

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemanfaatan tanaman herbal sebagai sumber obat alami telah menjadi bagian penting dalam pengobatan tradisional di berbagai negara, termasuk Indonesia. Salah satu tanaman yang memiliki potensi pengobatan namun belum banyak dimanfaatkan secara luas adalah nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.). Selama ini, nangka lebih dikenal karena buahnya yang bernilai ekonomi tinggi, namun bagian lain dari tanaman ini, seperti daun, masih jarang dimanfaatkan secara optimal. Di beberapa daerah, daun nangka memang digunakan sebagai pakan ternak atau untuk kebutuhan ritual tertentu, tetapi sedikit sekali yang menyadari potensi manfaat kesehatannya, terutama sebagai sumber antioksidan.

Penelitian menunjukkan bahwa daun nangka mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi menghambat atau menetralkan radikal bebas dalam tubuh, yang merupakan salah satu penyebab utama kerusakan sel, penuaan, dan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, serta penyakit kardiovaskular (Kamoda *et al.*, 2021). Senyawa antioksidan sangat penting dalam melindungi tubuh dari stres oksidatif yang berlebihan, yang dapat diakibatkan oleh faktor-faktor eksternal seperti polusi, sinar ultraviolet, dan pola makan tidak sehat. Karena itu, pencarian sumber alami antioksidan terus menjadi fokus penelitian untuk menemukan alternatif yang aman dan efektif (Ameer *et al.*, 2017).

Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) mengandung senyawa-senyawa seperti flavonoid, tanin, fenolik, saponin, dan alkaloid yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid adalah salah satu senyawa antioksidan yang banyak ditemukan dalam tanaman dan berperan penting dalam melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif. Tanin juga memiliki kemampuan untuk mengikat dan menetralkan radikal bebas, sementara senyawa fenolik berperan dalam menekan reaksi oksidasi (Ranasinghe *et al.*, 2019). Keberadaan senyawa-senyawa

ini menunjukkan bahwa daun nangka memiliki potensi besar sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk tujuan kesehatan.

Metode ekstraksi yang tepat sangat penting dalam mengoptimalkan pengambilan senyawa aktif dari daun nangka. Penggunaan pelarut yang berbeda, seperti etanol dengan berbagai konsentrasi, dapat memengaruhi jumlah dan jenis senyawa yang diekstraksi dari daun tersebut. Etanol 70% dan 96%, misalnya, memiliki sifat yang berbeda dalam melarutkan senyawa polar dan nonpolar, yang berdampak pada efektivitas ekstraksi senyawa antioksidan (Sulasmi *et al.*, 2024).

Metode ABTS (*2,2'-azino-bis-3-ethylbenzoathiazoline-6-sulfonic acid*) merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan karena sensitivitasnya dalam mendeteksi radikal bebas. ABTS mampu mengukur aktivitas antioksidan secara efektif dalam rentang pH yang lebih luas dan berfungsi dengan baik dalam sistem hidrofilik maupun lipofilik (Muthia *et al.*, 2024).

Namun, penelitian mengenai potensi antioksidan daun nangka dengan variasi pelarut masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini penting untuk mengkaji aktivitas antioksidan ekstrak daun nangka yang diekstraksi dengan pelarut etanol pada berbagai konsentrasi, guna mengetahui konsentrasi mana yang paling efektif dalam mengekstraksi senyawa aktif tersebut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah yang lebih lengkap mengenai potensi daun nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) sebagai sumber antioksidan alami, serta memberikan dasar bagi pengembangan produk kesehatan dan farmasi berbasis bahan alami dari daun nangka.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) yang diekstraksi dengan etanol 70% dan etanol 96%?
2. Apa kategori aktivitas antioksidan ekstrak daun nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) yang diekstraksi dengan etanol 70% dan etanol 96%?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) yang diekstraksi dengan etanol 70% dan etanol 96%.
2. Mengetahui kategori aktivitas antioksidan dari ekstrak daun nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) yang diekstraksi dengan etanol 70% dan etanol 96%.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan sebagai perkembangan ilmu pengetahuan serta melengkapi informasi bagi masyarakat maupun peneliti mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak daun nangka dengan variasi pelarut.

1.4.2 Manfaat praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam pemanfaatan dan pengembangan daun nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) sebagai pengetahuan alam mengenai aktivitas antioksidan dalam pengembangan obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Nangka

2.1.1 Klasifikasi tanaman nangka

Lupita *et al.* (2023) memaparkan mengenai klasifikasi dari tanaman nangka, yaitu sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Ordo : *Urticales*
Familia : *Moraceae*
Genus : *Artocarpus*
Spesies : *Artocarpus heterophyllus* L.



Sumber: Nada, 2024 (dokumentasi pribadi)

Gambar 2.1 : Tanaman Nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.)

2.1.2 Morfologi tanaman nangka

Tanaman nangka memiliki tinggi sekitar 10 hingga 15 meter dengan batang yang tegak, berbentuk bulat, kasar, dan berwarna hijau tua yang sedikit keabu-abuan, dengan diameter bervariasi sesuai dengan kematangan tanaman. Kulit batangnya agak tebal dan berwarna keabu-abuan. Akarnya besar dan berbentuk bulat, menembus cukup dalam ke dalam tanah. Pohon nangka (*Artocarpus*

heterophyllus L) memiliki daun tunggal, berbentuk lonjong dan tulang daun menyirip, daging daun tebal, ujung runcing, dengan panjang sekitar 5-15 cm dan lebar 4-5 cm (Ardila *et al.*, 2022). Bunga tumbuhan nangka merupakan tipe bunga majemuk priuk yang muncul pada ketiak daun pucuk pendek sisi batang atau cabang batang tua, berbentuk bulat terlur dan buahnya tergolong buah majemuk semu (Harahap & Warly, 2020).

2.1.3 Kandungan dan manfaat tanaman nangka

Daun nangka sendiri telah digunakan sebagai obat tradisional di negara-negara Asia untuk mengatasi batuk, asma, hipertensi, diare, demam, bisul, dan luka (Auliah *et al.*, 2019; Elysa *et al.*, 2018; Indrianingsih *et al.*, 2024). Beberapa bagian pohon nangka termasuk buah, daun, dan kulit kayu telah banyak digunakan dalam pengobatan karena memiliki efek antikarsinogenik, antimikroba, antijamur, antiradang, penyembuhan luka, dan hipoglikemia (Ranasinghe *et al.*, 2019). Namun, belum semua bagian dari tanaman nangka dimanfaatkan dengan baik dan optimal sebagai komoditas bernilai tinggi (Handayani, 2016). Berdasarkan studi praklinis, nangka memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antioksidan, antimelanin, antidiabetik, antiinflamasi, imunomodulator, antivirus, anthelmintik, penyembuhan luka, dan antineoplastik (Gupta *et al.*, 2023). Penelitian sebelumnya menunjukkan efek daunnya yang bermanfaat untuk perawatan kulit wajah dengan meningkatkan kelembaban, menghaluskan kulit, mengurangi ukuran pori-pori, dan kerutan (Widyawati *et al.*, 2019). Hasil studi klinis mengungkapkan bahwa daun nangka memiliki efek antidiabetik pada individu yang sehat dan individu insulin-independent (Gupta *et al.*, 2023). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak diklorometana daun nangka memiliki aktivitas yang baik terhadap virus hepatitis C dengan IC_{50} 1,5 mg/ml dan tidak ada toksisitas yang diamati (Indrianingsih *et al.*, 2024).

Tanaman nangka merupakan sumber yang kaya akan fenolik dan flavonoid sehingga memiliki sifat antioksidan yang baik. Dagingnya kaya akan karbohidrat, protein, asam amino, polifenol, asam lemak, vitamin, dan mineral yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi. Selain buahnya, ekstrak kulit nangka juga mengandung fenolik dan flavonoid, seperti prenyflavonoid, asam hidroksisimat,

dan glikosida yang merupakan senyawa bioaktif dominan. Kayu dan kulit batang tanaman ini juga sumber prenyflavonoid, stilbenoid, triterpenoid, dan steroid. Sementara itu, daunnya kaya akan asam fenolat, flavonoid, terpenoid, dan stilbenoid (Raja *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa daun nangka mengandung senyawa flavonoid, tannin, alkaloid, polifenol, dan steroid triterpenoid (Darmawati *et al.*, 2015). Penelitian lain menunjukkan daun nangka mengandung konstituen aktif seperti artokarpusin, artokarpetin, artokarpanon, sikloartinon, dan artokarstilena (Indrianingsih *et al.*, 2024).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa bioaktif dari matriks tanaman menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ini melibatkan perbedaan kelarutan senyawa bioaktif di antara pelarut dan matriks tanaman, sehingga senyawa tersebut dapat terlarut dan terpisah dari komponen lainnya. Terdapat beberapa syarat yang harus dipenuhi dalam pemilihan pelarut yaitu harus bersifat selektif sehingga hanya melarutkan senyawa target, bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan bahan yang diekstrak, mudah dipisahkan, aman dan tidak toksik (Arsa & Achmad, 2020). Ekstraksi menggunakan pelarut juga mempertimbangkan sifat kepolaran zat dalam pelarut saat diekstraksi sesuai dengan prinsip *like dissolve like*. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air. Sedangkan senyawa non polar hanya larut pada pelarut non polar seperti eter kloroform dan n-heksana (Leksono *et al.*, 2018). Perbandingan antara simplisia dengan pelarut sebaiknya 1:10 hingga 1:20 tergantung pada jenis dan senyawa yang diisolasi (Kemenkes RI, 2017).

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling sederhana dengan beberapa kelebihan, seperti biaya yang murah, peralatan yang sederhana, dan tanpa memerlukan perlakuan panas, sehingga cocok untuk ekstraksi senyawa-senyawa yang tidak tahan panas (termolabil). Proses maserasi melibatkan perendaman serbuk simplisia dalam cairan penyari menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel menyebabkan zat aktif keluar. Meskipun sederhana dan murah, metode ini memerlukan waktu yang

lebih lama sekitar 1 hingga 7 hari tergantung dari kekuatan tanaman (Nugroho, 2017; Ibrahim *et al.*, 2016).

Ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Serbuk simplisia direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat kemudian dipisahkan dengan cara sentrifugasi atau dekantasi ataupun dengan filtrasi. Proses penyarian ini dilakukan sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan volume sebanyak setengah dari volume pada penyarian pertama. Maserat yang terkumpul selanjutnya diuapkan dengan rotavapor untuk memperoleh ekstrak yang kental (Kemenkes RI, 2017).

2.3 Skrining Fitokimia

Tumbuhan umumnya menghasilkan beragam bahan kimia yang dapat dibagi menjadi metabolit primer dan metabolit sekunder, tergantung pada peranannya dalam tanaman. Metabolit primer menyediakan bahan yang diperlukan untuk proses vital seperti fotosintesis, translokasi, dan respirasi. Di sisi lain, metabolit sekunder merupakan produk metabolisme yang tidak secara langsung terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang merupakan bagian kecil dari metabolisme suatu organisme dan dihasilkan melalui sintesis selama pertumbuhan atau sebagai respons terhadap rangsangan tertentu (Mera *et al.*, 2019).

Skrining fitokimia merupakan tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia atau tanaman. Senyawa kimia hasil dari metabolisme sekunder pada tumbuhan dapat diklasifikasikan menjadi beberapa golongan seperti saponin, steroid, tanin, flavonoid, dan alkaloid. (Dewatisari *et al.*, 2018). Pada penelitian sebelumnya oleh Wahyuni *et al* (2024) ekstrak etanol daun nangka mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid. Namun, kandungan metabolit sekunder dalam suatu tanaman juga dapat dipengaruhi oleh faktor internal seperti gen dan aktivitas enzim, serta faktor eksternal seperti cahaya, suhu, salinitas, kelembaban, dan faktor lingkungan lainnya (Li *et al.*, 2020).

2.3.1 Senyawa flavonoid

Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) mengandung berbagai senyawa flavonoid yang berperan penting dalam aktivitas biologisnya. Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*) mengandung senyawa flavonoid seperti artocarpine, artocarpetin, cycloheterophyllin, dan artonins A dan B yang berperan penting sebagai antioksidan (Prakash *et al.*, 2009). Penelitian oleh (Solichah *et al.*, 2021) juga mengatakan bahwa Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) mengandung flavonoid seperti sikloartokarpin A, norartocarpetin, dan artoheterofilin A. Flavonoid ini memiliki aktivitas antioksidan yang kuat melalui mekanisme menangkap radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid, dan melindungi biomolekul dari kerusakan oksidatif. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang umumnya ditemukan dalam buah-buahan dan sayur-sayuran. Struktur polifenoliknya yang berperan dalam pembentukan pigmen kuning, merah, oranye, ungu, dan biru pada daun, bunga, dan buah. Kandungan ini memiliki potensi sebagai antioksidan untuk mengurangi tanda-tanda penuaan dini. Meskipun sering dianggap hanya sebagai pigmen pada bunga, flavonoid sebenarnya dapat ditemukan di seluruh bagian tanaman (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019). Salah satu penelitian yang dilakukan oleh (Wahyuni *et al.*, 2024a) mengatakan bahwa, kandungan flavonoid total dalam ekstrak etanol daun nangka dilaporkan sebesar 234,9 mgQE/g ekstrak menunjukkan potensi sebagai sumber antioksidan yang kuat. Sampel yang mengandung flavonoid diidentifikasi melalui perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga saat direaksikan dengan lapisan amil alkohol. Ekstraksi flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan etanol sebagai pelarut (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019).

2.3.2 Senyawa saponin

Selain flavonoid, daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) juga mengandung saponin, yaitu senyawa yang dikenal dapat meningkatkan kemampuan sel dalam melawan stres oksidatif melalui aktivitasnya sebagai agen pengikat ion logam. Saponin merupakan suatu jenis glikosida yang memiliki komponen sapogenin sebagai aglikonnya (Sulasmi *et al.*, 2024). Saponin dapat bertindak

sebagai antioksidan melalui mekanisme seperti menangkap radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid, dan melindungi biomolekul dari kerusakan oksidatif (Prakash *et al.*, 2009). Kandungan saponin dalam daun nangka diidentifikasi melalui pembentukan busa yang stabil setelah digoyangkan dengan air panas. Saponin berkontribusi dalam melindungi sel dari kerusakan yang diinduksi radikal bebas. Kemampuan saponin untuk menurunkan tegangan permukaan air menyebabkan pembentukan busa saat air dihomogenkan (Suleman *et al.*, 2022). Penurunan tegangan permukaan terjadi karena adanya senyawa sabun yang mengganggu ikatan hidrogen dalam air. Senyawa ini memiliki dua bagian dengan sifat kepolaran yang berbeda. Struktur kimia saponin melibatkan glikosida yang terdiri dari glikon (bagian gula seperti glukosa, fruktosa, dan lainnya.) dan aglikon (sapogenin) (Nurzaman *et al.*, 2018).

2.3.3 Senyawa fenolik

Senyawa fenolik merupakan salah satu dari beberapa jenis senyawa yang terdapat dalam tumbuhan salah satunya pada daun nangka. Senyawa fenolik memiliki satu atau lebih atom hidroksida aromatik (OH). Gugus fungsi OH dalam struktur fenolik bertindak sebagai donor radikal dan memberikan manfaat seperti sifat inflamasi, antioksidan dan antibakteri. Aktivitas antioksidan terutama disumbangkan oleh senyawa golongan fenolik seperti flavonoid, asam-asam fenolat dan fenol diterpen (Nasution & Rahmah, 2014).

2.3.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang banyak ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Senyawa ini memiliki sifat basa dan mengandung atom nitrogen (N) dengan struktur berlingkar heterosiklik atau aromatis (Wahyuni & Marpaung, 2020). Sebagian besar alkaloid berasal dari tumbuhan dan dapat ditemukan di berbagai bagian tumbuhan, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar, dan kulit batang. Umumnya, alkaloid tersebar secara luas di berbagai jenis tumbuhan dalam bentuk garam organik, sehingga dalam proses ekstraksinya, senyawa ini dilarutkan dalam air yang telah diasamkan untuk membentuk garam (Maisarah *et al.*, 2023). Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) mengandung

berbagai senyawa bioaktif, termasuk alkaloid, yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Alkaloid adalah senyawa organik nitrogen yang ditemukan pada banyak tumbuhan dan dikenal memiliki berbagai aktivitas farmakologis, salah satunya sebagai antioksidan. Senyawa alkaloid dalam daun nangka bekerja dengan mengikat radikal bebas yang dapat merusak sel tubuh. Mekanisme utamanya meliputi penghambatan reaksi radikal bebas, aktivasi enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase, serta pengaturan stres oksidatif dalam tubuh. Dengan kemampuan ini, alkaloid dapat melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas yang berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif dan penuaan dini (Samrot & Sean, 2022).

2.3.5 Steroid/triterpenoid

Triterpenoid merupakan metabolit sekunder turunan dari terpenoid dan memiliki kerangka karbon yang terbentuk dari enam unit isoprena (2-metilbuta-1,3-diena). Kerangka ini terdiri dari enam unit C₅ yang berasal dari hidrokarbon asiklik C₃₀, yaitu skualena (Hidayah *et al.*, 2023). Steroid merupakan bagian dari triterpenoid, memiliki struktur inti siklopentana perhidrofenantrena, yaitu tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Dalam kaitannya dengan aktivitas antioksidan, beberapa senyawa triterpenoid dan steroid juga memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mengurangi risiko kerusakan sel yang disebabkan oleh oksidasi. Aktivitas ini menunjukkan potensi triterpenoid dan steroid sebagai agen protektif terhadap stres oksidatif yang berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif (Susidarti, 2017).

Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk senyawa steroid dan triterpenoid, yang berperan penting dalam berbagai aktivitas farmakologis tanaman ini, seperti aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antifungi. Penelitian yang dilakukan oleh (Rezeki *et al.*, 2023) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun nangka mengandung senyawa steroid dan triterpenoid yang berkontribusi pada aktivitas biologis tanaman tersebut. Senyawa steroid dalam daun nangka berfungsi sebagai agen antioksidan yang melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas. Selain itu, hasil penelitian

menunjukkan bahwa adanya senyawa triterpenoid, yang dibuktikan dengan terjadinya perubahan warna merah.

2.3.6 Tanin

Tanin adalah senyawa alami yang mengandung gugus hidroksi fenol bebas dan mampu membentuk ikatan stabil dengan protein. Secara umum, tanin dikenal sebagai zat astringen. Senyawa ini biasanya ditemukan pada berbagai bagian tanaman seperti daun, buah, kulit batang, dan dahan. Sebagai polifenol, tanin memiliki kemampuan mengikat dan mengendapkan protein (Listiana *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh (Wahyuni *et al.*, 2024a) menyatakan bahwa daun nangka mengandung tanin dengan kadar yang bervariasi. Salah satu studi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun nangka sebesar 343,3 mg TAE/g. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh (Utari & Warly, 2021) mengungkapkan bahwa daun nangka mengandung senyawa tanin yang dapat diekstraksi menggunakan pelarut seperti etanol, etil asetat, dan metanol. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun nangka positif mengandung tanin, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman setelah penambahan larutan FeCl_3 1%. Perubahan warna ini menunjukkan pembentukan kompleks antara ion Fe^{3+} dan senyawa tanin.

2.4 Pelarut Etanol

Etanol atau etil alkohol adalah cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tidak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling umum digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol termasuk dalam kategori alkohol rantai tunggal, memiliki rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$. Etanol memiliki sifat yang universal sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar, semi polar, dan non polar (Bahri *et al.*, 2016). Etanol sangat efektif dan aman untuk digunakan sebagai pelarut untuk dikonsumsi manusia, baik untuk bahan makanan maupun produk obat. Baik etanol murni maupun campuran etanol dan air terbukti mampu mengekstraksi senyawa-senyawa antioksidan turunan fenolik dengan baik. Pelarut-pelarut polar sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa polifenol dari tumbuhan (Hikmawanti *et al.*, 2021).

Konsentrasi etanol secara signifikan memengaruhi sifat hidrofobik dalam pelarutan serta kekuatan ikatan hidrogen pada komponen target selama proses pelarutan dan ekstraksi tumbuhan. Secara umum, pelarut etanol yang memiliki sifat polar akan mengikuti prinsip *like dissolve like* dalam menarik senyawa tertentu sehingga diketahui bahwa etanol mampu menarik beberapa senyawa polar termasuk flavonoid, fenolik, dan alkaloid (Dewatisari, 2020; Yulianti *et al.*, 2020). Namun, ketika konsentrasi pelarut etanol yang digunakan semakin tinggi maka akan mengurangi sifat kepolarannya sehingga mampu untuk menarik senyawa yang kurang polar dan senyawa polar yang terekstraksi pun juga berkurang (Permatasari *et al.*, 2020)

2.5 Radikal Bebas

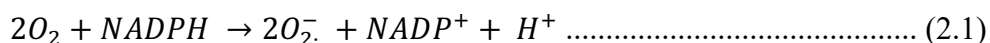
2.5.1 Definisi radikal bebas

Radikal bebas merupakan sebuah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital terluarnya. Diketahui bahwa radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil sehingga akan mengambil elektron dari senyawa lainnya untuk mencapai kondisi stabil (Otimenyin, 2018). Hal ini membuat senyawa tersebut kehilangan elektronnya dan akan membentuk radikal bebas itu sendiri. Salah satu bentuk radikal bebas yakni *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat terbentuk dari proses metabolisme normal dalam tubuh, tetapi juga dapat dipicu oleh faktor eksternal seperti paparan sinar UV, polusi, asap rokok, dan bahan kimia berbahaya (Hindrianingtyas & Kuswanti, 2023). Beberapa contoh yang termasuk dalam ROS, yakni superperoksida (O_2^-), hidroksil ($OH^\bullet$), alkoksiradikal ($RO^\bullet$), radikal peroksil ($ROO^\bullet$), nitrogen monoksida ($NO^\bullet$), dan nitrogen dioksida ($NO_2^\bullet$) (Phaniendra *et al.*, 2015).

2.5.2 Mekanisme radikal bebas

Radikal bebas dapat berasal dari atom ataupun molekul apa pun (seperti oksigen atau nitrogen) yang memiliki setidaknya satu elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas terjadi saat ikatan kovalen antara dua molekul terputus dan satu elektron akan tetap berada pada atom yang baru terbentuk (Chandra *et al.*, 2020). Selain itu, radikal bebas juga dapat terbentuk melalui reaksi reduksi oksidasi

(redoks). Salah satu contoh pembentukan radikal bebas yakni *reactive oxygen species* (ROS) dimulai dari penyerapan oksigen yang cepat, aktivasi NADPH oksidase, dan produksi radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$) (Nimse & Pal, 2015).



2.6 Antioksidan

Istilah antioksidan merujuk kepada substansi yang dapat mencegah, menghambat, mengurangi proses oksidasi (Kotha *et al.*, 2022). Antioksidan dapat berupa molekul atau senyawa yang mampu menetralkan senyawa radikal bebas sehingga mengurangi atau mencegah reaksi oksidatif berantai yang berpotensi merusak sel-sel tubuh (Ibroham *et al.*, 2022). Secara umum, aktivitas antioksidan diperantarai oleh tiga mekanisme, yakni melalui transfer atom hidrogen, transfer elektron tunggal dan kemampuan mengkelat ion logam yang bersifat reaktif. Berdasarkan jalur aktivitasnya, antioksidan dapat dibedakan menjadi tiga yakni antioksidan yang menghambat pembentukan radikal bebas dan/atau turunannya, antioksidan yang menginterupsi reaksi oksidasi dari radikal bebas, dan antioksidan yang mampu menonaktifkan radikal bebas (Kotha *et al.*, 2022).

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kategori berdasarkan sumber dan jenisnya. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan biologis dan antioksidan sintetis. Senyawa antioksidan sintesis diperoleh secara kimia dan tidak dapat diproduksi oleh tubuh makhluk hidup, contohnya *tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *butylated hydroxytoluene* (BHT), serta *butylated hydroxyl anisole* (BHA). Antioksidan biologis adalah senyawa antioksidan yang dapat diproduksi atau diperoleh dari tubuh makhluk hidup. Antioksidan biologis dapat dibedakan berdasarkan jenisnya yakni antioksidan enzimatis dan non-enzimatis (Kotha *et al.*, 2022). Antioksidan enzimatis seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione reductase* (GR), dan *glutathione peroxidase* (GPx), disebut juga antioksidan primer, bekerja dengan cara mencegah, menghambat, atau mengkonversi pembentukan radikal bebas menjadi molekul yang tidak reaktif. Misalnya, dengan mengonversi molekul radikal superoksida dan hidrogen peroksida menjadi molekul air dan hidrogen. Sedangkan antioksidan non-enzimatis seperti *glutathione* dan

coenzyme Q, disebut juga antioksidan sekunder, bekerja dengan cara menonaktifkan radikal bebas dan berperan dalam proses detoksifikasi (Sánchez *et al.*, 2019; Kotha *et al.*, 2022). Antioksidan non-enzimatik dapat dibedakan berdasarkan sumbernya, yakni antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen meliputi molekul antioksidan yang dapat diproduksi oleh tubuh, sedangkan antioksidan eksogen diperoleh dari asupan luar dan tidak dapat diproduksi oleh tubuh. Contoh antioksidan eksogen adalah senyawa metabolit sekunder yang berasal dari bahan alam seperti golongan senyawa polifenol, asam fenolat, flavonoid, dan karotenoid (Kotha *et al.*, 2022).

2.7 Microplate Reader

Microplate reader atau sering disebut *plate reader* adalah alat spektrofotometer khusus yang dirancang untuk membaca lempeng mikro dan banyak digunakan pada berbagai pengujian sampel kimia, fisika, maupun biologis dalam volume mikro. *Microplate reader* biasanya diterapkan dalam berbagai uji biokimia, termasuk pengujian aktivitas enzim, deteksi protein, serta pengukuran konsentrasi senyawa. Dalam penggunaannya, plate reader memiliki format standar dengan 96 sumur, yang terdiri dari 12 kolom dan 8 baris, meskipun format lainnya juga tersedia sesuai kebutuhan (Kut *et al.*, 2022).

Prinsip dasar kerja *microplate reader* adalah memanfaatkan kolorimeter fotolistrik atau spektrofotometer untuk mengukur intensitas cahaya sebelum dan sesudah melewati sampel uji. Penyerapan cahaya oleh sampel berbanding lurus dengan konsentrasi zat di dalam sumur, yang memungkinkan alat ini untuk menghitung konsentrasi zat dengan akurat. *Microplate reader* dapat bekerja melalui pengukuran spektrum sinar tampak, ultraviolet, atau fluoresensi, yang digunakan sesuai jenis zat uji. *Microplate reader* memiliki keuntungan dalam *high-throughput screening*, yang memungkinkan para peneliti untuk memproses banyak sampel secara cepat dan efisien. Alat ini dapat digunakan untuk berbagai jenis uji, termasuk pengujian aktivitas antioksidan seperti *ABTS assay*, *microplate reader* mengukur perubahan absorbansi akibat reaksi dengan radikal bebas (Cano *et al.*, 2023). Dalam pengujian tersebut, alat ini mengukur penurunan absorbansi pada panjang

gelombang tertentu, misalnya 734 nm, untuk menghitung kapasitas antioksidan dalam suatu sampel (Tangkau *et al.*, 2023).



Sumber: Agilent Technologies Inc., 2024

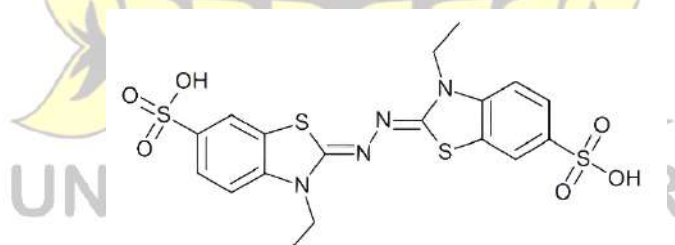
Gambar 2.2 : Microplate Reader

2.8 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

ABTS adalah senyawa radikal kation organik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan pada pH 7,4, dengan perubahan warna dari biru atau hijau menjadi tidak berwarna sebagai indikator. Pengukuran ini dilakukan untuk menilai kemampuan antioksidan dalam mendonorkan proton radikal sehingga mencapai kestabilan. Hasil kuantitatif diukur dengan kalorimeter pada panjang gelombang 734 nm, menggunakan kurva standar antioksidan pembanding seperti alpha-tocopherol, glutathione, dan asam urat. ABTS yang juga dikenal sebagai TEAC, unggul karena kecepatan dan aplikabilitasnya baik pada fase air maupun lipid. Prinsip pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS didasarkan pada penghilangan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang bereaksi langsung dengan radikal kation ABTS (Tangkau *et al.*, 2023). Kelebihan metode ABTS terletak pada kemampuannya untuk digunakan pada sistem berbasis air maupun organik, memiliki waktu reaksi yang lebih cepat, dan dapat berfungsi dalam rentang pH yang luas. Namun, metode ini sangat sensitif terhadap cahaya dan memerlukan waktu inkubasi selama 12-16 jam dalam kondisi gelap (Zerlinda & Wulan, 2023).

Metode ABTS menggunakan 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) sebagai sumber radikal bebas. Kapasitas antioksidan diukur berdasarkan penurunan warna setelah ABTS⁺ direaksikan dengan senyawa uji. Radikal ABTS⁺

dihasilkan melalui reaksi dengan agen pengoksidasi seperti kalium permanganat atau kalium persulfat, menghasilkan penurunan warna hijau-biru. Meskipun metode ABTS kurang stabil dibandingkan metode DPPH, karena memerlukan penyimpanan di tempat gelap selama 12 jam dan tidak ditemukan dalam sistem fisiologis mamalia, metode ini tetap populer untuk mengukur kapasitas antioksidan radikal non-fisiologis. Aktivitas penangkapan radikal bebas ABTS dinyatakan dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan atau sampel yang mampu mereduksi radikal ABTS sebesar 50%, atau menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50% (Vifta *et al.*, 2019). Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin besar aktivitas penangkapan radikal ABTS; sebaliknya, semakin tinggi nilai IC_{50} , semakin kecil aktivitas penangkapan radikal ABTS. Sebuah senyawa diklasifikasikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} -nya <50 ppm, kuat jika IC_{50} berkisar antara 50-100 ppm, sedang jika IC_{50} antara 100-250 ppm, lemah jika IC_{50} antara 250-500 ppm, dan sangat lemah jika $IC_{50} >500$ ppm. Dengan demikian, semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Febrianti & Surya, 2023).



Sumber : (Zerlinda & Wulan, 2023)

Gambar 2.3 : Reduksi ABTS oleh Senyawa Penangkap Radikal Bebas

2.9 Analisis Statistik

Statistika adalah ilmu yang mempelajari pengumpulan, pengorganisasian, penyajian, analisis, dan interpretasi data untuk menghasilkan informasi yang dapat digunakan dalam pengambilan keputusan. Dalam konteks umum, statistik juga mencakup data kuantitatif yang menggambarkan karakteristik tertentu dari suatu populasi atau sampel. Statistik dibagi menjadi dua jenis utama, yaitu statistik deskriptif dan statistik inferensial. Statistik deskriptif berfungsi untuk menggambarkan atau merangkum data yang telah dikumpulkan melalui berbagai

metode, seperti tabel distribusi frekuensi, grafik, atau ukuran pemusatan data, misalnya mean, median, dan modus. Selain itu, ukuran penyebaran seperti range, variansi, dan standar deviasi juga menjadi bagian dari statistik deskriptif. Tujuan utamanya adalah memberikan gambaran tentang data tanpa melakukan generalisasi terhadap populasi yang lebih besar (Andi *et al.*, 2023).

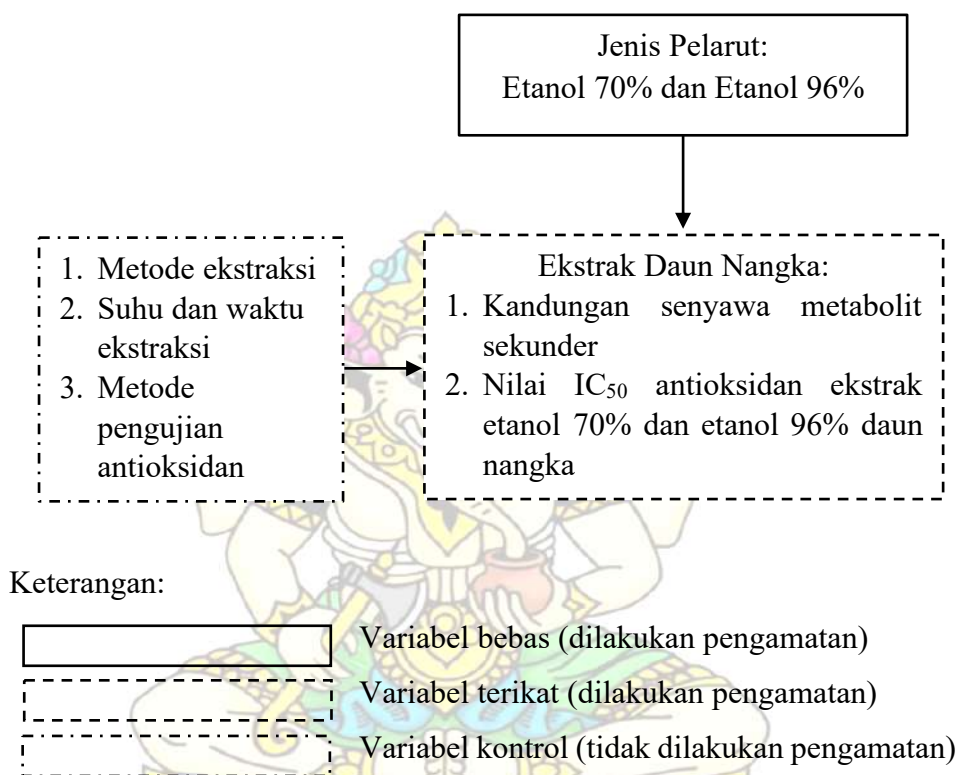
2.10 Kerangka Konseptual

2.10.1 Kerangka teori



Gambar 2.4 : Kerangka Teori

2.10.2 Kerangka konsep



Gambar 2.5 : Kerangka Konsep

2.11 Hipotesis

1. Diduga ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid.
2. Diduga ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan rentang nilai IC₅₀ 50-100 ppm yang tergolong kuat.