

PENGARUH PROSES FERMENTASI AEROB DAN ANAEROB TERHADAP KADAR FLAVONOID DAN STEROID PADA DAUN SUKUN HIJAU (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) YANG DIFERMENTASI

Hesti Riasari¹, Wiwin Winingsih², Sri Gustini Husein², Nela Simanjuntak^{3*}

¹Departmen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung, Jawa Barat, Indonesia.

²Departmen Farmakokimia, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung, Jawa Barat, Indonesia.

³Departemen Farmakologi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung, Jawa Barat, Indonesia.

*Penulis Korespondensi: nelasimanjuntak89@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh proses fermentasi aerobik dan anaerobik terhadap kadar flavonoid dan steroid pada daun sukun hijau (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) yang difermentasi. Evaluasi dilakukan pada hari ke-5 dan ke-10 fermentasi untuk masing-masing kondisi. Hasil menunjukkan bahwa pada hari ke-5, kadar flavonoid mencapai 0,729 mg/g dalam kondisi aerobik dan 0,825 mg/g dalam kondisi anaerobik. Namun, pada hari ke-10, kadar flavonoid menurun menjadi 0,605 mg/g (aerobik) dan 0,664 mg/g (anaerobik). Sementara itu, kadar steroid pada hari ke-5 tercatat sebesar 11,425 mg/g (aerobik) dan 10,549 mg/g (anaerobik). Setelah 10 hari, kadar steroid sedikit menurun menjadi 10,861 mg/g (aerobik) dan 10,125 mg/g (anaerobik). Temuan ini menunjukkan bahwa baik durasi maupun jenis fermentasi berpengaruh signifikan terhadap kadar flavonoid dan steroid dalam daun sukun yang difermentasi.

Kata Kunci: Sukun, Fermentasi anaerobik, Fermentasi aerobik, Total flavonoid, Kandungan steroid.

ABSTRACT

This study investigates the impact of aerobic and anaerobic fermentation processes on flavonoid and steroid levels in green breadfruit (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) fermented leaves. The research evaluated flavonoid and steroid content after fermentation periods of 5 days and 10 days under both aerobic and anaerobic conditions. Results showed that after 5 days of fermentation, the flavonoid content was 0.729 under aerobic conditions and 0.825 under anaerobic conditions. Additionally, after 10 days of fermentation, the flavonoid content decreased to 0.605 under aerobic conditions and 0.664 under anaerobic conditions. Regarding steroid content, after 5 days of fermentation, aerobic conditions yielded 11.425 while anaerobic conditions produced 10.549. After 10 days, aerobic fermentation resulted in 10.861, whereas anaerobic fermentation resulted in 10.125. These findings suggest that both the duration and the type of fermentation process significantly influence the levels of flavonoids and steroids in fermented breadfruit leaves.

Keywords: Breadfruit, Anaerobic Fermentation, Aerobic fermentation, Flavonoid total content, Steroid content.

PENDAHULUAN

Penelitian (Hakim, 2010) pada tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) telah mengidentifikasi keberadaan berbagai senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpena, dan glikosida. Secara umum, metabolit sekunder yang diisolasi dari genus *Artocarpus* meliputi terpenoid, flavonoid, stilbenoid, arilbenzofuran, dan neolignane, senyawa-senyawa tersebut merupakan kelompok senyawa yang paling umum ditemukan dalam genus *Artocarpus* (Dias *et al.*, 2021). Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik terbesar yang ditemukan secara alami, dan dikenal sebagai pigmen penyusun warna merah, ungu, biru, serta beberapa pigmen kuning pada tumbuhan. Secara struktural, flavonoid memiliki kerangka karbon dasar yang terdiri atas 15 atom karbon, tersusun dalam dua cincin aromatik (C6) yang dihubungkan oleh rantai propana (C3), membentuk kerangka dasar C6-C3-C6. Struktur ini menghasilkan tiga tipe utama, salah satunya adalah 1,3-diarilpropana atau neoflavonoid. Keanekaragaman flavonoid ditentukan oleh variasi tingkat oksidasi pada rantai propana tersebut. Jenis flavonoid yang umum meliputi

flavon, flavonol, dan antosianidin, yang dikenal sebagai flavonoid utama karena prevalensinya di alam. Variasi struktur flavonoid dihasilkan dari perbedaan tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi (Panche *et al.*, 2016).

Selain flavonoid, senyawa steroid juga telah diidentifikasi pada daun sukun kering yang gugur, salah satunya adalah sitostenon (Cheng *et al.*, 2015). Senyawa ini merupakan hasil biosintesis melalui jalur mevalonat dengan prekursor skualena. Proses biosintesis ini melibatkan siklisasi gugus prenil pada cincin D untuk membentuk 2,3-oksidoskualena, yang kemudian menjadi titik percabangan dalam jalur biosintesis isoprenoid, baik menuju pembentukan fitosterol maupun triterpen (Cheng *et al.*, 2015). Proses siklisasi oksidoskualena inilah yang menghasilkan senyawa triterpenoid dan fitosterol, termasuk sitostenon (Xue *et al.*, 2018; Padyana *et al.*, 2019; Sagatoya *et al.*, 2021). Daun sukun (*Artocarpus altilis*) diketahui mengandung beragam metabolit sekunder yang berpotensi sebagai agen terapeutik, termasuk flavonoid dan steroid. Namun, kandungan dan aktivitas biologis senyawa-senyawa ini sangat dipengaruhi oleh proses pascapanen, termasuk

fermentasi. Proses biosintesis dan transformasi metabolit yang terjadi selama fermentasi tidak hanya memengaruhi kadar, tetapi juga komposisi kimia dan sifat fisik daun, seperti perubahan warna dari hijau menjadi kuning. Perubahan ini menandakan transformasi senyawa aktif yang penting untuk diteliti lebih lanjut.

Fermentasi daun sukun dilakukan dengan menumpuk daun selama lima hari setelah pencucian, memungkinkan aktivitas mikroorganisme dan enzim endogenik mengubah senyawa asli menjadi bentuk baru yang berpotensi lebih aktif secara farmakologis. Penelitian Riasari et al. (2015) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sukun terfermentasi kepada tikus Wistar jantan menghasilkan aktivitas antiinflamasi signifikan, dengan tingkat penghambatan sebesar 71,82%. Angka ini secara jelas lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun yang hanya dikeringkan tanpa proses fermentasi. Selain itu, analisis HPLC yang dilakukan dalam studi yang sama menunjukkan peningkatan kadar senyawa aktif pada daun terfermentasi, ditunjukkan oleh nilai *Area Under Curve* (AUC) tertinggi sebesar 8,72 pada waktu retensi 13 menit. Temuan ini

menunjukkan bahwa proses fermentasi mampu meningkatkan kandungan senyawa tertentu yang diduga berkontribusi pada aktivitas biologisnya. Oleh karena itu, pengujian kuantitatif terhadap metabolit sekunder seperti flavonoid dan steroid pada daun sukun hasil fermentasi menjadi langkah penting untuk mengevaluasi dan memvalidasi potensi farmakologisnya, khususnya sebagai agen antiinflamasi. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah terhadap pengembangan bahan alam sebagai sumber obat herbal yang lebih efektif melalui pendekatan bioproses seperti fermentasi.

METODE PENELITIAN

Bahan Tanaman

Daun sukun hijau segar *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg diperoleh dari Kecamatan Batununggal, Bandung. Penentuan jumlah simplisia dilakukan di Laboratorium Herbarium Taksonomi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Bandung. Pembuatan Simplisia dilakukan dengan metode *aerobik dan anaerobik*. Delapan puluh lembar daun dikumpulkan dan dibersihkan dengan air kemudian

ditiriskan, daun dibagi menjadi dua kelompok: metode proses fermentasi *aerobik dan anaerobik*. Fermentasi aerobik dilakukan dengan menyimpan 40 lembar daun selama 5 hari dan 10 hari di ruangan yang masih ada udara dan cahaya, daun diambil dari tumpukan 2 sampai tumpukan 39. Sedangkan fermentasi anaerobik disimpan 40 lembar daun ke dalam wadah plastik kedap udara selama 5 hari dan 10 hari, daun yang diambil dari fermentasi adalah tumpukan ke-2 sampai ke-39. Setelah kedua metode selesai daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi mutu simplisia meliputi penentuan kadar abu total (Jayani dan Handojo, 2018; Saifudin *et al.*, 2011), kadar ekstrak yang larut dalam air, kadar etanol yang larut, susut pengeringan, dan kadar air. Metode yang digunakan sesuai dengan metode yang ditetapkan oleh Ditjen POM, 2000.

Skrining Fitokimia

Semua sampel dianalisis menggunakan reagen amil alkohol untuk mendeteksi senyawa flavonoid (Fachriyah *et al.*, 2023), FeCl_3 10%

untuk mendeteksi senyawa fenolik (Lusiana, 2015), reagen gelatin untuk mendeteksi tannin (Nurulafifah, 2017), reagen Dragendorff dan Mayer untuk mendeteksi alkaloid (Nurhasanah, 2005; Wagner *et al.*, 1986). Gugus kuinon dapat diidentifikasi menggunakan reagen KOH 5% (Sheel *et al.*, 2014). Metabolit sekunder steroid dan triterpenoid dapat diidentifikasi menggunakan reagen Lieberman-Buchard, sedangkan senyawa volatil pada subkelompok monoterpena dan seskuiterpenoid dapat diidentifikasi menggunakan reagen vanilin sulfat (vanilin 10% dalam H_2SO_4) (Esmaeili *et al.*, 2011; Ayala *et al.*, 2014; Rai *et al.*, 2023). Selain itu, saponin, jenis metabolit sekunder lain, ditentukan dengan mengamati buih yang terus menerus setelah mengocok ekstrak air selama 10 menit (Dashora *et al.*, 2022; Harbone, 1998).

Ekstraksi

Serbuk simplisia (600 g, dari daun sukun hijau yang difermentasi secara aerasi dan anaerobik yang telah dikeringkan), kurang lebih 300 g, serbuk diekstraksi dengan metode maserasi, simplisia dimasukkan ke dalam wadah tertutup yang ditambahkan pelarut etanol

96% 1:10, selama 3x24 jam dengan penggantian pelarut sebanyak 3 kali. Ekstrak cair disimpan setiap hari selama 3 hari dengan mengganti pelarut. Kemudian ekstrak cair diuapkan dengan rotary vaporator sehingga diperoleh ekstrak yang kental.

Penetapan Kadar Flavonoid dari Gugus Flavonol

Ekstrak daun sukun sebanyak 200 mg yang telah difermentasi selama 5 dan 10 hari dilarutkan dalam metanol 96% hingga volume 100 ml sehingga konsentrasi ekstrak menjadi 20 ppm kemudian dikalikan 10 ml larutan ekstrak ditambah 1 ml $AlCl_3$ 10% dan 1 ml asam asetat 5%. kemudian diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu dilakukan penentuan serapan, kemudian dilakukan perhitungan keseimbangan flavonoid.

Penentuan Kadar Steroid

Pengukuran kadar steroid total menggunakan spektrofotometer visible. Prosedur pertama yang dilakukan adalah membuat larutan seri sitosterol pada konsentrasi 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 12,5 ppm, dan 15 ppm dari larutan stok 1000 ppm. Pelarut yang digunakan adalah metanol kemudian ditambahkan $FeCl_3$, Kalium Heksa Sianoferat sebagai

pemberi warna pada Spektrofotometri Sinar Tampak dan asam sulfat 4N untuk menghidrolisis senyawa dari larutan pada pengukuran yang dilakukan pada panjang gelombang 720 nm. Sebelum pengukuran, sitosterol dioptimasi terlebih dahulu. Hasil optimasi pada panjang gelombang sitosterol sebesar 731 nm (Vellur *et al.*, 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tumbuhan

Penetapan taksonomi tanaman sukun dilakukan di "Herbarium Jatinangor", Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA UNPAD, Nomor Penetapan: 40/Hb/01/2024. Tumbuhan yang digunakan adalah *Artocarpus altilis* (Parkinson ex F.A.Zorn) Fosberg dari Famili Moraceae.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui syarat mutu simplisia yang akan diolah menjadi bahan obat, metode yang dilakukan untuk menentukan karakterisasi simplisia yaitu kadar abu, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut etanol dan susut pengeringan.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Daun Sukun Hijau Fermentasi

Karakterisasi Simplisia			Fermentasi Aerob		Fermentasi Anaerob		Riasari <i>et al.</i> , 2019		FHI, 2017
			F5	F10	F5	F10	Aerob	Anaerob	
Kadar Abu (%)		Total	5	5,5	2,5	5,5	13,5	20,5	<5,6
Kadar Sari Etanol (%)		Larut	18	18	20	17	12,0	13,0	>8,6
Kadar Sari Air (%)		Larut	25	35	33	20	18,0	23,0	>5,3
Susut Pengerinan(%)			7,5	8,5	6,2	7,9	12,2	12,2	<10

Berdasarkan Tabel 1 hasil karakterisasi simplisia daun sukun yang difermentasi baik secara aerob maupun anaerob terstandar baik dibandingkan dengan (FHI, 2017). Total kadar abu pada daun sukun yang difermentasi secara anaerobik dengan lama fermentasi 5 hari lebih kecil dibandingkan dengan metode yang lain yang menunjukkan gambaran kandungan mineral, dimana pada proses fermentasi anaerobik terjadi proses biosintesis yang mengubah mineral organik yaitu mineral kalsium yang terdapat pada daun menjadi air yang lebih efektif pada proses fotolisis, dimana pada proses ini terjadi oksidasi air yang dikatalisis oleh fotosistem II dengan proses redoks -aktivasi yang pada proses tersebut mengandung empat ion mangan dan ion kalsium, sehingga terbentuk kompleks perubahan oksigen yang akan mengikat molekul-molekul air yang akan berkontribusi terhadap

potensi terjadinya kemiosmosis transmembran yang akan mengakibatkan terjadinya sintesis ATP (Wiraatmaja, 2017). Kadar ekstrak larut air dan kadar ekstrak larut etanol yang melebihi standar (FHI, 2017) menunjukkan bahwa metabolit sekunder dalam daun sukun hasil fermentasi dapat dengan mudah terekstraksi oleh pelarut polar, sehingga meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Metode fermentasi aerobik dan anaerobik yang telah divalidasi masing-masing dengan durasi fermentasi selama 5 dan 10 hari, menunjukkan bahwa parameter kadar abu dan susut pengeringan hasilnya lebih mendekati nilai standar mutu simplisia sesuai Farmakope Herbal Indonesia, yang mengindikasikan kualitas simplisia yang baik pasca proses fermentasi.

Penapisan Fitokimia

Proses skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui gambaran metabolit sekunder yang diminati selama proses ekstraksi, ditandai secara kualitatif dengan adanya perubahan warna setelah penambahan reagen yang sesuai dengan metabolit sekunder tersebut. Pada proses fermentasi aerobik

dan anaerobik daun sukun dengan variasi waktu, untuk melihat perubahan metabolit sekunder dapat dilihat dari proses perubahan warna hasil reaksi reagen selama skrining fitokimia, ditandai dengan adanya gradasi warna yang terbentuk, hasil proses reaksi skrining dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Daun Sukun Hijau Fermentasi

Metabolit Sekunder	Fermentasi Aerob		Fermentasi Anaerob	
	F5	F10	F5	F10
Alkaloid	+	+	-	-
Flavonoid	++	+	+++	++
Fenolat	++	+	+++	+
Tanin	+	+	+	+
Monoterpen and sesquiterpen	-	-	-	-
Steroid	+	+	+	+
Quinon	-	-	+	+
Saponin	+	-	-	-

Keterangan: (-) Tidak terdeteksi/ tidak ada reaksi warna. (+) Intensitas warna samar/kandungan rendah. (++) Intensitas warna jelas/ kandungan sedang. (+++) Intensitas warna sangat kuat /kandungan tinggi.

Profil kandungan metabolit sekunder daun sukun hasil fermentasi menunjukkan variasi yang signifikan berdasarkan jenis fermentasi (aerob dan anaerob) serta lama waktu fermentasi (5 hari dan 10 hari). Uji fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan fenolat paling banyak ditemukan pada daun sukun yang difermentasi secara anaerob selama 5 hari, ditandai dengan intensitas (+++) yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi tanpa

oksigen pada fermentasi anaerob dapat meningkatkan produksi atau pelepasan senyawa antioksidan tersebut dalam waktu fermentasi yang optimal. Namun, perpanjangan waktu fermentasi hingga 10 hari menyebabkan penurunan intensitas, yang diduga akibat degradasi senyawa aktif oleh aktivitas mikroorganisme atau perubahan pH lingkungan fermentasi. Senyawa alkaloid hanya terdeteksi pada fermentasi aerob (baik pada hari ke-5 maupun ke-10), tetapi tidak ditemukan

pada fermentasi anaerob. Hal ini mengindikasikan bahwa keberadaan oksigen mungkin dibutuhkan untuk kestabilan atau biosintesis senyawa alkaloid dalam daun sukun. Senyawa tanin dan steroid menunjukkan kestabilan yang tinggi, karena tetap terdeteksi pada semua jenis dan lama fermentasi, menandakan ketahanan senyawa ini terhadap variasi lingkungan fermentasi. Sementara itu, senyawa monoterpen dan seskuiterpen tidak terdeteksi pada seluruh perlakuan, yang kemungkinan disebabkan oleh sifat volatil dari senyawa ini sehingga mudah menguap selama proses fermentasi atau pemanasan saat ekstraksi.

Quinon muncul secara spesifik pada fermentasi anaerob, baik pada hari ke-5 maupun ke-10, namun tidak terdeteksi pada kondisi aerob. Hal ini mengindikasikan bahwa kondisi anaerob

mungkin mendukung biosintesis atau stabilitas senyawa ini, yang diketahui memiliki potensi aktivitas antimikroba. Sebaliknya, saponin hanya terdeteksi pada fermentasi aerob F5 dan menghilang pada fermentasi lebih lama dan pada kondisi anaerob, mengindikasikan ketidakstabilannya terhadap durasi fermentasi maupun kondisi tanpa oksigen. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa fermentasi, terutama dalam kondisi anaerob selama 5 hari, berperan penting dalam optimalisasi kandungan metabolit sekunder.

Ekstraksi

Rendemen ekstrak yang dihasilkan berbeda-beda untuk setiap metode yang digunakan, rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak dari Daun Sukun yang Difermentasi

Waktu Fermentasi	Metode Fermentasi	Rendemen (%)
5 Hari	Fermentasi Aerob (AE F5)	7,31
	Fermentasi Anaerob (AN F5)	11,91
10 Hari	Fermentasi Aerob (AE F10)	8,18
	Fer,entasi Anaerob (AN F10)	10,75

Penelitian Riasari *et al*, 2022 menunjukkan metode fermentasi anaerob memiliki rendemen yang tinggi dengan metode ekstraksi maserasi

maupun soxhletasi dengan berbagai kepolaran pelarut yaitu sebesar 7,75% untuk ekstraksi menggunakan Soxhlet dan 4,40 % menggunakan maserasi.

Fermentasi anaerob selama 5 hari terbukti optimal dalam meningkatkan pelepasan metabolit sekunder, karena kondisi tanpa oksigen menekan reaksi oksidatif yang dapat merusak senyawa bioaktif. Sebaliknya, fermentasi aerob menunjukkan tren peningkatan rendemen seiring bertambahnya waktu fermentasi, yang kemungkinan disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme aerob dalam memecah struktur jaringan tanaman secara bertahap. Optimalisasi durasi fermentasi memperlihatkan bahwa waktu fermentasi memengaruhi efisiensi ekstraksi secara signifikan. Pada fermentasi anaerob, rendemen tertinggi dicapai dalam waktu 5 hari, sedangkan perpanjangan waktu hingga 10 hari menyebabkan penurunan rendemen, diduga akibat degradasi lanjutan senyawa aktif oleh aktivitas mikroba. Sebaliknya, fermentasi aerob memerlukan waktu lebih panjang untuk menghasilkan rendemen optimal karena proses biokonversi yang berlangsung lebih lambat dalam kondisi oksigen.

Rendemen yang tinggi menjadi indikator penting dalam efektivitas proses ekstraksi metabolit sekunder. Kombinasi fermentasi anaerob dan metode Soxhlet terbukti memberikan

hasil terbaik karena pelarut panas dalam sistem tertutup mampu mengekstraksi senyawa aktif secara maksimal (Riasari, 2022). Hasil ini mengindikasikan bahwa fermentasi sebagai pra-perlakuan memiliki potensi besar dalam meningkatkan mutu dan kuantitas ekstrak bahan alam, khususnya dalam pengembangan obat herbal berbasis daun sukun.

Penentuan Kadar Flavonoid dari Kelompok Flavonol

Berdasarkan hasil perhitungan data didapatkan bahwa % total kadar flavonoid tertinggi yang terdapat pada ekstrak metanol daun sukun hijau fermentasi adalah AN F5 (0,825%) dan kadar flavonoid terendah adalah AE F10 (0,605%). Daun sukun hijau fermentasi AE F10 memiliki kadar terendah, hal ini berarti proses fermentasi yang semakin lama dapat menyebabkan terjadinya perubahan kadar senyawa pada daun sukun hijau fermentasi. Selama proses fermentasi, komponen ini akan berubah posisi -OH-nya dari orto atau para menjadi meta. Perubahan ini ternyata mengakibatkan terjadinya penurunan kadar flavonoid. Perubahan ini ternyata mengakibatkan terjadinya penurunan kadar polifenol. Fermentasi pada daun

sukun bukanlah fermentasi oleh khamir melainkan proses oksidasi oleh enzim polifenoloksidase yang terdapat pada daun sukun itu sendiri (Murray *et al.*, 2022). Setelah didapatkan kadar total flavonoid, selanjutnya dilakukan uji statistik untuk mengetahui kebermaknaan kadar tersebut. Data penelitian dianalisis dengan

menggunakan uji t berpasangan. Apabila diperoleh nilai t tabel sebesar 4,30 maka data tersebut bermakna. Pada uji t-berpasangan, hasil t-hitung dinyatakan tidak signifikan karena kandungan flavonol dalam sayur fermentasi kecil sehingga hasil t-hitung tidak sesuai dengan t-tabel (Miller, 2005).

Tabel 4. Hasil Kadar Total Flavonoid Setelah Proses Fermentasi

Waktu Fermentasi	Metode Fermentasi	% Kadar Flavonoid
5 Hari	Fermentasi Aerob (AE F5)	0,729
	Fermentasi Anaerob (AN F5)	0,825
10 Hari	Fermentasi Aerob (AE F10)	0,605
	Fermentasi Anaerob (AN F10)	0,664

Penentuan Kadar Steroid

Hasil fermentasi selama 5 hari dengan metode fermentasi aerobik menunjukkan presentase kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan waktu fermentasi 10 hari, hal ini terjadi ketika proses biosintesis steroid mengalami 5 tahapan proses pembentukan. Pada tahapan ke 4 yaitu tahapan dehidrogenasi dimana terjadi pembentukan diena yang menyebabkan hilangnya dua proton ekstra melalui suatu proses yang membutuhkan oksigen (Tay *et al.*, 2022),

pada proses fermentasi aerobik terjadi proses biosintesis yang dibantu oleh oksigen dan diaktifkan oleh enzim sehingga kadar senyawa steroid lebih tinggi dibandingkan dengan proses fermentasi anaerobik dimana tidak ada oksigen sama sekali selama proses biosintesis sehingga pada tahapan ke 4 pada proses biosintesis steroid (Shell *et al.*, 2015), namun apabila waktu proses biosintesis semakin lama maka terjadi penurunan kadar steroid dimana terjadi pelepasan.

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar Steroid Setelah Proses Fermentasi

Waktu Fermentasi	Metode Fermentasi	Kadar Steroid (%)
5 Hari	Fermentasi Aerob (AE F5)	11,425
	Fermentasi Anaerob (AN F5)	10,549
10 Hari	Fermentasi Aerob (AE F10)	10,861
	Fermentasi Anaerob (AN F10)	10,125

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa baik durasi maupun jenis fermentasi berpengaruh signifikan terhadap kadar flavonoid dan steroid dalam daun sukun yang difermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

Ayala, A., Muñoz, M. F., and Argüelles, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 2014, 360438.

Aziz, S., Viesa, R., Teruna, dan Yuda, H. 2011, *Standardisasi Bahan Obat Alam*, Edisi Pertama. Graha Ilmu, Yogyakarta.

Cheng, S., and Sliva, D. *Ganoderma lucidum* for cancer treatment: we are close but still not there. *Integrative Cancer Therapies*, 2015, 14(3), 249-257.

Dashora, A., Rathore, K., Raj, S., and Sharma, K. Synthesis of silver nanoparticles employing *Polyalthia longifolia* leaf extract and their *in vitro* antifungal activity against phytopathogen. *Biochemistry*

and Biophysics Reports, 2022, 31, 101320.

Dias, M.C., Pinto, D.C.G.A., and Silva, A.M.S. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 2021, 26(17), 5377.

Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

Esmaceli, N., Ebrahimzadeh, H., Abdi, K., and Safarian, S. Determination of some phenolic compounds in *Crocus sativus* L. corms and its antioxidant activities study. *Pharmacognosy Magazine*, 2011, 7(25), 74-80.

Fachriyah, E., Haryanto, I.B., Kusri, D., Sarjono, P.R., dan Ngadiwijana. Antioxidant activity of flavonoids from cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 2023, 26(1), 10-18.

Hakim, A. Diversity of secondary metabolites from Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Nusantara Bioscience*, 2010, 2(3), 146-156.

Herbone, J.B. 1988. *Textbook of Phytochemical Methods*. A

- Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 5th Edition, Chapman and Hall Ltd, London; 21-72.
- Jayani N, Handojo H. Standarisasi simplisia daun Tempuyung (*Sonchi folium*) hasil budaya di UBAYA training center trawas mojekerto. *Journal of Pharmacy Science and Technology*, 2018, 1(1), 68-79.
- Kementerian Keseharan Republik Indonesia. 2000. *Materia Medika Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia 9-12.
- Kementerian Keseharan Republik Indonesia. 2017. *Indonesian Herbal Pharmacopoeia*. Second Edition. Jakarta.
- Lusiana, L. Potensi antioksidasi ekstrak etanol Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*). *Gradien: Jurnal Ilmiah MIPA*, 2015, 11(1), 1066-1069.
- Miller, S. 2005. *New Essential Physiology Experimental Design and Statistic Second Edition*. London and New York: Routledge.
- Murray, P.R.D., Cox, J.H., Chiappini, N.D., Roos, C.B., McLoughlin, E.A., Hejna, B.G., *et al.* Photochemical and electrochemical applications of proton-coupled electron transfer in organic synthesis. *Chemical Reviews*, 2022, 122(2), 2017-2291.
- Nurulafifah, U. 2017. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol 96% buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap tikus jantan galur wistar yang diinduksi aloksan. *Skripsi*. Surakarta: Program Studi Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Jawa Tengah.
- Nurhasanah, F. Efek antioksidan dari ekstrak biji Petai Cina (*Leucaena leucophala* L.) pada tikus putih. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 2005, 3(1), 13-16.
- Padyana, A.K., Gross, S., Jin, L., Cianchetta, G., Narayanaswamy, R., Wang, F., *et al.* Structure and inhibition mechanism of the catalytic domain of human squalene epoxidase. *Nature Communications*, 2019, 10(1), 97.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., and Chandra, S.R. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 2016, 5, e47.
- Rai, S., Kafle, A., Devkota, H.P., and Bhattarai, A. Characterization of saponins from the leaves and stem bark of *Jatropha curcas* L. for surface-active properties. *Heliyon*, 2023, 9(5), 15807.
- Riasari, H., Sukrasno, and Komar, R. Metabolite profile of various development bread fruit leaves (*Artocarpus altilis* Parkinson Fosberg) and the identification of their major componens. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 2015, 6(5), 2170-2177.
- Riasari, H., Fitriansyah, S.N., and Putra, O. Comparison of anti-

- inflammatory activity between fermented and dried breadfruit leaves extract (*Artocarpus atilis* (Parkinson) Fosberg). *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*, 2018, 3(3), 72-75.
- Riasari, H., Febriani, Y., and Nurfauziah, W.A. Toxicity assay of fermented (*Artocarpus altilis*) leaves using brine shrimp lethality test. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*, 2019, 4(2), 46-50.
- Riasari, H., Fitriansyah, S.N., dan Hoeriah, I.S. Perbandingan metode fermentasi, ekstraksi dan kepolaran pelarut terhadap kadar total flavonoid dan steroid pada daun Sukun (*Artocarpus atilis* (Parkinson) Fosberg). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 2022, 11(1): 1- 17.
- Sagatova A.A. Strategies to better target fungal squalene monooxygenase. *Journal of Fungi*, 2021, 7(1), 49.
- Sheel, R., Nisha, K., and Kumar, J. Preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Clerodendron infortunatum*. *Journal of Applied Chemistry*, 2014, 7(1), 10-13.
- Tay, N.E.S., Lehnher, D., and Rovis, T. Photons or electrons? A critical comparison of electrochemistry and photoredox catalysis for organic synthesis. *Chemical Reviews*, 2022, 122(2), 2487-2649.
- Vellur, S., Pavadai, P., Pandian, S.R.K., Palanichamy, C., Kabilan, S.J., Sundar, K., *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive chemicals from *Hemidesmus indicus* (L.) R.Br. using response surface methodology and adaptive neuro-fuzzy inference system. *Food Science and Biotechnology*, 2023, 33(2), 327-341.
- Wagner, H., and Bladt, S. 1986. *Plant Drug Analysis - A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Wiraatmaja, I.W. 2017. *Mebolisme Pada Tumbuhan*. Buku Ajar. Program Studi Agroekoteknologi. Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Bali.
- Xue, Z., Tan, Z., Huang, A., Zhou, Y., Sun, J., Wang, X., *et al.* Identification of key amino acid residues determining product specificity of 2,3-oxidosqualene cyclase in *Oryza* species. *New Phytologist*, 2018, 218(3), 1076-1088.