fotosintesis sedang berlangsung aktif akibat intensitas cahaya matahari yang cukup. Cahaya matahari menyediakan energi yang dibutuhkan dalam pembentukan glukosa sebagai metabolit primer, yang kemudian berperan sebagai prekursor biosintesis metabolit sekunder seperti senyawa flavonoid dan fenolik (Rahmawati *et al.*, 2024).

Setelah pemanenan sampel, dilakukan sortasi basah untuk membersihkan dari kotoran yang tertinggal dan memisahkan dari bagian yang rusak, daun yang digunakan adalah daun berwarna hijau tua bagian pangkalnya, bagian ini dipilih karena pada daun tua lebih banyak akumulasi senyawa metabolit sekunder (Damayanti Iskandar *et al.*, 2024). Buah yang digunakan adalah buah berwarna kuning yang sudah matang yang diketahui memiliki kandungan senyawa karotenoid, flavonoid dan vitamin C yang lebih tinggi yang dapat meningkatkan kapasitas peredaman radikal (Hidayat *et al.*, 2024). Setelah dibersihkan daun dan buah carica, dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan oven 45°C untuk daun dikeringkan selama 2 hari dan untuk buah dikeringkan selama 4 hari perbedaan lama pengeringan ini dipengaruhi pada kadar air dalam sampel buah yang lebih tinggi sehingga memerlukan pengeringan yang lebih lama. Tujuan dari

pengeringan ini agar mengurangi kadar air dalam sampel sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Ulvia *et al.*, 2024). Simplisia yang kering ditandai dengan mudah hancur ketika diremas. Pemanasan pada suhu 45°C digunakan agar dapat menjaga senyawa metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid dari kerusakan akibat pemanasan yang terlalu tinggi tidak lebih dari 60°C, karena suhu yang tinggi dapat menyebabkan degradasi senyawa fenolik dan flavonoid (Maryam *et al.*, 2023); (Gloriana *et al.*, 2023).

Setelah daun dan buah carica kering sempurna selanjutnya dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan 40 *mesh*. Proses penghalusan dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel dan memperbesar luas permukaan sehingga memudahkan pelarut masuk kedalam simplisia untuk dapat menarik zat aktif secara maksimal (Suryandari *et al.*, 2025). Simplisia diayak untuk menghasilkan partikel simplisa yang seragam, ukuran partikel yang seragam memungkinkan pelarut mengekstraksi senyawa aktif dengan cara yang lebih homogen, sehingga meningkatkan reproduktibilitas hasil ekstraksi (Ulvia *et al.*, 2024). Ayakan 40 mesh dipilih karena menghasilkan ukuran partikel yang seragam, cukup halus untuk mempercepat proses ekstraksi, namun tidak terlalu kecil dibandingkan ukuran ayakan yang lain sehingga tetap menjaga stabilitas senyawa aktif (Suryandari *et al.*, 2025).

Pada penelitian ini, metode maserasi digunakan untuk mengekstrak buah dan daun carica. Prinsip metode maserasi dengan merendam sampel dalam pelarut pada suhu kamar dengan pengadukan berkala untuk mempercepat difusi. Pelarut akan menembus dinding sel untuk melarutkan metabolit sekunder karena konsentrasi antara sel dan pelarut yang berbeda. Proses ini berlanjut hingga mencapai kesetimbangan, setelah beberapa waktu tertentu campuran akan dipisahkan antara filtrat dengan ampasnya dengan cara penyaringan (Asworo & Widwiasuti, 2023). Metode ini memiliki keuntungan yaitu proses dan peralatan yang sederhana serta tidak membutuhkan pemanasan dalam prosesnya, sehingga cocok untuk mengekstraksi senyawa yang tidak tahan panas seperti flavonoid dan fenolik (BPOM RI, 2023).

Keseragaman hasil dijaga dengan menggunakan jenis pelarut, suhu dan waktu ekstraksi, prosedur penyaringan, serta suhu penguapan yang sama pada proses maserasi buah dan daun carica. Pelarut yang digunakan ialah etanol 96% , pelarut ini bersifat polar sehingga mampu melarutkan senyawa polar seperti flavonoid dan fenolik. Hal ini sesuai dengan prinsip *like dissolves like*, yang menyatakan bahwa senyawa akan lebih mudah larut dalam pelarut dengan kepolaran serupa, seperti halnya flavonoid dan fenolik yang larut dalam etanol. Ekstraksi maserasi dilakukan selama 5 hari dan remaserasi selama 2 hari selanjutnya ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Proses maserasi selama 5 hari memberikan waktu yang cukup untuk ekstraksi optimal senyawa aktif dan dilakukan pengadukan untuk meningkatkan efisiensi pelarutan senyawa aktif melalui pergerakan pelarut. Tujuan dari remaserasi adalah untuk mengekstraksi kembali senyawa metabolit sekunder yang masih tersisa setelah proses maserasi pertama sehingga dapat memaksimalkan hasil penarikan senyawa flavonoid dan fenolik (Hakim & Saputri, 2020). Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan suhu 40°C, pemilihan suhu tersebut agar senyawa metabolit sekunder flavonoid dan fenolik tidak rusak pada pemanasan tinggi hingga didapatkan ekstrak kental, flavonoid dan fenolik dapat terdegradasi pada suhu diatas 60°C (Maryam *et al.*, 2023); (Gloriana *et al.*, 2023).

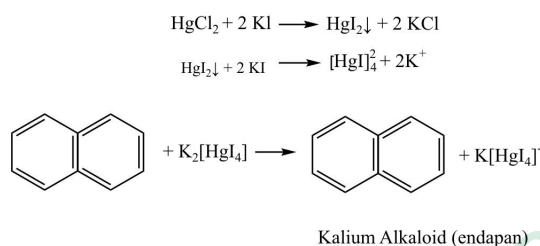
Ekstrak kental yang diperoleh dihitung nilai rendemennya pada masing-masing sampel. Rendemen ekstrak yang diperoleh dari daun carica lebih tinggi dibandingkan hasil rendemen ekstrak buah carica dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil rendemen menggambarkan jumlah senyawa aktif yang berhasil diekstrak semakin tinggi nilai rendemen, semakin banyak zat aktif yang terekstrak dari sampel (Sayuti, 2017). Dari hasil rendemen yang diperoleh, ekstrak buah carica menghasilkan nilai rendemen yang lebih kecil dibandingkan ekstrak daun carica. Terdapat hubungan antara nilai rendemen dengan kadar air ekstrak daun dan buah carica. Hasil menunjukkan semakin tinggi nilai rendemen, semakin tinggi pula kadar air. Hal ini disebabkan karena air menyumbang terhadap massa total ekstrak yang diukur, sehingga meningkatkan nilai rendemen (Azwanida, 2015).

Ekstrak kental daun dan buah carica dilakukan uji kadar air pada ekstrak daun carica kadar air yang dihasilkan sebesar 5,93% lebih tinggi dibandingkan ekstrak buah carica sebesar 0,89%. Kadar air ekstrak buah dan daun carica dapat dilihat pada Lampiran 5. Ekstrak yang dihasilkan pada daun carica berwarna hijau tua, bau khas daun carica dan tekstur yang lebih kental dibandingkan ekstrak buahnya pada ekstrak buah carica berwarna coklat, bau khas buah carica dan tekstur lebih cair dibandingkan ekstrak daunnya yang sesuai dengan penelitian Laily *et al.*, (2012); Indranila & Ulfah, (2022) yang terdapat pada Tabel 5.

Skrining fitokimia pada buah dan daun carica dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang ada dalam ekstrak tersebut. Hasil skrining fitokimia yang ditampilkan pada Tabel 6 menunjukkan bahwa buah dan daun carica mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan tanin. Temuan ini sejalan dengan penelitian Cho *et al* (2020) yang menyebutkan bahwa ekstrak buah mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan tanin. Penelitian sebelumnya pada ekstrak daun carica mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid (Rahayu & Sulisetijono, 2020). Hasil skrining sejalan dengan penelitian Indranila & Ulfah, (2022); Cho *et al.*, (2020) yaitu pada ekstrak daun carica positif senyawa alkaloid dari seluruh pereaksi wagner, mayer dan dragendorff dibandingkan buah carica hanya dua pereaksi yaitu wagner dan dragendorff. Ekstrak daun menghasilkan warna yang lebih intens pada uji mayer, fenolik, dan tanin dibandingkan ekstrak buah carica. Oleh karena itu, hasil nilai rendemen ekstrak daun lebih besar diasumsikan kandungan senyawa lebih banyak, dimana intensitas warna menggambarkan konsentrasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak.

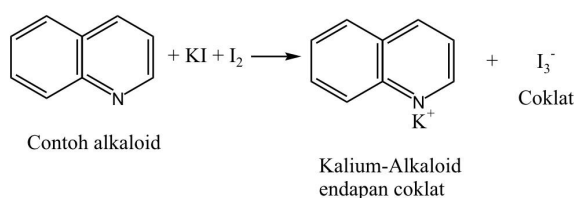
Uji alkaloid menggunakan asam klorida untuk melarutkan alkaloid dalam bentuk garamnya (alkaloid hidroklorida), yang bersifat lebih stabil dan larut dalam air (Kareneng *et al.*, 2022). Hasil pengujian alkaloid menunjukkan pada ekstrak daun carica menghasilkan endapan kuning setelah ditambahkan pereaksi mayer, sedangkan pada penambahan pereaksi wagner dan pereaksi dragendorff terbentuk endapan coklat dan jingga berturut-turut pada sampel ekstrak daun dan buah carica. Hasil positif alkaloid jika terdapat dua atau lebih pereaksi yang membentuk endapan (Salsabila *et al.*, 2025). Kandungan alkaloid dalam daun carica adalah

senyawa alkaloid dengan jenis karpain, Psedokarpain, Dehidrokarpain I, dan Dehidrokarpain II (Khotimah, 2016); (Ery Rahayu *et al.*, 2019). Jenis alkaloid dalam buah carica yaitu Asam tetrahydroharmane-3-karboksilat (Pino-Ramos *et al.*, 2024).



Gambar 9. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Mayer (Kareneng *et al.*, 2022)

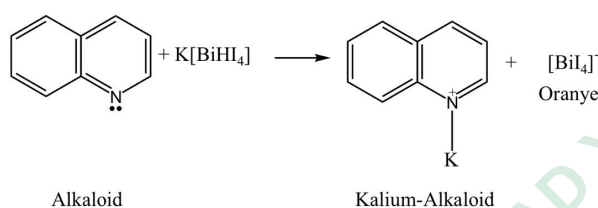
Reagen Mayer dibuat dengan mereaksikan kalium iodida (KI) dengan merkuri (II) iodida (HgCl_2) untuk menghasilkan kalium tetraiodomerkuri (II) ($\text{K}_2[\text{HgI}_4]$). Kompleks alkaloid kalium yang mengendap putih atau kuning, seperti yang terlihat pada Lampiran 6, terbentuk ketika nitrogen dalam senyawa alkaloid dalam sampel bereaksi dengan ion K^+ dari kalium tetraiodomerkuri (II) untuk membentuk ikatan kovalen koordinat terlihat pada Gambar 9 (Kareneng *et al.*, 2022). Pada pereaksi Mayer jika membentuk endapan putih atau kuning hasil ini menunjukkan alkaloid dengan jenis primer/ sekunder seperti *isoquinoline* dan *indole* karena pembentukan kompleks Hg-N yang stabil (Kareneng *et al.*, 2022).



Gambar 10. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Wagner (Lukis *et al.*, 2024)

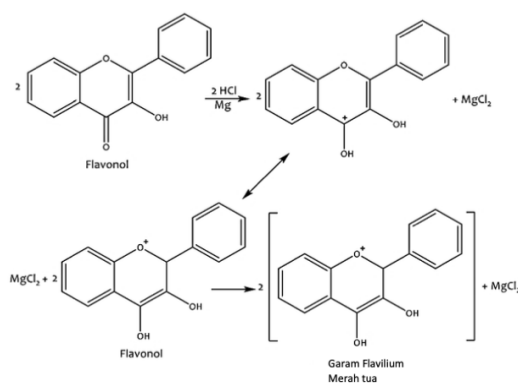
Komponen reagen Wagner adalah I_2 dan KI. Kompleks kalium-alkaloid yang mengendap dan berwarna coklat terlihat pada Lampiran 6, dapat terbentuk ketika

ion logam K^+ dari KI membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen alkaloid (Kareneng *et al.*, 2022). Gambar 10 menunjukkan bagaimana alkaloid bereaksi dengan reagen Wagner. pada pereaksi Wagner jika membentuk endapan coklat termasuk jenis alkaloid *Tertiary amine alkaloids* yang memiliki gugus nitrogen tersier sehingga membentuk kompleks halogen-N (Kareneng *et al.*, 2022).



Gambar 11. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Dreagendroff (Lukis *et al.*, 2024)

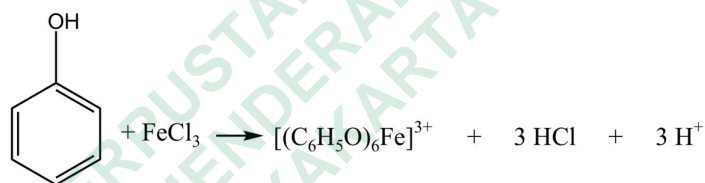
Endapan jingga dihasilkan oleh uji alkaloid positif menggunakan reagen Dragendroff dapat dilihat pada Lampiran 6 . Gambar 11 menunjukkan endapan kalium-alkaloid yang dihasilkan dari penggunaan nitrogen dalam uji alkaloid dengan reagen Dragendroff untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ , yang merupakan bagian dari ion logam (Lukis *et al.*, 2024). Pereaksi dragendorff jika membentuk endapan jingga menunjukkan alkaloid *tropane*, *quinoline* atau *benzylisoquinoline* karena pembentukan kompleks anion Bi-N yang beragam (Lukis *et al.*, 2024).



Gambar 12. Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl Pekat (Fairuzia *et al.*, 2024)

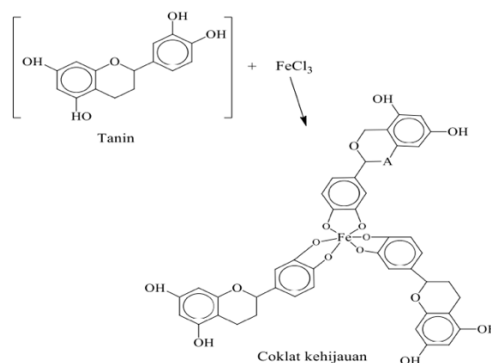
Ketika magnesium dimasukkan, ia bereaksi dengan HCl untuk membentuk gas hidrogen (H_2), yang membantu dalam proses reduksi senyawa flavonoid. Ketika

asam klorida magnesium ditambahkan, *benzopyrone* yang terdapat dalam struktur flavonoid direduksi, dan ketika flavonoid direduksi, mereka dapat membentuk kompleks berwarna dengan ion logam magnesium. Garam flavylum, yang berwarna merah atau jingga, adalah produk akhir dari proses ini. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 12, warna merah tua menunjukkan bahwa flavonoid telah mengalami reduksi dan menciptakan kompleks yang dapat memberikan warna tertentu. Flavonoid dari kelompok antosianidin ditunjukkan dengan produksi warna merah (Fairuzia *et al.*, 2024). Hasil uji flavonoid ekstrak daun dan buah carica membentuk warna jingga kemerahan yang dapat dilihat pada Lampiran 6. Jenis flavonoid yang terkandung dalam daun carica yaitu Asam galat, Kaempferol, Kuersetin, Benzil glukosinolat, Isokuersetin, dan Luteolin 7 glukosida (Az-Zahra *et al.*, 2021). Jenis flavonoid yang terkandung dalam buah carica yaitu 12 glikosida flavonol, 4 flavan-3-ol, 2 proantosianidin (Pino-Ramos *et al.*, 2024).



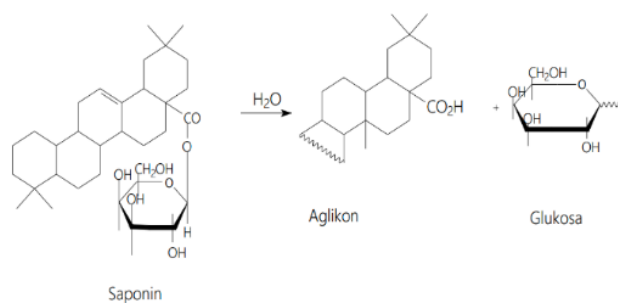
Gambar 13. Reaksi Fenolik dengan FeCl₃ (Nisa *et al.*, 2024)

Reaksi antara senyawa fenolik sampel dan reagen FeCl₃ digambarkan pada Gambar 13, untuk menciptakan ikatan koordinasi dan molekul kompleks, gugus hidroksil dalam sampel fenolik akan memberikan elektron ke ion Fe³⁺ dari reagen FeCl₃. Senyawa tersebut akan menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam (Nisa *et al.*, 2024). Hasil ekstrak daun dan buah carica menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman dapat dilihat pada Lampiran 6. Jenis fenolik yang terkandung dalam daun carica yaitu Asam galat, Kaempferol, Kuersetin, Benzil glukosinolat, Isokuersetin, dan Luteolin 7 glukosida (Ery Rahayu *et al.*, 2019). Jenis fenolik yang terkandung dalam buah carica yaitu Glikosida flavonol, Flavan-3-3-ols, Proantosianidin, dan Hidrokuinon terglukosilasi (Pino-Ramos *et al.*, 2024).



Gambar 14. Reaksi Tanin dengan FeCl_3 (Rejeki *et al.*, 2024)

Reaksi antara tanin dan FeCl_3 menggambarkan tanin yang memiliki gugus hidroksil (OH) bereaksi dengan ion Fe^{3+} dari FeCl_3 . Pada reaksi ini, molekul tanin masing-masing mendonorkan elektronnya kepada ion Fe^{3+} seperti pada Gambar 14 dan membentuk ikatan koordinasi yang stabil. Ikatan ini menyebabkan terbentuknya kompleks berwarna hijau kehitaman yang khas. Warna ini dihasilkan karena ikatan koordinasi mengubah cara elektron dalam kompleks tersebut menyerap dan memantulkan cahaya. Perubahan warna ini menjadi indikator yang jelas bahwa tanin terdapat dalam sampel yang diuji, karena hanya tanin dengan gugus hidroksil yang cukup kuat dapat berinteraksi dengan Fe^{3+} untuk menghasilkan warna tersebut (Harahap *et al.*, 2024). Hasil ekstrak daun dan buah carica menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman dapat dilihat pada Lampiran 6. Hasil ini sesuai dengan penelitian Indranila & Ulfah (2022); Cho *et al* (2020) yang membuktikan bahwa pada daun dan buah carica mengandung tanin yang membentuk warna hijau kehitaman lebih intens pada sampel daun carica dibandingkan buahnya.



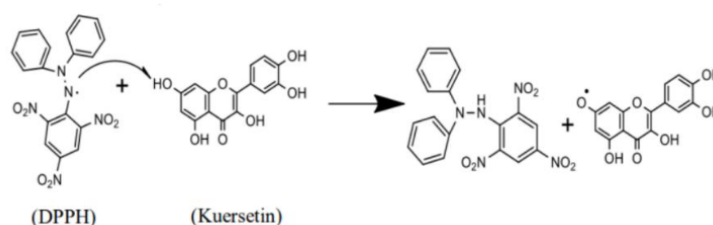
Gambar 15. Reaksi Saponin dengan Akuades (Rejeki *et al.*, 2024)

Kandungan saponin pada sampel buah dan daun carica dinyatakan negatif pada Lampiran 6, yaitu dengan tidak munculnya buih setelah pengocokan dan penambahan HCl. Reaksi ketika saponin bereaksi dengan air, terjadi proses hidrolisis yaitu pemecahan ikatan kimia dengan bantuan molekul air seperti pada Gambar 15. Pada reaksi ini, molekul air (H_2O) masuk ke dalam ikatan glikosidik yang menghubungkan aglikon dengan glukosa, sehingga menyebabkan ikatan tersebut terputus. Akibat dari pemutusan ini, saponin terpecah menjadi dua bagian, larut dalam pelarut polar atau hidrofilik dan senyawa yang larut dalam pelarut non polar atau hidrofobik (Rejeki *et al.*, 2024). Misel dapat terbentuk ketika saponin dikocok dengan pelarutnya karena senyawa dengan gugus polar dan non-polar bersifat aktif permukaan. Tampilan berbuis ini disebabkan oleh struktur misel, yang terbentuk ketika gugus polar menghadap ke dalam dan non-polar ke luar (Pote, 2024). Hasil positif terdapat saponin, sesuai dengan penelitian Minarno (2016) yang membuktikan pada daun dan buah mengandung saponin. Jenis saponin yang terkandung dalam daun dan buah carica yaitu saponin triterpene (Minarno, 2016).

Pengujian peredaman radikal bebas dilakukan menggunakan DPPH yang merupakan suatu radikal bersifat stabil dan berwarna ungu. DPPH dipilih karena mampu mendeteksi senyawa dalam jumlah kecil, praktis, sederhana, cepat, dan mudah dikerjakan. DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan (kuersetin, ekstrak buah dan daun carica), mengakibatkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang sebanding dengan jumlah elektron yang disumbangkan, sehingga menyebabkan penurunan absorbansi DPPH. Prinsip kerja senyawa antioksidan adalah mendonorkan satu atom hidrogen kepada radikal bebas, yang dapat mereduksi DPPH dan mengubahnya menjadi senyawa DPPH non-radikal. Hal ini ditunjukkan dengan berkurangnya warna ungu pada larutan DPPH ketika ditambahkan sampel atau standar, yang diikuti oleh penurunan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Aryanti *et al.*, 2021). Spektrofotometri UV-Vis dipilih karena metode ini cepat, sensitif, dan mampu mendeteksi senyawa yang memiliki gugus kromofor (penyerap cahaya) dalam panjang gelombang ultraviolet atau tampak (Mubarok, 2021). Hasil pembacaan panjang gelombang

maksimal penelitian ini, sesuai dengan penelitian Sulistyani *et al.* (2024) yaitu 517 nm. Panjang gelombang DPPH perlu diukur untuk mengetahui titik maksimum absorbansi (panjang gelombang maksimal) yang digunakan dalam analisis aktivitas antioksidan (Sulistyani *et al.*, 2024). Hasil *Operating time* sesuai dengan penelitian Rejeki *et al.* (2024) diperoleh pada waktu 34 menit. *Operating time* perlu ditentukan untuk memastikan pengukuran dilakukan saat reaksi antara kuersetin dan DPPH telah mencapai kondisi stabil.

Pada penelitian ini digunakan kuersetin sebagai standar pembanding, karena senyawa tersebut terkandung dalam buah dan daun Carica (Kesuma *et al.*, 2024); (Cho *et al.*, 2020). Kuersetin merupakan flavonoid murni yang banyak ditemukan pada berbagai jenis tanaman. Senyawa ini dikenal memiliki aktivitas biologis, terutama sebagai antioksidan, dengan kemampuan yang kuat dalam menangkap radikal bebas. Selain itu, kuersetin memiliki struktur kimia yang stabil, larut dalam pelarut organik, dan tersedia secara komersial. Gugus hidroksil yang kehilangan atom hidrogen dalam DPPH berubah menjadi atom radikal oksigen karena kuersetin yang kaya akan gugus hidroksil, akan memberikan sebagian atom hidrogennya kepada atom radikal N. Setelah menerima atom hidrogen, DPPH akan berkembang menjadi molekul yang stabil. Karena gugus fenolik dapat menstabilkan atom radikal oksigen dan menghentikan reaksi berantai radikal, radikal kuersetin yang dihasilkan akan relatif lebih stabil. Mekanisme reaksi peredaman DPPH oleh kuersetin tersebut dapat dilihat pada Gambar 13 (Tumilaar *et al.*, 2024).



Gambar 16. Mekanisme Reaksi DPPH (Maulidya *et al.*, 2023)

Aktivitas antioksidan suatu senyawa diukur melalui parameter IC_{50} , yaitu konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal DPPH (Maulidya *et al.*, 2023).

Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin kuat kemampuan peredaman senyawa tersebut. Nilai IC_{50} diperoleh dari grafik persamaan regresi linier $y = bx + a$ antara konsentrasi larutan uji dengan nilai peresentase peredaman DPPH (Lampiran 9). Persentase peredaman, atau disebut juga persentase inhibisi, dihitung dari hasil pengukuran absorbansi larutan uji. Hasil nilai r menunjukkan hubungan linear antara dua variabel X dan Y yang sangat kuat jika mendekati nilai satu (Schober *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} kuersetin sebesar 1,655 ppm dengan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH sangat kuat dibandingkan terhadap kedua ekstrak buah dan daun carica, hasil buah carica sebesar 17,347 ppm dan daun carica sebesar 23,731 ppm. Kuatnya peredaman radikal bebas oleh kuersetin tersebut tidak berbeda jauh dengan penelitian sebelumnya milik Lu *et al* (2014) menghasilkan nilai IC_{50} kuersetin sebesar 1 ppm. Pada penelitian ini dilakukan perhitungan nilai SD dan CV. Nilai SD menggambarkan besar penyebaran data terhadap nilai rata-rata, semakin kecil nilai SD maka data semakin homogen dan baik pada pengujian berulang (Permatasari *et al.*, 2024). Nilai SD pada kuersetin, ekstrak daun dan buah carica $<5\%$ menunjukkan penyebaran data yang baik. Nilai CV dari IC_{50} kuersetin serta IC_{50} buah dan daun carica adalah $\leq 5\%$. Nilai CV ini menunjukkan bahwa perhitungan IC_{50} memiliki presisi yang baik, dimana terdapat kesalahan acak dan sistematis yang rendah, sehingga hasilnya dapat dianggap konsisten (Permatasari *et al.*, 2024).

Hasil analisis statistik dengan menggunakan *software* SPSS dengan uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan nilai IC_{50} standar kuersetin, ekstrak buah dan daun carica memiliki nilai signifikan adalah $<0,05$ yang memiliki makna terdapat perbedaan rata-rata antar kelompok yang cukup kuat secara statistik, serta dilakukan *Uji Post Hoc Tukey* untuk membandingkan masing-masing pasangan sampel secara spesifik $<0,05$ sehingga dapat dijelaskan lebih lanjut perbedaan antar kelompoknya seperti pada Tabel 9. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH kuersetin signifikan dengan daun dan buah carica. Aktivitas daun carica berbeda signifikan dengan buah carica, standar kuersetin menghasilkan aktivitas paling baik dikarenakan merupakan senyawa flavonoid murni.

Nilai IC_{50} ekstrak buah carica lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak daun carica. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas akan semakin kuat. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} pada buah dan daun carica sebesar 17,347 ppm dan 23,731 ppm yang merupakan antioksidan yang sangat kuat, tidak berbeda dengan penelitian sebelumnya. Menurut hasil penelitian Indranila & Ulfah. (2022), aktivitas antioksidan pada daun carica nilai IC_{50} sebesar 30,8 ppm selain itu, pada penelitian Laily *et al.* (2012) buah carica yang tumbuh pada ketinggian 2400 MDPL dengan nilai IC_{50} sebesar 9,83 ppm. Hasil tersebut menunjukkan aktivitas peredaman radikal bebas yang lebih baik pada ekstrak buah dibandingkan ekstrak daun carica pada sampel dengan tanaman carica yang berbeda .

Hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan pada buah carica antara lain, asam askorbat (vitamin C), beta-karoten, dan flavonoid aktif dalam bentuk bebas yang lebih mudah mendonorkan atom hidrogen ke radikal DPPH (Hidayat *et al.*, 2024). Aktivitas peredaman radikal bebas dipengaruhi oleh senyawa aktif yang terkandung pada sampel. Berdasarkan penelitian Ansory *et al.*, (2016) buah carica mengandung vitamin C sebesar 1560 ppm, selain senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan fenolik. Sedangkan belum ada penelitian yang melaporkan terkait kandungan vitamin C pada daunnya. Oleh karena itu, ekstrak buah carica memiliki aktivitas peredaman radikal bebas yang lebih baik. Vitamin C adalah antioksidan larut air, mekanisme donor elektron atau hidrogen kepada radikal bebas seperti lipid peroksid, superoksida, hidroksil. Proses ini mengubah vitamin C menjadi radikal semidehidroaskorbat yang relatif stabil, menghentikan rantai oksidasi radikal bebas (Nurkhasanah *et al.*, 2023). Selain itu, pada hasil skrining fitokimia, ekstrak buah carica menghasilkan warna yang lebih intens dibandingkan daunnya terhadap senyawa flavonoid yang berperan dalam aktivitas peredaman radikal bebas.