

**UJI KADAR TRIGLISERIDA PADA TIKUS JANTAN *Sprague Dawley*
DENGAN IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
MENGUNAKAN LC-MS**

SKRIPSI



Oleh :

ALECIA NUR ALIFAH

1913206005

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

STIKES KARYA PUTRA

BANGSA TULUNGAGUNG

2023

**UJI KADAR TRIGLISERIDA PADA TIKUS JANTAN *Sprague Dawley*
DENGAN IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
MENGUNAKAN LC-MS**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar
Sarjana Farmasi (S. Farm) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

ALECIA NUR ALIFAH

1913206005

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA**

TULUNGAGUNG

2023

**UJI KADAR TRIGLISERIDA PADA TIKUS JANTAN *Sprague Dawley*
DENGAN IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
MENGUNAKAN LC-MS**

Yang diajukan oleh:

ALECIA NUR ALIFAH

1913206005

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Apt. Choirul Huda, M. Farm
NIDN 0726038502

apt. Amalia Eka Putri, M.Farm
NIDN 07.28.12.92.01

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

UJI KADAR TRIGLISERIDA PADA TIKUS JANTAN *Sprague Dawley* DENGAN IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA MENGGUNAKAN LC-MS

Oleh :

ALECIA NUR ALIFAH

1913206005

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan Panitia Penguji Proposal Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

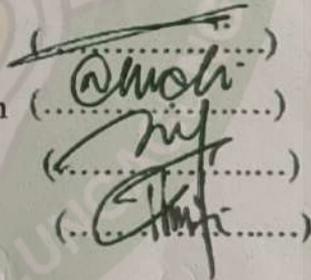
Tanggal :

Ketua Penguji : apt. Choirul Huda., M. Farm

Anggota Penguji : 1. apt. Amalia Eka Putri., M. Farm

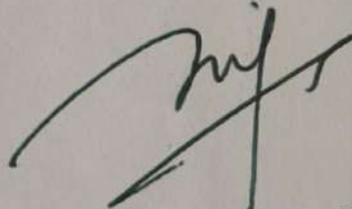
2. apt. Arif Santoso., M.Farm

2. Afidatul Muadifah., S.Si. M.Si



Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa



apt. Arif Santoso., M.Farm

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Agustus 2023

Alecia Nur Alifah

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Adapun judul skripsi penelitian ini **“Uji Kadar Triglicerida Pada Tikus Jantan *Sprague Dawley* Dengan Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Biji Pepapya menggunakan LC-MS”**.

Penulis menyadari bahwa selama masa perkuliahan hingga penelitian dan penyusunan proposal ini telah memperoleh bantuan, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak apt. Arif Santoso., M. Farm selaku Ketua Yayasan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso., M. Farm selaku Ketua Kaprodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Bapak apt. Choirul Huda., M. Farm selaku Dosen Pembimbing I atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Ibu apt. Amalia Eka Putri., M. Farm selaku Dosen Pembimbing II atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
5. Kedua orang tua, kakak saya Heki Mahmudi yang sudah membiayai saya, memberikan dukungan, do'a sampai bisa di titik ini dan semangat selama penyusunan skripsi.
6. Teman-teman semua yang telah memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan proposal.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa proposal ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk memperbaiki proposal.

Tulungagung, Agustus 2023

(Alecia Nur Alifah)

**UJI KADAR TRIGLISERIDA PADA TIKUS JANTAN *Sprague Dawley*
DENGAN IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
MENGUNAKAN LC-MS**

ALECIA NUR ALIFAH

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Trigliserida (triasilgliserol) adalah senyawa lipid yang utama pada deposit lemak tubuh dan makanan. Hipertrigliseridemia adalah kelainan yang ditandai dengan peningkatan konsentrasi trigliserida dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hipotrigliseridemia biji pepaya dan dosis efektifnya. Terapi dalam pengobatan hipertrigliserida kondisi tersebut dapat dilakukan dengan terapi nonfarmakologi seperti pemberian ekstrak biji pepaya dengan menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% untuk mendapatkan ekstrak, lalu di evaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental yang tinggi antioksidan tersebut, dengan mengidentifikasi menggunakan LC-MS untuk mengetahui senyawa pada biji pepaya seperti flavonoid, tannin, alkaloid, saponin, dan fenol, yang mampu menurunkan kadar trigliserida. Tujuan dari ini Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji pepaya terhadap kadar trigliserida pada tikus jantan *Sprague Dawley*, yang diinduksi dengan tinggi lemak. Jenis penelitian ini adalah true experimental dengan rancangan pretest-posttest control group design, yang menggunakan 30 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan. Pengelompokan dibagi secara acak menjadi 6 kelompok yaitu, kelompok normal yang hanya diberi pakan standart, kelompok kontrol positif dengan diberi simvastatin (K+), kontrol negatif (K-) dengan pemberian CMC-Na 0,5%, perlakuan 1 dengan dosis 150mg/dL ekstrak etanol biji pepaya, perlakuan 2 dengan dosis 300mg/dL, dan perlakuan 3 dengan dosis 450mg/dL ekstrak etanol biji pepaya, dengan diberikan pakan standart dan pakan hiperkolesterolemia (lemak babi/minyak babi) selama 14 hari kecuali pada kontrol normal. Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-15 dan hari ke-29. Pengukuran kadar trigliserida dengan metode GPO-PAP dengan alat *chemistry analyzer 1 UBIO Ichem-535*. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya pada penurunan kadar trigliserida, pada kontrol normal dan kontrol positif tidak ada perbedaan bermakna dan perlakuan 1 berbeda bermakna dengan kontrol positif dan kontrol negative. Identifikasi kandungan senyawa dan kadar dengan peak tertinggi pada ekstrak etanol biji pepaya menggunakan instrumen LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) diperoleh senyawa *carpaine* sebesar 10,38% dan *quercetin* sebesar 43,33%.

Kata kunci : Biji pepaya, tikus *Sprague Dawley*, trigliserida, LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*)

TEST OF TRIGLYCERIDE LEVELS IN *Sprague Dawley* MALE RATS WITH IDENTIFICATION OF ETHANOL EXTRACTS OF PAPAYA SEEDS USING LC-MS

ALECIA NUR ALIFAH

Pharmacy S1 Study Program

ABSTRACT

Triglycerides (triacylglycerols) are the main lipid compounds in body and dietary fat deposits. Hypertriglyceridemia is a disorder characterized by an increased concentration of triglycerides in the blood. This study aims to determine the hypotriglyceridemia effect of papaya seeds and their effective dose. Therapy in the treatment of hypertriglycerides for this condition can be carried out with non-pharmacological therapies such as giving papaya seed extract using the maceration method with 70% ethanol to obtain the extract, then evaporated to obtain a thick extract which is high in antioxidants, by identifying using LC-MS to determine the compounds in papaya seeds such as flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, and phenols, which can reduce triglyceride levels. The aim of this study was to determine the effect of papaya seed extract on triglyceride levels in *Sprague Dawley* male rats, which were induced by high fat. This type of research was true experimental with a pretest-posttest control group design, which used 30 male *Sprague Dawley* rats. The grouping was divided randomly into 6 groups, namely, the normal group which was only given standard feed, the positive control group which was given simvastatin (K+), the negative control (K-) which was given 0.5% CMC-Na, treatment 1 with a dose of 150 mg/dL papaya seed ethanol extract, treatment 2 with a dose of 300 mg/dL, and treatment 3 with a dose of 450 mg/dL papaya seed ethanol extract, given standard feed and hypercholesterolemia feed (lard/lard oil) for 14 days except for normal controls. Sampling was carried out on the 15th and 29th days. Measuring triglyceride levels using the GPO-PAP method with a chemistry analyzer 1 UBIO Ichem-535. Based on the results of the study showed that papaya seed extract reduced triglyceride levels, there was no significant difference in normal controls and positive controls and treatment 1(150mg/dL) was significantly different from positive controls and negative controls. Identification of compound content and levels with the highest peaks in the ethanol extract of papaya seeds using the LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) instrument obtained *carpaine* compounds of 10.38% and *quercetin* of 43.33%.

Keywords : Papaya seeds, *Sprague Dawley* rats, triglycerides, LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
PERNYATAAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I LATAR BELAKANG	16
1.1 Latar Belakang	16
1.2 Rumusan Masalah	19
1.1 Tujuan Penelitian	20
1.1 Manfaat Penelitian	20
1.1 Hipotesis.....	20
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	21
2.1 Trigliserida	21
2.1.1 Definisi	21
2.2 Fungsi Trigliserida	22
2.2.1 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kadar Trigliserida	22
2.2.2 Biosintesis Trigliserida.....	23
2.2.3 Terapi Komplementer.....	23
2.3 Terapi Farmakologis.....	23
2.3.1 Statin.....	23
2.3.1 Bile Acid Squestrants	27
2.3.2 Niacin	24
2.3.3 Asam Fibrat	24
2.3.4 Ezetemibe	25
2.4 Tanaman Pepaya.....	25

2.4.1 Sejarah Tanaman Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	25
2.4.2 Klasifikasi Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	25
2.4.3 Morfologi pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	26
2.4.4 Manfaat Biji Pepaya	26
2.4.5 Kandungan Kimia Biji Pepaya	27
2.5 Simplisia	28
2.5.1 Definisi	28
2.6 Syarat Simplisia	29
2.6.1 Langkah Pembuatan Simplisia	29
2.7 Ekstrak	31
2.8 Ekstraksi	31
2.9 Metode Ekstraksi	31
2.9.1 Ekstraksi dingin	31
2.10 Evaporasi	33
2.11 Analisis LC-MS (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>)	33
2.12 Simvastatin 10 mg (Sebagia kontrol positif (K+))	34
2.13 Pelarut	35
2.13.1 Etanol	35
2.13.2 Metanol	36
2.13.3 N-heksana	36
2.13.4 CMC-Na	36
2.14 Hewan Uji	37
2.14.1 Definisi Tikus	37
2.14.2 Klasifikasi Tikus	37
2.15 Pengambilan Darah Hewan Uji	38
BAB III METODE PENELITIAN	44
3.1 Alat dan Bahan	40
3.1.1 Alat	40
3.1.2 Bahan	40
3.2 Populasi	40
3.3 Sampel Penelitian	40
3.4 Variabel Penelitian	40
3.5 Metode Penelitian	41
3.5.1 Etichal Clearance	41

3.5.2 Determinasi Tanaman Pepaya	41
3.5.3 Pembuatan Simplisia.....	41
3.5.4 Uji Susut Pengeringan	42
3.5.5 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia.....	42
3.5.6 Pembuatan Ekstraksi Biji Pepaya	42
3.6 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak.....	43
3.6.1 Pembuatan Ekstraksi Biji Pepaya	43
3.6.2 Rendemen	43
3.6.3 Uji Kadar Abu Total	43
3.7 Skrining Fitokimia.....	44
3.7.1 Uji Flavonoid	44
3.7.2 Uji Saponin	44
3.7.3 Uji Tanin.....	44
3.8 Uji LC-MS Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	45
3.9 Uji Aktivitas Kadar Trigliserida.....	45
3.9.1 Pembuatan Suspensi Larutan CMC-Na 0,5%	45
3.9.2 Pembuatan Suspensi Simvastatin.....	45
3.9.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Pepaya	46
3.9.4 Pemberian Pakan Tinggi Lemak.....	46
3.9.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	46
3.10 Cara Pengambilan Darah Tikus.....	47
3.11 Pengukuran Kadar Trigliserida	48
3.12 Analisa Data	48
3.12.1 Uji Normalitas Data	48
3.12.2 Uji Homogenitas	49
3.12.3 Uji <i>One Way</i> Anova.....	49
3.13 Kerangka Penelitian	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	53
4.1 Determinasi Tanaman	53
4.2 Ethical Clearance	53
4.3 Pembuatan Simplisia Biji Pepaya	53
4.4 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	54
4.4.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia	54

4.4.2 Uji Kadar Air Simplisia Biji Pepaya	55
4.5 Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>) Error! Bookmark not defined.	
4.6 Randemen Ekstrak Biji Pepaya.....	56
4.7 Uji Kadar Abu Total Ekstrak	57
4.8 Uji Bebas Etanol	57
4.9 Skrining Fitokimia	57
4.9.1 Uji Flavonoid.....	60
4.9.2 Uji Tanin.....	60
4.9.3 Uji Saponin.....	61
4.9.4 Uji Alkaloid	62
4.10 Identifikasi Liquid <i>Chromatography Mass Spectrometry</i> (LC-MS).....	62
4.10.1 Senyawa Fenol.....	67
4.10.2 Senyawa Flavonoid.....	68
4.10.3 Senyawa Tanin.....	69
4.10.4 Senyawa Saponin.....	69
4.10.5 Senyawa Alkaloid.....	70
4.11 Uji Efektivitas Penurunan Kadar Trigliserida.....	70
BAB V KESIMPULAN	81
5.1 Kesimpulan	81
5.2 Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA	82

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.2 Struktur Trigliserida.....	13
Gambar 2.3 Tanaman Pepaya.....	15
Gambar 2.11 Tikus Putih.....	27
Gambar 3.1 Kerangka Penelitian.....	37
Gambar 3.2 Perlakuan Tikus	38
Gambar 4.1 Hasil Uji Bebas Etanol	60
Gambar 4.1 Hasil Uji Flavonoid.....	62
Gambar 4.3 Hasil Uji Tanin	62
Gambar 4.4 Hasil Uji Saponin.....	63
Gambar 4.5 Hasil Uji Alkaloid.....	64
Gambar 4.6 Hasil Chromatogram LC-MS	65
Gambar 4.7 Grafik Selisih Hari ke-15 dan 29	74
Gambar 4.8 Grafik Rata-rata Kadar Trigliserida.....	75

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Nilai Normal Kadar Kolesterol	7
Tabel 3.14 Jadwal Penelitian	53
Tabel 4.1 Hasil Susut Pengerinan Simplisia Biji Pepaya	54
Tabel 4.2 Hasil Kadar Air Simplisia Biji Pepaya.....	56
Tabel 4.3 Hasil Randemen Ekstrak	58
Tabel 4.4 Hasil Uji Kadar Abu Ekstrak EEBP	58
Tabel 4.5 Hasil Uji Bebas Etanol	59
Tabel 4.6 Hasil Skrining Fitokimia	60
Tabel 4.7 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya L.)	65
Tabel 4.8 Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida Pada 6 Kelompok	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Etichal Clearance Penelitian.....	88
Lampiran 2. Surat Sertifikat Hewan Uji.....	89
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian	90
Lampiran 4. Hasil Determinasi Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	91
Lampiran 5. Hasil Uji Kadar Abu dan Kadar Air	92
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian	93
Lampiran 7. Perhitungan dosis.....	95
Lampiran 8. Dokumentasi Perlakuan Pada Tikus	98
Lampiran 9. Tabel Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida.....	100
Lampiran 10. Grafik Rata-rata Kadar Trigliserida.....	101
Lampiran 11. Analisis Data SPSS.....	102

BAB I

LATAR BELAKANG

1.1 Latar Belakang

Lipid merupakan senyawa organik yang memiliki sifat tidak larut air, serta dapat larut oleh larutan organik non polar misalnya kloroform dan eter. Salah satu bentuk lipid yaitu trigliserol dan lipoprotein. Trigliserol merupakan sumber cadangan kalori yang mempunyai energi tinggi. Cadangan lemak disimpan di jaringan adipose, tempat senyawa ini juga berfungsi sebagai insulator panas di jaringan subkutan dan disekitar organ tertentu (Rembang dkk 2015).

Lipid bisa di klasifikasikan menjadi beberapa jenis, yaitu lipid sederhana, lipid kompleks dan derivat lipid. Trigliserol atau trigliserida merupakan lipid sederhana yang terdiri atas tiga asam lemak yang tersambung dengan *single* gliserol. Trigliserida merupakan bentuk lemak yang paling efisien untuk menyimpan kalori yang penting untuk proses-proses yang membutuhkan energy dalam tubuh. Menurut *The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Paneli III* (NCEP ATP III), profil lipid dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok yaitu kolesterol total, HDL, LDL dan trigliserida (Yanita dkk 2017).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kadar trigliserida yaitu faktor genetik, jenis kelamin, usia, obesitas, kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol. Selain itu, gaya hidup yang tidak dikendalikan dengan perilaku konsumsi makanan sehat serta aktivitas fisik cukup sering tidak disadari dapat menyebabkan kerusakan metabolisme lipid yang berpengaruh terhadap sindrom metabolik yang meningkatkan risiko penyakit jantung, penyakit pembuluh darah, *stroke* dan diabetes (Ardiani dkk 2017).

Dalam mengatasi masalah terhadap peningkatan kadar trigliserida tersebut, sering digunakan obat-obatan kimia seperti obat golongan statin, obat golongan resin pertukaran ion, asam nikotinat, fibrat dan inhibitor absorbs kolesterol. Obat-obat kimia yang banyak digunakan terutama golongan statin yang menjadi obat penurun lipid lini pertama pada pengobatan pasien dengan dyslipidemia yang harus digunakan dalam jangka waktu lama serta memiliki efek samping berupa

kerusakan sel-sel otot, myositis, mual, muntah, diare, insomnia, infeksi saluran kemih, meningkatkan enzim hati dan rabdomiolisis (Dorotea dkk 2013).

Masyarakat Indonesia mulai khawatir akan efek samping dari pengobatan menggunakan bahan kimia. Dari sinilah senyawa alternatif untuk mencegah terjadinya peningkatan kadar trigliserida dengan efek samping yang lebih sedikit sangat diperlukan. Sehingga banyak masyarakat yang beralih menggunakan pengobatan herbal, baik itu berupa tanaman yang sudah dibudidayakan maupun tumbuhan liar. Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan tersebut yaitu biji pepaya. Penggunaan biji pepaya jarang dimanfaatkan oleh masyarakat dengan pengolahan, yaitu dengan cara meminum langsung biji, atau bahkan menjadikan olahan menjadi ekstrak yang dapat digunakan untuk berbagai macam penyakit, seperti menjaga kesehatan jantung, mengurangi risiko kanker, meningkatkan kekebalan tubuh (Kharimah dkk 2015).

Biji pepaya banyak mengandung nutrisi dan senyawa kimia. Dari hasil skrining fitokimia ekstrak etanol biji pepaya mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid menghambat aktivitas enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA yang menyebabkan penghambatan sintesis kolesterol (Rani dkk 2017). Pada penelitian Adeneye *et al* mengenai jus biji pepaya (*Carica Papaya L.*) yang mengandung flavonoid dapat menurunkan kadar trigliserida melalui mekanisme peningkatan aktivitas enzim lipoprotein lipase. Dengan meningkatnya enzim tersebut, lipoprotein VLDL yang mengangkut trigliserida akan mengalami hidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol. Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat *Fatty Acid Synthase* (FAS) yaitu enzim penting dalam metabolisme lemak, yang mengakibatkan penurunan pembentukan asam lemak, sehingga menyebabkan penurunan pembentukan trigliserida. Manfaat yang paling utama adalah sebagai pengobatan diabetes, hipertensi, gout dan kanker. (Tian dkk 2012).

Menurut data dari WHO (*World Health Organization*) kadar trigliserida normal dalam darah adalah <150 mg/dL dan kadar trigliserida dikatakan tinggi jika melebihi batas normal. Hasil dari Riset Kesehatan Dasar Nasional (RISKESDAS) tahun 2013, penduduk Indonesia >15 tahun memiliki kadar trigliserida abnormal sebesar 13% termasuk kategori menengah (150-199 mg/dL) dan 11,9% termasuk kategori tinggi dan sangat tinggi (200-499 mg/dL).

Sedangkan prevalensi pengidap trigliserida di Indonesia yang berdasarkan dari diagnosis Dokter pada penduduk semua umur di provinsi, salah satunya provinsi Jawa Timur yaitu sekitar 34.820 ribu yang mengalami kelebihan kadar trigliserida (Risksedas, 2018).

Penanganan penyakit trigliserida menggunakan obat sintetis adalah obat dari bahan kimia serta yang biasa diresepkan oleh dokter dan dikalangan medis untuk mengobati penyakit tertentu (Lau *et al.*, 2019). Salah satu obat medis yang biasa digunakan untuk pengobatan kolesterol termasuk trigliserida adalah obat jenis golongan statin, contoh obatnya adalah simvastatin. Mekanisme kerja dari simvastatin dalam menurunkan kadar trigliserida dengan cara menghinbisi enzim *3-hydroxy-3-methylglutaroyl-coenzyme* (HMG-CoA) reduktase secara kompetitif (Wulandari dkk., 2015).

Efek samping yang muncul saat mengkonsumsi obat golongan statin adalah konstipasi 10% peningkatan kadar keratin kinase dan miopati (Hodkinson *et al.*, 2022). Untuk menghindari efek samping dari obat sintetis, bisa dengan menggunakan obat herbal yang berasal dari tanaman. Obat herbal mempunyai efek samping yang lebih kecil dari obat sintetis, bahkan di anggap tidak mempunyai efek samping. Obat herbal, dapat diperoleh tanpa menggunakan resep dari dokter, dengan demikian masyarakat yang mungkin membutuhkan pengobatan dalam jangka waktu yang panjang dapat beralih ke obat herbal karena harga yang relative lebih murah dan aman (Mun'im *et al.*, 2022).

Pengobatan non-farmakologi untuk mengatasi kadar trigliserida tinggi atau yang melebihi 150 mg/dL maka dianjurkan untuk lebih banyak mengkonsumsi buah dan sayur yang mengandung serat dan antioksidan. Salah satu tanaman atau buah yang dapat menurunkan kadar trigliserida yaitu biji pepaya. Biji pepaya (*Carica Papap L.*) mempunyai kandungan efek hipokolestolemik, yaitu flavonoid, tannin, dan saponin (Marindasari *et al.*, 2013).

Biji pepaya memiliki manfaat yang dapat menimbulkan efek penurunan kolesterol yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Flavonoid merupakan antioksidan yang mengurangi oksidasi kolesterol LDL, yang diduga berkaitan erat dengan perkembangan aterosklerosis. Flavonoid juga dapat meningkatkan sekresi empedu dengan mengaktifkan enzim sitokrom P-450. Enzim ini mengikat komponen

dalam empedu, sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh. Flavonoid memiliki persentase sebesar 947,7%. Saponin juga memiliki manfaat menurunkan kolesterol hati, menurunkan kadar trigliserida dan meningkatkan ekskresi kolesterol melalui feses. Saponin memiliki persentase sebanyak 88,39%. Tanin dalam biji pepaya dapat mengurangi penyerapan kolesterol di usus halus, dan juga dapat meningkatkan ekskresi asam empedu. Mekanismenya sama dengan saponin, dan juga dapat meningkatkan transpor balik kolesterol. Tanin memiliki persentase sebanyak 189,35%. Tanaman pepaya (*Carica papaya L.*) di Indonesia sangat mudah dijumpai, namun pemanfaatannya belum maksimal. Di negara Indonesia hanya buah dan daun saja yang digunakan. Biji pepaya biasanya hanya dibuang dan digunakan sebagai pelestarian tanaman pepaya (Cahaya, *et al.*, 2017).

Ada penelitian yang dilakukan di Afrika menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya bisa menurunkan seluruh parameter kolesterol, salah satunya trigliserida secara signifikan. Ekstrak biji pepaya cair yang diberikan sebanyak 100-400 mg/ekor/hari melalui peroral pada tikus jantan Wistar selama 30 hari/1bulan. Hanya satu penelitian yang memiliki efek biji pepaya terhadap kadar trigliserida yaitu penelitian yang dilakukan oleh Adeneye dan Olagunju yang membuktikan dosis 400mg/kgBB/hari jus biji pepaya cair dapat menurunkan serum trigliserida tikus Wistar jantan selama 30 hari (Adeneye *et al.*, 2012).

Berdasarkan uraian tersebut maka peneliti akan melakukan penelitian terkait pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan dosis kombinasi yaitu 150 mg/dL, 300 mg/dL dan 450 mg/dL, terhadap kadar trigliserida pada tikus jantan *Sprague Dawley*. Penggunaan tikus *Sprague Dawley* dikarenakan tikus ini adalah ras multiguna dari tikus albino yang digunakan secara luas dalam penelitian medis dan nutrisi. Keuntungan utama dari tikus ini adalah ketenangan dan kemudahan dalam melakukan penanganan (Rully *et al.*, 2012).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan Latar Belakang tersebut, dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

1.2.1 Apa senyawa dan kadar yang terkandung didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan peak tertinggi yang diidentifikasi menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mas Spectrometry*)?

1.2.2 Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L*) terhadap kadar trigliserida pada tikus jantan Sprague Dawley ?

1.2.3 Berapakah konsentrasi optimum ekstrak biji pepaya (*carica papaya linn*) pada kadar trigliserida terhadap tikus jantan *Sprague Dawley* (SD) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Untuk mengetahui senyawa dan kadar yang terkandung didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan peak tertinggi yang diidentifikasi menggunakan LCMS (*Liquid Chromatograph-Mas Spectrometry*).

1.3.2 Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) terhadap kadar trigliserida pada tikus Sprague Dawley.

1.3.3 Untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar trigliserida pada tikus jantan *Sprague Dawley*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi institut sebagai bahan untuk mengembangkan ilmu pengetahuan bagi peserta didik mengenai terapi herbal yang bersifat alamiah yaitu pengaruh ekstrak etanol biji pepaya terhadap kadar kolesterol trigliserida pada tikus *Sprague Dawley*.

1.4.2 Bagi peneliti digunakan untuk menambah wawasan dalam mempersiapkan, mengumpulkan, mengelola, dan menyajikan data serta mengetahui pengaruh konsumsi ekstrak biji pepaya terhadap kadar trgliserida pada tikus *Sprague Dawley*.

1.4.3 Bagi pendidikan, dapat menjadi bahan informasi dan pengembangan penelitian selanjutnya.

1.4.4 Bagi masyarakat sebagai sumber inforamasi mengenai terapi herbal berupa konsumsi ekstrak biji pepaya terhadap kadar trigliserida pada tikus *Sprague Dawley* sehingga mampu menjadi terapi herbal efektif dan aman untuk menurunkan kadar trigliserida.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Trigliserida

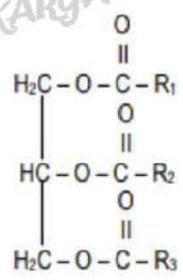
2.1.1 Definsi

Trigliserida merupakan komponen lipid utama pada asupan makanan, terdapat kira-kira 98% dari total lipid dan 2% sisanya terdiri atas fosfolipid dan kolesterol. Trigliserida dapat disimpan dalam jumlah banyak untuk memasok kebutuhan energi selama berbulan-bulan. Trigliserida disimpan dalam jaringan adipose, otot rangka, hati, paru-paru, dan usus untuk menyediakan energi pada proses metabolisme (Desthy, 2014).

Trigliserida adalah salah satu jenis lemak yang dapat ditemukan dalam darah dan sel-sel lemak. Tubuh mendapatkan sebagian besar trigliserida dari makanan, minyak goreng, mentega, keju, krim dan daging tinggi lemak. Namun, trigliserida juga bisa berasal dari gula dan alkohol. Lemak dari makanan yang dikonsumsi akan dipecah dan diubah menjadi energi. Tiap lemak yang tidak digunakan oleh tubuh akan diubah menjadi trigliserida dan disimpan pada sel-sel lemak. Ketika dibutuhkan, trigliserida akan dilepaskan untuk digunakan sebagai energi (Laufs, *et al.*, 2020).

Tabel 2.1. Nilai Normal Kadar Kolesterol menurut NCEP ATP III 2001

Jenis kolesterol	Nilai (mg/dL)
Kolesterol total	
Normal	<200
Sedang	200-239
Tinggi	≥240
Kolesterol LDL	
Normal	<100
Sedang	130-159
Tinggi	160-189
Sangat tinggi	≥190
Kolesterol HDL	
Tinggi	>60
Rendah	<40
Trigliserida	
Normal	<150
Sedang	150-199
Tinggi	200-499
Sangat tinggi	≥500



Gambar 2.2 Struktur Triglisierida (Muhardi,2009).

Triglisierida juga di definisikan sebagai asam lemak yang ditemukan dalam aliran darah dengan kadar normal biasanya tidak melebihi 150 mg/dL. Triglisierida disebut dengan lemak utama dalam makanan manusia dan penyimpanan lemak utama pada tumbuhan dan hewan (Rabie'ah *et al.*, 2014).

2.2 Hipertriglisierida

Hipertriglisieridemia adalah peningkatan kadar triglisierida yang lebih dari 200 mg/dL. Peningkatan triglisierida dapat disebabkan oleh kelebihan berat badan, karena aktivitas fisik, usia, kelainan genetik, atau diet tinggi karbohidrat (Sarira dkk., 2017). Kadar triglisierida yang tinggi berkaitan erat dengan penyakit kardiovaskular. Asupan makanan yang mengandung serat dan antioksidan dapat mencegah pembentukan plak penyebab aterosklerosis yang mempengaruhi penyakit kardiovaskular (Zana, 2014). Obat yang sangat efektif digunakan untuk menurunkan kadar triglisierida adalah obat golongan Fibrat, obat golongan ini bisa menurunkan kadar triglisierida sebesar 30%-50%, contoh fibrat adalah gemfibrozil dan fenofibrate (Rabie'ah dkk., 2014).

2.3 Fungsi Triglisierida

Fungsi triglisierida di dalam tubuh yaitu sebagai lemak yang paling efisien untuk menyimpan kalor yang penting untuk proses yang membutuhkan energi dalam tubuh seperti metabolisme. Triglisierida juga berfungsi sebagai bantalan tulang-tulang dan organ-organ vital, melindungi organ-organ tersebut dari guncangan atau rusak (Murray dkk 2014).

2.3.1 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kadar Triglisierida

Kadar triglisierida dalam darah yang berlebihan dapat membahayakan kesehatan, serta dapat menyebabkan penyempitan pembuluh darah dan meningkatkan risiko serangan jantung (Ariska dkk 2018).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kadar trigliserida diantaranya: (1) Usia, semakin bertambahnya usia seseorang maka akan terjadi penurunan berbagai fungsi organ tubuh menyebabkan keseimbangan kadar trigliserida darah sulit tercapai sehingga kadar trigliserida cenderung lebih mudah meningkat, (2) Stress mengaktifkan sistem saraf simpatis yang mengakibatkan pelepasan epinefrin dan norepinefrin sehingga akan meningkatkan konsentrasi asam lemak bebas dalam darah, serta meningkatkan tekanan darah, (3) Penyakit hati, dapat menimbulkan kelainan pada trigliserida darah, karena hati merupakan tempat sintesis trigliserida sehingga penyakit hati dapat menurunkan kadar trigliserida. Selain itu, gaya hidup yang tidak dikendalikan dengan perilaku konsumsi makanan sehat serta aktivitas fisik cukup sering tidak disadari dapat menyebabkan kerusakan metabolisme lipid sehingga berpengaruh terhadap sindrom metabolic yang meningkatkan risiko penyakit jantung, penyakit pembuluh darah, stroke dan diabetes (ilham dkk 2018).

2.3.2 Biosintesis Trigliserida

Trigliserida (TG) disintesis dalam tubuh untuk disimpan (dalam jaringan adiposa), atau untuk transportasi dalam lipoprotein (di epitel mukosa usus dan di parenkim hati), atau untuk ekskresi dalam ASI (di kelenjar susu saat laktasi). Selain itu, dalam jumlah kecil, trigliserida juga disintesis di otot dan ginjal. Gliserol-3-fosfat terutama berasal dari glikolisis. Bagian dihydroxynacetone-phosphate (DHAP) yang terjadi pada glikolisis yang dikatalisis oleh gliserol-3-fosfat-dehidrogenase, dengan adanya NADH, yang kemudian diubah menjadi gliserol-3-fosfat. Terutama di jaringan yang sudah ada banyak enzim gliserolkinase, seperti hati, usus dan ginjal (Wahjuni, 2013).

Trigliserida juga disintesis langsung dari 70% 2-monoasilgliserol. Dengan adanya enzim monoasilgliserol asiltransferase, 2-monoasilgliserol yang diserap dari lumen usus diasilasi menjadi 1,2 diasilgliserol. Satu aspirasi lagi senyawa ini akhirnya menghasilkan trigliserida (TG/triasilgliserol) (Wahjuni, 2013).

2.3.3 Terapi Komplementer

Terapi komplementer dikenal dengan terapi tradisional yang digabungkan dalam pengobatan modern. Terapi komplementer telah muncul secara umum di negara-negara di seluruh dunia. Seseorang memilih pelengkap terapi berdasarkan

berbagai alasan seperti keyakinan, keuangan, menghindari reaksi kimia dari obat-obatan, dan penyembuhan positif hasil (Trisnawati & Jenie, 2019).

2.4 Terapi Farmakologis

2.4.1 Statin

Mekanisme kerja statin adalah mengurangi pembentukan kolesterol di hati dengan menghambat tindakan kompetitif dari enzim reduktase HMG-CoA. Pengurangan konsentrasi kolesterol intraseluler meningkatkan ekspresi reseptor LDL pada permukaan hepatosit yang menyebabkan peningkatan pelepasan KLDL dari darah dan penurunan konsentrasi K-LDL dan lipoprotein apo-B lainnya termasuk trigliserida. Statin biasanya dikonsumsi sehari satu kali pada malam hari. Sediaan statin dipasaran saat ini adalah : simvastatin 5-80 mg, atorvastatin 10-80 mg, rosuvastatin 5-40 mg, pravastatin 10-80 mg, fluvastatin 20-40 mg (rilis diperpanjang 80 mg), lovastatin 10-40 mg (10- 60 mg rilis diperpanjang) dan pitavastatin 1-4 mg (Jellinger & Handelsman *et al.*,2017).

Simvastatin obat yang efektif untuk menurunkan kadar kolesterol LDL, dapat digunakan dalam jangka panjang untuk mencegah peningkatan kadar kolesterol. Simvastatin golongan statin yang mempunyai manfaat mortalitas dan morbiditas yang signifikan untuk pencegahan primer dan sekunder dari penyakit kardiovaskular. Tujuan pemberian simvastatin untuk menurunkan kadar kolesterol dengan cara menurunkan sintesis kolesterol di hati. Kelebihan simvastatin adalah cocok untuk digunakan pada penyakit hiperkolesterolemia yang lama dan sulit untuk dikontrol (Hariadini dkk., 2020).

2.4.2 Bile Acid Squestrants

Mekanisme kerja obat ini adalah menurunkan kolesterol dengan menghambat penyerapan asam empedu di sirkulasi enterohepatik dengan akibat sintesis asam empedu dengan hati sebagian besar akan datang dari cadangan kolesterol hati saja. Proses katabolisme kolesterol dengan hati seperti itu akan dikompensasi dengan peningkatan aktivitas reseptor LDL pada akhirnya akan menurunkan K-LDL dalam peredaran darah. Ada tiga jenis sekuestran asam empedu yaitu cholestyramine, colestipol dengan dosis 2 dosis 2-3 kali sehari dan golongan terbaru adalah colsevelam 625 mg 2 kali 3 tablet sehari (3,8 gram/hari). (Kopin & Lowenstein, 2017).

2.4.3 Niacin

Obat ini diduga bekerja dengan menghambat hormon enzim lipase sensitif dalam jaringan adiposa, dengan demikian akan mengurangi jumlah asam lemak bebas. Diketahui bahwa asam lemak bebas dalam darah akan ditangkap sebagian oleh hati dan akan menjadi sumber pembentukan VLD. Dengan penurunan sintesis VLDL di hati, akan mengakibatkan penurunan kadar trigliserida, juga kolesterol LDL dalam plasma. Pemberian asam nikotinat itu juga ditemukan untuk meningkatkan kadar kolesterol HDL. Memengaruhi sisi yang paling sering terjadi adalah pembilasan yaitu rasa panas dan kemerahan bahkan di area wajah dan tubuh. Dosis niacin bervariasi antara 500-750 mg sampai 1-2 gram diberikan pada malam hari dalam bentuk realisasi diperpanjang (Grundy & Stone *et al.*,2017).

2.4.4 Asam Fibrat

Asam Fibrat memiliki empat jenis, yaitu gemfibrozil, bezafibrat, ciprofibrate, dan fenofibrate. Obat ini menurunkan trigliserida plasma, selain mengurangi sintesis trigliserida di hati, obat ini bekerja dengan mengaktifkan enzim lipoprotein lipase yang berfungsi untuk memecah trigliserida. Selain menurunkan tarif trigliserida, obat ini juga meningkatkan kadar kolesterol HDL mungkin melalui peningkatan apoprotein A-I. Saat ini sudah dipasarkan di Indonesia gemfibrozil 600 mg dua kali sehari dan fenofibrate pada dosis tertentu 45-300 mg (tergantung produsen) dosis sekali sehari (Catapano & Graham *et al.*,2016).

2.4.5 Ezetimibe

Obat golongan ezetimibe ini bekerja dengan cara tertentu menghambat penyerapan kolesterol oleh usus halus. Kemampuan sedang untuk menurunkan kolesterol LDL (15-25%). Pertimbangan untuk menggunakan ezetimibe adalah untuk menurunkan kadar LDL, terutama pada pasien yang tidak resisten terhadap statin. Pertimbangan lain adalah penggunaannya dalam kombinasi dengan statin untuk mencapai pengurangan lebih lanjut dalam tingkat LDL banyak (Chaudhary & Garg *et al.*,2017).

2.5 Tanaman Pepaya

2.4.1 Sejarah Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Pepaya adalah tanaman buah dari keluarga *Caricaceae* yang berasal dari Amerika Tengah dan Hindia Barat, bahkan daerah sekitar Meksiko dan Costa Rika. Tanaman pepaya banyak ditanam, baik di daerah tropis maupun subtropis, di Indonesia daerah basah dan kering atau di dataran dan pegunungan hingga 1000 meter di atas permukaan laut (mdpl) (Kharisma, 2017).



Gambar 2.3 Tanaman Pepaya (Estia, 2020).

2.4.2 Klasifikasi Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Klasifikasi ilmiah dari tumbuhan, pepaya menurut Putra (2015) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Super divisio	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliopsida
Kelas	: Dilleniidae
Subkelas	: Violales
Ordo	: Caricaceae
Family	: Carica
Genus	: Carica
Spesies	: Carica Papaya L.



Gambar 2.4 Biji Pepaya (Estia, 2020).

2.4.3 Morfologi papaya (*Carica Papaya L.*)

Pohon papaya pada umumnya tidak bercabang, sedikit daun-daun yang membentuk serupa spiral pada batang pohon bagian atas. Daunnya menyirip lima dengan tangkai yang panjang dan berlubang dibagian tengah. Papaya berumah tunggal sekaligus berumah dua dengan tiga kelamin. Tumbuhan jantan, betina, dan hemofrodit. Bunga papaya memiliki mahkota berwarna kuning pucat dengan tangkai pada batang. Bunga jantan tumbuh pada tangkai panjang. Bentuk bunga bulat hingga memanjang, dengan ujung meruncing. Warna buah ketika matang berwarna kuning, dan yang muda berwarna hijau gelap. Bentuk buah membulat jika berasal dari tanaman betina dan oval, jika dihasilkan oleh hemofrodit. Daging papaya berasal dari karpela yang menebal, berwarna kuning hingga merah, menyesuaikan varietasnya. Bagian tengah buah ada rongga. Biji papaya berwarna hitam dan terbungkus semacam lapisan berlendir, yang bisa mencegahnya dari kekeringan (Manurung, 2019).

2.4.4 Manfaat Biji Pepaya

Carica papaya termasuk dalam famili *Caricaceae* yang memiliki beberapa spesies. Banyak dari mereka digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. *Carica Papaya* memiliki khasiat farmakologis yang cukup banyak. Semua bagian dari Pepaya memiliki khasiat tersendiri. Pepaya, selain mengandung vitamin seperti vitamin C dan vitamin E yang bersifat antioksidan, vitamin A dan vitamin B, juga mengandung berbagai mineral seperti magnesium dan potasium. Pepaya juga merupakan tanaman yang tinggi serat sehingga sangat membantu melancarkan sistem pencernaan. Biji pepaya juga memiliki manfaat yang dapat

menimbulkan efek penurun kolesterol yaitu kandungan flavonoid, saponin, dan tannin (Martiasih & Maria dkk., 2012).

2.4.5 Kandungan Kimia Biji Pepaya

Bagian tanaman pepaya juga terbukti mempunyai khasiat obat adalah biji pepaya. Bahan kimia yang terkandung dalam biji pepaya adalah :

2.4.5.1 Flavonoid

Hubungan senyawa flavonoid dengan trigliserida adalah dapat meningkatkan aktivitas enzim lipoprotein lipase yang dapat meningkatkan pemecahan trigliserida menjadi trigliserida dan gliserol jaringan adiposa. Kemudian mengalami metabolisme diubah menjadi glikogen atau untuk pembentukan energi. Flavonoid berkaitannya dengan anti oksidan karena memiliki kemampuan untuk memecah radikal bebas (Maryusman, 2020).

Flavonoid bisa meningkatkan ekskresi empedu melalui aktivasi enzim sitokrom P-450. Enzim sitokrom P-450 mengikat beberapa komponen dalam empedu jadi berkurang kadar kolesterol dalam tubuh. Flavonoid memiliki titik didih $>90^{\circ}\text{C}$ (Meirindasari & Murwani dkk., 2013). Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil atau gula yang tidak dimurnikan, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air (Suhend dkk., 2011).

Flavonoid merupakan senyawa polifenol, bersifat kimia senyawa fenol yaitu agak asam dan dapat larut dalam basa, biasanya memiliki warna ungu, merah, biru dan terkadang juga kuning. Karena flavonoid merupakan senyawa polihidroksi (gugus hidroksil) maka juga bersifat polar. Disamping itu dengan adanya gugus glikosida yang terikat pada gugus flavonoid sehingga cenderung menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air (Kumar & Pandey, 2013).

2.4.5.2 Saponin

Saponin dapat menurunkan kolesterol hati, menurunkan kadar trigliserida dan meningkatkan ekskresi tinja dari kolesterol (Meirindasari N, Murwani H dkk., 2013). Saponin bisa menghambat jumlah trigliserida dalam darah dengan cara menghambat penyerapan pada usus, sehingga dapat menyebabkan kolesterol

tidak dapat diserap, yang pada akhirnya dikeluarkan bersama dengan feses (Puspitasari dkk., 2016).

Saponin memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena, saponin dapat meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida sehingga mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas (Hasan & Thomas dkk., 2022). Saponin memiliki beberapa sifat kimia diantaranya, berbusa dalam air, memiliki rasa yang pahit. Sedangkan sifat fisika pada saponin adalah, larut dalam air dan etanol, beracun bagi hewan berdarah dingin, dan anti eksudatif (Hariana, 2013).

2.4.5.3 Tanin

Sedangkan tanin terdapat pada biji papaya yang bisa mengurangi penyerapan kolesterol dalam usus halus dan meningkatkan ekskresi asam empedu dengan mekanisme yang sama seperti saponin dan dapat meningkat sebaliknya pengangkutan kolesterol (Meirindasari & Murwani dkk., 2013).

Sifat fisik tanin umumnya, memiliki berat molekul tinggi dan cenderung mudah teroksidasi menjadi polimer, terutama tannin bentuknya amorf dan tidak memiliki titik meleleh. Tanin berwarna putih kekuningan hingga coklat muda, tergantung sumbernya tanin. Tanin bubuk atau berlapis-lapis seperti kerang, baunya khas dan memiliki rasa astringen. Warna Tanin akan menggelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka. Tannin memiliki sifat bakteriostatik fungistatik dan beracun (Irianty dkk, 2014).

Sifat kimia tannin, memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus fenol dan bersifat koloid, semua jenis tanin larut dalam air. Kelarutannya besar, dan ukurannya akan bertambah bila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin dapat dihidrolisis oleh asam, basa dan enzim. Ikatan kimia yang terjadi antara tanin, protein atau polimer lainnya terdiri dari: ikatan hidrogen, ikatan ion, dan ikatan kovalen (Yenti dkk, 2014).

2.4.5.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen dan berasal dari bagian cincin heterosiklik yang memiliki sifat basa (Lenny, 2018). Alkaloid pada tanaman dapat berbentuk amin, protein, sekunder,

tersier maupun kuartar dan bentuk tersebut yang menentukan kebasaaan alkaloid. Beberapa senyawa alkaloid bersifat racun untuk organisme (Septia Ningsih dkk, 2020). Alkaloid bebas biasanya tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam pelarut organik yang bersifat semi polar (eter, benzene, kloroform). Dalam bentuk garamnya, alkaloid mudah larut dalam pelarut organik polar (Perawati dkk, 2020).

Alkaloid yang telah diisolasi berupa padatn Kristal tidak larut dengan titik lebur yang tertentu atau memiliki kisaran dekomposisi. Sedikit alkaloid mempunyai bentuk amorf, nikotin dan koniin berupa cairan. Sebagian besar alkaloid tidak berwarna, tetapi beberapa senyawa yang kompleks, spesies aromatic berwarna (contoh : berberin berwarna kuning dan betanin berwarna merah). Alkaloid bersifat basa, sifat tersebut tergantung adanya pasangan electron pada nitrogen. Sifat basa alkaloid menyebabkan senyawa tersebut tergantung adanya pasangan elektoon pada nitrogen. Sifat basa alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat mudah mengalami dekomposisi, terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang menganung nitrogen yang akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetic pada rantai DNA sehingga sel akan mengalami kerusakan dan mendorong terjadinya lisis bakteri yang menyebabkan kematian sel bakteri (T.S. Gunawan & Christianto, 2020).

2.5 Simplisia

2.5.1 Definisi

Bahan alami kering digunakan untuk diproses dan tidak diproses. Pengeringan dapat dilakukan dengan pengeringan di bawah sinar matahari, angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan sebaliknya suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60° (FHI, 2017).

Pengertian simplisia menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia adalah bahan alam yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses, kecuali dinyatakan lain, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu (Lully, 2016):

2.5.1.1 Simplisia hewan

Merupakan hewan utuh atau zat bermanfaat yang dihasilkan dan masih berupa bahan kimia campuran (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

2.5.1.2 Simplisia pelican atau mineral

Merupakan bahan mineral atau pelican yang belum mengalami pengolahan atau yang telah mengalami proses pengolahan yang sederhana dan masih berupa campuran bahan kimia (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

2.5.1.3 Simplisia nabati

Berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan dari ketiganya. Eksudat tumbuhan sendiri merupakan isi sel dari tumbuhan yang keluar secara spontan atau dalam beberapa cara sengaja dilepaskan dari sel (Utami & Widiawati dkk., 2013). Simplisia nabati sudah umum dikenal oleh masyarakat akrab dengan tanaman obat. Tumbuhan obat merupakan tumbuhan yang memiliki khasiat menyembuhkan atau mencegah penyakit (Sari dkk., 2018).

2.6 Syarat Simplisia

Menurut Farmakope Herbal Indonesia tahun 2017, memiliki persyaratan simplisia, yakni :

1. Kadar air dalam simplisia tidak lebih dari 10%
2. Susut pengeringan
3. Memiliki kandungan senyawa kimia
4. Organoleptis : dilakukan dengan cara mengamati bau, rasa, bentuk, dan warna dari simplisia.
5. Bebas dari cemaran mikroba serta logam berat.

2.6.1 Langkah Pembuatan Simplisia

Tujuan pengelolaan pascapanen tanaman obat adalah membuat simplisia tanaman siap konsumsi baik dengan cara langsung oleh masyarakat umum, sebagai bahan baku jamu, industri obat tradisional dan untuk tujuan ekspor (Ningsih, 2016).

2.6.1.1 Pengumpulan Bahan Baku

Kualitas bahan baku simplisia dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat bertumbuh (Gafur & Rizki, 2021).

2.6.1.2 Pencucian

Proses ini dilakukan dengan menggunakan air bersih (air minum standar), air dari mata air, air sumur, atau air keran. Terutama untuk bahan yang mengandung senyawa aktif yang mudah larut dalam air, cuci dilakukan secepat mungkin (tidak direndam). Mencuci dengan air mengalir sebanyak 3x, digunakan untuk menghilangkan kotoran agar tidak menempel kembali. Mencuci bahan simplisia dalam jumlah banyak akan lebih efektif bila dilakukan dalam bak bertingkat yang menerapkan konsep air mengalir. Kotoran menempel pada bagian yang keras dapat dihilangkan dengan menyemprotkan air tekanan tinggi atau dengan menyikat (Ningsih, 2016).

2.6.1.3 Perajangan

Perajangan dilakukan agar mempermudah pada proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan, semakin tipis bahan yang dikeringkan, semakin cepat penguapan air yang terkandung pada simplisia. Sehingga mempercepat proses pengeringan (Handoyo & Pranoto, 2020).

2.6.1.4 Sortasi Basah

Proses sortasi basah dilakukan dengan cara memisahkan kotoran atau bahan asing. Selain itu, juga bisa memisahkan bagian anaman yang rusak atau cacat karena hama (Gafur & Rizki, 2021).

2.6.1.5 Pengeringan

Mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga bisa disimpan dalam jangka waktu lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Pengeringan yang banyak digunakan untuk menghasilkan simplisia tanaman, seperti pengeringan dengan di angina-anginkan, oven, matahari (Wahyuni dkk., 2017)

2.7 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi simplisia dengan cara yang cocok, jauh dari sinar matahari langsung (FHI, 2017).

Pengertian ekstrak menurut Farmakope V Indonesia adalah sediaan konsentrat diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir

semua semua pelarut diuapkan dan massa atau bubuk yang tersisa diolah sehingga memenuhi standar yang ditetapkan oleh (Kementerian Kesehatan RI, 2014).

2.8 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi akan dihentikan pada saat sudah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampe dengan penyaringan (Tetti, 2014).

Proses ekstraksi akan berhenti ketika kesetimbangan tercapai konsentrasi senyawa dalam pelarut. Setelah proses ekstraksi selesai, residu menjadi padat dan pelarut dipisahkan dengan penyaringan. Definisi lain dari ekstraksi adalah proses yang dilakukan untuk mendapatkan kandungan senyawa kimia dari jaringan tanaman dan hewan dengan pelarut sesuai dengan prosedur ekstraksi standar (Sudarwati & Fernanda, 2019).

2.9 Metode Ekstraksi

2.9.1 Ekstraksi dingin

2.9.1.1 Maserasi

Maserasi adalah suatu proses ekstraksi yang tidak menggunakan proses pemanasan, sedangkan untuk menarik senyawa dalam ekstrak menggunakan kepolaran pelarut. Mekanisme kerja maserasi yaitu dengan melakukan perendaman ekstrak pada suhu kamar dan sesekali dikocok untuk menarik senyawa aktif agar keluar (Suhendar dkk., 2020).

Proses ekstraksi dihentikan jika sudah mencapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa ekstrak dalam pelarut dengan konsentrasi dalam ekstrak tanaman. Setelah itu, ekstraksi disaring untuk memisahkan sampel dengan pelarut. Keuntungan metode ini adalah tidak mengeluarkan biaya mahal, dan dapat mengantisipasi rusaknya senyawa yang bersifat termolabil. Kekurangan dari maserasi adalah membutuhkan waktu lama, memerlukan pelarut cukup banyak dan besar kemungkinan terdapat senyawa yang hilang selama proses ekstraksi (Mukhtarini, 2011).

2.9.1.2 Refluks

Prinsip kerja refluks adalah pelarut volatile yang dipakai akan menguap pada suhu yang tinggi, setelah itu uap panas tersebut akan didinginkan melalui kondensor, sehingga pelarut akan berubah menjadi embun pada kondensor dan akan turun menuju wadah reaksi sehingga, pelarut akan tetap ada pada proses ekstraksi. Pelarut akan menetrasi kedalam simplisia dan menghasilkan minyak (Azhari dkk., 2020).

2.9.1.3 Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyaringan simplisia dengan melewati pelarut yang sesuai dengan lambat pada simplisia dalam satu percolator. Perkolasi bertujuan agar zat berkhasiat tertarik seluruhnya dan biasanya dilakukan pada zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan panas. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk simplisia tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel yang dilalui hingga mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan yang ada di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan, kekuatan yang berperan pada proses perkolasi ialah gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan geseran (Aditya, 2015).

2.9.1.4 Ekstraksi Panas

Cara ini pasti melibatkan pemanasan dalam proses. Pemanasan itu akan menyala secara otomatis mempercepat proses penyaringan dibandingkan dengan metode dingin. Metodenya refluks, ekstraksi dengan alat soxhlet dan infus. Berikut penjelasan singkat mengenai metode ekstraksi panas.

2.9.1.5 Refluks

Salah satu cara mensintesis senyawa anorganik adalah refluks, metode ini digunakan saat dalam sintesis menggunakan pelarut yang mudah menguap. Prinsip metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, tetapi akan didinginkan oleh kondensor sehingga pelarut dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan jatuh kembali bejana reaksi sehingga pelarut akan tetap utuh saat reaksi berlangsung. (Sudarwati & Fernanda, 2019).

2.9.1.6 Sokletasi

Sokletasi merupakan metode pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga seluruh komponen yang diinginkan akan terisolasi. Sokletasi digunakan pada pelarut organik. Dengan cara pemanasan, sehingga uap yang timbul setelah dingin secara berlanjut akan membasahi sampel, secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu ukur dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi (Anham, 2015).

2.10 Evaporasi

Evaporator adalah alat yang digunakan untuk menguapkan larutan. Evaporasi berarti menghilangkan air dari larutan dengan mendidihkan larutan dalam tabung evaporator. Penguapan bertujuan untuk memekatkan larutan yang terdiri dari zat terlarut yang tidak mudah menguap dengan pelarut yang mudah menguap. Atau bisa dikatakan penguapan itu adalah proses penguapan. Evaporator berfungsi untuk mengubah sebagian atau total pelarut dari larutan dari cair ke uap (Ahyari, 2009).

2.11 Analisis LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)

Analisis LC-MS menghasilkan data kromatogram spektral yang besar. Untuk meringkas dan mengekstrak informasi dari data, teknik pengenalan pola dalam kemometri dapat digunakan. Selanjutnya, kemometri dapat digunakan untuk memprediksi sifat sampel, seperti kualitas atau aktivitas biologis (Tanaka & Arita dkk., 2015/2016).



Gambar 2.5 Alat LC-MS

Spesifikasi LC/MS adalah :

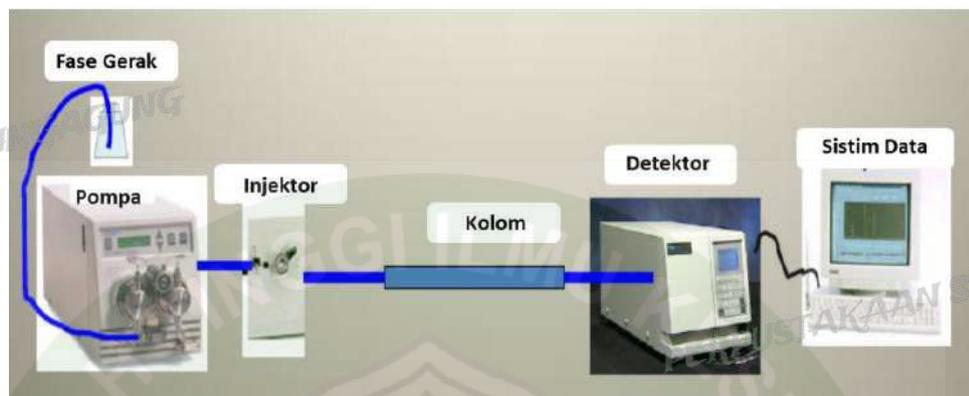
- Mass analyzer : Dua penganalisa quadrupole stabilitas tinggi beresolusi tinggi, plus pra filter untuk memaksimalkan resolusi dan transmisi sekaligus mencegah kontaminasi penganalisa utama.
- Detector : kebisingan rendah, sumbu mati, detektor ohotomultiplier umur panjang, rentang dinamis digital 4×10^6

Evaluasi analisis LC-MS dalam kaitannya dengan aktivitas suatu sampel dapat menggunakan teknik kimia dengan teknik Principal Component Analysis (PCA) dan Partial Least Square (PLS). PCA digunakan dalam pengelompokan *Centella asiatica* yang dipengaruhi oleh asam asiatik, asiaticoside, asam madecassic, dan madecassoside (James & Tugizimana dkk.,2013).

LCMS merupakan teknik analisis dengan resolusi tinggi dan dapat digunakan dalam analisis kuantitatif maupun analisis struktural sehingga dapat memberikan pendekatan yang berguna dalam menentukan profil suatu metabolit (Sumartini dkk., 2020). Keuntungan menggunakan analisis LC-MS yaitu dapat lebih luas menganalisis berbagai komponen, seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein (Mangurana dkk 2019). Komponen elusi dari kolom kromatografi kemudian dilanjutkan ke spektrometer mass melalui antramuka. Prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alat LC-MS terdiri atas kolom (sebagai fase diam) dan larutan tertentu sebagai fase gerak tekanan tinggi digunakan untuk mendorong fase gerak. Campuran analit akan terpisah sampai ke detektor (waktu retensinya) akan berbeda, hal ini akan diamati pada spektrum yang terpisah (Mangurana dkk., 2019).

Menurut Lutter dkk., (2011) LC-MS memberikan informasi lebih terstruktural dibandingkan HPLC. Pada LC-MS, identifikasi senyawa lebih spesifik dibandingkan dengan HPLC karena pada LC-MS tidak hanya waktu retensi yang diamati tetapi juga pemisahan ion suatu senyawa. Uji kesesuaian sistem pada metode LC-MS dikehendaki adanya kepastian kesesuaian dan keefektifan sistem operasional aktif agar mendapatkan hasil yang baik (Rachmawati & PM, 2013). LC-MS ini dua gabungan alat HPLC dan MS, prinsip

kerja memisahkan beberapa senyawa atau campuran senyawa yang berdasarkan kepolarannya. Senyawa yang terpisah akan memperoleh senyawa murni yang bobot molekulnya diidentifikasi menggunakan alat *Mass Spectrum* (Yuliana & Arianti, 2020).



Gambar 2.6 Sistem Kromatografi Cair

Sistem KCKUT terdiri dari solvent reservoir, pompa, injektor, kolom, detektor, komponen pengumpulan data, dan pipa berdiameter kecil untuk menghubungkan semua komponen cair sebelum masuk ke spektrometri massa.

2.12 Simvastatin 10 mg (Sebagai kontrol positif (K+))

Simvastatin dipilih sebagai kontrol efek positif dari mekanisme ini karena bekerja di dalam tubuh, simvastatin bertindak sebagai depresan kadar kolesterol dalam darah dengan menghambat aksi 3-hidroksi 3-metilglutaril koenzim A reduktase (HMG Co-A reduktase). Enzim ini mengkatalis konversi HMG Co-A menjadi asam mevalonate adalah langkah pertama sintesis kolesterol. Ketika itu terjadi obesitas, kadar LDL otomatis masuk peningkatan kadar darah dan HDL menurun drastis (Ranti & Fatimawali dkk., 2013).

Simvastatin obat yang efektif untuk menurunkan kadar kolesterol LDL, dapat digunakan dalam jangka panjang untuk mencegah peningkatan kadar kolesterol. Simvastatin golongan statin yang mempunyai manfaat mortalitas dan morbiditas yang signifikan untuk pencegahan primer dan sekunder dari penyakit kardiovaskular. Tujuan pemberian simvastatin untuk menurunkan kadar kolesterol dengan cara menurunkan sintesis kolesterol di hati. Kelebihan simvastatin adalah cocok untuk digunakan pada penyakit hiperkolesterolemia yang lama dan sulit untuk dikontrol (Hariadini dkk., 2020).

2.13 Pelarut

Pada tumbuhan terdapat berbagai macam senyawa bioaktif dengan sifat kimia yang berbeda, sehingga untuk mendapatkan senyawa satu dengan yang lain dapat digunakan pelarut yang berbeda. Senyawa yang terkandung dalam tanaman bisa dikategorikan berdasarkan kepolarannya, senyawa polar dan non-polar, jadi penting untuk mengetahui karakteristik senyawa yang akan diisolasi. Pelarut yang paling umum digunakan adalah etanol, metanol dan aseton etil asetat. Etanol adalah pelarut yang baik untuk digunakan dalam ekstraksi polifenol dan aman untuk dikonsumsi. Metanol baik digunakan dalam ekstraksi senyawa polifenol dengan berat molekul yang lebih ringan. Sedangkan aseton bagus untuk digunakan dalam ekstraksi senyawa flavanol dengan berat molekul lebih besar (Do *et al.*, 2013).

2.13.1 Etanol

Etanol adalah pelarut organik yang umum digunakan untuk proses ekstraksi dan sudah sangat banyak laporan penelitian atau artikel penggunaan etanol. Ada beberapa alasan untuk menggunakan etanol, sebagian karena etanol relatif tidak beracun dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya rendah. Ini juga dapat digunakan dalam berbagai metode ekstraksi, ekstraknya aman untuk digunakan sebagai obat dan makanan. Alasan lain adalah karena etanol merupakan pelarut yang mudah diperoleh, efisien, aman bagi lingkungan, dan memiliki tingkat ekstraksi tinggi (Chen *et al.*, 2020, Fan *et al.*, 2020 & Jiménez *et al.*, 2019).

Konsentrasi etanol sangat mempengaruhi rendemen ekstrak yang diperoleh. Penggunaan Etanol sebagai pelarut dapat dikombinasikan dengan air dinyatakan dalam satuan persen (%) dan sekaligus dapat digunakan sebagai parameter dalam proses ekstraksi. Kombinasi etanol-air membuat semua perbedaan polaritas konsentrasi pelarut ekstraksi. Konsentrasi etanol sangat menentukan kekuatan hidrofobik pada proses disolusi dan kekuatan ikatan hidrogen atau gaya van der Waals pada komponen target, dalam proses pembubaran dan ekstraksi komponen target. Mengacu pada teori kesamaan dan kemampuan untuk bercampur satu sama lain, semakin mirip polaritasnya pelarut dengan zat terlarut, semakin cepat pembubaran zat terlarut dari sel tumbuhan. Peningkatan konsentrasi etanol dapat meningkatkan laju disolusi dan ekstraksi (Fan *et al.*, 2020 & Thoo *et al.*, 2013).

2.13.2 Metanol

Polaritas pelarut metanol lebih rendah dari pelarut air, berguna untuk melarutkan semua zat, baik yang bersifat polar maupun semipolar (Agustina, 2017). Metanol adalah pelarut yang lebih polar daripada etanol dan alkohol isopropil (Desta dkk., 2014).

2.13.3 N-heksana

N-heksana adalah senyawa hidrokarbon alkana, memiliki rumus kimia C_6H_{14} . Pelarut n-heksana berdifat non polar karena memiliki kemampuan untuk mengikat gugus non-polar (OH) yang ada pada zat pewarna flavonoid dan tannin. Senyawa ini merupakan cairan yang tidak berwarna dan tidak larut dalam air (Hujjatusnaina dkk., 2021)

2.13.4 CMC-Na

CMC-Na merupakan turunan dari karboksimetilasi selulosa. CMC-Na tersusun dari polimer eter linier dengan gugus karboksimetil ($-CH_2-COOH$) yang terikat pada beberapa gugus OH dari monomer glukopiranos. Strukturnya didasarkan pada polimer selulosa β -(1-4)-D-glukopiranos (Hoefler *et al.*, 2019). Penampakan CMC-Na secara organoleptik berupa serbuk atau butiran berwarna putih hingga krem dan bersifat higroskopis (Depkes RI, 2014).

CMC-Na dalam industri farmasi digunakan sebagai eksipien. Fungsi CMC-Na sebagai eksipien adalah sebagai zat pelapis, penstabil, zat pensuspensi, disintegrant dalam kapsul dan tablet, pengikat tablet, zat penambah viskositas, dan agen penyerap air (Rowe *et al.*, 2009). CMC-Na juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan film (Tufan *et al.*, 2016).

2.14 Hewan Uji

2.14.1 Definisi Tikus

Banyak tikus putih (*Rattus norvegicus*) digunakan sebagai hewan percobaan dalam berbagai penelitian. Pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan banyak dilakukan untuk menguji kelayakan atau keamanan suatu bahan obat serta untuk penelitian yang berkaitan dengan penyakit. Tikus putih memiliki beberapa ciri menguntungkan, sebagai hewan uji penelitian termasuk hewan yang bisa berkembang biak cepat, memiliki ukuran lebih besar dibandingkan dengan mencit, mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Tikus putih memiliki ciri-ciri

berkepala kecil, albino, ekor lebih panjang dibandingkan dengan tubuhnya, pertumbuhannya cepat, kemampuan laktasi yang tinggi, temperamen yang baik dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Tolistiawaty & Widjaja dkk.,2014).

Ada tiga galur tikus putih khusus yang digunakan sebagai hewan percobaan termasuk Wistar, Long Evans dan Sprague Dawley. Penentuan usia reproduksi pada tikus adalah dengan mempelajari fase hidup dan perilaku. Beberapa fase ini termasuk: masa hidup menengah 2,0–3,5 tahun, disapih pada 3 minggu, fase kematangan seksual atau pubertas dimulai pada usia 6 minggu, fase imatur pada 63-70 hari fase kematangan sosial pada usia 5-6 bulan, dan fase penuaan pada usia 15-24 bulan (Sengupta, 2013).

2.14.2 Klasifikasi Tikus

Tikus memiliki kemampuan beradaptasi di beberapa habitat, lingkungan dan sumber makanan. Ini menjelaskan mengapa tikus bisa ditemukan di seluruh dunia. *Rattus norvegicus* merupakan hewan percobaan yang ideal karena beberapa alasan, yaitu banyaknya ketersediaan literatur terkait dengan *Rattus norvegicus*, mudah ditangani, bahkan fertilitas tinggi, masa gestasi pendek, pemeliharaan rendah dan ini dapat digunakan sebagai model untuk berbagai gangguan dan penyakit manusia.



Gambar 2.11 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Zainuddin, 2021)

Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*), (Zainuddin, 2021) :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata

Kelas	: Mamalia
Sub kelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Family	: Muridae
Sub family	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesie	: Rattus norvegicus
Durasi breeding	: 12-16 bulan
Masa hidup	: 2,5-3,5 tahun

2.15 Pengambilan Darah Hewan Uji

Pengumpulan darah menggunakan jarum suntik atau alat steril dan selalu dijaga untuk mencegah hemolisi (pecahnya sel darah merah dan keluarnya hemoglobin ke plasma). Secara umum, mengambil terlalu banyak darah dari hewan kecil akan menyebabkan syok hipovolemik, stres, dan bahkan bisa menyebabkan kematian. Pengambilan darah yang salah juga dapat menyebabkan anemia pada hewan uji. Pada umumnya pengambilan darah hanya dilakukan sekitar 10% dari total volume darah dalam tubuh hewan uji dalam selang waktu 2-4 minggu (total volume darah pada tikus 64 ml/kg BB). Atau sekitar 1% dari berat badan dengan interval 24 jam. Batas maksimal pengambilan darah yang tidak beresiko keselamatan hewan (one time sampling) adalah 5,5 ml/kg berat badan untuk tikus (BPOM, 2021).

Pengambilan sampel darah pada hewan uji dapat melalui di beberapa tempat antara lain :

2.15.1 Sinus Retro Orbital

Metode ini merupakan pengambilan darah dengan hewan coba yang bisa bertahan hidup, salah satunya tikus. Pada metode ini hewan coba dapat dilakukan anestesi umum atau local. Sinus retro orbital terletak dibelakang mata. Pengambilan darah harus secara hati-hati dan tidak boleh menggores kornea (Handharyani, 2017).

2.15.2 Ekor

Darah dapat diperoleh dengan mudah di saluran tegak lurus dengan permukaan ekor. Pengambilan sampel darah melalui vena lateral atau arteri ventral mudah dilakukan, dan memungkinkan untuk pengulangan, bisa dilakukan dengan jarum suntik atau hanya jarum langsung ke dalam vial (BPOM, 2021).

2.15.3 Intrakardium

Teknik ini dilakukan pada hewan yang dibius sebagai metode terminal (pada akhir tes) dan umumnya ketika banyak darah dibutuhkan, tikus yang diambil darahnya akan dikorbankan kemudian dinekropsi untuk mengambil organ. Setelah anestesi dan eutanasia, kemudian pembedahan, jarum suntik menyuntikkan langsung ke jantung dan perlahan-lahan menarik (BPOM, 2021).

Teknik ini juga bisa dilakukan tanpa membuka rongga dada yaitu dengan mengakses jantung dari sisi kiri dada, rasakan/palpitasi detak jantungnya lalu masukkan jarum di antara tulang rusuk ke 3 dan 5, kumpulkan perlahan (Handharyani, 2017).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi (pyrex), erlemayer (pyrex), beaker glass (pyrex), gelas ukur (pyrex), oven, pengayak mesh 80, kertas saring, pipet, blender atau coper (Kirin), batang pengaduk, waterbat, kapas, bunsen, rotary evaporator, handskun, LC-MS, cawan porselen (pyrex), corong (pyrex), bejana kaca, timbangan analitik (Goto), sonde oral, spuit injeksi, blood collection tube, sentrifugator 3000 rpm, tabung heparin 3 ml, spuit 1cc dan 3cc, *blood chemistry analyzer* 1 UBIO Ichem – 535..

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, etanol 70% (onemed), simvastatin 10 mg (Kimia Farma), ekstrak biji papaya, CMC-NA 0,5%, tikus jantan *Sprague Dawley, aquadestilata* (onemed), asam sulfat pekat, asam klorida, asam asetat (emusre), HCL (emsure), FeCl₃ 1% (emsure), xylazine, ketamine, magnesium (Mg), lemak babi, pakan standar, reagen trigliserida (dumolab).

3.2 Populasi Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji papaya yang diperoleh dari Desa Mirigambar, Rt/Rw 01/06, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah biji papaya yang sudah tua dengan ciri-ciri berwarna hitam pekat yang diperoleh dari Desa Mirigambar, Rt/Rw 01/06, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel adalah semua faktor, kondisi, situasi, perlakuan (treatment) dan semua tindakan yang dapat digunakan untuk mempengaruhi hasil percobaan. Karena penelitian eksperimen adalah untuk melihat pengaruhnya, maka variabel dapat dikelompokkan menjadi variabel bebas dan variabel terikat (Sanjaya Wina, 2013).

3.4.1 Variable bebas

Variable bebas adalah suatu variable yang dapat mempengaruhi atau menjadi penyebab perubahan terhadap variable terikat (Ulfa, 2019) Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah ekstrak biji pepaya diberikan secara per-oral.

3.4.2 Variable terikat

Variable terikat adalah variable yang mendapat pengaruh dari adanya data dari variable bebas (Sugiyono, 2012). Variable terikat pada penelitian ini adalah pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya terhadap kadar trigliserida pada tikus jantan *Sprague Dawley*.

3.4.3 Variabel Kontrol

Variable kontrol adalah variable yang mengontrol pengaruh variable bebas pada variable tak bebas (Ulfa, 2019). Pada penelitian ini yang digunakan untuk variable kontrol adalah tikus jantan *Sprague Dawley*.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Etichal Clearance

Penelitian yang menggunakan hewan uji harus terlebih dahulu melakukan ethical clearance, karena wajib lolos. Jika hewan uji tidak lolos etichal clearance, maka tidak boleh dipublikasi dan mendapat penolakan awal oleh editor jurnal ilmiah (Felix, 2021).

3.5.2 Determinasi Tanaman Pepaya

Determinasi digunakan untuk mendapatkan identitas yang benar secara jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan penelitian utama (Fidyasari dkk., 2017). Penelitian ini melalukan determinasi tumbuhan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu, Malang, Jawa Timur.

3.5.3 Pembuatan Simplisia

Menurut Ariana dkk., (2019) biji pepaya dikeluarkan dari buahnya, lalu sortasi basah, dicuci dengan air mengalir sebanyak 3x, dan dikeringkan. Biji pepaya dikeringkan dengan pengering surya tertutup menggunakan kain hitam selama 3 hari sampai benar-benar kering. Biji pepaya kering kemudian disortir

hingga kering, lalu dijadikan bubuk gunakan blender hingga halus ukuran seragam, kemudian bubuk disimpan dalam wadah tertutup.

3.5.4 Uji Susut Pengerinan

Penyusutan pengeringan merupakan parameter non-spesifik yang bertujuan untuk memberikan batas (kisaran) maksimum mengenai jumlah senyawa yang hilang dalam proses pengeringan (Utami dkk., 2017).

$$\text{Susut pengeringan \%} = \frac{a-b}{a} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

Keterangan :

a = berat awal biji (gr)

b = berat akhir (gr)

3.5.5 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Penentuan kadar air merupakan pengukuran kadar air simplisia kering dan serbuk. Penentuan kadar air bertujuan untuk memberikan kisaran minimum jumlah kadar air dalam serbuk simplisia (Najib dkk., 2017).

Serbuk biji pepaya sebanyak 10 gram termasuk dalam penganalisa kelembaban atau moisture analyzer, kemudian suhu diatur ke 105°C dan dibiarkan selama 3 - 5 menit. Nilai kadar air serbuk biji pepaya akan terlihat di layar dan memenuhi persyaratan jika < 10%. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui batas maksimal besarnya kandungan air dalam bahan, menghilangkan kadar air hingga jumlah tertentu yang berguna untuk memperlama ketahanan bahan selama waktu penyimpanan (Siswati, 2020).

$$\text{Kadar air \%} = \frac{a-b}{a} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3. 2})$$

Keterangan :

a = berat awal biji (gr)

b = berat akhir biji (gr)

3.5.6 Pembuatan Ekstraksi Biji Pepaya

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan serbuk dan pelarut 1:10, dimasukkan kedalam bejana kaca, ditambahkan etanol 70% sebanyak 1000 ml sampai serbuk terendam sempurna. Bejana kaca disimpan pada ruangan tertutup tanpa adanya cahaya matahari, diamkan selama 5 x 24 jam, sesekali diaduk agar penyaringan zat sempurna. Setelah 5 hari 24 jam, maserat dikeluarkan dan masuk ke proses

penyaringan menggunakan kain saring. Lakukan remaserasi sampai maserat menjadi bersih atau jernih, setelah proses tersebut selesai, hasil filtrate dipisahkan dengan alat rotary evaporator di UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu, Malang, Jawa Timur dengan suhu 40°C, dan untuk proses pengentalan dengan cara dilakukan diatas waterbath (Utami dkk., 2017).

3.6 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

3.6.1 Uji Ekstrak Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga diperoleh ekstrak murni tanpa adanya kontaminasi, selain itu etanol sendiri memiliki sifat antibakteri dan anti jamur sehingga tidak menimbulkan false positive pada sampel yang diberi perlakuan (Kurniawati, 2017). Uji bebas etanol dilakukan dengan cara memasukkan sampel ke dalam tabung reaksi, menambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan. Ekstrak dikatakan bebas etanol jika tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Tenda, 2017).

Ekstrak biji pepaya di uji etanol 70% dengan menggunakan uji kualitatif yaitu ekstrak ditambah dengan 2 tetes H₂SO₄ pekat dan 1 ml larutan kalium dikromat, jika tidak ada kandungan etanol ekstrak ditandai dengan tidak adanya perubahan warna awal dari jingga menjadi hijau kebiruan (Adiningsih dkk., 2020).

3.6.2 Rendemen

Rendemen adalah perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat sederhana sebagai bahan baku. Semakin tinggi nilai hasil menunjukkan ekstrak yang dihasilkan lebih besar. Hitung rendemen yang diperoleh dengan persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang di hasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan (Nahor dkk., 2020).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkn}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\% \text{ (Persamaan 3.3)}$$

3.6.3 Uji Kadar Abu Total

Sebanyak 2-3 gam bahan uji yang sudah dihaluskan ditimbang seksama dan dimasukkan kedalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, lalu dipijarkan perlahan-lahan sampai arang habis, dinginkan dan timbang. Untuk arang yang tidak dapat hilang, tambahkan air panas, aduk, disaring melalui kertas saring

bebas abu. Kertas saring beserta sisa penyaringan dipijarkan dalam krus yang sama. Filtrate masuk ke dalam krus, uapkan dan pijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji. Kadar abu total dapat dihitung dengan rumus ini: (Sumiwi dkk., 2013).

$$\text{Kadar abu total (\%)} = \frac{\text{Berat abu total}}{\text{Berat bahan uji}} \times 100\%$$

3.7 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan reagen untuk mendeteksi golongan senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan lain-lain (Putri dkk., 2013).

3.7.1 Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 2 gr ditambahkan serbuk Mg secukupnya untuk mengoksidasi sampel. Ditambahkan 10 tetes HCL. Hasil flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hitam kemerahan atau jingga pada larutan (Isnania dkk., 2014). Senyawa flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCL sehingga menghasilkan warna hitam kemerahan atau jingga. (Yuda, 2017).

3.7.2 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan mencampurkan 2 ml ekstrak dengan ditambah 5 ml *aquadestilata*, kocok sampai menghasilkan busa stabil, setelah itu ditambahkan 1 tetes HCL 2N. indikator positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil (Putri, 2021). Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan menimbulkan busa saat dikocok. Saponin mempunyai karakteristik berupa buih, sehingga ketika direkasikan dengan air dan dikocok akan membentuk buih seperti cincin yang dapat bertahan (Sari & Sumadewi, 2020).

3.7.3 Uji Tanin

Sebanyak 3 mL sampel dicampurkan dengan FeCl_3 , lalu ditambahkan 2-3 tetes larutan H_2SO_4 , setelah itu amati perubahan warna yang terjadi. Indikator positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna kuning kecoklatan. Kondisi ini terjadi karena senyawa tanin mempunyai sifat polar sehingga dapat larut dalam etanol. Sehingga dapat ter ekstrak dengan baik (Akasi dkk., 2021).

3.7.4 Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 2 gr ditambahkan larutan kloroform 5 ml dan amoniak 5 ml didalam tabung reaksi dipanaskan, dikocok lalu disaring. Ditambahkan 5 tetes larutan H_2SO_4 dan dikocok sampai membentuk dua lapisan. Lapisan asam (atas) di pipet dan dimasukkan kedalam 2 tabung reaksi. Pada tabung reaksi pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer, tabung reaksi kedua ditambahkan pereaksi dragendroff terbentuk endapan merah jingga (Istiqori dkk., 2022).

3.8 Uji LC-MS Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Hasil analisis dari LC-MS akan mendapatkan kromatogram berupa alur tinggi peak dan akan mendapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat di ketahui jumlah senyawa yang dikandung pada tiap sampel. Data dari LC-MS bisa digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu. Senyawa dipisahkan karena interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) (Mangurana dkk., 2019).

Uji kandungan senyawa ekstrak biji pepaya merupakan pengujian menggunakan alat LCMS yang bertempat di Universitas Muhammadiyah Malang. Tujuan menggunakan LCMS adalah untuk menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein (Mangurana et al., 2019).

Sampel cair diambil sebanyak 2 ml, ditempatkan pada labu takar 100 ml. Ditambahkan dengan metanol 90% sampai tanda volum 100 ml, homogenkan dan diamkan selama 30 menit dalam suhu dingin. Saring larutan dengan erlenmeyer vaccum filter, sehingga didapatkan filtrat. Ambil 10 ml filtrat untuk dilakukan sentrifugasi. Lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4 C selama 10 menit.

Ambil supernatan yang diperoleh tempatkan pada tabung reaksi. Selanjutnya pengenceran ekstrak ambil 1 ml ekstrak tempatkan pada labu takar 25 ml dan tambahkan dengan dengan metanol 90% sampai tanda batas. Larutan disaring dengan membran filter, cellulose acetate 0,45 μm dan dilakukan degassing. Larutan siap digunakan untuk analisis LC-MS.

3.9 Uji Aktivitas Kadar Triglicerida

3.9.1 Pembuatan Suspensi Larutan CMC-Na 0,5%

Pembuatan larutan CMC Na 0,5% dibuat dengan cara menimbang 500 mg CMC Na ke dalam 10 ml *aquadestilata* panas kemudian didiamkan selama kurang lebih 15 menit hingga bening dan terlihat seperti gel. Kemudian diaduk hingga menjadi massa yang homogen dan diencerkan dalam labu ukur dengan *aquadestilata* hingga volume 100 ml (Wulandari, 2022).

3.9.2 Pembuatan Suspensi Simvastatin

Digunakan simvastatin dengan mekanisme kerja dengan cara menghambat sintesis kolesterol dalam hati, dengan menghambat enzim HMG CoA reduktase (Yusuf, 2016).

Dosis simvastatin manusia dewasa bobot 70 kg adalah 10 mg, konversi dosis dari manusia ke hewan tikus adalah 0,018 jadi, simvastatin 0,18 mg/200grBB digerus dalam mortar, setelah itu ditambahkan larutan CMC-Na 0,5% sedikit demi sedikit hingga mengembang, lalu aduk *ad homogeny*, tuang dalam labu ukur, tambah dengan *aquadestilata* 50 ml (Rangkuti & Lubis, 2018).

3.9.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Pepaya

Berat badan rata-rata tikus 200gr. Pada pembuatan dosis ekstrak biji pepaya digunakan 3 variasi dosis yaitu 150 mg, 300 mg, 450 mg. Konversi dosis manusia 70 kg ke tikus 200 gr jadi 0,018. Jadi, pemberian pada tikus dengan dosis 150 mg/kgBB yaitu 2,7 mg, 300 mg/kgBB yaitu 5,4 mg, dan dosis 450 mg/kgBB yaitu 8,1 mg. Pemberian pada tikus secara per oral menggunakan alat sonde, sediaan ekstrak biji pepaya berupa suspensi maka ekstrak biji pepaya ditimbang dilarutkan dalam pelarut CMC-Na 0,5% ad 30 ml. Volume pemberian oral simvastatin berdasarkan berat badan pada tikus, contoh berat badan tikus 230g/200g x 2,7 mg, jadi total yang diberikan 3,105 mg secara per oral.

3.9.4 Pemberian Pakan Tinggi Lemak

Pakan tinggi lemak yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan standart 95% dan lemak babi 5%. Jadi, cara pembuatan lemak babi yaitu dengan cara memanaskan lemak babi sampai berubah menjadi minyak, diberikan selama 2 minggu (Harsa, 2014).

3.9.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* (*Rattus norvegicus* galur *Sprague-Dawley*) dengan berat badan 150-250 gram dan berumur 8 minggu. Mengapa menggunakan tikus jantan, karena hormon pada tikus putih jantan tidak dipengaruhi oleh hormon reproduksi, hal ini disebabkan kadar estrogen yang relatif rendah pada tikus putih jantan dibandingkan dengan tikus putih betina, sebelum diberi perlakuan, tikus diaklimasi selama 2 minggu dengan menempatkan mereka dalam kandang kelompok berupa bak plastik. Selama aklimatisasi, tikus diberi pakan berupa pelet dan minum libitum. Tujuan dari aklimatisasi ini adalah untuk membakukan cara hidup dan makanan hewan coba yang digunakan dalam penelitian. (Himawan & Resti, 2017).

Penelitian kali ini, hewan percobaan tikus akan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dan masing-masing perlakuan diisi 6 ekor tikus *Sprague Dawley* :

Kontrol positif = Pakan standart, diberi lemak babi selama 2 minggu, setelah itu diberi suspensi simvastatin per-oral selama 14 hari.

Kontrol negatif = Pakan standart ditambah dengan pemberian minyak babi selama 2 minggu tanpa pengobatan.

Normal = Pakan standar

Perlakuan 1 = Pakan standart ditambah lemak babi selama 2 minggu, setelah itu diberikan ekstrak etanol biji papaya dengan dosis 150 mg/kg/BB secara per-oral selama 14 hari berturut-turut.

Perlakuan 2 = Pakan standart ditambah lemak babi selama 2 minggu, setelah itu diberikan ekstrak etanol biji papaya dengan dosis 300 mg/kg/BB secara per-oral selama 14 hari berturut-turut.

Perlakuan 3 = Pakan standart ditambah lemak babi selama 2 minggu, setelah itu diberikan ekstrak etanol biji papaya dengan dosis 450 mg/kg/BB secara per-oral selama 14 hari berturut-turut.

3.10 Cara Pengambilan Darah Tikus

Hewan sebelumnya dipuaskan 12-14 jam setelah itu dibius, lokasi pengambilan darah di intra cardial (jantung) dan vena ekor menggunakan spuit 3cc. Pada jantung, dapat dilakukan dengan menusukkan jarum spuit ke tengah antara tulang rusuk kanan kiri sedangkan pada vena ekor, cukur bulu tikus yang

ada pada ekor, setelah itu berikan goresan/irisasi sedikit pada ekor, tusukkan jarum spuit secara pelan, ambil darahnya dengan sudut kemiringan 45° , masing-masing disimpan di blood vacuum tube. Sampel diambil 3ml pindahkan ke mikrotube dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama kurang lebih 15 menit agar mendapatkan serumnya. Setelah itu lakukan pengukuran kadar trigliserida. Metode ini merupakan metode pengambilan darah dengan hewan coba yang dapat dikorbakan sampai proses pembedahan. Metode ini hewan coba dapat dilakukan anestesi umum dan anestesi lokal menggunakan ketamin dan xylazine melalui *intraperitoneal* (IP) dengan dosis 0,01 mL (Handajani, 2021)

3.11 Pengukuran Kadar Trigliserida

Pengukuran kadar trigliserida pada hewan uji, dilakukan di Laboratorium Universitas Islam Negeri Malang. Nilai normal kadar trigliserida adalah kurang dari 150 mg/dL (Ambarsari, 2022).

Sebelum dilakukan pengukuran kadar trigliserida, terlebih dahulu mengambil darah pada tikus, dimasukkan kedalam tabung EDTA, didiamkan selama 30 menit kemudian di sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, lapisan plasma diambil dengan menggunakan mikropipet dimasukkan ke dalam wadah yang bersih dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar trigliserida. Pemeriksaan kadar trigliserida menggunakan metode *glycerol-3-phosphate oxidase-phenol aminophenazone* (GPO-PAP). Metode ini menggunakan prinsip oksidasi dan hidrolisis enzimatis. Sebanyak 10 μ L plasma direaksikan dengan reagen kit trigliserida sebanyak 1000 μ L lalu dikocok dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit sampai terbentuk warna merah muda. Standar dibuat dengan mencampurkan 10 μ L standar trigliserida dan 1000 μ L reagen kit trigliserida. Blanko dibuat dari 1000 μ L reagen kit pereaksi tanpa penambahan apapun. Serapan sampel diukur dengan Photometer 5010V5+ pada panjang gelombang 546 nm (Nofianti, 2015).

3.12 Analisis Data

Data yang didapat menggunakan system computer, menggunakan program SPSS (*Statistical Product Service Solution*). Pengolahan data mencakup seperti berikut :

3.12.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data adalah uji yang digunakan untuk mengukur apakah data memiliki distribusi normal, sehingga dapat digunakan pada statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data. Selanjutnya, akan dilanjutkan dengan menggunakan uji homogenitas. Pengambilan keputusan bermakna jika:

1. Jika $p > 0,05$, maka H_0 diterima
2. Jika $p \leq 0,05$, maka H_1 diterima

3.12.2 Uji Homogenitas

Uji ini merupakan uji yang digunakan untuk menentukan keputusan pada uji statistik. Dasar atau pedoman pengambilan keputusan dalam uji homogenitas yaitu :

1. Jika $p > 0,05$, maka H_0 diterima
2. Jika $p \leq 0,05$, maka H_1 diterima

3.12.3 Uji *One Way Anova*

Untuk menguji perbedaan kadar trigliserida serum tikus pada masing-masing kelompok digunakan uji *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil uji *one way ANOVA* dan Tukey bermakna jika diperoleh nilai $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) (Maryani *et al.*, 2016).

3.13 Hipotesis

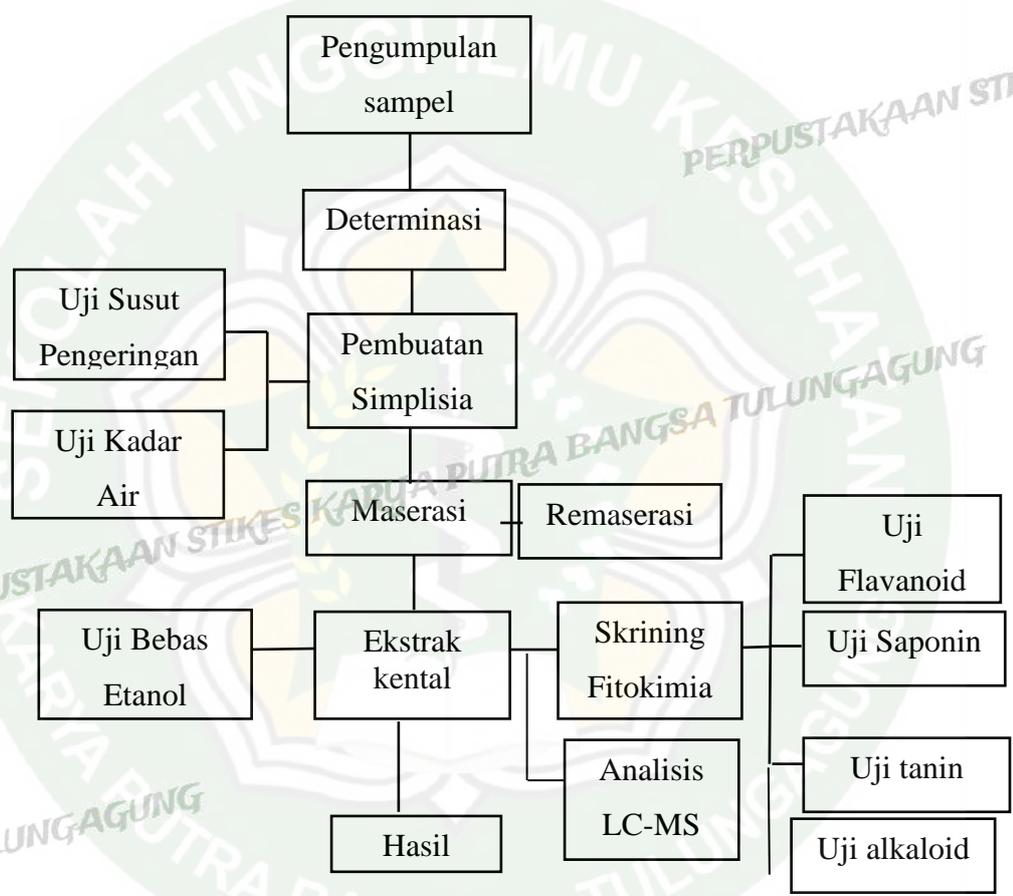
3.1.13 Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) mempunyai aktivitas terhadap kadar trigliserida.

3.2.13 Variasi konsentrasi optimum 300 mg ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar trigliserida.

3.3.13 Terdapat senyawa aktif quercetin (flavonoid) dengan peak tertinggi pada ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) setelah diidentifikasi dengan LC-MS

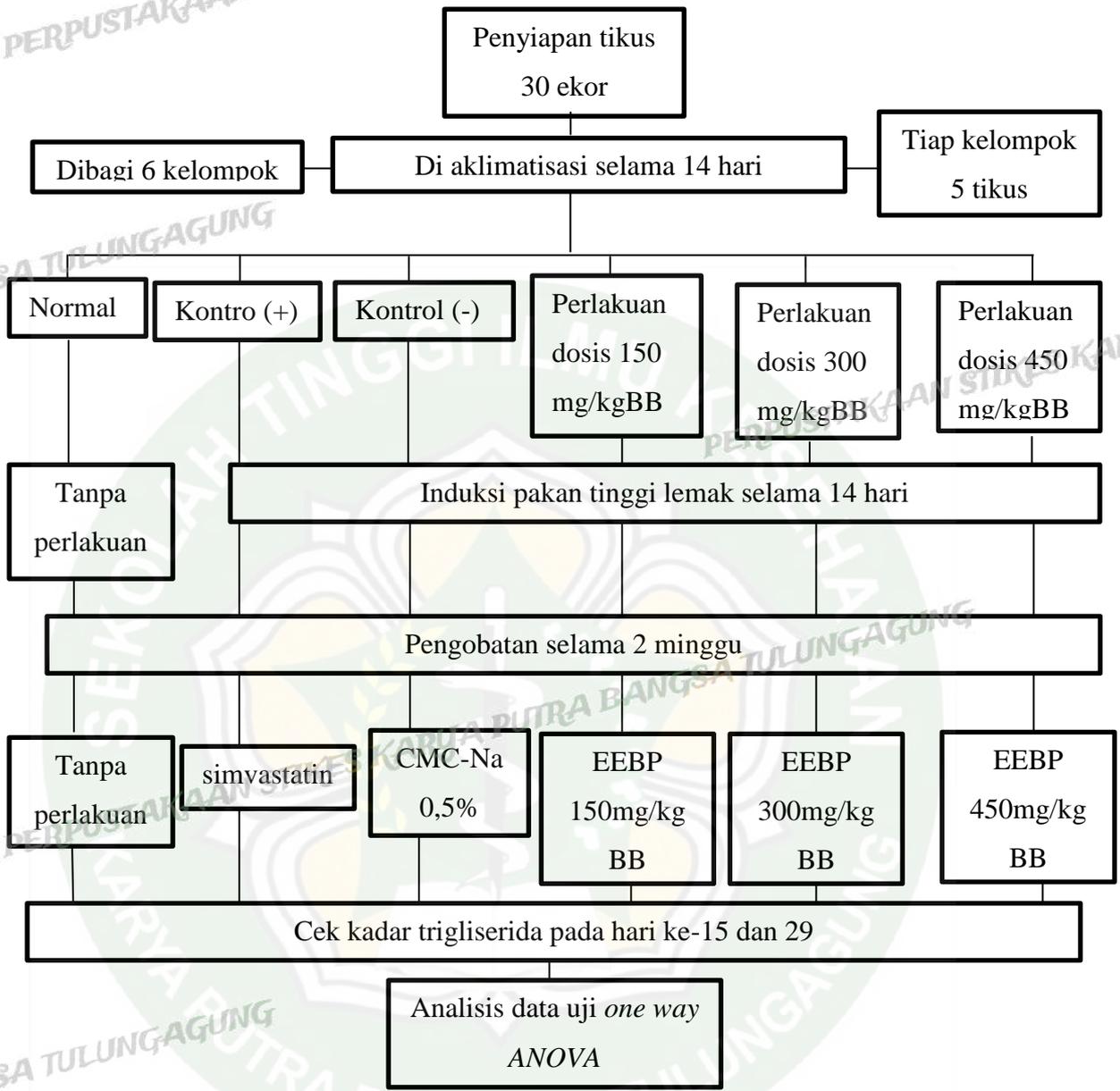
3.14 Kerangka Penelitian

3.14.1 Kerangka Pembuatan Simplisia



Gambar 3.1 Kerangka Pembuatan Simplisia

3.14.2 Kerangka Perlakuan Tikus



Gambar 3.2 Perlakuan Tikus

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman biji papaya dilakukan di UPT Laboratorium Materia Medika, Batu. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan biji papaya, dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-119b-120b-121b-124b-125a-126a : Caricaceae-1: *C.papaya*. Surat hasil determinasi biji papaya terdapat pada **Lampiran 1**.

4.2 Ethical Clearance

Ethical Clearance yang diajukan pada komite etik peneliti di Universitas Surabaya untuk penelitian pra-klinik, yang sudah disetujui oleh Institusional *Ethical Clearance Commite* Universitas Surabaya dengan nomor surat 110/KE/IV/2023 pada tanggal 13 April 2023 yang berlak pada tanggal 20 Maret 2023 sampai dengan tanggal 20 April 2023. Surat keterangan *Ethical Clearance* dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

4.3 Pembuatan Simplisia Biji Pepaya

Pembuatan simplisia biji papaya (*Carica Papaya L.*) dilakukan dengan pengambilan biji papaya sebanyak 20 kg, yang diperoleh dari Ds. Mirigambar, Rt/Rw 01/06, Sumbergempol, Tulungagung, Jawa Timur, dengan cara memanen buah papaya yang sudah masak terlebih dahulu. Proses pembuatan simplisia dilanjutkan dengan melakukan sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran/ benda asing sebelum pencucian melakukan pembuangan yang tidak diperlukan, sehingga bisa menghasilkan biji papaya yang layak pada proses pencucian. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih yang mengalir dengan proses pencucian sebanyak tiga kali yang bertujuan agar kotoran yang menempel pada biji papaya hilang ikut mengalir bersama air (Wulandari, 2022).

Biji papaya sesudah dilakukan proses pencucian/sortasi basah, kemudian dilakukan proses pengeringan untuk memperoleh biji papaya kering dengan cara di angin –anginkan dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari, karena akan merusak kandungan yang ada pada biji papaya. Simplisia yang sudah dikeringkan, selanjutnya dilakukan proses sortasi kering. Sortasi kering dilakukan bertujuan untuk memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan atau

pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering (Wahyuni dkk., 2014). Biji pepaya yang sudah kering, kemudian dihaluskan menggunakan blender untuk memperkecil ukuran partikel, setelah itu serbuk diayak menggunakan ayakan ukuran nomor mesh 80, agar serbuk biji pepaya memiliki ukuran yang seragam (Tiara dkk., 2022). Pengayakan menggunakan ayakan nomor mesh 80 bisa menghasilkan serbuk simplisia tampak berbeda baik dari segi warna serta memiliki aroma yang lebih kuat (Pranoto dkk., 2019).

4.4 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.4.1 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Uji susut pengerinan dilakukan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang akibat proses pengerinan (Damayanti, 2021). Proses pengerinan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada biji pepaya (*Carica Papaya L.*) sehingga bahan dapat disimpan lebih lama, menghentikan pembusukkan, serta volume bahan dan berat biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menjadi lebih kecil sehingga mempermudah dan menghemat ruang (Martunis, 2012). Hasil susut pengerinan dapat dipengaruhi oleh kadar air, suhu, dan lama waktu saat pengerinan. Hasil diperoleh dari uji susut dengan replikasi tiga kali mendapatkan hasil rata-rata 9,7%. Dapat disimpulkan bahwasannya hasil tersebut sesuai dengan acuan uji susut pengerinan biji pepaya menurut Farmakope Herbal Indonesia yakni tidak lebih dari 10%. Hasil uji susut pengerinan dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Table 4.1. Hasil Susut Pengerinan Simplisia Biji Pepaya

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir			Rata-rata \pm SD
	Basah (gram)	Kering (gram) (Replikasi)			
		I	II	III	
Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	15	13,7	13,1	13,8	9,7 \pm 2,50 %

4.4.2 Uji Kadar Air Simplisia Biji Pepaya

Uji kadar air digunakan untuk salah satu parameter untuk melihat kualitas ekstrak dan menentukan suatu residu air setelah proses pengeringan biji pepaya (*Carica Papaya L.*). Penetapan kadar air simplisia sangat penting untuk memberikan batasan maksimal kandungan air di dalam simplisia, karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur, yang bisa merusak senyawa yang terkandung pada simplisia (Depkes RI, 2000:15). Persyaratan kadar air simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 10%.

Pengujian kadar air simplisia dilakukan di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Hasil kadar air yang diperoleh dari simplisia biji pepaya (*Carica Papaya L.*) bisa dilihat pada **Tabel 4.4**. Hasil yang diperoleh sudah memenuhi syarat kadar air yaitu, dengan rata-rata 1,86 %, tidak melebihi batas 10%.

Tabel 4.2 Hasil Kadar Air Simplisia Biji Pepaya

Sampel	Bobot Awal (gram)	Bobot Akhir dengan Replikasi (gram)			Rata-rata (gram) ± SD
		I	II	III	
		Biji pepaya (Carica Papaya L.)	10	9,85	

4.5 Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Pembuatan ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menggunakan metode maserasi. Berdasarkan penelitian Yuniwati dkk., (2021) maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil tanpa pemanasan atau pemanasan dengan suhu yang rendah. Metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang di ekstrak tidak akan rusak. Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel sehingga metabolit

sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa dkk., 2019). Perbandingan antara serbuk dan pelarut adalah 1:10. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia 100 gram dalam pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL, dimasukkan kedalam bejana kaca, bejana kaca disimpan pada ruangan tertutup, terhindar dari sinar matahari langsung dan didiamkan selama 5x24 jam ,sambil sesekali dikocok yang bertujuan agar agar proses penyarian zat pada simplisia terjadi secara sempurna dan supaya simplisia tidak jenuh. Setelah 5 hari ,filtrat yang terbentuk disaring menggunakan kain rangkap 2 dan dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring yang berfungsi untuk menyaring serbuk yang mengendap saat dilakukan ekstraksi, selanjutnya dilakukan proses remaserasi atau maserasi bertingkat bertujuan untuk menarik senyawa yang masih terdapat pada sel dan tertinggal pada saat maserasi pertama (Huda dkk., 2019).

Pemilihan pelarut etanol karena etanol merupakan pelarut yang baik diantara pelarut yang baik, etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan atau menarik senyawa fenolik dan memiliki titik didih yang rendah cenderung aman, tidak beracun, dan tidak berbahaya (Azis dkk ., 2014).

Filtrat yang dihasilkan dari proses maserasi dan remaserasi selanjutnya akan dipekatkan dengan menggunakan proses *rotary evaporator* dengan suhu $\pm 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ agar senyawa yang berkhasiat di dalamnya tetap stabil sampai diperoleh filtrat yang masih dapat mengalir, kenapa harus dengan suhu demikian,karena suhu yang paling baik untuk proses evaporasi adalah $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tujuan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* yaitu menghilangkan etanol dan mempercepat proses penguapan di atas *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental yang diinginkan. Tujuan diuapkan di atas *waterbath* bertujuan untuk menghilangkan sisa etanol dan air (Kumalasari dkk., 2019).

4.6 Randemen Ekstrak Biji Pepaya

Randemen ekstrak dilakukan untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan terhadap berat awal bahan simplisia dan untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan yang terekstraksi (UtamI, N.F dkk., 2020). Hasil randemen ekstrak biji pepaya bisa dilihat pada **Tabel 4.2**.

Tabel 4.3. Hasil Randemen Ekstrak

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Serbuk biji papaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	1000 gram	120 gram	12 %

Nilai randemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya (Charisma, 2020). Randemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Randemen menggunakan satuan (%), semakin besar nilai randemen yang dihasilkan maka menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Wijaya dkk., 2018). Randemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% (Hasnaeni dkk., 2019). Hasil uji randemen ekstrak biji papaya (*Carica Papaya L.*) adalah 12 %, dari bobot awal ekstrak 1000 gram dibagi dengan bobot serbuk simplisia 120 gram lalu dikali 100%.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa hasil randemen yang tergolong cukup tinggi pada ekstrak biji papaya, hal ini berarti pada proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi, pelarut yang digunakan dapat menyari senyawa mettabolit sekunder cukup tinggi. Hasil randemen yang tinggi menunjukkan kandungan bioaktif yang tersari pada ekstrak dalam jumlah yang banyak (Wijaya dkk., 2018).

4.7 Uji Kadar Abu Total Ekstrak

Tujuan dilakukan pengujian ini adalah menentukan banyaknya kandungan total senyawa anorganik dan mineral yang berasal dari luar ataupun dari dalam suatu ekstrak (Depkes RI, 2000). Pengujian kadar abu dilakukan di Universitas Brawijaya Malang, menggunakan metode gravimetri. Persyaratan kadar abu ekstrak adalah tidak lebih dari 3,7 % (Ditjen POM, 2000). Hasil dari uji kadar abu ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 4.4.**

Tabel 4.5. Hasil Uji Kadar Abu Ekstrak EEBP

Sampel	Kadar Abu	Satuan	Metode
Serbuk biji papaya	17,38 ± 0,07	%	Gravimetri

Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa hasil uji kadar abu ekstrak etanol biji papaya tidak memenuhi syarat yang sudah ditentukan. Hasil ini meunjukkan bahwa ekstrak etanol biji papaya mengandung mineral tinggi.

4.8 Uji Bebas Etanol

Uji bebas eanol berujuan untuk memastikan bahwa ekstrak biji papaya yang diperoleh bebas dari pelarut yang digunakan, sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujian antioksidan (Damayanti, 2021;Ramadhani dkk., 2020). Uji bebas etanol dilakukan dengan memasukkan 1 ml esktrak kental ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ dan 2 tetes asam asetat, kemudian dipanaskan. Ekstrak dikatakan bebas etanol jika tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Tivani,I dkk., 2021). Selain dengan cara itu, uji bebas etanol juga dapat dilakukan dengan cara 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 ml kalium dikromat ditambahkan ke dalam sampel ekstrak, jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan maka sampel mengandung etanol (Kurniawati, E.,2015). Pengujian bebas etanol ini dilakukan di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa. Hasil uji bebas etanol ekstrak biji papaya (*Carica Papaya L.*) dapat dilihat pada **Tabel 4.3 dan Gambar 4.1.**

Tabel 4.5. Hasil Uji Bebas Etanol

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Serbuk biji papaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	H ₂ SO ₄ + asam asetat	+	Tidak ada/tidak tercium bau ester.
Serbuk biji papaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	H ₂ SO ₄ + kalium dikormat	+	Tidak terjadi perubahan warna pada ekstrak.

Keterangan : (+) bebas dari bau etanol dan tidak mengandung etanol



Gambar 4.1 Hasil Uji Bebas Etanol : (a) + tidak tercium bau ester, + tidak terjadi perubahan warna pada ekstrak.

Hasil uji bebas etanol yang sudah dilakukan, ekstrak dinyatakan positif bebas dari etanol, yang ditandai dengan tidak adanya bau ester dan perubahan warna pada ekstrak. Jadi, dapat disimpulkan bahwa didapat ekstrak yang bisa digunakan untuk penelitian selanjutnya.

4.9 Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak biji papaya dengan cara menambahkan beberapa bahan kimia, sehingga dapat diidentifikasi dengan adanya perubahan warna pada sampel (Muthmainan, 2017). Penelitian uji skrining dilakukan di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa. Untuk hasil skrining fitokimia ekstrak biji papaya didapatkan positif senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian ini dilakukan 3 macam skrining yaitu saponin, flavonoid, alkaloid dan tannin. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Sampel + serbuk Mg 0,1 + HCL pekat	Jingga/ hitam kemerahan	+
Tannin	Sampel + FeCl ₃	Biru tua	+
Saponin	Sampel + aquadest panas 10 ml	Busa stabil	+
Alkaloid	- Sampel + kloroform + amoniak + H ₂ SO ₄ + pereaksi mayer	Endapan putih	+
	- Sampel + kloroform + amoniak + H ₂ SO ₄ + pereaksi dragendroff	Endapan merah jingga	+

Keterangan : (+) mengandung senyawa dan (-) tidak mengandung senyawa

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol biji papaya (*Carica Papaya L.*) menunjukkan bahwa ekstrak biji papaya mengandung senyawa saponin, tannin, alkaloid, dan flavonoid. Hasil skrining ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Marindasari dkk (2013), yang menyatakan bahwa biji papaya

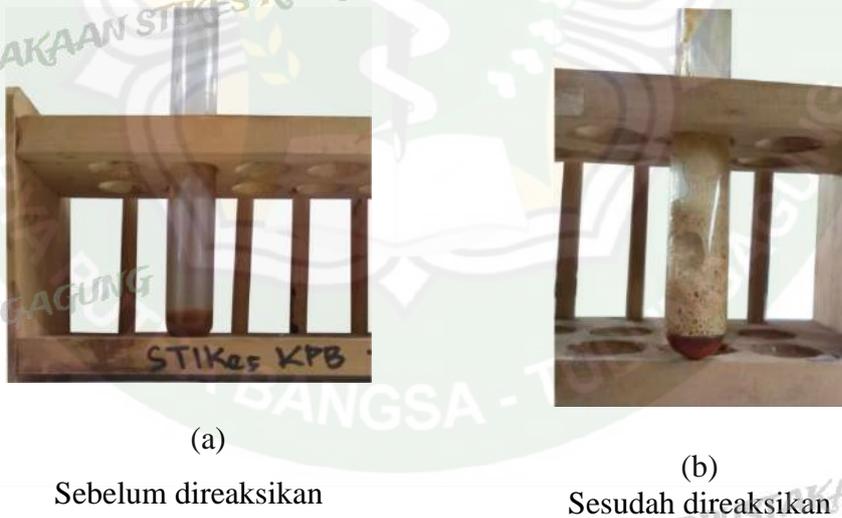
(*Carica Papaya L.*) memiliki kandungan efek hipokolesterolemia yaitu senyawa saponin, tannin, dan flavonoid.

4.9.1 Uji Flavonoid

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga. Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan cara, sekitar 2gram ekstrak biji papaya dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan Mg 0,1 secukupnya untuk mengoksidasi ekstrak, setelah itu masukkan HCL pekat 10 tetes lalu kocok hingga tercampur sempurna (Yuda, 2017).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai penurun trigliserida adalah melalui peningkatan aktivitas enzim LPL, sehingga terjadi hidrolisi pada VLDL yang membawa trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak yang dibebaskan akan diserap otot dan jaringan lain, lalu dioksidasi untuk menghasilkan energy dan jaringan adipose yang akan menyimpan nnya sebagai cadangan energy (Mutia dkk., 2018). Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada

Gambar 4.2



Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid (a) Sebelum direaksikan (b) Sesudah direaksikan

4.9.2 Uji Tanin

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol biji papaya mengandung senyawa tanin yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman. Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak 2 gram ditambahkan larutan

FeCl_3 1% sebanyak 2-3 tetes, lalu kocok sampai tercampur merata dan amati perubahan warnanya (Akasi dkk., 2021).

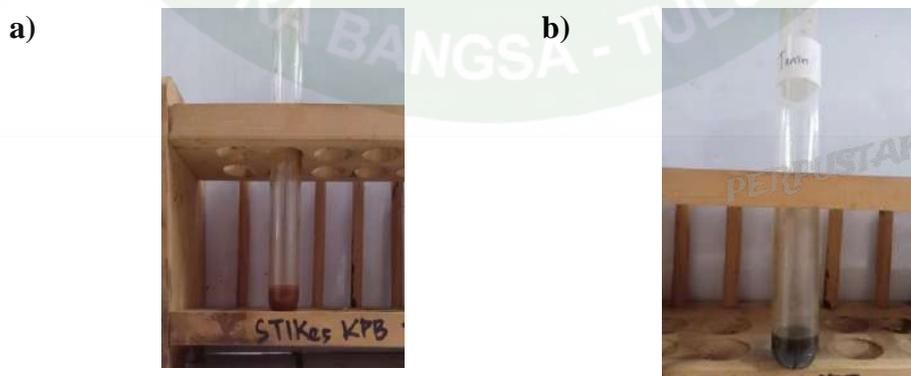
Mekanisme kerja tannin sebagai penurun kadar trigliserida adalah mengurangi penyerapan kolesterol dalam usus halus dan meningkatkan ekskresi asam empedu (Meirindasari dkk., 2013). Hasil uji tanin dapat dilihat pada **Gambar 4.3**



Gambar 4.3 Hasil Uji Tanin (a) Sebelum direaksikan (b) Sesudah direaksikan

4.9.3 Uji Saponin

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol biji papaya mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Uji senyawa saponin dilakukan dengan cara, sampel sebanyak 0,5 gram, ditambahkan 5 ml *aquadestilata*, kocok kuat sekitar 1 menit. Kemudian diamkan selama 10 menit dan amati busa yang terbentuk. Indikator positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil (Putri, 2021). Hasil uji saponin dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.



Gambar 4.4 Hasil Uji Saponin (a) Sebelum direaksikan (b) Sesudah direaksikan

4.9.4 Uji Alkaloid

Hasil dari uji alkaloid pada ekstrak etanol biji pepaya pada peraksi mayer membentuk endapan putih dan pada pereaksi dragendroff membentuk endapan merah jingga. Diketahui bahwa dalam biji pepaya mengandung senyawa alkaloid. Prinsip dari analisis uji alkaloid adalah reaksi pengendapan yang disebabkan adanya pergantian ligan pereaksi mayer yang mengandung kalium iodida dan merkuri klorida sehingga dari reaksi tersebut menghasilkan Kalium-Alkaloid yang berupa endapan berwarna putih (Nofitriani, R dkk., 2019). Hasil uji alkaloid bisa dilihat pada **Gambar 4.5**.



Gambar 4.5 Hasil Uji Alkaloid

4.10 Identifikasi Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)

Identifikasi LC-MS (*liquid Chromatrography-Mass Spectrometri*) dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang. Tujuan dari identifikasi ini untuk analisa senyawa organik, anorganik dan biologi dalam suatu sampel kompleks yang umum biji pepaya (*Carica Papaya L.*) yang diuji LC-MS (*liquid Chromatrography-Mass Spectrometri*) yang berbentuk chromatogram yang dimana seluruh senyawa aktif dipisahkan berdasarkan perbedaan interaksi sampel terhadap fase diam dan fase gerak, dan dapat dipisahkan berdasarkan polaritasnya. Didalam pipa/kolom terdapat fase diam yang berada pada dinding pipa, dan ada fase cair yang mendorong ekstrak biji pepaya masuk kedalam pipa/kolom. Fase gerak menggunakan polar sedangkan fase diam menggunakan non polar. Dan sebaliknya jika fase gerak menggunakan non polar maka fase diam menggunakan polar. Ekstrak biji pepaya dan fase cair akan berproses dengan fase diam, semakin

kuat senyawa yang terkandung pada biji pepaya, maka senyawa akan keluar dari kolom/pipa terlebih dahulu, dan memiliki waktu retensi yang cepat dan sebaliknya. Sesudah keluar dari pipa/kolom, maka akan diolah oleh mesin detektor dan system data yang dapat dilihat puncak terendah sampai tertinggi (Himawan 2012).

Hasil dari analisis LC-MS akan mendapatkan kromatografi berupa alur tinggi peak dan akan mendapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat diketahui jumlah senyawa yang dikandung pada sampel. Data dari LC-MS bisa digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas, dan kuantitas komponen sampel tertentu. Senyawa dipisahkan karena interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) (Mangurana dkk., 2019).

Komponen elusi dari kolom kromatografi kemudian diteruskan ke spectrometer massa melalui antarmuka khusus. Prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alatnya terdiri atas kolom (sebagai fasa diam) dan larutan tertentu sebagai fasa geraknya tekanan tinggi digunakan untuk mendorong fase gerak. Campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolarannya dan kecepatannya untuk sampai ke detector (waktu retensi) akan berbeda, hal ini akan teramati pada spectrum yang puncak-puncaknya terpisah (Mangurana dkk., 2019).

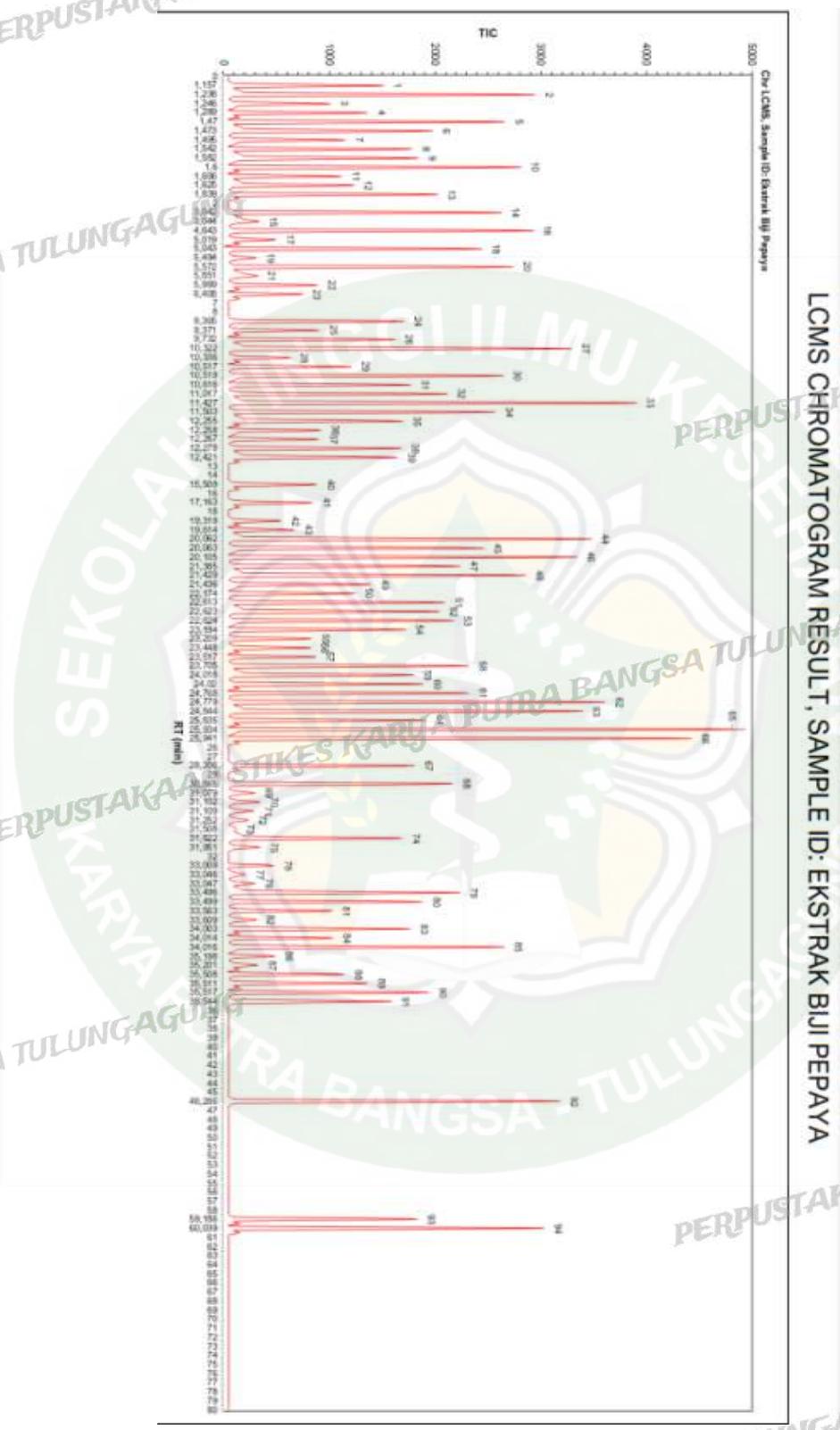
Bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom detector. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran, karena perbedaan kekuatan interaksi antara larutan terhadap fasa diam. Larutan yang kurang kuat interaksinya dengan fase diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Dan sebaliknya, larutan yang kuat berinteraksi dengan fase diam maka larutan tersebut akan keluar kolom, kemudian dideteksi oleh detector dan direkam dalam bentuk kromatogram (Isnawati., 2013).

Analisis LC-MS kali ini fase gerak dengan menggunakan etanol 95% ,sedangkan fase diam menggunakan Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2 mm x 150 mm, 3 μ m).

Hasil dari uji LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) ekstrak etanol biji papaya (*Carica Papaya L.*) dari kromatogram dapat digunakan untuk melihat puncak terendah sampai puncak tertinggi dan untuk mengidentifikasi kandungan dengan jumlah 94 senyawa yang ditemukan dalam ekstrak. Puncak kromatogram dapat dilihat pada **Gambar 4.8**. identifikasi LC-MS menyatakan bahwa ekstrak etanol biji papaya mengandung golongan senyawa tannin, saponin, fenol, alkaloid, dan flavonoid, dapat dilihat pada **Tabel 4.7**.



Gambar 4.8 Hasil Chromatogram LC-MS



Tabel 4.7 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

No peak	Nama senyawa	Waktu retensi (mnt)	Komposisi %	Golongan senyawa	Kadar Total Golongan Senyawa
33	Quercetin	11,427	2,4791	Flavonoid	43,33132%
44	Kaempferol-7 rhamnoside	20,062	2,20798		
46	Luteolinidin-5 glucoside	20,105	2,12122		
27	Kaempferol	10,322	2,08820		
92	Kaempferol-3-glucoside-2rhamnoside-7- rhamnoside	46,286	2,0198		
48	Kaempferol-3-O-rhamnoside	21,429	1,81343		
85	Kaempferol-3-(5'-feruloyapoiside)	34,016	1,6852		
47	Isovitexin	21,385	1,41615		
53	Kaempferol-7-O-β-D-Glucoside	22,642	1,38104		
68	Kaempferol-3-O-(6-malonyglucoside)	30,865	1,37295		
32	2,4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5'-dimethylchalcone	11,017	1,34387		
51	Glucotropaeolin	22,613	1,32580		
52	Kaempferol-3-O-D-Glucoside	22,623	1,29601		
90	Rutin	35,517	1,2281		
64	Quercituron	25,835	1,21438		
60	Hyperoside	24,02	1,19651		
67	Kaempferol-3(2,4'-diacetyl rhamnoside)	28,206	1,14672		
59	Isoquercitrin	24,018	1,14172		
83	Kaempferol-7 rhamnoside-4'-glucoside	34,003	1,11993		
54	Quercitrin	23,194	1,09142		
24	Apigenin	9,365	1,08171		
94	3-O-galloylepigallocatechin-(4β→8)epigallocatechin-3-O-gallate	3,042	1,66821	Tanin	11,47655%
14	Gallic acid	11,503	1,63103		
34	Epigallocatechin	23,705	1,47219		

Lanjutan Tabel 4.7

14	Gallic acid	11,503	1,63103		
34	Epigallocatechin	23,705	1,47219		
58	Epigallocatechin gallate	33,496	1,41969		
79	Procyanidin B1	33,499	1,19118		
80	Procyanidin B3	35,544	1,00792		
93	Prodelphinidin C2	59,186	1,16178		
91	Prodelphinidin B	60,039	1,92455		
31	Sambunigrin	10,616	1,12490	Saponin	1,12490%
65	Carpaine	25,934	3,12924	Alkaloid	10,3812%
66	Pseudocarpaine	25,941	2,80637		
62	Dehydrocarpaine II	24,779	2,29121		
2	Fumaric acid	1,238	1,86869	Fenol	22,46677%
16	Caffeic acid	4,634	1,86183		
20	5,7 dimethoxycoumarin	5,572	1,73492		
10	Tartaric acid	1,6	1,78727		
5	Isopropyl butyrate	1,47	1,68662		
18	Ferulic acid	5,043	1,55093		
13	P-coumaric acid	1,839	1,28619		
6	Malic acid	1,473	1,25444		
9	Cinnamic acid	1,582	1,16907		
8	Coumarin	1,542	1,12871		
35	5-O-caffeoylshikimic acid	12,255	1,07634		
38	4p-coumaroylquinic acid	12,278	1,06677		
39	Chlorogenic acid	12,421	1,0431		
1	2,3-butanedione	1,157	0,96038		
4	Benzoic acid	1,289	0,86031		
12	3,4dihydroxybenzoic acid	1,625	0,78433		
11	Methyl salicylate	1,606	0,70736		
3	Succinic acid	1,246	0,63951		

Tabel 4.7 memiliki hasil LC-MS pada total ion current diatas 1000 dalam ekstrak etanol biji papaya terdeteksi dan teridentifikasi ada golongan senyawa flavonoid, tannin, saponin, fenol, dan alkaloid, dimana senyawa itu berpengaruh sebagai kadar trigliserida dan antioksidan.

4.10.1 Senyawa Fenol

Golongan senyawa fenol dari hasil LC-MS, yang mempunyai kandungan tertinggi adalah *fumaric acid* dengan komposisi 1,86869% yang muncul pada waktu retensi menit ke-1,238. Total komposisi yang didapatkan dari deteksi dan identifikasi ekstrak etanol biji papaya pada golongan fenol sebesar 22,46% dari 18

senyawa fenol. Fenol merupakan senyawa yang berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenolnya maka semakin besar aktivitas antioksidannya dan fenol juga memiliki kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Banjarnahor dkk., 2014).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah reaksi oksidasi, dan bisa melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan memiliki struktur molekul yang bisa memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Ingrid, M dkk., 2015).

4.10.2 Senyawa Flavonoid

Golongan senyawa flavonoid hasil dari LC-MS memiliki kadar tertinggi yaitu *quercetin* dengan komposisi sebesar 2,47910% yang muncul pada waktu retensi menit ke- 11,427. Total komposisi yang didapatkan dari deteksi dan identifikasi ekstrak etanol biji papaya pada golongan flavonoid yaitu 43,33% dari 32 senyawa flavonoid, senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa terbanyak yang terdapat dalam ekstrak biji papaya yang berpengaruh terhadap kadar trigliserida. Senyawa flavonoid adalah senyawa penting untuk tanaman sebagai pelindung tanaman dari serangan patogen, parasite dan melindungi tanaman dari cahaya tampak yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif (Fatimah dkk., 2020).

Flavonoid juga dapat mengaktifkan system multi enzim, seperti sitokrom P-450 dan B5 yang mempengaruhi metabolisme lipid dan asam empedu. Enzim sitokrom P-450 memiliki kemampuan memediasi pembentukan asam empedu dari kolesterol melalui enzim sehingga terjadi peningkatan jumlah asam empedu. Peningkatan tersebut dapat meningkatkan eksresi asam empedu sebagai jalur utama eliminasi kolesterol. Flavonoid juga berperan dalam menekan konsentrasi trigliserida dalam mengaktifasi sintesis cAMP. AMP mengaktifkan protein kinase, enzim tersebut meningkatkan hidrolisa trigliserida sehingga menurunkan trigliserida dalam hati dan darah (Meirindasari N dkk., 2013).

Golongan flavonoid dari hasil LC-MS mempunyai aktivitas biologi yang kuat, senyawa *quercetin* ini berfungsi untuk meningkatkan aktivitas lipoprotein

lipase, sehingga dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus hiperkolesterolemia (Rully M dkk., 2012).

4.10.3 Senyawa Tanin

Dari hasil LC-MS golongan senyawa tannin tertinggi adalah senyawa 3-*O-galloylepigallocatechin(4 β →8) epigallocatechin-3-*O*-gallate dengan komposisi sebesar 1,92455% pada waktu retensi menit ke 60,039. Total komposisi yang diperoleh dari identifikasi ekstrak biji papaya pada golongan tannin yaitu 11,47% dari 8 senyawa tannin.. Senyawa tannin memiliki kemampuan dalam mengendapkan suatu protein, karena tannin dan molekul protein mengandung banyak gugus ikatan fungsional yang kuat, yang menimbulkan ikatan silang yang besar dan kompleks. Tannin secara alami dapat larut dalam air dan bisa memberikan warna yang bervariasi, dari warna terang sampai merah tua/jingga, karena setiap turunan mempunyai warna yang berbeda tergantung dari sumbernya (Kurniawan dkk., 2021). Mekanisme tannin sebagai penurun trigliserida adalah dengan meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase, sehingga dapat mengakibatkan penurunan serum kadar trigliserida (Kothari S dkk., 2012).*

4.10.4 Senyawa Saponin

Golongan senyawa saponin dari hasil LC-MS mempunyai kadar tertinggi adalah senyawa *sambunigrin* dengan komposisi 1,12490% yang muncul pada waktu retensi menit ke- 10,616. Total komposisi yang diperoleh dari LC-MS ekstrak biji papaya pada golongan senyawa saponin adalah 1,12% dari 1 senyawa saponin. Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman bagian biji, kulit, daun, buah, dan akar, yang berfungsi sebagai pertahanan. Keberadaan senyawa saponin identic dengan rasa pahit, pembentukan busa yang stabil pada larutan cair dan mampu membentuk molekul dengan kolesterol. Saponin mempunyai mekanisme hipolipidemia melalui penurunan sintesis kolesterol dengan menghambat aktivitas HMG-COA reduktase dan peningkatan ekskresi asam empedu akibat meningkatnya konversi kolesterol menjadi asam empedu. Saponin juga mampu mengubah absorbs kolesterol dan asam empedu dengan menginterupsi formasi misel, sehingga kolesterol tidak dapat di adsorbs dan dapat menurunkan kadar trigliserida (Nisa K *et al.*, 2021).

Biji papaya teridentifikasi mengandung senyawa saponin yang merupakan salah satu senyawa poten memiliki aksi hipolipidemia. Golongan saponin yang teridentifikasi mempunyai kandungan senyawa tertinggi yaitu senyawa sambunigrin dengan komposisi 1,12490%. Mekanisme sambunigrin sebagai antihiperkolesterol yaitu bekerja dengan menurunkan kadar kolesterol di usus. Saponin diketahui bisa memiliki aksi yang mirip dengan resin, sehingga bisa menurunkan sirkulasi enterohepatik dari asam empedu (Saputri dkk., 2017).

4.10.5 Senyawa Alkaloid

Golongan alkaloid yang teridentifikasi dengan komposisi tertinggi yaitu *carpaine* sebesar 3,12924% yang muncul pada waktu retensi ke- 25,934. Total komposisi yang diidentifikasi dengan LC-MS dari ekstrak biji papaya pada golongan alkaloid adalah 10,38% dari 4 senyawa alkaloid.. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terbanyak mempunyai atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Senyawa alkaloid sebagian besar bersumber dari tumbuhan dengan spesies angiospermae. Spesies ini mengandung senyawa alkaloid lebih dari 20%, senyawa alkaloid bisa ditemukan pada tanaman bagian daun, biji ,bunga, ranting kulit batang, dan akar (Ningrum dkk., 2016).

Mekanisme alkaloid dalam menurunkan kadar trigliserida adalah dengan cara bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hydrogen seperti senyawa flavonoid. Senyawa tersebut dapat menghambat aktivitas enzim lipase pancreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses. Berurangnya enzim lipase pancreas bisa mengurangi deposit trigliserida yang masuk dari usus halus, karena enzim tersebut mengubah trigliserida menjadi dua monogliserid dan dua asam lemak bebas sehingga bisa masuk ke dalam pembuluh darah (Artha dkk., 2017).

4.11 Uji Efektivitas Penurunan Kadar Trigliserida

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Klinik Satwa Sehat Malang. Pengujian *in vivo* dilakukan menggunakan hewan coba tikus jantan *Sprague Dawley* dengan pertimbangan, menurut Pujiatiningsih (2014), penggunaan tikus putih jantan sebagai hewan percobaan karena dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus betina. Penggunaan tikus untuk hewan percobaan

kali ini dikarenakan tikus mempunyai kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, penyakit, dan kecemasan (Rejeki dkk., 2019). Tikus dengan strain *Sprague Dawley* adalah tikus yang dikembangkan secara khusus untuk perlakuan riset/penelitian medis seperti model percobaan kanker, DM, dan penyakit kardiovaskular. Tikus *Sprague Dawley* lebih jinak dan lebih terlihat tenang dibandingkan tikus-tikus strain lain. Tikus ini pertama kali dikembangkan oleh Robert S. Dawley pada tahun 1920 (Browner M, *et al.*, 2015). Tikus *Sprague Dawley* yang biasa digunakan untuk penelitian dikembangkan dalam kondisi lingkungan yang dijaga yaitu suhu $23 \pm 1^\circ\text{C}$ dan bagian dasar kandangnya diberikan serbuk kayu yang diganti secara rutin. Pemasukan air dan makanan pelet standar yang tersedia di dalam kandang (Hikmah N, dkk., 2015).

Perlakuan pada tikus yaitu yang pertama, dilakukan dengan cara proses aklimitasi selama ± 7 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan tempat penelitian. Sesudah proses aklimitasi tikus dikelompokkan menjadi 6 bagian yaitu kontrol normal, positif, negatif, perlakuan 1 dengan dosis 150mg/kgBB tikus, 2 dengan dosis 300mg/kgBB tikus dan perlakuan 3 dengan dosis 450mg/kgBB tikus, masing-masing bagian diisi dengan 5 ekor tikus. Pembuatan kontrol positif (simvastatin) dan kontrol negative (CMC-Na 0,5%) bisa dilihat pada (**Halaman 51**), sedangkan pembuatan perlakuan 1,2 dan 3 ekstrak biji papaya dapat dilihat pada (**Halaman 52**).

Penelitian ini digunakan 3 kelompok pembanding yaitu kontrol normal, positif, dan kontrol negatif. Kelompok positif digunakan untuk membandingkan efektivitas penurunan kadar trigliserida oleh simvastatin dengan ekstrak biji papaya. Dosis simvastatin yang digunakan adalah dosis 10 mg. Lalu dosis dikonversi ke dosis hewan menggunakan rumus konversi dosis manusia ke tikus, tertera pada **Lampiran 7**, selain itu kelompok kontrol negatif juga dibutuhkan untuk melihat pengaruh larutan suspensi dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus. Larutan suspensi yang digunakan pada penelitian ini adalah CMC-Na 0,5%, karena CMC-Na 0,5% sudah termasuk dalam konsentrasi rentan (rentan CMC-Na 01-1%). Karena penggunaan melebihi batas CMC akan mengakibatkan surfaktan dapat berinteraksi dengan kompleks obat dan juga dapat berpengaruh

terhadap permeabilitas membran tempat penyerapan obat karena surfaktan memiliki komposisi penyusun yang mirip dengan membran (Trisnawati, A dkk., 2014). Kelompok normal bertujuan untuk membandingkan kenaikan kadar trigliserida tikus yang tidak diberikan pakan hiperkolesterolemia, dan membandingkan penurunan kadar trigliserida tikus setelah diberi ekstrak biji pepaya (Tantiningrum, 2019).

Metode yang digunakan untuk menguji penurunan kadar trigliserida pada tikus dengan cara, tikus dibuat hiperkolesterol dengan memberikan makanan tinggi lemak yaitu minyak babi 5%, memilih minyak babi karena minyak babi memiliki kandungan asam lemak jenuh sekitar 38-43% dan kolesterol, setelah diberi minyak babi, berikan pakan standar 95% dengan cara lemak babi di cairkan terlebih dahulu, kemudian diberi pakan standart, pemberian pakan tinggi lemak dilakukan secara oral sebanyak 3 mL menggunakan sonde lambung sampai tikus mengalami hiperkolesterol (Wulandari dkk., 2015).

Komposisi makanan hiperkolesterol tersebut dipilih karena mengandung lemak yang tinggi, sehingga dapat meningkatkan kadar kolesterol. Penambahan lemak pada proses penginduksian dapat meningkatkan kadar kolesterol. Tikus diinduksi dengan makanan hiperkolesterol selama 14 hari terhadap semua kelompok kecuali kontrol normal. Sesudah 14 hari proses penginduksian, tikus diberikan suspensi simvastatin pada kelompok kontrol positif dan suspensi ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) pada kelompok perlakuan berbagai dosis selama 14 hari (Meirindasari, 2014).

Proses selanjutnya, sesudah dilakukan perlakuan penginduksian dan pengobatan terhadap tikus, dilanjutkan dengan proses pengambilan sampel darah tikus. Pengambilan sampel darah pada tikus dilakukan dua kali, pengambilan sampel pertama pada hari ke-15 dilakukan pada vena ekor tikus, dengan cara pada daerah injeksi harus dibersihkan dengan alkohol. Agar pembuluh darah melebar, ekor direndam dengan air hangat selama 5 – 10 detik, lalu cukur bulu daerah ekor yang akan diambil darahnya, agar darah tidak menempel di bulu saat keluar. Pengambilan darah sesuai dengan kebutuhan yaitu 3cc, darah diambil dari vena ekor tikus dengan cara melukai ekor tikus menggunakan pisau atau silet. Diusahakan hanya satu kali gores dan jangan terlalu dalam, urut perlahan agar

darah yang diinginkan mencukupi. Setelah itu, darah dimasukkan kedalam tabung berisi heparin. Selesai itu, bersihkan ekor tikus menggunakan alkohol, dan masukkan lagi kedalam kandang (Megawati dkk.,2018).

Pengambilan sampel kedua pada hari ke-29 melalui jantung, sebelum proses pengambilan sampel darah pada jantung, tikus dipuaskan selama ± 12 jam, lalu dianestesi menggunakan xylazine dan ketamine, karena kombinasi injeksi ini saling melengkapi antara efek analgesik dan relaksasi otot serta sangat baik dan efektif. Pengambilan darah dapat dilakukan dengan cara menusukkan jarum kedalam tengah dada antara rongga kanan dan kiri pada tikus, setelah itu ditarik secara perlahan untuk mecegah jantung pada tikus runtuh (Sudarmono dkk 2015).

Kombinasi ketamine-xylazine (KX) merupakan anestesi yang dapat digunakan untuk injeksi pada tikus, mencit, dan hewan pengerat lainnya, karena memberikan anestesi yang relatif aman serta dapat diberikan tanpa memerlukan peralatan khusus (Giroux *et al.*, 2015). Pemberian melalui intraperitoneal (IP) karena tidak menyebabkan peradangan peritoneum dan kerusakan hati meskipun masih ditemukan nekrosis otot akut ditempat injeksi. Hal ini menunjukkan bahwa prosedur pemberian dan pH sediaan berkontribusi terhadap kerusakan jaringan lokal. Rute pemberian IP direkomendasikan pada tikus, karena dapat memberikan penyerapan cepat sehingga memungkinkan induksi anestesi yang cepat. Alasan kenapa pengambilan kedua di jantung, karena tindakan selanjutnya tikus akan digunakan untuk proses pembedahan pengambilan organ. Jadi, tikus tidak mati dengan sia-sia (Wellington *et al.*, 2013).

Pengukuran kadar trigliserida pada darah tikus menggunakan alat *chemistry analyzer* 1 UBIO Ichem-535, lalu serum darah di sentrifugasi 3000 rpm. Kemudian, ditambahkan larutan reagen dumolab, lalu ukur dengan alat 1 UBIO Ichem-535 pada panjang gelombang 450 nm yang diperoleh perubahan kadar. Pengukuran penurunan kadar trigliserida dilakukan pada hari ke-15 setelah pemberian pakan hiperkolesterolemia dan pada hari ke-29 pengukuran kadar trigliserida tikus yang sudah dilakukan pengobatan. Data ini digunakan untuk kadar trigliserida setelah pemberian makanan hiperkolesterol, untuk membandingkan penurunan kadar trigliserida yang telah hiperkolesterol dengan

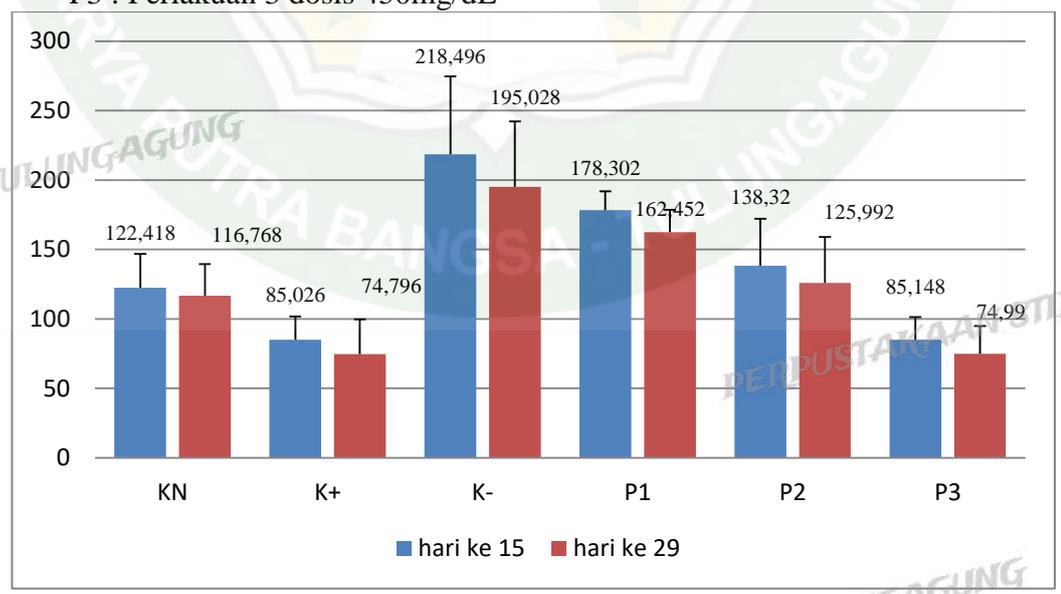
kadar trigliserida tikus yang sudah pengobatan. Hasil dari pengukuran kadar trigliserida dapat dilihat pada **Tabel 4.8**

Tabel 4.8 Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida pada 6 Kelompok

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar Trigliserida (mg/dL) ± SD		Rata-rata Selisih Kadar Trigliserida Hari ke 15-29 ± SD
	Pengaruh sesudah induksi hari ke-15	Pengaruh sesudah pengobatan hari ke-29	
Kn	128,41 ± 24,37	116,77 ± 22,72	11,65±5,14 ^a
K+	85,02 ± 16,87	74,80 ± 24,99	11,10±8,06 ^a
K-	230,39 ± 56,09	195,02 ± 47,19	29,98±12,15
P1	178,30 ± 13,50	89,15 ± 16,14	15,85±3,40 ^{ab}
P2	138,32 ± 33,86	125,92 ± 33,09	12,32±6,94 ^a
P3	85,14 ± 16,09	74,99 ± 20,04	10,16±5,20 ^a

Keterangan : (a) tidak beda sig dengan K+, (ab) berbeda bermakna dengan K+ dan K-

- Keterangan :**
 Kn : Kontrol Normal (Tanpa Perlakuan)
 K+ : Kontrol Positif (Simvastatin)
 K- : Kontrol Negatif (CMC-Na 0,5%)
 P1 : Perlakuan 1 dosis 150mg/dL
 P2 : Perlakuan 2 dosis 300mg/dL
 P3 : Perlakuan 3 dosis 450mg/dL



Gambar 4.8 Grafik rata-rata kadar trigliserida

Keterangan :

Kn : Kontrol Normal

K+ : Kontrol Positif (Simvastatin)

K- : Kontrol Negatif (CMC-Na 0,5%)

P1 : Perlakuan 1 dosis 150mg/dL

P2 : Perlakuan 2 dosis 300mg/dL

P3 : Perlakuan 3 dosis 450mg/dL

Berdasarkan pada **Tabel 4.8** kontrol positif digunakan untuk membandingkan efektivitas penurunan kadar trigliserida dengan ekstrak etanol biji papaya. Kontrol positif yang diperoleh pada hari ke-15 (85,026 mg/dL) dan pada hari ke-29 (74,796 mg/dL), menunjukkan hasil penurunan pada kadar trigliserida. Kontrol positif menggunakan simvastatin 10mg karena simvastatin bertindak sebagai depresan kadar kolesterol dalam darah dengan menghambat aksi 3-hidroksi 3-metilglutaril koenzim A reduktase (HMG Co-A reduktase). Enzim ini mengkatalis konversi HMG Co-A menjadi asam mevalonate adalah langkah pertama sintesis kolesterol. Ketika itu terjadi obesitas, kadar LDL otomatis masuk peningkatan kadar darah dan HDL menurun drastis (Ranti & Fatimawali dkk., 2013).

Kontrol negatif di hari ke-15 menghasilkan rata-rata (218,496 mg/dL) dan rata-rata hari ke-29 adalah (195,028). Hasil kadar trigliserida yang diperoleh masih tinggi hingga hari terakhir, karena tidak ada aktifitas farmakologi dan tidak memiliki zat aktif dari CMC-Na 0,5% dalam menurunkan kadar trigliserida(Koban dkk., 2019).

Kelompok perlakuan variasi dosis ekstrak etanol biji papaya diperoleh rata-rata kadar trigliserida pada hari ke-15 dengan perlakuan dosis 150mg/kgBB (178,30) perlakuan dosis 300mg/kgBB (138,32) dan perlakuan dosis 450mg/kgBB (85,14mg/kgBB), sedangkan pada hari ke-29 pda perlakuan dosis 150mg/kgBB (89,15mg/dL), perlakuan dosis 300mg/dL (125,92mg/dL) dan perlakuan dosis 450mg/dL (74,99mg/kgBB). Penurunan kadar trigliserida dari ekstrak etanol 70% biji papaya, dikarenakan senyawa kimia yang dapat menurunkan kadar trigliserida yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol. Menurut Artha *et al.* (2017) senyawa alkaloid menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses. Sedangkan flavonoid dapat menghambat aktivitas enzim acyl-CoA kolesterol acyl transferase (ACAT) yang

berperan dalam penurunan esterifikasi kolesterol pada usus dan hati (Arief, 2012: 119) dan menghambat kerja enzim HMG Co-A reduktase (Sekhon & Loodu, 2012: 92). Menurut Smith & Adanlawo (2013: 3), kandungan saponin dapat menyebabkan peningkatan ekskresi kolesterol dan penurunan penyerapan kolesterol pada gastrointestinal tract (GIT).

Kelompok kontrol normal, perlakuan 1, 2 dan 3 didapatkan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif dan perlakuan 1 dosis 150 mg/kgBB didapatkan hasil berbeda bermakna dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kusuma dkk., (2016) mengatakan bahwa tingkat trigliserida normal adalah kurang dari 150 mg/dL, dan ambang batas trigliserida adalah 150-199 mg/dL. Penurunan kadar trigliserida oleh ekstrak biji pepaya terjadi karena adanya senyawa metabolit sekunder yang sudah dilakukan skrining fitokimia. Biji pepaya diperoleh hasil positif pada senyawa saponin, tannin, alkaloid, fenol, dan flavonoid. Didukung dengan uji kuantitatif menggunakan LC-MS. Flavonoid dan tanin dapat meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase sehingga bisa menurunkan kadar trigliserida dalam plasma (Rully dkk., 2012). Saponin dapat menurunkan sintesis trigliserida dan absorpsi lemak serta meningkatkan oksidasi asam lemak. Sedangkan alkaloid memiliki efek hipolidemik, namun dalam penggunaannya dapat menyebabkan efek toksik (Elekofehinti OO *et al.*, 2012).

Hasil kadar trigliserida diperkuat dengan analisis statistik untuk mengetahui perbedaan signifikan terhadap penurunan kadar trigliserida antar kelompok maka dilakukan uji statistik terlebih dahulu. Dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan analisis statistik *Statistical Product Service Solution* (SPSS) dilakukan uji normalitas. Uji normalitas yang digunakan yaitu uji *Shapiro-Wilk*, uji normalitas ini bisa dikatakan normal jika nilai signifikan ($p \geq 0,05$). Pada hasil uji normalitas pada kelompok kontrol dan hasil uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Pada uji homogenitas bisa dikatakan homogen jika nilai signifikan ($p \geq 0,05$), Uji homogen merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui apakah varian populasi memiliki varian sama atau tidak, uji ini dilakukan sebagai prasyarat dalam analisis *independent T-test* dan analisis varian anova (Usmadi, 2020). Pada hasil pengujian, nilai uji homogenitas menunjukkan nilai yang signifikan, dikarenakan uji homogenitas sudah memenuhi syarat yang sesuai maka

pengujian dilanjutkan dengan uji *One-Way Anova* dapat dilihat pada **Lampiran 10**, uji ini memperoleh hasil yang signifikan yaitu ($p < 0,05$). Berdasarkan tabel tukey kelompok normal, dan perlakuan 2 dan 3 tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif, dan perlakuan 1 menunjukkan berbeda bermakna dengan K+ dan K-. Hasil data SPSS dapat dilihat pada **Lampiran 10 dan 11**.

Hasil dari penelitian ini dapat menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) mempunyai pengaruh dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus jantan *Sprague Dawley*. Ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) mempunyai pengaruh untuk alternatif atau sebagai pendamping obat simvastatin dalam penurunan kadar trigliserida pada hiperkoleserolemia. Seluruh kelompok perlakuan memiliki efektivitas dari dosis kecil sampai besar (150mg/dL, 300mg/dL, 450mg/dL) dalam menurunkan kadar trigliserida yang diinduksi dengan minyak babi. Ekstrak biji pepaya pada perlakuan 3 dengan dosis 450mg/dL menunjukkan bahwa dosis tersebut efektif dalam menurunkan kadar trigliserida dibandingkan dengan dosis 150mg/dL dan dosis 300mg/dL. Hal ini menjelaskan bahwa ekstrak etanol biji pepaya pada pemberian dosis 450mg/dL menunjukkan efektivitas yang hampir menyerupai dengan kontrol positif dengan diberi simvastatin dalam menurunkan kadar trigliserida tikus. Menurut Bambang P dkk., (2013) perbedaan hasil yang diperoleh pada tiap kelompok perlakuan, kemungkinan dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti kondisi biologis dan metabolisme.

BAB V KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Pengaruh ekstrak etanol biji papaya (*Carica Papaya L.*) mempunyai efektivitas terhadap penurunan kadar trigliserida pada tikus jantan *Sprague Dawley*
2. Variasi dosis ekstrak etanol biji papaya (*Carica Papaya L.*) mempunyai efek penurunan kadar trigliserida pada tikus jantan *Sprague Dawley*, dosis yang efektif menurunkan yaitu 450 mg/kgBB, dan hampir sama dengan kontrol positif dengan pemberian simvastatin.
3. Ekstrak etanol biji papaya (*Carica Papaya L.*) terdapat senyawa aktif yaitu saponin 1,12%, fenol 22,45%, tannin 11,4%, dan flavonoid 43,33%, setelah diidentifikasi menggunakan instrument LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mas Spectrometry*).

5.2 Saran

1. Butuhnya penelitian lebih berlanjut dengan menggunakan bentuk sediaan yang lain, misalnya kapsul, tablet, ataupun serbuk.
2. Juga penelitian lebih lanjut perihal dosis pemberian ekstrak etanol biji papaya dengan langsung memberikan kepada subjek manusia.
3. Pengambilan sampel perlu dilakukan pada hari ke-0, hari ke-15, dan hari ke-29. Digunakan untuk melihat perbandingan pada kadar trigliserida.
4. Perlunya dilakukan penimbangan bobot per tikus, untuk mengetahui berapa jumlah pemberian dan pengobatan per tikus jika berat badan berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. Farmakope Indonesia V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- A.Lully Hanni Endarini, M.Farm, Farmakognosi dan Fitokimia. 2016
- Adhiyani, C. 2013. Hubungan Usia dan Konsumsi Makanan Berlemak dengan Kolesterol Total pada Lansia di Kelurahan Serengan Surakarta. *Jurnal Farmasi* 2(1): 12-18.
- Agustina, E. (2017). Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Daun Tiin (*Ficus Carica* Linn) dengan Pelarut Air, Metanol dan Campuran Metanol-Air. *Klorofil : Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan*, 1(1), 38–47.
- AHA (american Heart Association). (2017). Hypertension : The Silent Killer : Updated JNC-8 Guideline Recommendations. Alabama Pharmacy Association. <https://doi.org/0178-0000-15-104-H01-P>
- Ahyari, J. 2009. Rotary Evaporator. <http://blogkita.info.com>. 28 Oktober 2010.
- Ajizah A. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun PsidiumGuajava L. *Bioscientie*. 2004; 1(1): 31-8.
- Akasia, A. I., Nurweda Putra, I. D. N., & Giri Putra, I. N. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research and Technology*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.24843/jmrt.2021.v04.i01.p03>
- Almatsier, S. 2010. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Ambarsari, D. F. (2022). Pengaruh Pemberian Minuman Jeli Sari Okra Hijau dan Jambu Biji Merah terhadap Kadar Trigliserida Tikus Putih Hiperlipidemia (Doctoral dissertation, Politeknik Negeri Jember).
- Anies. 2015. Kolesterol dan Penyakit Jantung Koroner. Jogjakarta : Ar-Ruzz Media.
- Anonim, 2014, Farmakope Indonesia Edisi V, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim. Kolesterol Tinggi. <http://kolesteroltinggi.net/>. Akses tanggal 17 Desember 2013
- Ariani, N., Monalisa, dan Febrianti, D.R. (2019) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*’, *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(2), pp.160–166. ISSN 2598-2095.
- Artha, C., Mustika, A., & Sulistyawati, S. W. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Singawalang Terhadap Kadar LDL Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia. *Ejournal Kedokteran Indonesia*, 5(2), 105–109.
- Azhari, Mutia, N., & Ishak. (2020). Proses Ekstraksi Minyak dari Biji Pepaya (*Carica Papaya*) dengan Menggunakan Pelarut- Heksana. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 9(1), 59-67.ISSN: 2580- 5436.
- Azis, T., Febrizky, S., & Mario, A. D. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yieldalkaloiddari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*). *Teknik Kimia*, 20(2), 1–6.
- Badan penelitian dan pengembangan kesehatan kementerian kesehatan RI tahun 2013. Laporan nasional riset kesehatan dasar (RISKESDAS) 2013. 2014.

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Pokok-Pokok Hasil Riskesdas Indonesia tahun 2013. Jakarta: Lembaga Penerbit Bali bangkes; 2014.
- Banjarnahor, S., & Artanti, N. (2014). Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*, 23(4), 239-244. doi:10.13181/mji.v23i4.1015
- Brower M, Grace M, Kotz CM, Koya V. Comparative analysis of growth characteristics of sprague dawley rats obtained from different sources. *Lab Anim Res*. 2015; 31(4): 166–73
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu Dan Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana L.*) Sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/Jrma.2019.V07.I04.P07>
- Charisma, N.Q.S., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*”.
- Chen, H., Xiao, H., & Pang, J. (2020). Parameter Optimization and Potential Bioactivity Evaluation of a Betulin Extract from White Birch Bark. *Plants*, 9(3), 392.
- Citrawidi, T. A., Murningsih, W., & Ismadi, V. D. Y. B. (2012). Pengaruh pemeraman ransum dengan sari daun pepaya terhadap kolesterol darah dan lemak total ayam broiler. *Animal Agriculture Journal*, 1(1), 529-540.
- D. E. Sari, S. Puspasari, and H. Sunardi, “Rekayasa Aplikasi Ensiklopedia Tanaman Obat Berbasis Android,” *Jurnal Ilmiah Informatika Global*, vol. 09, no. 01, pp. 32–39, 2018.
- Dahlia, L. 2014. *Hidup Sehat Tanpa Gluten*. Jakarta: PT. Gramedia-Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985) *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000) 'Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat', Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, pp. 9-32.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Desta Donna Putri Damanik, Nurhayati Surbakti, & Rosdanelli Hasibuan. (2014). Ekstraksi Katekin dari Daun Gambir (*Uncaria gambir roxb*) dengan Metode Maserasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 3(2), 10–14. <https://doi.org/10.32734/jtk.v3i2.1606>
- Dipiro J, RL, T., GC, Y., GR, M., BG, W., & LM, P. (2020). Dipiro edisi 11 2020. In Dipiro (Vol. 11).
- Dodelet-Devillers, A., Zullian, C., Vachon, P. dan Beaudry, F. 2016. Assessment of stability of ketamine-xylazine preparations with or without acepromazine using high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 80(1), pp.86-89.

- Eckel RH, Cornier MA. Update on NCEP ATP-III emerging cardiometabolic risk factors. *BMC Med* 2014;12:115
- Estia, D. (2020). *Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (Andrographis paniculata (Burm. f)) dan Buah Maja (Aegle marmelos L.) Sebagai Pestisida Nabati Terhadap Kutu Putih (Paracoccus marginatus) pada Tanaman Pepaya (Carica papaya L.)* (Doctoral dissertation, UIN Raden Intan Lampung).
- Fan, S., Yang, G., Zhang, J., Li, J., & Bai, B. (2020). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Using Response Surface Methodology for Simultaneous Quantitation of Six Flavonoids in Flos Sophorae Immaturus and Antioxidant Activity. *Molecules*, 25(8), 1767.
- Farrés, M., Piña, B., and Tauler, R., 2016, LC-MS based metabolomics and chemometrics study of the toxic effects of copper on *Saccharomyces cerevisiae*, *Metallomics*, 8 (8), 790–798.
- Fatimah, Martha, R. D., & Kusumawati, A. (2020). Deteksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete*) Dengan LCMS. *Cheesa: Chemical Engineering Research Articles*, 3(2), 88. [Http://EJournal.Unipma.Ac.Id/Index.Php/Cheesa](http://EJournal.Unipma.Ac.Id/Index.Php/Cheesa)
- Fidyasari, A., Sari, R. M., & Raharjo, S. J. (2017). Identifikasi Komponen Kimia pada Umbi Bentul (*Colocasia esculenta (L.) Schoot*) sebagai Pangan Fungsional. *Amerta Nutrition*, 1(1), 14. <https://doi.org/10.20473/amnt.v1i1.2017.14-21>
- Gafur, A., & Rizki, M. I. (2021). Penerapan Teknologi Modified Sortation untuk Standarisasi Mutu Produk Kelompok Mitra “Rumah Herbal” Banjarbaru. *Pro Sejahtera*, 3(1), 9.
- Gafur, A., & Rizki, M. I. (2021). Penerapan Teknologi Modified Sortation untuk Standarisasi Mutu Produk Kelompok Mitra Rumah Herbal Banjarbaru. In *Pro Sejahtera (Prosiding Seminar Nasional Pengabdian kepada Masyarakat)* (Vol. 3, No. 1).
- Giroux, M.C., Hélie, P., Burns, P. dan Vachon, P. 2015. Anesthetic and pathological changes following high doses of ketamine and xylazine in Sprague Dawley rats. *Experimental animals*, 64(3), pp.253-260
- Handharyani, (2017). Introduction for care and animal handling. Center Berstandar Internasional Indonesian Neuroscience Institute – Universitas Yarsi. (2017), 11–12.
- Hariana, A. H. (2013). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Seri III*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harsa, I. M. S. (2014). Efek pemberian diet tinggi lemak terhadap profil lemak darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, 3(1), 21-28.
- Hasan, H., Thomas, N. A., Hiola, F., Ramadhani, F. N., & Ibrahim, A. S. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode 1, 1-Diphenyl-2 picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 2(1), 67-73.
- Hasnaeni, Wisdawati and Usman, S., 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). , (Universitas Muslim Indonesia)

- Heksana Spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil pada kondisi tutupan Terumbu Karang yang berbeda di Perairan Teluk Staring. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 131-141.
- Hikmah N, Shita ADP, Maulana H. Rat diabetic blood glucose level profile with stratified dose streptozotocin (SD-STZ) and multi low dose streptozotocin (MLD-STZ) induction methods. *J. Trop. Life. Science*. 2015; 1(5): 30-4
- Himawan, H. C., & Resti, D. A. (2017). Uji Farmakologis Ekstrak Kental Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Untuk Membantu Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus* strain Sprague-Dawley). *Jurnal Farmamedika (Pharmamedika Journal)*, 2(1), 30-39.
- Hoefler C Andrew., Sodium Carboxymethyl Cellulose, Chemistry, Functionality, and Applications, Food Ingredients Group, Hercules Incorporated, Wilmington, Delaware 19808, <http://www.herc.com/foodgums/index.htm> , diakses 25 Januari 2019.
<https://doi.org/10.23886/Ejki.5.7151>.
- I. H. Santi And B. Andari, "Sistem Pakar Untuk Mendiagnosa Kolesterol Dengan Metode Certainty Factor," *INTENSIF*, Vol. III, No. 2, Pp. 159-177, 2019.
- Ingrid, M., & Santoso, H. (2015). Aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif dalam buah stroberi. *Research Report-Engineering Science*, 2.
- Isnania, I. (2014). Aktivitas Diuretik Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Farmakope Herbal Indonesia. 2017.
- Kharisma, Y. (2017). Tinjauan Pemanfaatan Tanaman Pepaya Dalam Kesehatan. 1–14
- Kothari S, Jain AK, Mehta SC, Tonpay SD. Hypolipidemic effect of fresh *Triticum aestivum*(wheat) grass juice in hypercholesterolemic rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica and Drug Research*, Vol. 68 No. 2 pp. 291–294, 2012.
- Kumalasari, E., Yugo, Susanto, Rahmi, M. Y., Febrianty, & Febrianty, D. R. (2019). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Ramania* (*Bouea macrophylla* Griffith) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Mencit Putih (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Journal Current Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 2598–2095.
- Kumar, S., Pandey, A.K., 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Sci. World J.* 1–16.
- Kurniawan, B., & Aryana, W. F. (2015). Binahong (*Cassia alata* L) As Inhibitor Of *Escherichiaciku* Growth. *Majority*, 4(4), 100-104.
- Kurniawan, I., & Zahra, H. (2021). Review: Gallotannins; Biosynthesis, Structure Activity Relationship, Anti-Inflammatory And Antibacterial Activity. *Current Biochemistry*, 8(1), 1–16.
<https://doi.org/10.29244/Cb.8.1.1>
- Kurniawati E. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *J Wiyata*. 2015;2(2):193–9.

- Kurniawati, E. (2017). Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*, 2(2), 193-199.
- Kusuma, A. M., Asarina, Y., Rahmawati, Y. I., & Susanti, S. (2016). Efek ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dan ubi ungu (*Ipomoea batatas* L) terhadap penurunan kadar kolesterol dan trigliserida darah pada tikus jantan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 108-116.
- Kw3eksmvcj Yusnaini, Y., & Sahidin, S. (2019). Analisis LC-MS/MS (Liquid Chromatograph Mass Spectrometry) dan Metabolit Sekunder serta Potensi Antibakteri Ekstrak n-
- Lanham, S. A., et al. 2011. *The Metabolism of Nutrients*. Terjemahan Kristandyo dkk. 2015. *Metabolisme Zat Gizi*. Jakarta: EGC.
- Laufs, U., et al. (2020). Clinical Review on Triglycerides. *European Heart Journal*, 41(1), pp. 99–109c.
- Lutfiah, L. (2022). Aplikasi Kamus Simplisia Dan Resep Obat Tradisional (Sidota) Berbasis Android. *Jurnal Sains dan Informatika*, 8(1), 61-69.
- M. Utami, Y. Widiawati, and A. Hidayah, "Keragaman dan Pemanfaatan Simplisia Nabati yang Diperdagangkan di Purwokerto," 2013.
- Manurung, S. (2019). Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dengan Kloramfenikol Sebagai Perbandingan.
- Maryani, P. E., Ulfa, E. U., & Rachmawati, E. (2016). Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Tikus Hiperlipidemia (The Influence of Methanol Extract of Yellow Root (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) Leaves on Total Cholesterol. *Pustaka Kesehatan*, 4(1), 20-26.
- Masduqi A, Munifatul FI, Erma P. 2014. Efek metode pengeringan terhadap kandungan bahan kimia dalam rumput laut *Sargassum polycystrum*. *Jurnal Anatomi dan Fisiologi*. 112(1): 1-9.
- Meirindasari N, Murwani H, Tjahjono K. Pengaruh pemberian jus biji pepaya (*carica papaya* linn) terhadap kadar kolesterol total tikus sprague dawley dislipidemia. 2013;2(3):330-8.
- Mumpuni Y., Wulandari A., 2011. *Cara Jitu Mengatasi Kolesterol*. Yogyakarta: Andi
- Mutia, S., F. Fauziah, & Z. Thomy. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun andong (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia. *Jurnal Bioleuser*. 2:29-35. Ditjen POM, D. R. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Nadianto. 2018. Hubungan Penggunaan Kontrasepsi Oral dengan Kejadian Penyakit Jantung Koroner di Poli Jantung RSUD Hardjono Ponorogo. (online), (<http://eprints.umpo.ac.id/3913/3/BAB%25202.pdf>) diakses pada 24 Juli 2020.
- Ningsih, I. Y. (2016). *Modul Saintifikasi Jamu: Penanganan Pasca Panen*.
- NISA, K., & HARIAJI, I. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya* Linn) Terhadap Kadar Trigliserida Pada Tikus Putih

- Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang di Induksi Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Ilmiah Kohesi*, 5(3), 38-43.
- Nofianti, T., Windiarti, D., Prasetyo Y. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Krop Kubis Putih (*Brassica oleracea L.var. capitata*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Trigliserida Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*.
- Nofitarini, R., Novita, F. S., & Hidayah, F. N. (2019, August). Uji Kualitatif Alkaloid Dan Tannin Ekstrak Kulit Bawang Dan Daun Ketapang Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik. In *Prosiding Seminar Sains Nasional dan Teknologi* (Vol. 1, No. 1).
- Pepaya (*Carica Papaya L.*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus. Pharmacol*, 3(3), 188–195.
[Http://Ejournal.Unsrat.Ac.Id/Index.Php/Pharmacol/Article/Viewfile/5416/4923](http://Ejournal.Unsrat.Ac.Id/Index.Php/Pharmacol/Article/Viewfile/5416/4923)
- Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 18 Tahun 2021 Tentang Pedoman Uji Farmakodinamik Praktikum Obat Tradisional.
- Prasetyo, M. S., & Inorah, E. (2013). Pengelolaan budidaya tanaman obat-obatan (bahan simplisia). *Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB*, 2(1).
- PUSDATIN. Analisis Lansia di Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2017.
- Rimarco, et al. (2022). High HDL (High-Density Lipoprotein) Cholesterol Increases
- Rizal, Wawancara Petani Buah, Hortipark lampung, lampung Selatan. [14 Desember 2017]
- Rully M, Probosari E. Pengaruh pemberian buah pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar trigliserida pada tikus Sprague Dawley dengan hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College* 2012; 1(1):142-154
- Sambiri, R. D. H., Ardana, M., & Rusli, R. (2016, April). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) yang Diekstraksi dengan Metode Refluks. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 3, pp. 364-366).
- Sari, N. K. Y., & Sumadewi, N. L. U. (2020). Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*). *Sintesa*, 301–304.
<https://www.undhirabali.ac.id/jurnal/index.php/sintesa/article/download/1265/1111>
- Sarira, R., Warsyidah, A. A., & Nardin. (2017). Gambaran Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida Pada Petugas Perawatan Lantai 4 RSUD Wisata Universitas Indonesia Timur Makassar 2018. *Jurnal Media Laboran*, 7(2), 1–6.
- Sudarwati, T. P. L., & Fernanda, M. A. H. F. (2019). Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (*Carica papaya*) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*.
- Suhendar, U., Utami, N. F., Sutanto, D., & Nurdayanty, S. M. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *Fitofarmaka : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83. <https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2069>

- Suhendi, A., Sjahid, L. R., & Hanwar, D. (2011). Isolasi dan identifikasi flavonoid dari daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.).
- Suiraka. 2012. Penyakit Degeneratif. Nuha Medika. Yogyakarta
- Suprapti, M.L. Aneka Olahan Pepaya Mentah dan Mengkal. Kanisius. Yogyakarta; 2005
- Syukur, R., Alam, G., Mufidah, A. R., & Tayeb, R. 2013. Aktivitas Antiradikal Bebas Beberapa Ekstrak Tanaman Familia Fabaceae. *JST. Kesehatan*, 1(1): 1411-1674
- Tanaka, K., Arita, M., Sakurai, H., Ono, N., and Tezuka, Y., 2015, Analysis of chemical properties of edible and medicinal ginger by metabolomics approach, *Biomed Res. Int.*, 671058.
- Tenda, P. E., Lenggu, M. Y., & Ngale, M. S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Faloak (*Sterculia* sp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Info Kesehatan*, 15(1), 227-239.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Thoo, Y. Y., Ho, S. K., Abas, F., Lai, O. M., Ho, C. W., & Tan, C. P. (2013). Optimal binary solvent extraction system for phenolic antioxidants from mengkudu (*Morinda citrifolia*) fruit. *Molecules*, 18(6), 7004-7022.
- Tivani, I., Amananti, W., Putri, A. R., No, J. M., & Indonesia, K. T. J. T. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania Grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung. Jurnal Akademi Farmasi Samarinda*, 7(1), 86-91.
- Tolistiawaty I, Widjaja J, Sumolang P, Octaviani. Gambaran kesehatan pada mencit (*Mus musculus*) di instalasi hewan coba. *Jurnal Vektor Penyakit*. 2014. 8(1); 27-32.
- Trisnawati, E., & Jenie, I. M. (2019). Terapi Komplementer Terhadap Tekanan Darah Pada Penderita Hipertensi: A Literatur Review. *Jurnal Keperawatan Respati Yogyakarta*, 6(3), 641.
- Tufan, M., Uraz, E., Tosun, C., dan Gercel, H. 2016. Synthesis and Characterization of Carbpymethyl Cellulose Film from Pistachio Shells. *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*. Vol. 4, No. 1.
- Ujiani, S. 2015. Hubungan antara Usia dan Jenis Kelamin dengan Kadar Kolesterol Penderita Obesitas RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung. *Jurnal Kesehatan* 6(1): 43-48.
- Ulfa, R. (2019). Variabel Penelitian Dalam Penelitian Pendidikan. *Jurnal Pendidikan Dan Keislaman*, 1(1), 342-351. <https://doi.org/10.32550/teknodik.v0i0.554>
- UTAMI, Novi Fajar, et al. Pengaruh berbagai metode ekstraksi pada penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol daun iler (*Plectranthus scutellarioides*). *Fitifarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2020, 10.1: 76-83.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi simplisia dan ekstrak etanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and medicinal sciences*, 2(1).
- Wahyuni, R., Guswandi, G., & Rivai, H. (2017). Pengaruh cara pengeringan dengan oven, kering angin dan cahaya matahari langsung terhadap mutu simplisia herba sambiloto. *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), 126-132.

- Wellington, D., Mikaelian, I. dan Singer, L., 2013. Comparison of ketamine–xylazine and ketamine–dexmedetomidine anesthesia and intraperitoneal tolerance in rats. *Journal of the American association for laboratory animal science*, 52(4), pp.481-487
- Wulandari, L. (2022). Uji Aktivitas Analgetik Fraksi Etil Asetat Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Induksi Asam Asetat (Doctoral dissertation, Universitas dr. Soebandi).
- Yovina.S, 2012. Kolesterol. Pinang Merah Publisher, Yogyakarta.
- Yuda, P. E. S. K., Cahyaningsih, E., & Winariyanthi, N. P. Y. (2017). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta L.*). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2).
- Yusuf, M. I. (2016). Uji Efek Ekstrak Herba Meniran (*Premna corymbosa R. & W*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Darah Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Analis Kesehatan Kendari*, 1(1), 8-16.
- Zainuddin, N. A. (2021). Gambaran Histopatologi Hati Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Orchiectomy Dan Betina Ovariohysterectomy (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin).
- Zana Fitriana Octavia, N. W. (2014). Online di : <http://ejournals1.undip.ac.id/index.php/jnc> *Journal of Nutrition College* , Volume 3 , Nomor 4 , Tahun 2014. 3(2008), 647–654.

LAMPIRAN

1. Surat Etichal Clearance penelitian



Institutional Ethical Committee
University of Surabaya
Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya, 60293, Gedung FF 02.01
 Telepon (031) 2981213, Faksimile (031) 2981256
 Email : komite_etik@unit.usurabaya.ac.id

No.: 110/KE/IV/2023

ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE

TO WHOM IT MAY CONCERN

This is to certify that Inang Mahendra has obtained the necessary ethics approvals for the research project entitled **“The Effect of Ethanol Extract Papaya Seeds (*Carica papaya L.*) on Total Cholesterol, Triglyceride, LDL, and HDL Levels in Sprague Dawley Strain White Male Mice (SD)”** for the time period March 20, 2023—April 20, 2023. The Ethics Committee expects to be informed about, any serious adverse event occurring in the course of the study or any revision in the protocol.

Surabaya, 13.04.2023





Dr. rer.nat. Sulistyono Emantoko Dwi Putra
 Head of
 Institutional Ethical Committee
 University of Surabaya

Lampiran 2. Surat Sertifikat Hewan Uji



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

SURAT KETERANGAN No. 070/SSI/SPN/V/2023

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : drh. Dewi Mariyam
SIP : 520.11/0005/35.73.406/2023
Jabatan : Kepala Laboratorium Satwa Sehat Indonesia

Menerangkan bahwa :

Nama : Alecia Nur Alifah
Program Studi : Farmasi
Institusi : Stikes Karya Putra Bangsa, Sumbergempol, Tulungagung
Alamat : Jl. Raya Tulungagung - Blitar KM.04, Kec. Sumbergempol, Kab. Tulungagung, Prov. Jatim

Pada tanggal 16 Mei 2023 telah melakukan penelitian In Vivo, dengan menggunakan hewan coba berupa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar usia 6-8 minggu, kondisi tubuh normal, berat badan 200-250gr dengan taksonomi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Class : Mamalia
Ordo : Rodentia
Sub Ordo : Myomorpha
Family : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*
(*American Fancy Rat and Mouse Association*, 2004)

Demikian Surat Keterangan ini dibuat, agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 25 Mei 2023
Kepala Laboratorium,



drh. Dewi Mariyam

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

Office & Lab : Jl. Dako No. 52, Tidar, Malang
Klinik Malang : Jl. Raya Candi V, No 368 Kav. 9 - 10, Tidar, Malang
Rumah Sakit Batu : J. Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com

Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian



**Laboratorium Riset & Diagnostik
Klinik Hewan Satwa Sehat**

SURAT KETERANGAN

Nomor : 065/SSL/SPN/V/2023
Perihal : Surat Keterangan Peneliti

Saya yang bertandatangan dibawah ini Kepala Divisi Laboratorium Klinik Hewan (Riset dan Diagnostik) Satwa Sehat Indonesia menerangkan bahwa :

Nama : Alecia Nur Alifah
Program Studi : Farmasi
Perguruan Tinggi : Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung
Alamat : Jl. Raya Tulungagung - Blitar KM.04, Kec. Sumbergempol, Kab. Tulungagung

Dengan ini menyatakan mahasiswa tersebut benar melaksanakan penelitian di Laboratorium Satwa Sehat Indonesia, pada tanggal 3 Mei 2023. Dengan judul :

"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (CARICA PAPAYA L.) TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA TIKUS JANTAN SPRAGUE DAWLEY (SD)"

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenarnya, agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 25/05/2023

Kepala Laboratorium,



(Dewi Mariyam, drh)

SIP. 520.11/0005/35.73.406.2023

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

Office & Lab : Jl. Dako No. 52, Tidar, Malang
Klinik Malang : Jl. Raya Candi V, No 368 Kav. 9 - 10, Tidar, Malang
Rumah Sakit Batu : Jl. Korate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.co
www.satwasehatindonesia.co

Lampiran 4. Hasil Determinasi Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/ 710/ 102.20-AJ/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : ALECIA NUR ALIFAH
NIM : 1913206005
Fakultas : S1-FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman pepaya

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Violales
Suku : Caricaceae
Marga : Carica
Jenis : *Carica papaya L.*

Nama Umum : Pepaya (Indonesia), Rente (Aceh), Pertek (Gayo), Pastela (Batak), Embelik (Karo), Gedang (Lampung), Godang (Sunda), Kates (Jawa), Kates (Madura), Gedang (Bali), Kastela (Banjar).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a:Caricaceae-1:C.papaya.

2. Morfologi

Habitus: Perdu, tinggi ±10 m. Batang: Tidak berkayu, silindris, berongga, putih kotor. Daun: Tunggal, bulat, ujung runcing, pangkal bercorak, tepi bergeligi, diameter 25-75 cm, pertulangan menjari, panjang tangkai 25-100 cm, hijau. Bunga: Tunggal, bentuk bintang, di ketiak daun, berkelamin satu atau berumah dua; bunga jantan terletak pada landan yang serupa malin, kelopak kecil, kepala sari berbilang pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompet, tepi bertaju lima, bertabung panjang, putih kekuningan; bunga betina berdiri sendiri, mahkota lepas, kepala putik lima, duduk, bakal buah beruang satu, putih kekuningan. Buah: Buni, bulat memanjang, berdaging, masih muda hijau setelah tua jingga. Biji: Bulat atau bulat panjang, kecil, bagian luar dibungkus selaput yang berisi cairan, masih muda putih setelah tua hitam. Akar: Tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan.

3. Bagian yang digunakan : Biji.
4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 02 November 2022



Lampiran 5. Hasil Uji Kadar Abu Dan Kadar Air



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN KIMIA
Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia
Telp: +62341 575838, Fax: +62341 554403
<http://kimia.ub.ac.id>, e-mail:kimia_UB@ub.ac.id

LAPORAN HASIL ANALISIS

NO : 3154/UN10.F09.12/TA.00.02.3/2023

- | | |
|---------------------------------------|--|
| 1. Data Konsumen | |
| Nama | : Zunka Arida S.Y., Alecia Nur Alifah, Nadia Ika Fitri
Ramadhani, Pera Amelia, dan Sherly Ayuramadasari |
| Instansi | : Farmasi STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung |
| Alamat | : Jl. Raya Tulungagung – Blitar KM 4 Tulungagung |
| Telepon | : 082257878437 |
| Status | : Mahasiswa S-I |
| Keperluan Analisis | : Uji Kuantitas |
| 2. Sampling Dilakukan Oleh | : Konsumen |
| 3. Identifikasi Sampel | |
| Nama Sampel | : Biji Pepaya |
| Wujud | : Padat |
| Warna | : Cokelat |
| Bau | : Tidak Ada Bau |
| 4. Prosedur Analisis | : Dilakukan oleh Laboratorium Layanan Analisa dan
Pengukuran Departemen Kimia FMIPA Universitas
Brawijaya Malang |
| 5. Penyampaian Laporan Hasil Analisis | : Diambil Langsung |
| 6. Tanggal Terima Sempel | : 31 Maret 2023 |
| 7. Data Hasil Analisis | : Terlampir |

Malang, 02 Mei 2023
Ketua Departemen Kimia,



TTE oleh:
YUNIAR PONCO PRANANTO
02 Mei 2023 22:49
Verifikasi melalui:
<https://pcco.ub.ac.id>

Yuniar Ponso Prananto, S.Si., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198106202005011002



UU ITE No. 11 Tahun 2008 Pasal 5 Ayat 1
"Informasi Elektronik dan/atau Dokumen Elektronik dan/atau hasil cetaknya merupakan alat bukti hukum yang sah."
Dokumen ini telah ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat elektronik yang diterbitkan BSR/E

Lampiran Surat Nomor: 3154/UN10.F09.12/TA.00.02.3/2023

No	Kode	Parameter	Hasil Analisis		Metode Analisis	
			Kadar	Satuan	Pereaksi	Metode
1.	BP	Kadar Abu	17,38 ± 0,07	%	-	Gravimetri

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya



biji pepaya



serbuk biji pepaya



Penimbangan Serbuk



Proses maserasi



penyaringan filtrate biji pepaya



ekstrak kental



Rotary evaporator

2. Susut pengeringan simplisia



Replikasi 1



Replikasi 2

3. Uji Bebas Etanol
Pengujian dengan mencium bau ester



Sebelum perlakuan



Sesudah perlakuan

Uji bebas etanol dengan perubahan warna



Sebelum Perlakuan



Sesudah Perlakuan

4. Skrining Fitokimia

A. Uji Flavonoid



Sebelum perlakuan



Sesudah perlakuan

b. Uji Tanin



Sebelum Perlakuan

Sesudah Perlakuan

c. Uji Saponin



Sebelum Perlakuan

Sesudah Perlakuan

Lampiran 7. Perhitungan dosis

1. Perhitungan dosis simvastatin

- Dosis lasim manusia = 10 mg
- Konversi dosis manusia ke tikus = dosis x faktor konversi
- = 10 mg x 0,018
- = 0,18 mg/200gBB
- Dosis untuk rata-rata tikus = 0,18 mg x $\frac{230 \text{ g}}{200 \text{ g}}$
- = 0,207 mg
- Volume maks pemberian oral = 5 ml
- Pembuatan larutan stok = vol. maks pemberian x jumlah tikus
- = 5 ml x 6

= 30 ml

Jumlah simvastatin yang ditimbang = $\frac{30 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 0,18$

= 1,08 mg

Timbang 1,08 mg simvastatin serbuk larutkan dalam 30 ml pelarut CMC-Na 0,5%.

Jika yang digunakan tablet simvastatin, maka tablet yang ditimbang adalah :

Berat 1 tablet simvastatin = 137 mg

Maka tablet simvastatin ditimbang = $\frac{1,08 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 137 \text{ mg} = 14,79 \text{ mg}$

Jadi, ambil 1 tablet simvastatin (137 mg), gerus dan ambil 14,79 mg dan larutkan dalam pelarut yang sesuai.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus, misal $\frac{230 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ ml} = 5,7 \text{ ml}$

2.Perhitungan dosis ekstrak biji pepaya

Dosis ekstrak biji pepaya yang digunakan adalah 150mg/kgBB, 300mg/150mg/kgBB, 450mg/150mg/kgBB.

1.Dosis I (150 mg/kg BB)

Dosis EEBP pada tikus = Dosis EEBP x faktor konversi

= 150 mg/kgBB x 0,018

= 2,7 mg/200gBB

Pembuatan larutan stok = vol. maks pemberian x jumlah tikus

= 5 ml x 6

= 30 ml

Ekstrak yang ditimbang = $\frac{30 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 2,7 \text{ mg} = 16,2 \text{ mg}$

Timbang ekstrak BP 16,2 mg larutkan dalam 30 ml pelarut CMC-Na 0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus misal :

= $\frac{230 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,7 \text{ mg} = 3,1 \text{ mg}/200\text{gBB}$ tikus

2.Dosis II (300 mg/kg BB)

Dosis EEBP pada tikus = Dosis mg x faktor konversi



$$\begin{aligned}
 &= 300 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 \\
 &= 5,4 \text{ mg/200gBB tikus} \\
 \text{Pembuatan larutan stok} &= \text{vol. maks pemberian} \times \text{jumlah tikus} \\
 &= 5 \text{ ml} \times 6 \\
 &= 30 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

$$\text{Ekstrak yang ditimbang} = \frac{30 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 5,4 \text{ mg} = 32,4 \text{ mg}$$

Timbang ekstrak BP 32,4 mg larutkan dalam 30 ml pelarut CMC-Na 0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus misal :

$$= \frac{230 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5,4 = 6,21 \text{ mg/200gBB tikus}$$

3.Dosis III (450 mg/kg BB)

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis EEBP pada tikus} &= \text{Dosis mg} \times \text{faktor konversi} \\
 &= 450 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 \\
 &= 8,1 \text{ mg/200gBB tikus}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Pembuatan larutan stok} &= \text{vol. maks pemberian} \times \text{jumlah tikus} \\
 &= 5 \text{ ml} \times 6 \\
 &= 30 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

$$\text{Ekstrak yang ditimbang} = \frac{30 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 8,1 \text{ mg} = 48,6 \text{ mg}$$

Timbang ekstrak BP 48,6 mg larutkan dalam 30 ml pelarut CMC-Na 0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus misal :

$$= \frac{230 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 8,1 \text{ mg} = 9,315 \text{ mg}$$

3.Pembuatan Suspensi larutan CMC-Na 0,5% sebanyak 100 ml

$$\begin{aligned}
 \text{CMC-Na 0,5\%} &= \frac{0,5 \text{ gram}}{100} \times 100 \text{ ml} \\
 &= 0,5 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perlakuan Hewan Uji



Kandang Tikus



Tikus Jantan



Alat Pengambilan sampel



chemistry analyzer 1 ubio ichem-535



Alat sonde



Pemberian oral, dengan menggunakan sonde



Proses anestesi



Pengambilan darah pada jantung, menggunakan spuit 3cc



Darah ditampung di tabung heparin



Lalu darah di sentrifugasi 3000 rpm, selama 10 menit

Pengambilan serum darah, dimasukkan kedalam tabung effendorf

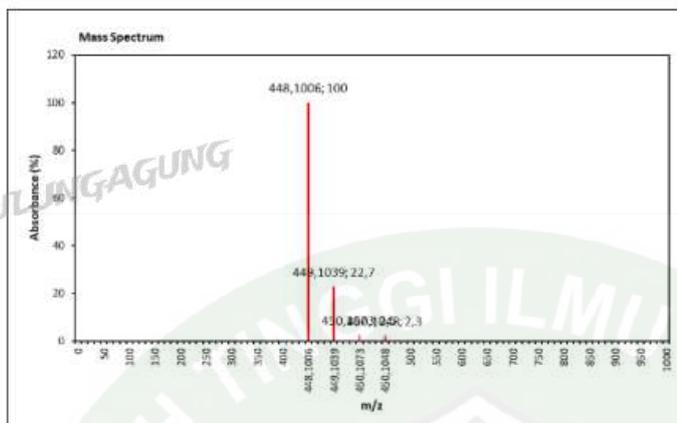
sampel diberi reagen dumolab

Penelitian kali ini dilakukan di Klinik Hewan Satwa Sehat, Tidar, Malang.

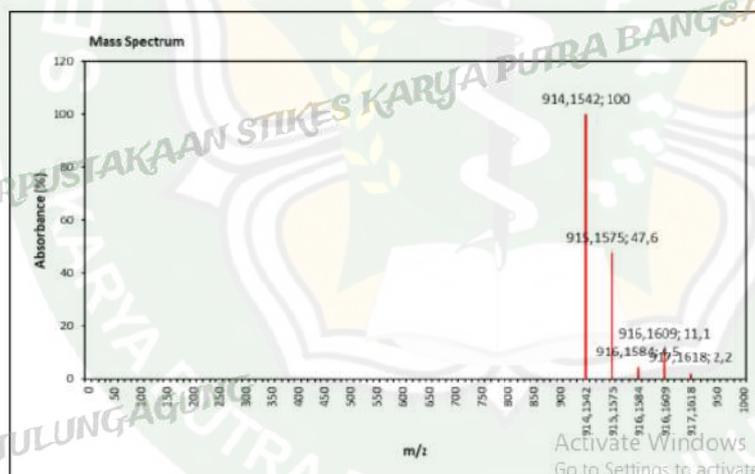


Lampiran 9. Hasil Mass-Spektrometry

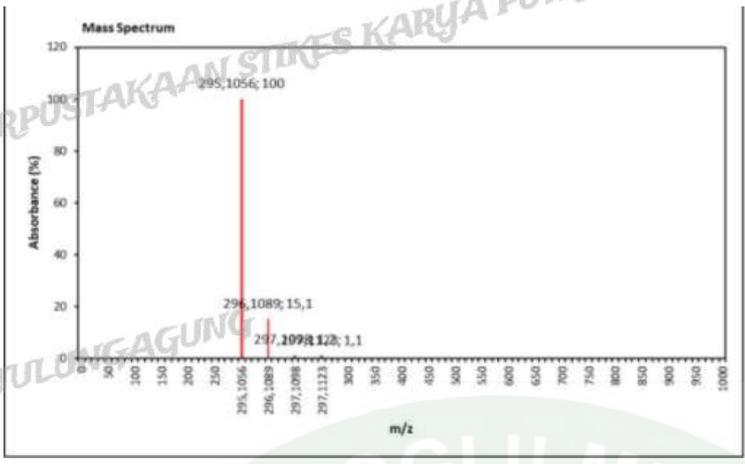
1. Mass-Spektrometry senyawa Quercetin



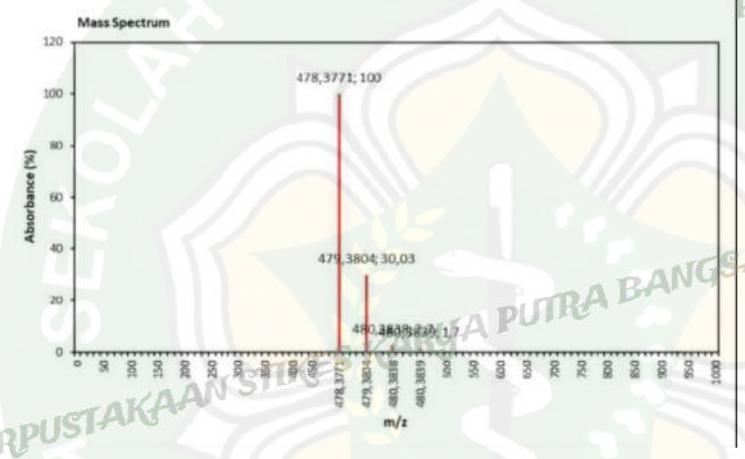
2. Mass-Spektrometry senyawa 3-O-galloylepigallocatechin-(4 β →8)epigallocatechin- 3-O-gallate



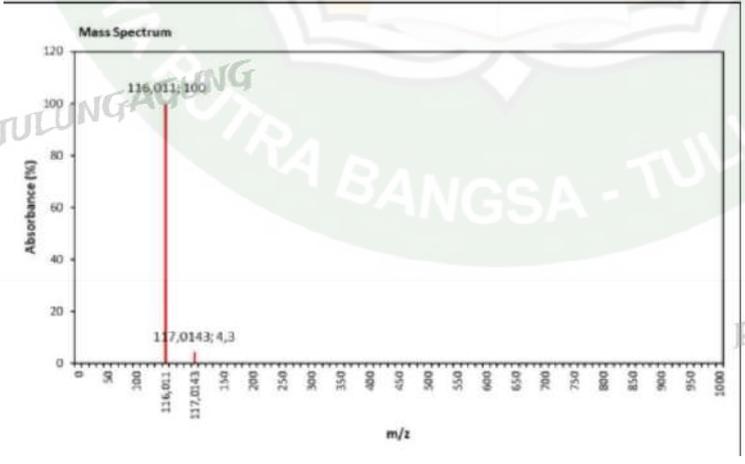
3. Mass-Spektrometry senyawa sambunigrin



4. Mass-Spektrometry senyawa *carpaine*



5. Mass-Spektrometry senyawa *fumaric acid*



Lampiran 10. Tabel Hasil Pemeriksaan Kadar Triglicerida

Perlakuan	No.	Hari ke-15	Hari ke-29	Selisih hari 15 dan 29
Kontrol Normal	1.	150,54	130,46	20,08
	2.	140,86	134,6	6,26
	3.	145,43	133,78	11,65
	4.	80,13	99,3	10,82
	5.	95,13	85,7	9,43
Rata-rata		122,42	116,77	11,648
Kontrol Positif	1.	86,54	77,65	8,89
	2.	88,68	82,02	11,03
	3.	98,56	91,4	7,16
	4.	95,23	91,5	3,73
	5.	56,12	31,4	24,72
Rata-rata		85,026	74,8	11,106
Kontrol Negatif	1.	285,1	252,4	32,7
	2.	130,12	171,4	18,2
	3.	188,8	142,1	46,7
	4.	298,14	236,8	34,34
	5.	190,32	172,44	17,88
Rata-rata		218,5	195	29,964
Perlakuan 1 (150mg/dL)	1.	168,5	147,2	21,3

	2.	159,8	143,2	16,6
	3.	188,2	175,1	13,1
	4.	184,12	168,9	15,22
	5.	190,89	177,8 6	13,03
Rata-Rata		178,3	162,4 5	15,85
	1.	135,2	129,1	6,1
Perlakuan 2 (300mg/dL)	2.	176,4	168,2	8,2
	3.	168,8	146,5	22,3
	4.	100,3	92,1	8,2
	5.	110,9	34,06	16,84
Rata-Rata		138,32	126	12,328
	1.	80,6	72,4	8,2
Perlakuan 3 (450mg/dL)	2.	90,4	86,3	4,1
	3.	76,54	60,65	15,89
	4.	110,1	102,8	7,3
	5.	68,1	52,8	15,3
Rata-Rata		16,09	74,99	10,158

Lampiran 11. Grafik Rata-rata Kadar Trigliserida

Tests of Normality

	kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti c	df	Sig.	Statisti c	Df	Sig.
kadar kolesterol	kontrol normal	.327	5	.087	.807	5	.092
tg	kontrol positif	.345	5	.051	.749	5	.029
	kontrol negatif	.273	5	.200*	.900	5	.410
	dosis 1	.255	5	.200*	.850	5	.196
	dosis 2	.233	5	.200*	.913	5	.486
	dosis 3	.163	5	.200*	.968	5	.860

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 12. Analisis Data SPSS

1. Analisis SPSS

a. Uji normalitas

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

kadar kolesterol tg

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.001	5	24	.430

c. Uji Anova

ANOVA

kadar kolesterol tg

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57264.584	5	11452.917	13.467	.000
Within Groups	20411.127	24	850.464		
Total	77675.711	29			

d. Uji Post-Hock

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadar kolesterol tg

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol positif	41.97200	18.44412	.242	-15.0559	98.9999
	kontrol negatif	-78.66000*	18.44412	.003	-135.6879	21.6321
	dosis 1	-45.68400	18.44412	.171	-102.7119	11.3439
	dosis 2	-9.22400	18.44412	.996	-66.2519	47.8039

	dosis 3	41.77800	18.4441 2	.247	-15.2499	98.8059
kontrol positif	kontrol normal	-41.97200	18.4441 2	.242	-98.9999	15.0559
	kontrol negatif	- 120.63200*	18.4441 2	.000	-177.6599	- 63.6041
	dosis 1	-87.65600*	18.4441 2	.001	-144.6839	- 30.6281
	dosis 2	-51.19600	18.4441 2	.096	-108.2239	5.8319
	dosis 3	-.19400	18.4441 2	1.000	-57.2219	56.8339
kontrol negative	kontrol normal	78.66000*	18.4441 2	.003	21.6321	135.687 9
	kontrol positif	120.63200*	18.4441 2	.000	63.6041	177.659 9
	dosis 1	32.97600	18.4441 2	.492	-24.0519	90.0039
	dosis 2	69.43600*	18.4441 2	.011	12.4081	126.463 9
	dosis 3	120.43800*	18.4441 2	.000	63.4101	177.465 9
dosis 1	kontrol normal	45.68400	18.4441 2	.171	-11.3439	102.711 9
	kontrol positif	87.65600*	18.4441 2	.001	30.6281	144.683 9
	kontrol negatif	-32.97600	18.4441 2	.492	-90.0039	24.0519
	dosis 2	36.46000	18.4441 2	.384	-20.5679	93.4879
	dosis 3	87.46200*	18.4441 2	.001	30.4341	144.489 9
dosis 2	kontrol normal	9.22400	18.4441 2	.996	-47.8039	66.2519
	kontrol positif	51.19600	18.4441 2	.096	-5.8319	108.223 9
	kontrol negatif	-69.43600*	18.4441 2	.011	-126.4639	- 12.4081
	dosis 1	-36.46000	18.4441 2	.384	-93.4879	20.5679

dosis 3	51.00200	18.4441 2	.099	-6.0259	108.029 9
dosis 3 kontrol normal	-41.77800	18.4441 2	.247	-98.8059	15.2499
kontrol positif	.19400	18.4441 2	1.000	-56.8339	57.2219
kontrol negatif	- 120.43800*	18.4441 2	.000	-177.4659	- 63.4101
dosis 1	-87.46200*	18.4441 2	.001	-144.4899	- 30.4341
dosis 2	-51.00200	18.4441 2	.099	-108.0299	6.0259

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

e. Uji Tukey

Trigliserida

Tukey HSD^a

Subset for alpha = 0.05

Trigliserida	N	1	2
Perlakuan 3	5	10.1580	
Kelompok positif	5	11.1060	
Kelompok normal	5	11.6480	
Perlakuan 2	5	12.3280	
Perlakuan 1	5	15.8500	15.8500
Kelompok negative	5		29.9640
Sig.		.822	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Jadwal Penelitian

Jadwal kegiatan	Bulan											Lokasi	
	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7		
1. Persiapan	√	√											STIKes Karya Putra Bangsa
2. Proposal		√	√	√									
3. Seminar proposal					√								STIKes Karya Putra Bangsa
4. Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>					√								Komisi Etik Penelitian UBAYA
5. Pengambilan sampel				√	√								Desa Mirigambar
6. Determinasi					√								UPT Materia Medika Batu, Malang
7. Pembuatan simplisia					√								Lab. Botani STIKes Karya Putra Bangsa
8. Proses maserasi						√							Lab. Botani STIKes Karya Putra Bangsa
9. Proses ekstraksi						√							UPT Materia Medika Batu, Malang
10. Analisis LCMS							√						Universitas Muhammadiyah Malang
11. Perlakuan hewan uji											√		Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang
12. Pengukuran kadar trigliserida											√		Laboratorium Riset dan Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang
13. Analisis data								√	√				Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang
14. Pembuatan draft skripsi									√	√			
15. Seminar hasil penelitian										√	√		STIKes Karya Putra Bangsa