

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)



Gambar 2. 1 Tanaman Carica dan Buah Carica

Pepaya gunung atau dikenal sebagai carica (*Vasconcellea cundinamarcensis*, syn. *Carica pubescens*) merupakan salah satu jenis tanaman buah yang memiliki karakteristik unik. Tumbuhan ini tumbuh optimal pada ketinggian 1.500–2.000 meter di atas permukaan laut, sehingga lebih sering ditemukan di daerah pegunungan tropis, seperti Dataran Tinggi Andes di Amerika Selatan dan Dieng di Indonesia (Sugiyarto, A, 2021). Carica memiliki struktur pohon yang dapat mencapai tinggi 5 meter dengan cabang yang relatif sedikit, berkisar antara 4–7 cabang. Buahnya berbentuk menyerupai granat dengan ukuran panjang antara 6–15 cm dan diameter 3–8 cm. Salah satu ciri khas buah carica adalah memiliki lima sudut memanjang dari pangkal hingga ujungnya. Meskipun memiliki aroma harum dan daging buah berwarna kuning pucat, carica tidak enak dikonsumsi secara langsung karena rasanya asam dan dapat menimbulkan rasa gatal di lidah. Oleh karena itu, carica lebih sering diolah menjadi produk pangan seperti manisan dan sirup untuk meningkatkan nilai ekonominya (Azizi et al., 2025).

Dari segi kandungan nutrisi, buah carica memiliki berbagai zat gizi yang bermanfaat bagi kesehatan. Kandungan energi dalam 100 gram buah carica sekitar 46 kkal, dengan komposisi protein 0 gram, lemak 0 gram, karbohidrat 12,2 gram, serta kadar air mencapai 86,7 gram. Selain itu, buah ini juga kaya akan mineral seperti kalsium (23 mg), fosfor (12 mg), dan zat besi (1,7 mg). Kandungan vitamin dalam carica cukup beragam, di antaranya vitamin A (365 mg), vitamin B1 (0,04 mg), dan vitamin C (78 mg). Berbagai zat gizi ini berkontribusi terhadap manfaat kesehatan buah carica, seperti meningkatkan kesehatan mata karena kandungan vitamin A, menjaga kesehatan kulit melalui peran vitamin C dan E, serta membantu metabolisme tubuh melalui vitamin B kompleks. Selain itu, buah carica juga mengandung enzim papain yang bermanfaat dalam menjaga keseimbangan pH lambung dan membunuh bakteri jahat dalam usus, serta mengandung zat agrinin yang berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker (Sugiyarto, A, 2021).

Selain daging buahnya, biji carica juga memiliki komposisi senyawa yang menarik dan bermanfaat secara farmakologis. Biji pepaya gunung termasuk dalam kategori limbah pertanian, namun memiliki kandungan senyawa aktif yang potensial untuk dikembangkan dalam bidang kesehatan dan farmasi. Beberapa senyawa bioaktif yang ditemukan dalam biji carica meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin, yang memiliki potensi sebagai antiproliferasi, antikanker, antioksidan, dan sitotoksik terhadap sel kanker. Dalam pengujian toksisitas menggunakan metode uji LC50 terhadap larva udang *Artemia salina* L, ekstrak alkaloid dari biji pepaya menunjukkan sifat toksik akut dengan nilai LC50 sebesar 410,875 µg/mL. Selain itu, biji carica juga memiliki kandungan asam lemak tak jenuh seperti asam palmitat dan asam oleat yang berperan dalam menjaga kesehatan tubuh, serta memiliki sifat antibakteri terhadap patogen seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, dan *Staphylococcus* (Azizi et al., 2025).

Dengan berbagai kandungan senyawa aktifnya, baik dalam buah maupun bijinya, carica memiliki potensi yang besar dalam bidang kesehatan dan industri pangan. Di samping manfaat nutrisinya, pengolahan carica menjadi produk olahan

bernilai tambah dapat meningkatkan daya saing komoditas ini, terutama bagi masyarakat yang tinggal di dataran tinggi. Dengan demikian, penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan senyawa aktif dalam carica masih sangat diperlukan untuk menggali potensi terapeutiknya lebih dalam, sekaligus mengembangkan inovasi dalam pemanfaatan limbah biji sebagai bahan baku farmasi dan suplemen kesehatan.

## 2.2 Radikal bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga bersifat tidak stabil dan sangat reaktif dalam mencari keseimbangan (Maharani *et al.*, 2021). Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat bersumber dari faktor endogen, seperti metabolisme seluler di mitokondria, peroksisom, dan retikulum endoplasma, serta faktor eksogen, seperti paparan polusi, asap rokok, alkohol, logam berat, pestisida, dan radiasi (Prasetyaningsih *et al.*, 2022). Akumulasi radikal bebas yang tidak terkendali dapat menyebabkan stres oksidatif, suatu kondisi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan tubuh.

Salah satu kelompok utama radikal bebas adalah Reactive Oxygen Species (ROS) dan Reactive Nitrogen Species (RNS). ROS terbentuk sebagai hasil sampingan metabolisme oksigen dan memiliki peran dalam berbagai reaksi biokimia tubuh. Namun, dalam jumlah berlebih, ROS dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada berbagai biomolekul, termasuk lipid, protein, karbohidrat, dan DNA, yang pada akhirnya dapat memicu penuaan dini serta berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes mellitus, dan penyakit kardiovaskular (Maharani *et al.*, 2021). Proses oksidatif ini melibatkan reaksi berantai yang terus berlanjut, di mana superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi salah satu bentuk radikal bebas paling dominan di dalam tubuh. Senyawa ini selanjutnya dikonversi menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan, jika tidak didegradasi lebih lanjut, dapat membentuk radikal hidroksil ( $*OH$ ) yang sangat reaktif dan mampu memicu peroksidasi lipid pada membran sel (Widiasriani *et al.*, 2024).

Untuk mencegah dampak merusak dari radikal bebas, tubuh memiliki sistem pertahanan antioksidan yang terdiri dari antioksidan enzimatik dan non-enzimatik. Antioksidan enzimatik meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx). Enzim SOD berperan dalam mengonversi superoksida menjadi hidrogen peroksida, yang selanjutnya didegradasi oleh katalase dan GPx menjadi air dan oksigen yang tidak berbahaya bagi tubuh (Prasetyaningsih *et al.*, 2022). Sementara itu, antioksidan non-enzimatik, seperti asam askorbat (vitamin C), alfa tokoferol (vitamin E), dan flavonoid yang berasal dari tumbuhan, bekerja dengan cara menyumbangkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas sehingga mencegah reaksi oksidatif lebih lanjut (Widiasriani *et al.*, 2024).

Flavonoid, sebagai salah satu antioksidan alami, memiliki kemampuan menstabilkan ROS dengan menghambat pembentukan radikal hidroksil dan mencegah stres oksidatif. Senyawa ini ditemukan dalam berbagai jenis tumbuhan dan memiliki peran penting dalam melindungi tubuh dari penyakit degeneratif. Flavonoid bekerja dengan cara mengaktifkan jalur sinyal enzim endogen seperti SOD, CAT, dan GPx agar produksi radikal bebas dapat dikontrol (Widiasriani *et al.*, 2024). Selain itu, flavonoid dapat menetralkan radikal bebas secara langsung dengan menyumbangkan atom hidrogen, menjadikan radikal tersebut lebih stabil dan tidak reaktif. Struktur kimia flavonoid, terutama gugus hidroksilnya, berperan dalam efektivitas penangkapan radikal bebas, dengan cincin B menjadi bagian paling dominan dalam menetralkan radikal anion superoksida (Widiasriani *et al.*, 2024).

Ketidakeimbangan antara produksi radikal bebas dan kapasitas antioksidan tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif yang berdampak buruk bagi kesehatan. Oleh karena itu, konsumsi makanan yang kaya antioksidan alami, seperti buah-buahan, sayuran, dan suplemen flavonoid, menjadi strategi penting dalam melawan efek merusak radikal bebas. Dengan pemahaman yang lebih mendalam tentang mekanisme kerja radikal bebas dan antioksidan, langkah-

langkah preventif dan terapi berbasis antioksidan dapat terus dikembangkan untuk mengurangi risiko penyakit degeneratif akibat stres oksidatif.

### **2.3 Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal radikal bebas dengan menyumbangkan elektron atau atom hidrogen, sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai oksidatif dalam tubuh (Ibroham *et al.*, 2022). Dalam tubuh, beberapa antioksidan alami yang diproduksi mencakup glutathione, ubiquinol, dan asam urat, sedangkan antioksidan eksogen dapat diperoleh dari makanan, terutama dari tumbuhan. Antioksidan utama dalam makanan meliputi vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol), vitamin C (asam askorbat), dan  $\beta$ -karoten. Selain itu, tumbuhan juga mengandung senyawa antioksidan lain seperti flavonoid, fenolik, dan asam organik yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Ibroham *et al.*, 2022). Senyawa ini berperan dalam mengurangi kerusakan sel akibat stres oksidatif serta melindungi protein dan lemak dari degradasi akibat radikal bebas.

Secara keseluruhan, antioksidan memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan oksidatif dalam tubuh serta mencegah berbagai penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif. Senyawa antioksidan yang berasal dari tumbuhan dapat menjadi sumber utama dalam menangkal radikal bebas, sehingga konsumsi makanan yang kaya akan antioksidan sangat disarankan untuk menjaga kesehatan seluler dan mengurangi risiko penyakit degeneratif.

### **2.4 Ekstraksi Refluks**

Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut pada suhu titik didihnya dalam jangka waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Prinsip utama dari ekstraksi refluks adalah penggunaan sistem pendingin balik (kondensor) untuk mengembalikan pelarut yang menguap agar tetap berada dalam sistem ekstraksi. Metode ini memungkinkan pelarut tetap segar dan dapat digunakan secara kontinu untuk mengekstrak senyawa dari bahan yang diekstraksi (Hasbi, 2024). Ekstraksi refluks sering digunakan dalam sintesis senyawa volatil, karena tanpa kondensasi, pelarut

akan menguap sebelum reaksi selesai (Astmaiyi *et al.*, 2023). Proses ekstraksi ini terdiri dari tiga tahap utama, yaitu kontak antara pelarut dengan sampel melalui difusi, pemisahan zat terlarut dari sampel ke dalam pelarut, dan pemisahan fase ekstrak dengan sampel.

Salah satu kelebihan utama dari metode ekstraksi refluks adalah kemampuannya untuk mengekstrak sampel dengan tekstur kasar dan ketahanan terhadap pemanasan langsung, seperti akar, biji, dan batang (Hasbi, 2024). Hal ini menjadikan metode ini lebih efektif untuk mengekstrak senyawa dari bahan tanaman yang memiliki struktur keras dibandingkan metode ekstraksi lainnya. Selain itu, metode ini juga memastikan pelarut tetap berada dalam sistem ekstraksi, sehingga mengurangi kehilangan pelarut akibat penguapan dan meningkatkan efisiensi ekstraksi (Astmaiyi *et al.*, 2023).

Variasi jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi refluks memiliki pengaruh yang signifikan terhadap efisiensi dan hasil ekstraksi. Pemilihan pelarut juga didasarkan pada sifat kelarutan senyawa target, di mana pelarut polar lebih efektif untuk mengekstrak senyawa polar, sementara pelarut non-polar lebih baik digunakan untuk mengekstrak senyawa non-polar. Oleh karena itu, dalam praktiknya, pemilihan pelarut harus mempertimbangkan sifat kimia bahan yang diekstrak agar dapat mencapai hasil yang optimal. Senyawa bioaktif seperti fenol, flavonoid, dan tanin tersebut cenderung bersifat polar hingga semi polar sehingga dalam proses ekstraksi digunakan pelarut semi polar hingga polar (Padmawati *et al.*, 2020). Salah satu pelarut polar yang biasa digunakan dalam proses ekstraksi yaitu air. Air memiliki rumus kimia  $H_2O$ . Satu molekul air tersusun atas dua atom hidrogen yang terikat secara kovalen pada satu atom oksigen. Air bersifat tidak berwarna, tidak berasa dan tidak berbau pada kondisi standar, yaitu pada tekanan 100 kPa (1 bar) dan temperatur 273,15 K (0 °C). Zat kimia ini merupakan suatu pelarut yang penting, yang memiliki kemampuan untuk melarutkan banyak zat kimia lainnya, seperti garam-garam, gula, asam, beberapa jenis gas dan banyak macam molekul organik (Melani *et al.*, 2022).

Air sering disebut sebagai pelarut universal karena air melarutkan banyak zat kimia. Air berada dalam kesetimbangan dinamis antara fase cair dan padat di bawah tekanan dan temperatur standar. Dalam bentuk ion, air dapat dideskripsikan sebagai sebuah ion hidrogen ( $H^+$ ) yang berasosiasi (berikatan) dengan sebuah ion hidroksida ( $OH^-$ ) (Melani *et al.*, 2022). Air memiliki sifat paling polar dan digunakan dalam ekstraksi berbagai senyawa polar. Kelebihan pelarut air yakni mampu melarutkan berbagai macam zat, harganya murah, tidak beracun, tidak mudah terbakar, dan sangat polar. Dari hasil pengujian yang dilakukan oleh (Febryanto Ginting *et al.*, 2015) air dapat mengekstrak kandungan total fenolik dari sampel dengan baik. Selain itu berdasarkan pengujian yang dilakukan oleh (Yura *et al.*, 2016) terhadap aktivitas antioksidan dengan metode uji DPPH daun ubi kayu menggunakan pelarut air menunjukkan hasil terbaik yaitu sebesar 22,92%.

Dengan mempertimbangkan prinsip dasar, keunggulan, dan pengaruh variasi pelarut, ekstraksi refluks merupakan metode yang efektif untuk mengekstrak senyawa dari bahan tanaman dengan struktur keras. Namun, dalam aplikasinya, perlu dipertimbangkan aspek efisiensi penggunaan pelarut dan potensi dampak toksik dari pelarut organik yang digunakan.

## **2.5 Asam Askorbat**

Asam askorbat, yang lebih dikenal sebagai vitamin C, merupakan senyawa yang memiliki peran penting dalam berbagai aspek biologis dan kimiawi, termasuk sebagai antioksidan kuat serta pelarut dalam penelitian ekstraksi. Sebagai antioksidan, asam askorbat mampu menyumbangkan elektron untuk menangkal radikal bebas, sehingga dapat menghambat proses oksidasi yang merusak sel-sel tubuh (Evelyna *et al.*, 2020). Efek ini menjadikannya sebagai salah satu bahan pembanding dalam studi aktivitas antioksidan, terutama dalam metode seperti DPPH, ABTS, dan NO yang mengukur kemampuan senyawa dalam menetralkan radikal bebas (Suwardi & Ranggaini, 2022). Dalam studi ini, asam askorbat digunakan sebagai standar pembanding untuk mengukur efektivitas

ekstrak tanaman dalam aktivitas antioksidan, mengingat sifatnya yang telah terbukti efektif dalam reaksi reduksi radikal.

Selain sebagai antioksidan, asam askorbat juga memiliki peran dalam melarutkan kitosan, sebagaimana dijelaskan oleh Angela Evelyn *et al.* (2020). Kemampuannya untuk melarutkan kitosan dengan baik tanpa mengurangi aktivitas antibakteri dan antifungi dari kitosan itu sendiri menunjukkan potensi penggunaan asam askorbat sebagai alternatif pelarut yang biokompatibel. Keunggulan ini terutama penting dalam aplikasi medis dan farmasi, karena asam askorbat tidak bersifat toksik serta dapat mendukung regenerasi jaringan, seperti yang diamati dalam penelitian terkait penggunaannya dalam rongga mulut.

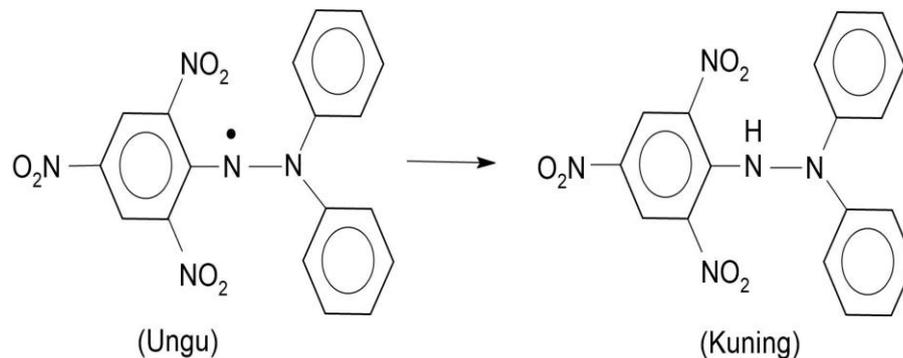
Dalam konteks bioavailabilitas dan stabilitas, penelitian yang dilakukan oleh (Fauzan & Sandra, 2024) menyoroti pentingnya asam askorbat sebagai nutrisi esensial yang tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia. Kekurangan senyawa ini dapat menyebabkan penyakit seperti skurvi, yang menunjukkan pentingnya konsumsi rutin melalui makanan atau suplemen. Selain itu, studi ini juga menyoroti permasalahan penurunan kadar asam askorbat dalam buah pepaya selama proses distribusi, yang menunjukkan sensitivitas senyawa ini terhadap faktor lingkungan seperti oksidasi dan penyimpanan.

Dengan demikian, dalam penelitian yang membandingkan efektivitas senyawa sebagai antioksidan atau pelarut, asam askorbat sering digunakan sebagai kontrol positif karena sifatnya yang telah banyak diuji dan diakui. Perannya sebagai pembanding dalam penelitian ekstraksi dan uji aktivitas antioksidan memberikan dasar ilmiah yang kuat dalam mengevaluasi senyawa baru. Hal ini sejalan dengan temuan bahwa asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi serta sifat larut air yang memungkinkan penggunaannya dalam berbagai metode ekstraksi dan analisis biokimia (Suwardi & Ranggaini, 2022). Oleh karena itu, asam askorbat tidak hanya berfungsi sebagai senyawa uji tetapi juga sebagai standar emas dalam berbagai penelitian yang berhubungan dengan sifat antioksidan dan pelarutannya terhadap berbagai senyawa biologis.

## 2.6 Metode Pengujian Antioksidan DPPH

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* (Kesuma, 2015). Metode DPPH merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan dalam menilai aktivitas antioksidan. Prinsip dasar dari uji ini adalah kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi radikal bebas DPPH. Radikal DPPH merupakan senyawa stabil yang memiliki elektron tidak berpasangan pada atom nitrogen, sehingga memiliki warna ungu gelap. Ketika DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan yang mendonorkan atom hidrogen, ia mengalami reduksi menjadi difenil pikril hidrazin (DPPH-H) yang berwarna kuning (Afrina Kartika Putri, 2022).

Metode DPPH merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan dalam menilai aktivitas antioksidan. Prinsip dasar dari uji ini adalah kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi radikal bebas DPPH. Radikal DPPH merupakan senyawa stabil yang memiliki elektron tidak berpasangan pada atom nitrogen, sehingga memiliki warna ungu gelap. Ketika DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan yang mendonorkan atom hidrogen, ia mengalami reduksi menjadi difenil pikril hidrazin (DPPH-H) yang berwarna kuning (Afrina Kartika Putri, 2022). Penurunan intensitas warna diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, yang mencerminkan efektivitas senyawa antioksidan dalam menangkal radikal bebas.



Gambar 2. 2 Reaksi DPPH

Prosedur pengujian dengan metode DPPH dimulai dengan pembuatan larutan DPPH dalam metanol. Sampel ekstrak diuji dalam berbagai konsentrasi dan dicampurkan dengan larutan DPPH, lalu diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu ruang selama 30 menit. Perubahan warna akibat reduksi DPPH diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai persen inhibisi (% inhibisi) dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Dimana absorbansi blanko adalah absorbansi larutan DPPH tanpa sampel, sedangkan absorbansi sampel adalah absorbansi larutan DPPH yang telah bereaksi dengan antioksidan (Suwardi & Ranggaini, 2022). Nilai IC<sub>50</sub> (Inhibition Concentration 50%) dihitung sebagai konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub>, semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa. Reaksi yang terjadi dalam metode DPPH melibatkan penangkapan radikal oleh antioksidan, yang dapat digambarkan sebagai berikut:



Dimana:

- DPPH $\cdot$  adalah radikal bebas DPPH.
- AH adalah senyawa antioksidan yang mendonorkan hidrogen

- DPPH-H adalah bentuk tereduksi dari DPPH.
- A· adalah radikal hasil dari antioksidan yang telah mendonorkan hidrogen.

Dalam proses ini, DPPH mengalami reduksi dari bentuk radikal menjadi bentuk non-radikal yang tidak berwarna, sehingga terjadi perubahan absorbansi yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis.

Metode DPPH merupakan salah satu metode yang banyak digunakan dalam penilaian aktivitas antioksidan. Dengan spektrofotometri UV-Vis, perubahan warna akibat reaksi reduksi DPPH dapat diukur secara akurat. Perhitungan IC50 memberikan gambaran kuantitatif terhadap efektivitas antioksidan dalam menetralkan radikal bebas.