

**ANALISIS SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPEYA
MENGUNAKAN LC-MS DAN UJI KADAR LDL
TERHADAP TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley***

SKRIPSI



Oleh :

INANG MAHENDRA

1913206017

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

JULI 2023

**ANALISIS SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPEYA
MENGUNAKAN LC-MS DAN UJI KADAR LDL
TERHADAP TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa



Oleh :

INANG MAHENDRA

1913206017

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

JULI 2023

HALAMAN PERSETUJUAN

ANALISIS SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPEYA
MENGUNAKAN LC-MS DAN UJI KADAR LDL
TERHADAP TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley*



Yang diajukan oleh :

INANG MAHENDRA
1913206017

Telah di setujui oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing pendamping

Apt. Choirul Huda, M. Farm

NIDN: 076038502

Apt. Arif Santoso, M. Farm

NIDN: 16860104

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

ANALISIS SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPEYA
MENGUNAKAN LC-MS DAN UJI KADAR LDL
TERHADAP TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley*

Oleh :

INANG MAHENDRA

1913206017

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

Tanggal :

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

Anggota Penguji : 1. apt. Arif Santoso, M. Farm (.....)

2. apt. Amalia Eka Putri, M. Farm (.....)

3. Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc (.....)

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 disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dapat diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, juli 2023

Inang Mahendra

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

**ANALISIS SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPEYA
MENGUNAKAN LC-MS DAN UJI KADAR LDL
TERHADAP TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley***

Inang mahendra

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Kolesterol adalah salah satu lemak tubuh yang berada dalam asam lemak bebas dan ester serta merupakan komponen utama selaput sel otak dan saraf. Kadar kolesterol tinggi yang di sebabkan oleh peningkatan metabolisme lemak, dari makanan dapat meningkatkan kolestrol dan menyebabkan penyumbatan pembuluh darah. Salah satu jenis kolesterol adalah LDL lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar untuk disebarkan keseluruh endotel jaringan perifer dan pembuluh nadi, yang dikenal dengan kadar kolesterol jahat. Biji pepaya merupakan bahan alami yang mengandung zat fitokimia berupa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang bersifat sebagai antihiperkolesterol dan antioksidan. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk menguji efektivitas ekstrak biji pepaya dalam penurunan kadar kolesterol LDL pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang di induksi tinggi lemak selama 14 hari. Penelitian ini menggunakan model eksperimental terhadap 36 tikus *Sprague Dawley* dengan usia \pm 8 minggu dengan berat badan rata-rata 150-180 gram. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok tikus yang diberi induksi tinggi lemak dan simvastatin 10 mg (K+), kelompok tikus yang diberi tinggi lemak (K-), kelompok tikus yang diberi pakan standart (KN), kelompok tikus yang diberi tinggi lemak dan ekstrak biji pepaya 150 mg/kgBB (P1), kelompok tikus yang diberi tinggi lemak dan ekstrak biji pepaya 300 mg/kgBB (P2), dan Kelompok tikus yang diberi tinggi lemak dan ekstrak biji pepaya 450 mg/kgBB (P3). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) kelompok K+= 10.57 ± 10.3 , K-= 16.11 ± 14.9 , KN= 35.42 ± 4.6 , P1= 19.4 ± 5.6 , P2= 13.69 ± 5.8 , dan P3= 10.11 ± 4.5 . Pada uji Tukey Lanjutan didapatkan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang menunjukkan ada perbedaan nyata antara kelompok K+ dengan KN, K-, P1, dan P2. Ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dapat menurunkan kadar High Density Lipoprotein (HDL) dan hampir sebanding dengan pemberian simvastatin pada kelompok perlakuan kontrol positif (K+).

Kata Kunci : Kolesterol HDL, Ekstrak Biji Pepaya, *Sprague Dawley*

Compound Analysis Of Papaya Seed Ethanol Ekstrak Using LC-MS And LDL Levels Test On Sprague Dawley White Male Mice

Inang mahendra

Program Study S1-Pharmacy

ABSTRACT

Cholesterol is one of the body fats that resides in free fatty acids and esters and is a major component of the membranes of brain and nerve cells. High cholesterol levels caused by increased fat metabolism, from food can increase cholesterol and cause blood vessel blockage. One type of cholesterol is LDL the largest cholesterol-transporting lipoprotein to be spread throughout endothelial peripheral tissues and pulse vessels, known as bad cholesterol levels. Papaya seeds are natural ingredients that contain phytochemical substances in the form of flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids that are antihypercholesterol and antioxidants. The purpose of this study was to test the effectiveness of papaya seed extract in lowering LDL cholesterol levels in male rats of Sprague Dawley strains induced high in fat for 14 days. The study used an experimental model of 36 Sprague Dawley mice with an age of ± 8 weeks with an average body weight of 150-180 grams. The mice were divided into 6 groups of mice induced with high fat and simvastatin 10 mg (K+), a group of mice fed high fat (K-), a group of mice fed standard feed (KN), a group of mice fed high fat and papaya seed extract 150 mg/kGBB (P1), a group of mice fed high fat and papaya seed extract of 300 mg/kGBB (P2), and Groups of mice that were given high-fat and papaya seed extract of 450 mg/kGBB (P3). The results of this study showed that average Low Density Lipoprotein (LDL) cholesterol levels of group $K+= 10.57\pm 10.3$, $K-= 16.11\pm 14.9$, $KN= 35.42\pm 4.6$, $P1= 19.4\pm 5.6$, $P2= 13.69\pm 5.8$, and $P3= 10.11\pm 4.5$. In the Advanced Tukey test, a significance value of $p < 0.05$ showed a noticeable difference between the K+ group and KN, K-, P1, and P2. Papaya seed extract (*Carica Papaya L.*) can lower High Density Lipoprotein (HDL) levels and is almost comparable to simvastatin administration in the positive control (K+) treatment group.

Keywords: HDL Cholesterol, Papaya Seed Extract, Sprague Dawley

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT “Sang pencipta alam semesta pemilik semua ilmu pengetahuan sebagai tanda pengabdianku dalam mempelajari ayat-ayat Mu” Atas segala kemudahan yang telah Engkau berikan, sehingga berkat izin dan Rahmat-Mu satu amanah-Mu mampu hamba selesaikan penyusunan skripsi penelitian ini yang berjudul **“ANALISIS SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPEYA MENGGUNAKAN LC-MS DAN UJI KADAR LDL TERHADAP TIKUS JANTAN PUTIH GALUR Sprague Dawley”** ini dengan lancar tanpa suatu hambatan apapun walaupun masih banyak kekurangan.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa. Penulis menyadari bahwa proposal ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, bimbingan, dan nasehat dari berbagai pihak sehingga proposal ini dapat diselesaikan. Dengan ketulusan hati, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Yang Terhormat Bapak Apt. Arif Santoso, M.Farm yaitu selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa
2. Yang Terhormat apt. Dara Pranidya Tilarso., M. Farm yaitu selaku Ketua Prodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa
3. Yang Terhormat Bapak Apt. Choirul Huda, M.Farm yaitu selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan proposal skripsi.
4. Yang Terhormat Bapak Apt. Arif Santoso, M.Farm yaitu selaku pembimbing II yang telah memberikan saran dan masukan selama penyusunan proposal skripsi.
5. Kedua orang tua yang telah memberikan semuanya, doa, kasih sayang, cinta, pengorbanan, dukungan, dan kebahagiaan yang begitu indah dalam hidup penulis. Semoga Allah selalu melimpahkan berjuta kenikmatan yang tiada henti kepada Ayahanda dan Ibunda.

6. Sahabat penulis tersayang BAKARAN SQUAD (Muhamad Pramudi, Jalu Prakoso, Windu Handaru, Mochamad Syahrul Fajari, Lukmannul Hakim, Putri Indah Pratiwi, Mursyidah Lathifatul Khusna, Iswari Rahmi A'yuni, Ita Rhosida, Meilina Rossa Nabela Sari, Erlisa Maratul 'Alimah, Okti Trihatinia, Zunka Arida Sheila Yazid, Fadila Naila Putri).

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan tidak lepas dari kesalahan, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan proposal skripsi ini. Penulis berharap semoga proposal skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang kefarmasiaan.

Tulungagung, juli 2023

Penulis

Inang Mahendra

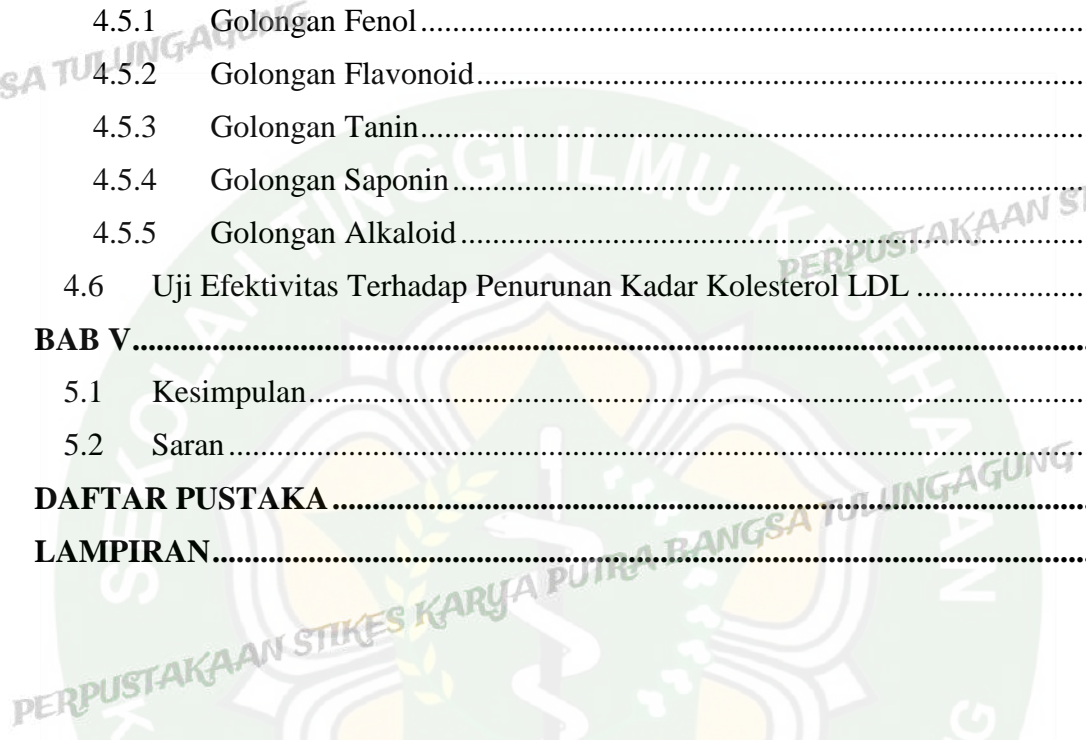
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumus Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	4
BAB II	5
2.1 Kolesterol	5
2.1.1 Definisi kolesterol	5
2.1.2 Klasifikasi Kolesterol	5
2.1.3 Klasifikasi Kadar kolesterol.....	7
2.1.4 Patofisiologi	7
2.1.5 Etiologi.....	8
2.1.6 Tatalaksan (Farmakologi dan Non Farmakologi)	8
2.2 Tanaman Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	11
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	11
2.2.2 Manfaat Pepaya.....	13
2.2.3 Kandungan Tanaman Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	14
2.2.4 Kandungan Senyawa Pada Biji Pepaya.....	14
2.3 Simplisia.....	15
2.3.1 Penggolongan Simplisia.....	16

2.3.2	Syarat Simplisia	16
2.3.1	Penyiapan Simplisia.....	17
2.4	Ekstrak.....	19
2.4.1	Definisi Ekstrak.....	19
2.4.2	Sifat Ekstrak	19
2.4.3	Metode Penguapan dan Pengeringan	19
2.5	Ekstraksi	21
2.5.1	Definisi Ekstraksi	21
2.5.2	Prinsip Ekstraksi	22
2.5.3	Faktor Yang Mempengaruhi Ekstraksi	22
2.5.5	Pelarut Ekstraksi.....	26
2.6	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry (LCMS)</i>	28
2.7	Hewan Uji.....	29
2.7.1	Definisi Tikus.....	29
2.7.2	Klasifikasi Tikus	29
2.7.3	Masa Tumbuh Kembang.....	30
2.7.4	Pengambilan Sampel.....	30
2.7.5	Penanganan Sampel Darah Hewan Uji	31
2.7.6	Kontrol Postif	31
BAB III	32
3.1	Alat dan Bahan	32
3.1.1	Alat.....	32
3.1.2	Bahan.....	32
3.2	Lokasi Penelitian.....	32
3.3	Populasi Penelitian	32
3.4	Sampel Penelitian	33
3.5	Variabel penelitian	33
3.5.1	Variabel Bebas	33
3.5.2	Variabel Kontrol.....	33
3.5.3	Variabel Terikat	33

3.6	Jalannya penelitian	34
3.6.2	Determinasi Tanaman	34
3.6.3	Pembuatan Simplisia.....	34
3.6.4	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	34
3.6.5	Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	35
3.6.6	Skринing Fitokimia	36
3.6.7	Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LC-MS.....	37
3.7	Uji Pra-Klinik pada Tikus	37
3.7.1	Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba	37
3.7.2	Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak.....	38
3.7.3	Pembuatan Larutan Koloidal CMC-Na 0,5%	38
3.7.4	Pembuatan Suspensi Ekstrak Biji Pepaya	38
3.7.5	Pembuatan Kontrol Positif	38
3.7.6	Perlakuan Pada Hewan Coba	39
3.7.7	Pengambilan Sampel	40
3.7.8	Pengukuran Kadar LDL	41
3.7.9	Analisis Data	42
3.8	Hipotesis	43
3.9	Kerangka Penelitian	44
3.9.1	Pembuatan Ekstrak	44
3.9.2	Perlakuan Hewan Coba	45
BAB IV		46
4.1	Persetujuan <i>Ethical Clereance</i>	46
4.2	Determinasi Tanaman.....	46
4.3	Pembuatan Simplisia Serbuk Biji Pepaya	46
4.3.1	Uji Susut Pengeringan Simplisia.....	47
4.3.2	Uji Kadar Air Simplisia	47
4.4	Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya	48
4.4.1	Rendemen Ekstrak	49
4.4.2	Uji Organoleptis	50

4.4.3	Uji Bebas Etanol	50
4.4.4	Sriking Fitokimia	51
4.5	Identifikasi Senyawa Menggunakan LC-MS	56
4.5.1	Golongan Fenol	61
4.5.2	Golongan Flavonoid	62
4.5.3	Golongan Tanin	63
4.5.4	Golongan Saponin	64
4.5.5	Golongan Alkaloid	65
4.6	Uji Efektivitas Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol LDL	65
BAB V	73
5.1	Kesimpulan	73
5.2	Saran	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN	81



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kalsifikasi Kolesterol berdasarkan densitasnya..... 6

Tabel 2. 2 Klasifikasi Kadar Kolesterol..... 7

Tabel 2. 3 Dosis statin maksimal yang rekomendasikan..... 9

Tabel 2. 4 Penggunaan CMC-Na 28

Tabel 2. 5 Klasifikasi Tikus 29

Tabel 4. 1 Hasil Uji Susut Pengeringan Biji Pepaya (Carica Papaya L.)..... 47

Tabel 4. 2 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Biji Pepaya (Carica Papaya L.) 48

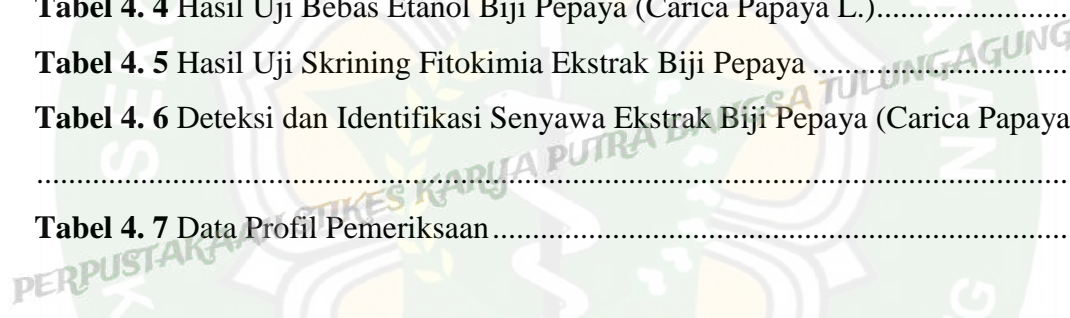
Tabel 4. 3 Hasil Rendemen Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya L.)..... 50

Tabel 4. 4 Hasil Uji Bebas Etanol Biji Pepaya (Carica Papaya L.)..... 50

Tabel 4. 5 Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Pepaya 52

Tabel 4. 6 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya L.)
..... 59

Tabel 4. 7 Data Profil Pemeriksaan..... 68



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 (a)Tanaman pepaya (Carica Papaya L.) dan (b)Biji Pepaya.....	11
Gambar 4. 1 Hasil Uji Bebas Etanol Biji Pepaya (Carica Papaya L.).....	51
Gambar 4. 2 Hasil Uji Flavonoid	53
Gambar 4. 3 Hasil Uji Tanin	54
Gambar 4. 4 Hasil Uji Saponin.....	55
Gambar 4. 5 Hasil Uji Alkaloid.....	56
Gambar 4. 6 Hasil Chromatogram LC-MS	58
Gambar 4. 7 Rerata Kadar LDLC Setelah Perlakuan.....	69



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kolesterol merupakan salah satu lipid plasma, sumber makanan utama kolesterol dalam darah diperoleh dari makanan (eksogen) dan sintesis lemak hati (endogen) (Alaydrus *et al.*, 2020). Kolesterol adalah salah satu lemak tubuh yang berada dalam asam lemak bebas dan ester serta merupakan komponen utama selaput sel otak dan saraf. Kadar kolesterol tinggi yang disebabkan oleh peningkatan metabolisme lemak, dari makanan dapat meningkatkan kolesterol dan menyebabkan penyumbatan pembuluh darah (Sigarlaki & Tjiptaningrum, 2016). Kolesterol merupakan suatu gangguan lipid dengan ditandai peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol trigliserida, kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL), serta penurunan kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) (PERKENI, 2019).

Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar untuk disebarkan keseluruh endotel jaringan perifer dan pembuluh nadi (Putri, 2015). *Low Density Lipoprotein* (LDL) dikenal dengan kadar kolesterol jahat, kandungan lipoprotein densitas rendah yang sesuai dalam tubuh yaitu sekitar 60-70%. *Low Density Lipoprotein* (LDL) mengangkut kadar kolesterol melalui jaringan arteri ke seluruh tubuh menuju pada tempat yang membutuhkan, tetapi jika terlalu banyak *Low Density Lipoprotein* (LDL) maka terjadi penumpukan kolesterol di jaringan arteri dan dapat menyebabkan pembentukan plak. Kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) juga dapat mempengaruhi tingkat lemak jenuh didalam tubuh dan jumlah kolesterol yang pada saat dikonsumsi. Kolesterol tinggi sebaiknya dapat segera melakukan diet yang rendah lemak. Pengambilan LDL oleh hati dari sirkulasi terutama melalui reseptor LDL dipermukaan sel. Hampir semua jaringan dalam tubuh dapat mensintesis reseptor LDL, untuk kemudian LDL dibawa keregioperinuklear dan berdifusi dengan lisosom (Wahjuni, 2015).

Hasil Riset Kesehatan Dasar (Rikesdes) 2013 terdapat 35,9% dari penduduk Indonesia yang berusia ≥ 15 tahun dengan kadar kolesterol abnormal yang berisiko

terjadinya penyakit jantung. Tahun 2016 penderita hiperkolesterolemia sebesar 42%. Jumlahnya akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya umur, kelompok umur tertinggi adalah 65-74 tahun. Kadar kolesterol pada lansia umumnya cenderung meningkat. Prevalensi hiperkolesterolemia usia 25-34 tahun adalah 9,3% sedangkan usia 55-64 sebesar 15,5% (Erma Kasumayanti, 2020).

Golongan obat yang sering digunakan untuk pengobatan kolesterol, obat sintetik seperti golongan statin yaitu simvastatin, untuk obat penderita kolesterol harus mengkonsumsi secara rutin dan teratur selama kondisinya terkontrol, dan harus di pantau selama 6-12 minggu setelah pengobatan, untuk dapat mengendalikan kadar kolesterol total, trigliserida, *Low Density Lipoprotein* LDL, dan *High Density Lipoprotein* HDL (PERKENI, 2019). Pengobatan hiperkolesterol selain menggunakan obat sintetik, dapat menggunakan tanaman herbal sebagai obat tradisional, keanekaragaman sumber hayati saat ini banyak penelitian yang berkonsep pada pemanfaatan tanaman-tanaman obat secara tradisional, banyak tanaman berkhasiat. Tanaman obat yang diketahui memiliki efek hiperkolesterol salah satunya adalah biji buah pepaya (Cahaya & Ayu, 2017).

Pepaya (*Carica papaya L.*) merupakan salah satu buah yang dapat dikonsumsi dan mudah dijangkau didaerah tropis dan subtropis seperti di Indonesia. Semua bagian pepaya ternyata dapat dimanfaatkan termasuk bijinya. Analisis fitokimia biji pepaya menunjukkan adanya flavonoid, saponin, dan tanin. Kandungan zat fitokimia dalam biji pepaya yaitu flavonoid, saponin dan tannin, diketahui dapat mengatasi keadaan hiperkolesterolemia. Flavonoid telah dilaporkan dapat menurunkan oksidasi kolesterol LDL, menurunkan peroksidasi lemak, dan menghambat perkembangan lesi-lesi aterosklerosis pada penyakit kardiovaskuler. Tanin telah terbukti memiliki efek anti hiperkolesterolemik yang kuat dengan cara mereduksi absorbs kolesterol di usus. Saponin juga dapat menurunkan kadar kolesterol di plasma dengan cara menghambat absorbs kolesterol di usus (Damayanti *et al.*, 2021).

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar kolesterol LDL pada tikus putih jantan galur

Sprague Dawley yang telah di induksi hiperkolesterolemia. Hasil yang bermakna pada pengujian statistik menunjukkan bahwa ekstrak air biji pepaya dapat dipertimbangkan untuk digunakan dalam pengobatan hiperkolesterolemia dan dapat mencegah pengaruh perkembangan penyakit kerusakan sel hati (Saputri *et al.*, 2017).

Salah satu metode yang digunakan untuk mengkarakterisasi fitokimia pada tumbuhan adalah melalui metode LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*). LC-MS adalah salah satu metode analisis untuk mengetahui kandungan senyawa pada suatu bahan dengan memanfaatkan prinsip kerja gabungan dari metode pemisahan fisik menggunakan kromatografi cair dan kemampuan analisis menggunakan metode spectrometry massa. LC-MS memiliki keunggulan yaitu lebih efisiensi karena penggunaan bahan yang sedikit dan mampu mengetahui berbagai senyawa dalam rentang yang luas (Azizah & Fatmawati, n.d.).

Menurut (Nwangwa & Ekhoey, 2013) hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya secara bersamaan dengan dosis 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB menunjukkan penurunan yang signifikan terhadap kolesterol LDL. Pemilihan tikus sebagai sampel penelitian dikarenakan tikus tidak dapat muntah, memiliki kemiripan fisiologi dengan manusia dibandingkan dengan hewan lain dan lebih mudah dikontrol dari asupan makanan dan aktivitas fisik sehingga memperkecil terjadinya bias saat penelitian (Agustina & Murwani, 2013).

1.2 Rumus Masalah

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus jantan putih galur Sprague Dawlay (SD).
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus jantan putih galur Sprague Dawlay (SD).
- 1.2.3 Apa saja senyawa yang terkandung didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) yang diidentifikasi menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mas Spectrometry*)?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Untuk mengetahui pengaruh pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus jantan putih galur Sprague Dawlay (SD).
- 1.3.2 Untuk mengetahui konsentrasi optimum pemeberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus jantan putih galur Sprague Dawlay (SD).
- 1.3.3 Untuk mengetahui senyawa yang terkandung didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) yang diidentifikasi menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mas Sprectrometry*)?

1.4 Batasan Masalah

- 1.4.1 Bagian tanaman pepaya (*Carica Papaya L.*) yang digunakan adalah bagian biji yang diambil dari Desa Mirigambar, RT. 01/RW. 06, Sumbergempol, Tulungagung, Jawa Timur.
- 1.4.2 Metode ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% yang menghasilkan ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*).

1.5 Relevansi Penelitian

- 1.5.1 Penelitian Agustina & Muwarni, 2013 berjudul “Pengaruh Pemberian Jus Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Rasio kadar Kolesterol LDL:HDL Tikus *Sprague Dawley*” menyatakan pemberian biji pepaya selama 30 hari pada dosis 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB mampu menurunkan rasio kolesterol LDL:HDL tikus *Sprague Dawley*.
- 1.5.2 Penelitian Nwangwa and Ekhoye pada tahun 2013 berjudul “*Antihyperlipidemic Activity of Aqueous Extract of Papaya Seeds in Albino Rats Fed a High-fat diet*” Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian biji pepaya secara bersamaan dengan dosis 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB menunjukkan penurunan yang signifikan pada semua kolesterol LDL.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

2.1.1 Definisi kolesterol

Kolesterol adalah komponen lemak darah atau zat lipid, yang sangat di perlukan sekali oleh tubuh selain zat gizi tetapi tidak dibutuhkan dalam makanan, karena dalam jumlah cukup telah disintesis oleh tubuh. Kolesterol terdapat dalam makanan dan tubuh terutama sebagai kolesterol bebas atau sebagai ester dengan asam lemak. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2009) mengatakan bahwa kolesterol secara normal diproduksi sendiri dalam jumlah yang tepat. Namun kolesterol juga dapat meningkat jika sering sering mengonsumsi makanan dengan kadar lemak hewani tinggi (otak sapi, daging merah, seafood, kuning telur, keju, dll) atau makanan cepat saji (Ardian *et al.*, 2020).

2.1.2 Klasifikasi Kolesterol

2.1.2.1 *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL)

VLDL dibentuk dari asam lemak di hati. VLDL mengandung 60% trigliserida endogen dan 10-15% kolesterol (Putri, 2015). Jenis lipoprotein *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) memiliki kandungan lipid yang tinggi. Di dalam tubuh senyawa ini berperan sebagai pembawa trigliserida dari hati menuju keseluruhan jaringan di dalam tubuh. *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) berperan mengangkut kolesterol dan trigliserida yang dihasilkan secara endogen (Wahjuni, 2015).

2.1.2.2 *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL)

IDL mengandung trigliserida dan kolesterol. IDL merupakan zat antara yang terjadi sewaktu VLDL dikatabolisme menjadi LDL (Putri, 2015). Lipoprotein ini mengikat ukurannya dan menurunkan densitasnya dari *High Density Lipoprotein* (HDL) ke *Low Density Lipoprotein* (LDL) menjadi *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) hingga *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang sangat rendah ke kilomikron (Wahjuni, 2015).

2.1.2.3 Low Density Lipoprotein (LDL)

LDL atau sering juga disebut sebagai kolesterol jahat, LDL lipoprotein deposito kolesterol bersama didalam dinding arteri, yang menyebabkan terjadinya pembentukan zat yang keras, tebal, atau sering disebut juga sebagai plak kolesterol, dan dengan seiring berjalanya waktu dapat menempel didalam dinding arteri dan terjadinya penyempitan arteri. Hal ini dikarenakan LDL merupakan lemak jenuh yang tidak mudah larut (Putri, 2015).

2.1.2.4 High Density Lipoprotein (HDL)

High Density Lipoprotein (HDL) merupakan lipoprotein yang mengandung Apo A dan mempunyai efek antiaterogenik kuat sehingga disebut juga kolesterol baik. HDL berfungsi mengangkut kolesterol bebas yang terdapat dalam endotel jaringan perifer, termasuk pembuluh darah ke reseptor HDL di hati untuk dikeluarkan lewat empedu (Putri, 2015).

2.1.2.5 Kilomikron

Kilomikron adalah lipoprotein dengan berat molekul yang terbesar, kandungannya sebagian besar trigliserida untuk dibawa ke jaringan lemak dan otot rangka. Kilomikron juga mengandung kolesterol untuk dibawa ke hati (Putri, 2015). kilomikron memiliki partikel lipoprotein dengan diameter 80-1200 nm dan densitas <0,95g/ml dan mengandung 90-95% trigliserida, 2-6% fosfolipid, 2-4% kolesterol, dan 1-2% protein. Kilomikron berperan mengangkut trigliserida yang berasal dari diet dari usus halus melalui limfa menuju plasma (Wahjuni, 2015).

Klasifikasi kolesterol berdasarkan densitasnya dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2. 1 Kalsifikasi Kolesterol berdasarkan densitasnya (Wahjuni, 2015)

Kolesterol	Densitas(g/dl)	Diameter(nm)	Lipid (%)		
			TG	Kol	PL
Kilomikron	0,95	75-1200	80-95	2-7	3-9
VLDL	0,95-1,006	30-80	55-80	5-15	10-20
IDL	1,006-1,019	25-35	20-50	20-50	15-25
LDL	1,019-1063	18-25	40-50	40-50	20-25
HDL	1,063-1,210	5-12	15-25	15-25	20-30

2.1.3 Klasifikasi Kadar kolesterol

Klasifikasi Kadar Kolesterol dapat dilihat pada Tabel 2.2

Tabel 2. 2 Klasifikasi Kadar Kolesterol (Perkeni, 2021).

Jenis Kolesterol	Nilai (mg/dl)
Kolesterol Total	
Diinginkan	<200
Sedikit tinggi (borderline)	200-239
Tinggi	≥240
Kolesterol LDL	
Optimal	<100
Mendekati optimal	100-129
Sedikit tinggi (borderline)	130-159
Tinggi	160-189
Sangat tinggi	≥190
Kolesterol HDL	
Rendah	<40
Tinggi	≥60
Trigliserid	
Normal	<150
Sedikit tinggi (borderline)	150-199
Tinggi	200-499
Sangat tinggi	≥500

2.1.4 Patofisiologi

LDL adalah lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol. Sebagian dari kolesterol LDL akan di bawa ke hati dan jaringan steroidogenik lainnya seperti kelenjar adrenal, testis, dan ovarium yang mempunyai reseptor untuk kolesterol - LDL. Sebagian lagi dari kolesterol - LDL akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh reseptor *scavenger* (reseptor yang bisa membawa kembali kelebihan lemak ke hati) di makrofag dan akan menjadi sel busa (Wahjuni, 2015).

Makin banyak kadar kolesterol-LDL dalam plasma makin banyak yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh sel makrofag. Jumlah kolesterol yang akan teroksidasi tergantung pada kadar kolesterol yang terkandung di LDL. Beberapa keadaan yang mempengaruhi tingkat oksidasi antara lain meningkatnya jumlah LDL seperti pada sindrom metabolik dan diabetes mellitus. Kadar kolesterol – HDL, makin

tinggi kadar HDL, maka HDL bersifat protektif terhadap oksidasi LDL (Wahjuni, 2015).

2.1.5 Etiologi

Banyak faktor yang menyebabkan terjadinya kolesterol. Bila sebabkan oleh faktor genetik seperti pada kolesterol familial dan kolesterol poligenik, juga dapat disebabkan oleh faktor sekunder akibat dari penyakit lain seperti diabetes mellitus, sindrom nefrotik serta faktor kebiasaan diet lemak jenuh, kegemukan dan kurang olahraga. Penyebab kolesterol yang paling umum adalah berat badan, pola diet, tingkat aktivitas, usia dan jenis kelamin (Sari, 2014).

2.1.6 Tatalaksan (Farmakologi dan Non Farmakologi)

2.1.6.1 Terapi Farmakologi

1. Golongan Statin

Statin adalah obat penurunan lipid paling efektif untuk menurunkan kolesterol LDL, dan terbukti aman tanpa efek samping yang berarti. Selain berfungsi untuk menurunkan kolesterol LDL, statin juga mempunyai efek meningkatkan kolesterol HDL dan menurunkan TG. Berbagai jenis statin dapat menurunkan kolesterol LDL 18–55%, meningkatkan kolesterol HDL 5-15%, dan menurunkan TG 7-30%. Di hepar, statin meningkatkan regulasi reseptor kolesterol LDL, sehingga meningkatkan pembersihan kolesterol LDL. Dalam keadaan hipertrigliseridemia (tidak berlaku bagi nomortrigliseridemia), statin membersihkan kolesterol VLDL. Studi awal yang menggunakan statin untuk menurunkan kolesterol LDL menunjukkan penurunan laju PJK dan mortalitas total serta berkurangnya infark miokard, prosedur revaskularisasi, stroke, dan penyakit vaskular perifer (PERKI, 2013). Statin hendaknya diresepkan sampai dosis maksimal yang di rekomendasikan pada **Tabel 2.3** dibawah ini.

Tabel 2. 3 Dosis statin maksimal yang rekomendasikan

Golongan Statin	Dosis maksimal yang direkomendasikan (mg/hari)
Lovastatin	80
Pravastatin	80
Simvastatin	80
Fluvastatin	80
Atorvastatin	80
Rosuvastatin	40
Pitavastatin	4

2. Golongan Fibrat

Fibrat adalah agonis dari PPAR- α . Melalui reseptor ini, fibrat menurunkan regulasi gen apoC-III serta meningkatkan regulasi gen apoA-I dan A-II. Peningkatan regulasi apoA-I dan apoA-II menyebabkan meningkatnya konsentrasi kolesterol HDL. Fibrat bermanfaat menurunkan kejadian kardiovaskular terutama jika diberikan pada pasien dengan konsentrasi TG diatas 200mg/dL. Fibrat dapat menyebabkan miopati, peningkatan enzim hepar, dan kolelitiasis.risiko miopati lebih besar pada pasien dengan gagal ginjal kronik dan bervariasi menurut jenis fibrat. Gemfibrozil lebih berisiko menyebabkan miopati dibandingkan fenofibrat jika dikombinasikan dengan statin (PERKI, 2013).

3. Golongan Asam Nikotinat (Niasin)

Asam nikotinat menghambat mobilisasi asam lemak bebas dari jaringan lemak perifer ke hepar sehingga sintesis TG dan sekresi kolesterol VLDL di hepar berkurang. Asam nikotinat juga mencegah konversi kolesterol VLDL menjadi kolesterol LDL, mengubah kolesterol kolesterol LDL dari partikel kecil (*small, dense*) menjadi partikel besar, dan menurunkan konsentrasi Lp (a). Asam nikotinat meningkatkan kolesterol HDL melalui stimulasi produksi apoA-I di hepar. Dosis 2000mg/hari menurunkan TG 20-40%, kolesterol LDL 15-18%, dan meningkatkan konsentrasi HDL 15-35%. Menambahkan niasin pada terapi statin tidak memberikan keuntungan tambahan jika diberikan pada pasien dengan penyakit kardiovaskular aterosklerotik yang konsentrasi kolesterol LDL-nya kurang dari 70mg/dL(PERKI, 2013).

2.1.6.2 Terapi Non Farmakologi

1. Aktivitas Fisik

Tujuan melakukan aktivitas fisik secara teratur adalah mencapai berat badan ideal, mengurangi risiko terjadinya sindrom metabolik, dan mengontrol faktor risiko PJK. Pengaruh aktivitas fisik terhadap parameter lipid terutama berupa penurunan TG dan peningkatan kolesterol HDL. Olahraga aerobik dapat menurunkan konsentrasi TG sampai 20% dan meningkatkan konsentrasi kolesterol HDL sampai 10%. Tanpa disertai diet dan penurunan berat badan, aktivitas fisik tidak berpengaruh terhadap kolesterol total dan LDL (PERKI, 2013).

2. Penurunan Berat Badan

Indeks masa tubuh dan lingkar pinggang dipakai sebagai ukuran untuk menilai obesitas umum dan obesitas abdominal. Baik obesitas umum maupun obesitas abdominal berhubungan dengan risiko kematian. Konsep obesitas terutama di hubungkan dengan konsep sindrom metabolik. Setiap penurunan 10kg berat badan berhubungan dengan penurunan kolesterol LDL sebesar 8mg/dL. Konsentrasi kolesterol HDL justru berkurang saat sedang aktif menurunkan berat badan dan akan mengikat ketika berat badan sudah stabil (PERKI, 2013).

3. Menghentikan Kebiasaan Merokok

Merokok adalah salah satu kecanduan umum yang dapat menyebabkan kerusakan fungsi organ pada tubuh manusia. Kandungan yang terdapat pada rokok Antara lain nikotin, gas karbon monoksida dan tar. Nikotin memiliki sifat racun bagi saraf, gas karbon monoksida dan tar yang bersifat karsinogen yang dapat menyebabkan iritasi, stress dan kanker pada saluran pernafasan (Arif *et al.*, 2022). Menghentikan merokok dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol HDL sebesar 5-10%. Merokok berhubungan dengan peningkatan konsentrasi TG. Tetapi menghentikan merokok diragukan menyebabkan penurunan konsentrasi TG (PERKI, 2013).

2.2 Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L.*)



(a) (b)

Gambar 2. 1 (a)Tanaman pepaya (*Carica Papaya L.*) dan (b)Biji Pepaya
(Dokumen Pribadi, 2022)

Tanaman pepaya (*Carica Papaya L.*) berasal dari daerah Meksiko, tetapi sekarang tanaman pepaya ini telah banyak dijumpai di daerah tropik maupun subtropik, antara lain India, Ceylon, Malaysia, Filipina, Amerika Selatan, Afrika Selatan, Hawaii, dan Indonesia (Peristowati & Puspitasari, 2018).

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Klasifikasi papaya (*Carica Papaya L.*) menurut (Peristowati & Puspitasari, 2018)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnolipsida
Ordo	: Brassicales
Family	: Caricaceae
Genus	: Carica
Spesies	: Carica Papaya L.

Morfologi dari Tanaman Pepaya (*Carica Pepaya L.*) meliputi :

1. Akar (*radix*)

Akar adalah bagian pokok yang nomor tiga (disamping batang dan daun) bagi tumbuhan yang tubuhnya telah merupakan komus. Akar pepaya merupakan akar serabut, karena akar-akar ini berasal dari calon akar yang asli atau yang disebut dengan akar liar, dan bentuknya seperti serabut. System akar serabut yaitu jika akar kembang dalam perkembangan selanjutnya mati atau kemudian disusul oleh sejumlah akar yang kurang lebih sama besar dan semuanya keluar dari pangkal batang (Peristowati & Puspitasari, 2018).

2. Batang (*caulis*)

Batang (*caulis*) merupakan bagian tubuh tumbuhan yang amat penting, dan mengingat tempat pepaya yaitu berbentuk bulat, dengan permukaan batang yang memperlihatkan berkas-berkas daun. Arah tubuh batang yaitu tegak lurus yaitu jika arahnya lurus keatas. Permukaan batang tanaman pepaya yaitu licin. Batangnya berongga, biasanya tidak bercabang, dan tingginya dapat mencapai 10m (Peristowati & Puspitasari, 2018).

3. Daun (*folium*)

Daun merupakan tumbuhan yang paling penting dan umumnya tiap tumbuhan mempunyai sejumlah besar daun. Daun pepaya merupakan daun tunggal, berukuran besar, dan bercangap, juga mempunyai bagian-bagian daun lengkap (*falicum completum*) berupa pelepah atau upih daun (*vagina*), tangkai daun (*petioles*) dan helaian daun (*lamina*). Daun pepaya dikatakan mempunyai bangun bulat (*orbicularis*), ujung daun, daun pepaya termasuk daun-daun yang bertulang menjari (*palmineruis*). Daun yang muda terbentuk dibagian tengah tanaman (Peristowati & Puspitasari, 2018).

4. Bunga (*flos*)

Bunga merupakan bagian – bagian yang secara langsung berguna untuk mempertahankan kehidupan (untuk penyerapan makanan, pengolahan, bahan-bahan yang diserap menjadi bahan-bahan yang diserap menjadi bahan-bahan yang digunakan

oleh tumbuhan untuk keperluan hidupnya pernafasan, pertumbuhan, dll) (Peristowati & Puspitasari, 2018).

5. Buah (*fuctus*)

Pepaya termasuk dalam dalam golongan buah sungguh (buah sejati) tunggal. Buah sejati tunggal yaitu buah sejati yang terdiri dari bunga dengan satu bakal buah saja. Buah ini dapat berisi satu biji atau lebih, dapat pula tersusun dari satu atau banyak daun buah dengan satu atau banyak naungan. Pepaya juga termasuk buah buni (*bacca*). Yang disebut dengan buah buni adalah buah yang dagingnya mempunyai dua lapisan, ialah lapisan luar yang tipis agak menjangat atau kaku seperti kulit (*belulang*) dan lapisan dalamnya tebal, lunak dan berair dan dapat dimakan. Buah pepaya juga bentuknya bulat samapai lonjong (Peristowati & Puspitasari, 2018).

6. Biji (*semen*)

Yang di maksud dengan biji yaitu penyerbukan yang diikuti dengan pembuahan, bakal buah tumbuh menjadi buah, dan bakal biji tumbuh menjadi biji. melihat asal jaringan yang menjadi tempat penimbunan zat makanan cadangan biji pepaya termasuk putih lembaga dalam (*endospermium*). Maksud dari putih lembaga dalam yaitu jika jaringan penimbun makan itu terdiri atas sel-sel yang berasal dari inti kandung lembaga sekunder yang kemudian setelah dibuahi oleh salah satu inti spermalalu membelah-belah menjadi jaringan penimbun makanan ini. Melihat asalnya putih lembaga dalam ini, maka biji dengan bagian ini hanya dapat biji tumbuhan tertutup (*angiospermae*) (Peristowati & Puspitasari, 2018).

2.2.2 Manfaat Pepaya

Tanaman pepaya ini mempunyai banyak sekali manfaat dan kegunaan dan telah digunakan secara tradisonal untuk arthiris dan reumatik di Indonesia dan Haiti, asma dan infeksi pernapasan di Mauritius, Meksikon dan Filipina, kanker di Australia dan Meksiko, konstipasi dan laksatif di Honduras, Panama dan Triniad, meningkatkan produksi susu di Indonesi dan Mlaysia, tumor (uterus) di Ghana, Indochina, dan Nigeria, dan sifilis di Afrika (Peristowati & Puspitasari, 2018).

Papain adalah enzim yang terkandung dalam pepaya dan telah banyak diteliti manfaatnya. Dalam industri, papain mempunyai banyak kegunaan Antara lain dalam proses pengumpulan susu(rennet), proses penguraian protein, pembuatan bir, mengempukkan dagig, proses ekstraksi minyak hati ikan tuna, dan membersihkan sutra dan wool sebelum pewarnaan (Peristowati & Puspitasari, 2018).

Biji carica papaya mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negative. Biji pepaya juga mempunyai efek anti bakteri yang dapat ermanfaat untuk menyembuhkan penyakiy kulit kronis, contohnya ektima (Peristowati & Puspitasari, 2018).

2.2.3 Kandungan Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Tanaman pepaya mempunyai kandungan kimia yang berbeda-beda pada buah, daun, akar, maupun biji. pada buah terkandung asam butanorat, metal butanorat, benzilglukosinolat, linalool, papain, asam alfa linoleat, alfa diladren, alfa terpinen, gamma terpinen, 4-terpineol, dan terpinolen. Pada daun terkandung alkaloid, dehidrokarpain, pesedokarpain, flavonol, benzilglukosinolat, papain dan tannin. (Peristowati & Puspitasari, 2018).

2.2.4 Kandungan Senyawa Pada Biji Pepaya

Kandungan yang terdapat pada ekstrak biji pepaya adalah flavonoid, tanin dan saponin dapat menurunkan kadar kolesterol (Nadiroh *et al.*, 2022).

2.2.4.1 Flayonoid

Flavonoid adalah antioksidan sehingga dapat mengurangi oksidasi kolesterol LDL yang di duga terlibat dalam perkembangan penyakit aterosklerosis. Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C6-C3-C6. Lebih dari 200 flavonoid yang berasal dari tumbuh- tumbuhan telah teridentifikasi diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Flavonoid di laporkan dapat menurunkan oksidasi kolesterol LDL, menurunkan peroksidasi lemak dan menghambat perkembangan lesi-lesi aterosklerosis pada penyakit kardiovaskular. Antioksidan dalam ekstrak biji pepaya berperan penting dalam melawan *produksi reactive oxygen species* (ROS) dan prduk peroksidasi lipid (Cahaya & Ayu, 2017).

2.2.4.2 Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat, dapat bereaksi dan mengumpulkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid. Tannin memiliki efek anti platelet dan anti hiperkolesterolemik yang kuat dengan cara memproduksi absorpsi kolesterol di usus. Tanin juga memiliki aksi mengikat asam empedu sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol total plasma. Cara menurunkan kolesterol dalam darah adalah dengan cara memperbesar jumlah pengeluaran kolesterol sebagai asam empedu. Tannin terbentuk gel dalam usus halus dan mengikat lemak, kolesterol dan asam empedu tidak lagi bisa di serap dalam usus halus melainkan terbuang melalui usus besar. Tannin berkhasiat untuk antidiare, antioksidan, antibakteri dan astrigen (Saputri *et al.*, 2017).

2.2.4.3 Saponin

Saponin merupakan suatu glikosida yang memiliki aglikon berupa saogenin. Struktur kimia saponin merupakan glikosida yang tersusun atas glikon yang berikatan. Bagian glikon terdiri atas gugus gula, bagian aglison merupakan sapogenin. Sifat ampifilik ini dapat membuat bahan alam yang mengandung saponin bisa berfungsi sebagai surfaktan. Saponin yang merupakan salah satu senyawa yang memiliki aksi hipolidemik yang poten. Saponin dapat menurunkan kolesterol hati, menurunkan kadar trigliserida, serta meningkatkan eksresi asam empedu dengan mekanisme yang sama seperti saponin serta dapat meningkatkan *reverse cholesterol transport* (Saputri *et al.*, 2017).

2.3 Simplisia

Simplisia merupakan istilah yang dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Mukhriani, 2014).

2.3.1 Penggolongan Simplisia

2.3.1.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya, misalnya *Datura Folium* dan *Piperis nigri Fructus*. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan/diisolasi dari tanamannya (Mukhriani, 2014).

2.3.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum iecoris asselli*) dan madu (*Mel depuratum*) (Mukhriani, 2014).

2.3.1.3 Simplisia Pelikan atau Mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk nabati (Mukhriani, 2014).

2.3.2 Syarat Simplisia

Untuk mendapatkan simplisia yang baik dan memiliki kualitas bagus harus memenuhi persyaratan. Menurut (BPOM RI, 2021) persyaratan simplisia, meliputi :

2.3.2.1 Uji Organoleptik

Pengamatan dilakukan terhadap bentuk, rasa, bau dan warna.

2.3.2.2 Kadar Air

Kadar air kurang dari 10%

2.3.2.3 Keseragaman Bobot

Keseragaman bobot untuk serbuk simplisia. Dari 10 kemasan primer tidak lebih dari 2 kemasan yang masing-masing bobot isinya menyimpang dan tidak satu kemasan yang bobot isinya menyimpang dua kalilipat.

2.3.1 Penyiapan Simplisia

Pembuatan simplisia adalah proses memperoleh simplisia dari alam yang memenuhi syarat-syarat mutu (Mukhriani, 2014). Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan :

Panen merupakan salah satu rangkaian tahapan dalam proses budidaya tanaman obat. Cara pemanenan dan penanganan bahan setelah panen merupakan periode kritis yang sangat menentukan kualitas dan kuantitas hasil tanaman. Setiap jenis tanaman memiliki waktu dan cara panen yang berbeda. Tanaman yang dipanen buahnya memiliki waktu dan cara panen yang berbeda dengan tanaman yang dipanen berupa biji, rimpang, daun, kulit dan batang. Begitu juga tanaman yang mengalami stres lingkungan akan memiliki waktu panen yang berbeda meskipun jenis tanamannya sama. Pengumpulan atau panen dapat dilakukan dengan tangan atau menggunakan alat (mesin) (Mukhriani, 2014).

Penyortiran (sortir basah) dapat dilakukan setelah selesai panen dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing, bahan yang tua dengan yang muda atau bahan yang ukurannya lebih besar atau lebih kecil. Bahan nabati yang baik memiliki kandungan campuran bahan organik asing tidak lebih dari 2%. Proses penyortiran pertama bertujuan untuk memisahkan bahan yang busuk atau bahan yang muda dan yang tua serta untuk mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan (Mukhriani, 2014).

Pencucian adalah proses menghilangkan kotoran-kotoran dan mengurangi mikroba-mikroba yang melekat pada bahan. Pencucian harus segera dilakukan setelah panen karena dapat mempengaruhi mutu bahan. Pencucian menggunakan air bersih, sumur atau PAM. Penggunaan air kotor menyebabkan jumlah mikroba pada bahan tidak akan berkurang bahkan akan bertambah. Pada saat pencucian perhatikan air cucian dan air bilasannya, jika masih terlihat kotor ulangi pencucian/pembilasan sekali atau dua kali lagi (Mukhriani, 2014).

Perajangan adalah mempermudah proses selanjutnya seperti pengeringan, pengemasan, penyulingan minyak atsiri dan penyimpanan. Perajangan biasanya hanya

dilakukan pada bahan yang ukurannya agak besar dan tidak lunak seperti akar, rimpang, batang, buah dan lain-lain. Ukuran perajangan tergantung dari bahan yang digunakan dan berpengaruh terhadap kualitas simplisia yang dihasilkan. Perajangan terlalu tipis dapat mengurangi zat aktif yang terkandung dalam bahan. Jika terlalu tebal, maka pengurangan kadar air dalam bahan agak sulit dan memerlukan waktu yang lama dalam penjemuran dan kemungkinan besar bahan mudah ditumbuhi oleh jamur (Mukhriani, 2014).

Pengeringan adalah suatu cara pengawetan atau pengolahan pada bahan dengan cara mengurangi kadar air, sehingga proses pembusukan dapat terhambat. Dengan demikian dapat dihasilkan simplisia terstandar, tidak mudah rusak dan tahan disimpan dalam waktu yang lama. Dalam proses ini, kadar air dan reaksi-reaksi zat aktif dalam bahan akan berkurang, sehingga suhu dan waktu pengeringan perlu diperhatikan. Suhu pengeringan tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. Pada umumnya suhu pengeringan adalah antara 40 - 60°C dan hasil yang baik dari proses pengeringan adalah simplisia yang mengandung kadar air 10%. Hal lain yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan adalah kebersihan (khususnya pengeringan menggunakan sinar matahari), kelembaban udara, aliran udara dan tebal bahan (tidak saling menumpuk). Pengeringan bahan dapat dilakukan secara tradisional dengan menggunakan sinar matahari ataupun secara modern dengan menggunakan alat pengering seperti oven, rak pengering, blower ataupun dengan fresh dryer (Mukhriani, 2014).

Penyortiran kering bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing yang terdapat pada simplisia, misalnya akar-akar, pasir, kotoran unggas atau benda asing lainnya. Proses penyortiran merupakan tahap akhir dari pembuatan simplisia kering sebelum dilakukan pengemasan, penyimpanan atau pengolahan lebih lanjut. Setelah penyortiran simplisia ditimbang untuk mengetahui rendemen hasil dari proses pasca panen yang dilakukan (Mukhriani, 2014).

Pengemasan bertujuan agar simplisia yang sudah dikeringkan tidak terkontaminasi dengan mikroba. Jenis kemasan yang digunakan dapat berupa plastik,

kertas maupun karung goni. Persyaratan jenis kemasan yaitu dapat menjamin mutu produk yang dikemas, mudah dipakai, tidak mempersulit penanganan, dapat melindungi isi pada waktu pengangkutan, tidak beracun dan tidak bereaksi dengan isi dan kalau boleh mempunyai bentuk dan rupa yang menarik (Mukhriani, 2014).

Penyimpanan simplisia dapat dilakukan di ruang biasa (suhu kamar) ataupun di ruang ber AC. Ruang tempat penyimpanan harus bersih, udaranya cukup kering dan berventilasi. Ventilasi harus cukup baik karena hama menyukai udara yang lembab dan panas (Mukhriani, 2014).

2.4 Ekstrak

2.4.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan yang kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, yang diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Rondang Tambun *et al.*, 2017).

2.4.2 Sifat Ekstrak

Sifat ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak kental, ekstrak encer, ekstrak cair, dan ekstrak kering. Ekstrak encer adalah sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang mudah mengalir. Ekstrak kental adalah sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang, kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%. Ekstrak kering adalah sediaan yang memiliki konsentrasi kering dan mudah dihancurkan dengan tangan, melalui penguapan dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk, yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%. Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi setiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 gram simplisia yang memenuhi syarat (DEPKES, 2014).

2.4.3 Metode Penguapan dan Pengeringan

Penguapan dan pengeringan adalah teknik yang terdapat pada proses ekstraksi. Teknik tersebut bertujuan untuk agar mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang berkualitas bagus sebagai bahan pengobatan, teknik tersebut meliputi proses evaporasi

yaitu suatu perpindahan kalor ke zat cair mendidih yang sering ditemukan sehingga biasanya dilakukan secara khusus, evaporasi bertujuan digunakan untuk memekatkan suatu larutan yang terdiri dari zat yang terlarut yang tidak mudah menguap dan terdiri dari pelarut yang mudah menguap. Evaporasi dilakukan dengan cara menguapkan sebagian dari pelarut sehingga didapatkan larutan yang cair disertai pekat yang berkonsentrasi lebih tinggi. Kemudian proses dari teknik pengeringan yaitu salah satu proses dari yang ada didalam tahapan suatu ekstraksi dan memiliki tujuan dari pengeringan adalah agar mendapatkan ekstrak yang stabil dan terjamin (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.4.3.1 Penguapan (Evaporasi)

Evaporasi disebut juga dengan penguapan, penguapan adalah tahap yang ada pada proses ekstraksi. Proses penguapan ini dilakukan dengan memberi kalor ke zat cair agar menguapkan sebagian dari pelarut didapatkan larutan cair pekat yang konsentrasinya lebih tinggi, dimana zat tadi terdiri dari zat terlarut yang mudah menguap dan tak mudah menguap sehingga jika dilakukan pemanasan maka akan terjadi pengurangan dari ekstrak dan menguapkan zat yang mudah menguap tadi dan meninggalkan ekstrak yang lebih pekat dengan konsentrasi senyawa lebih besar dan memudahkan penyimpanan (Hujjatusnaini *et al.*, 2021). Proses pemanasan dapat dilakukan dengan berbagai macam yaitu :

1. Metode Pemanas Air

Cara yang paling mudah yaitu dengan menggunakan pemanas air, dimana dengan cara menyimpan ekstrak di dalam wadah diletakan di atas pemanas air memerlukan waktu yang cukup lama kemungkinan terjadi senyawa yang terurai (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2. Metode Oven

Penguapan dengan menggunakan oven ini sangatlah cocok digunakan untuk penguapan yang kadar cairannya tidak terlalu banyak. Penguapan oven memiliki kelebihan yang dimana suhu dapat diatur dan disesuaikan dengan titik didih cairan penyari (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

3. Metode Hot Plat

Hot Plat dimana cara ini dapat digunakan dengan mudah seperti menggunakan cara penangas air. Pada penggunaan cara ini ekstrak di taruh di dalam wadah gelas kimia yang steril dan pemanasan ini memerlukan waktu yang cukup lama dan kelebihan dari cara ini kita dapat mengontrol suhu ekstrak menggunakan thermometer yang dimasukkan kedalam ekstrak, dan digantung menggunakan penyanggah agar ujung thermometer tidak menentuh dasa dari gelas kimia, hal tersebut dilakukan agar suhu yang kita ukur mendapatkan data yang akurat (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.4.3.2 Pengeringan

Tahap pengeringan dilakukan dengan cara yang sederhana ataupun cara yang modern. Cara yang sederhana dapat dilakukan dengan menggunakan pemangas air dan aliran udara panas, tetapi cara ini sulit dilakukan apabila larutan penyaringnya adalah air. Sedangkan cara yang moderen bisa menggunakan alat yang modern. Cara yang modern dapat dilakukan dengan menggunakan pengeringan beku dan pengeringan semprot, pengeringan beku pengeringan beku bekerja pada suhu rendah atau beku, pada proses pengeringan beku ini memerlukan waktu yang cukup lama. Senyawa fenolik sangat cocok dengan pengeringan beku ini karena sifatnya yang tidak stabil dan rentang terjadi degradasi, faktor degradasi paling utama adalah suhu, kandungan oksigen dan cahaya, sedangkan pengeringan semprot pengeringan semprot ini bekerja pada suhu yang tinggi. Pengeringan ini biasa digunakan pada senyawa yang stabil pada suhu tinggi (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan tahan utama dalam pengolahan bahan alam dengan berbagai tujuanya (Nugroho, 2017). Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan suatu pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat pada simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavanoida, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung pada simplisia akan

mempermudah pemilihan pelarut dengan cara ekstraksi yang tepat. Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu zat berdasarkan pelarut yang tepat, baik itu pelarut organik atau pelarut anorganik (Rondang Tambun *et al.*, 2017).

2.5.2 Prinsip Ekstraksi

Prinsip proses ekstraksi dimulai dengan proses pembukaan jaringan atau dinding sel dengan perlakuan panas, yang dilanjutkan dengan proses penarikan senyawa target menggunakan pelarut organik yang sesuai, berdasarkan prinsip kedekatan sifat kepolaran/polaritas dari senyawa dan pelarut. Berbagai macam pelarut organik ataupun air dapat digunakan untuk ekstraksi (Nugroho, 2017).

Ekstraksi dengan pelarut sangat berhubungan dengan dua tipe ekstraksi, yaitu ekstraksi padatan-cairan (solid-liquid extraction) dan juga ekstraksi cairan-cairan (liquid-liquid extraction). Ekstraksi padatan-cairan berarti pengambilan atau pemisahan senyawa metabolit dari suatu matriks bahan padat yang berupa bagian tertentu atau keseluruhan bagian bahan tanaman dengan menggunakan pelarut tertentu. Sedangkan ekstraksi cairan-cairan adalah pengambilan atau pemisahan senyawa metabolit yang sudah terlarut sebelumnya pada suatu bahan pelarut dengan cara mencampurkannya dengan pelarut lain yang bersifat *immiscible* (tidak dapat bercampur baik) dengan pelarut awal tetapi memiliki kemiripan tingkat polaritas dengan senyawa yang akan dipisahkan, sehingga senyawa-senyawa target dapat terlarutkan atau terkumpul pada pelarut baru tersebut (Nugroho, 2017).

2.5.3 Faktor Yang Mempengaruhi Ekstraksi

2.5.3.1 Ukuran Partikel

Semakin kecil ukuran partikel berarti semakin besar luas permukaan kontak antara padatan dan pelarut dan semakin pendek jarak difusi solut sehingga kecepatan ekstraksi lebih besar (Perina *et al.*, 2007).

2.5.3.2 Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sebaiknya memiliki sifat-sifat mampu memberikan kemurnian solut yang tinggi (selektivitas tinggi), dapat didaur ulang,

stabil tetapi inert, tidak beracun dan tidak mudah terbakar, tidak merugikan dari segi ekonomis dan tetap memberikan hasil yang cukup baik (Perina *et al.*, 2007).

2.5.3.3 PH

Pengontrolan pH dalam ekstraksi pektin memiliki peranan yang penting karena dapat mempengaruhi ekstraksi. Rentang pH untuk ekstraksi bervariasi tergantung kepada bahan yang akan diekstraksi (Perina *et al.*, 2007).

2.5.3.4 Suhu

Kelarutan akan meningkat seiring dengan kenaikan suhu untuk menghasilkan laju ekstraksi yang tinggi. Koefisien difusi juga akan bertambah tinggi seiring dengan kenaikan suhu sehingga meningkatkan laju ekstraksi. Batas suhu yang ditentukan untuk mencegah kerusakan pada bahan adalah 60–90°C (Perina *et al.*, 2007).

2.5.3.5 Pengaruh Pengadukan

Pengadukan dalam ekstraksi penting karena meningkatkan perpindahan solut dari permukaan partikel padatan ke cairan pelarut. Mekanisme yang terjadi pada proses *leaching* adalah sebagai berikut solven berdifusi ke dalam padatan sehingga solut akan larut ke dalam solven. Kemudian solut yang terlarut dalam solven tersebut akan berdifusi ke luar menuju ke permukaan partikel, akhirnya solut akan berpindah ke larutan (Perina *et al.*, 2007).

2.5.3.6 Waktu Ekstraksi

Semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi dalam pelarut, yang diperoleh semakin tinggi. Ekstraksi dilakukan selama pelarut yang digunakan belum jenuh. Pelarut yang telah jenuh tidak dapat mengekstraksi lagi atau kurang baik kemampuan untuk mengekstraksinya karena gaya pendorong semakin lama semakin kecil. Akibatnya waktu ekstraksi semakin lama yang dihasilkan tidak bertambah lagi secara signifikan (Perina *et al.*, 2007).

2.5.4 Jenis-Jenis Metode Ekstraksi

2.5.4.1 Ekstraksi Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana dan kuno. Meskipun demikian, metode ini masih secara luas digunakan karena beberapa kelebihan seperti biaya yang murah, peralatan yang sederhana, serta tanpa perlakuan panas sehingga menjadi pilihan tepat untuk ekstraksi senyawa-senyawa yang tidak tahan panas. Prosedur maserasi adalah dengan merendam bahan baku yang telah disiapkan ke dalam pelarut yang sesuai dan ditempatkan pada suhu ruang dan ditunggu untuk beberapa waktu kemudian dilakukan pengadukan. Pengadukan secara kontinyu atau berkala juga dapat dilakukan untuk mempercepat proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat dihentikan jika telah diperoleh titik jenuh (equilibrium) antara konsentrasi senyawa metabolit pada larutan ekstrak dengan konsentrasi senyawa metabolit pada bahan (Nugroho, 2017).

Kelemahan metode maserasi adalah kurang efisien dari segi waktu dan rendemen. Satu kali ekstraksi memerlukan waktu sekitar 1 hari sampai dengan satu minggu, tergantung pada jenis bahan yang diekstrak, semakin kuat jaringan dan dinding sel pada bahan maka membutuhkan waktu yang lebih panjang. Selain itu, maserasi juga membutuhkan pelarut dengan volume yang lebih banyak, dan peluang hilangnya senyawa metabolit selama proses juga lebih banyak, karena menempel pada bahan, menempel pada kertas saring, menempel pada bejana, dll. Ada kemungkinan terjadinya perubahan struktur kimia dari metabolit yang tidak stabil karena lamanya proses dan kontak dengan air atau pelarut (Nugroho, 2017).

2. Perkolasi

Perkolasi dan maserasi memiliki persamaan sama-sama tidak memerlukan panas dalam proses ekstraksinya. Alat utamanya adalah perkolator yaitu sebuah bejana berbentuk silindris atau kerucut terbalik yang dilengkapi dengan lobang atau kran di bagian ujung bawahnya. Proses perkolasi sendiri dilakukan dengan melarutkan senyawa metabolit pada suatu bahan yang akan diekstrak dengan cara mengalirkan

pelarut yang sesuai pada matriks bahan atau sampel yang telah dipak atau ditata pada perkolator sehingga senyawa metabolit terikut dengan pelarut dan mengalir keluar dari bejana untuk ditampung. Prosedur ini dapat diulangi berkali-kali sampai dirasa mulai tidak efisien lagi dikarenakan metabolit yang terbawa terlalu sedikit yang terlihat dari perubahan warna larutan ekstrak atau dari hasil tes dengan bahan kimia tertentu (reagent) untuk mendeteksi dan memastikan apakah masih ada senyawa yang terikut apa tidak. Metode ini sudah tentu tidak membutuhkan proses filtrasi, karena ekstrak sudah tersaring pada perkolator. Metode ini hanya efektif untuk bahan-bahan dengan tingkat kelarutan yang tinggi terhadap pelarut. Atau dengan kata lain, metode ini efektif jika senyawa metabolit di dalam bahan mudah terlarut dalam pelarut yang digunakan (Nugroho, 2017).

2.5.4.2 Ekstraksi Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang paling banyak diterapkan. Metode ini dinilai sebagai metode yang murah dan simpel dengan rendemen yang cukup tinggi, jika dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Refluks berarti pelarut yang diputar kembali atau di-recycle secara kontinyu melalui pengkondensasian berulang pada sebuah alat kondensor. Pada metode ini bahan yang akan diekstrak direndam pada pelarut dalam sebuah bejana/labu yang biasanya berbentuk bulat yang kemudian ditempatkan pada sebuah pemanas (dapat menggunakan water bath, heating mantle, atau hot plate). Bagian atas labu ada sebuah lubang yang dihubungkan dengan alat pendingin balik (kondesor). Lubang pada bejana tersebut juga berguna untuk memasukkan dan mengeluarkan bahan, pelarut, maupun hasil ekstraknya.

2. Soxhletasi

Soxhlet salah satu metode yang paling banyak digunakan karena tingkat kepraktisan dan kenyamanannya. Prinsip ekstraksi dengan metode soxhlet adalah dengan mengekstrak bahan yang sudah dihaluskan dan dibungkus pada selembur kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang sebelumnya telah ditempatkan pelarut pada labu soxhlet yang berada di bagian bawah. Persis di bawah labu soxhlet

tersebut ditempatkan sebuah heating mantle atau hot plate untuk memanaskan labu soxhlet. Ketika soxhlet dipanaskan, maka pelarut pada labu soxhlet akan menguap dan terkondensasi kembali karena adanya sistem pendingin (kondensasi) pada bagian atas, sehingga mencair kembali dengan menyiram dan merendam bahan dalam bungkus kertas saring (Nugroho, 2017).

2.5.5 Pelarut Ekstraksi

Menurut (Hujjatusnaini *et al.*, 2021) terdapat beberapa macam pelarut yang umumnya digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu:

2.5.5.1 Pelarut Polar

1. Metanol

Metanol merupakan suatu senyawa yang struktur molekul CH_3OH , bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil ($-\text{OH}$) dan juga bersifat non-polar karena memiliki gugus metil ($-\text{CH}_3$). Walaupun demikian, metanol merupakan senyawa bersifat polar (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2. Etanol

Etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan untuk proses ekstraksi. Penggunaan etanol yang sangat luas antara lain karena etanol relatif tidak toksik dibandingkan dengan methanol, dan dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan aktif hanya sedikit turut ke dalam cairan pengekstraksi (Hakim & Saputri, 2020).

3. Air (Aquadest)

Aquadest merupakan pelarut universal dan tidak mengubah pH larutan oleh karena sifatnya netral. Aquadest merupakan pelarut yang jauh lebih baik dibandingkan hampir semua cairan yang umum dijumpai. Senyawa yang segera melarut di dalam

aquades mencakup berbagai senyawa organik yang mempunyai gugus polar (Iswari & Pujiastuti, 2017).

2.5.5.2 Pelarut Non Polar

1. N-heksana

N-Heksana merupakan senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Pelarut n-heksana bersifat non polar karena memiliki kemampuan untuk mengikat gugus non polar (OH) yang ada pada zat warna flavonoid dan tanin. Senyawa ini merupakan cairan yang tidak berwarna yang tidak larut dalam air (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.5.5.3 Pelarut Semi Polar

1. Etil asetat

Etil asetat adalah pelarut semi polar yang tidak mampu menarik senyawa yang terlalu polar maupun non-polar, namun pelarut ini baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak hidroskopis, dan memiliki toksisitas yang rendah. Etil asetat merupakan cairan tidak berwarna, transparan, bau harum, segar dan sedikit seperti aseton. Etil asetat dapat bercampur dengan eter, alkohol dan minyak atiri dan minyak lemak (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.5.5.4 CMC-Na

Aplikasi dalam formulasi atau teknologi farmasi Natrium Karbosi Metilselulosa banyak digunakan dalam sediaan farmasi oral dan topikal, terutama karena sifatnya yang meningkatkan viskositas. Larutan berair kental digunakan untuk menanggulangi serbuk yang dimasukkan untuk aplikasi topikal atau pemberian oral dan parenteral. Natrium Karbosi Metilselulosa juga dapat digunakan untuk pengikat tablet dan penghancur, dan untuk menstabilkan emulsi. Konsentrasi yang lebih tinggi biasanya 3-6% dari tingkat viskositas yang digunakan untuk menghasilkan gel yang dapat digunakan sebagai dasar untuk aplikasi pasta, glikol sering dimasukkan dalam gel tersebut untuk mencegah pengeringan (Rowe *et al.*, 2009).

Stabilitas dan kondisi penyimpanan adalah bahan yang stabil dan hidroskopis. Dalam kondisi kelembapan yang tinggi, CMC-Na dapat menyerap air dalam jumlah yang besar yaitu >50% (Rowe *et al.*, 2009). Penggunaan CMC-Na dapat dilihat pada Tabel 2.4

Tabel 2. 4 Penggunaan CMC-Na (Rowe *et al.*, 2009).

Pemakaian	Konsentrasi %
Bahan Pengemulsi	0,25-1,0
Bahan Pembentuk Gel	3,0-6,0
Injeksi	0,05-0,75
Sediaan Larutan Oral	0,1-1,0
Bahan Pengikat Tablet	1,0-6,0

Metode pembuatan CMC-Na meliputi selulosa alkali dibuat dengan merendam selulosa yang diperoleh dari pulp kayu atau serat kapas dalam larutan natrium hidroksida, selulosa alkali kemudian direaksikan dengan natrium monokloroasetat untuk menghasilkan CMC-Na. Natrium klorida dan natrium glikolat diperoleh sebagai produk sampingan dari eterifikasi (Rowe *et al.*, 2009).

2.6 *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry (LCMS)*

Teknik LCMS merupakan teknik yang banyak digunakan untuk berbagai aplikasi yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas sangat tinggi. Teknologi LCMS memiliki kelebihan yaitu hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spektrometer massa sebagai detektor, aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis karena penerapan LCMS tidak terbatas untuk molekul volatil, mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat (Afriani & Nurulita, 2020)

Prinsip LCMS adalah teknik kimia analisis yang mengkombinasikan kemampuan pemisahan fisik dari *Liquid Chromatography* (HPLC) dengan kemampuan analisis massa dari *Mass Spectrometry* (MS). Deteksi secara umum dan identifikasi potensial dari massa kimia atau partikulat kimia yang mengandung zat kimia lain (campuran kompleks), seperti produk alam dari ekstrak produk alam, dan

substansi murni dari campuran kimia lanjutan. LC-MS juga sangat cocok untuk diaplikasikan kedalam laboratorium obat-obatan karena perkembangan metode baru yang secara umum maju dan independen dari industri diagnostik tanpa kebutuhan untuk mengembangkan analisis antibodi, analisis dengan ragam yang banyak memungkinkan untuk dikerjakan dengan biaya tertentu yang sangat murah kisaran analisis yang potensial secara praktis tidak terbatas, dan ketika mengaplikasikan prinsip dari standarisasi internal pencelupan isotop dan analisis pada level metode pembandingan akurasi dapat dilakukan dalam pengaturan laboratorium rutin (Afriani & Nurulita, 2020).

2.7 Hewan Uji

2.7.1 Definisi Tikus

Tikus merupakan binatang percobaan yang umum dipakai dalam penelitian ilmiah. Hewan ini sudah diketahui sebagian besar sifat-sifatnya, mudah diperlihara, dan merupakan hewan yang relative cocok untuk berbagai penelitian. Tikus digunakan untuk uji coba tentang makanan dan defisien zat makanan pada semua jenis hewan termasuk manusia. Tikus berukuran lebih besar dan lebih cerdas dari pada mencit. Tikus yang sering digunakan adalah tikus putih, yang bersifat lebih tenang dan mudah dikerjakan beberapa intervensi, tidak terlalu takut terhadap cahaya, serta tidak begitu cenderung berkumpul sesama jenis (Purwo *et al.*, 2018).

2.7.2 Klasifikasi Tikus

Tabel 2. 5 Klasifikasi Tikus (Komang *et al.*, 2014)

Klasifikasi Tikus	
Kingdom	Animalia
Folium	Chordata
Kelas	Mamalia
Ordo	Rodentia
Famili	Muridae
Subfamili	Murinae
Genus	Rattus
Spesies	Rattus Norvegicus
Galur/Starin	Sprague Dawley

2.7.3 Masa Tumbuh Kembang

Morfologi binatang ini memiliki kepala, badan, leher, dan tubuhnya tertutup rambut. Tikus memiliki kepala lebar dan telinga yang panjang. Ekornya bersisik, merupakan binatang liar, serta mempunyai sepasang daun telinga dan bibir yang lentur. Karakteristik: bisa hidup selama 2–3 tahun, mempunyai masa reproduksi aktif selama satu tahun, dan lama bunting selama 20–22 hari. Umur dewasa saat 40–60 minggu, durasi umur kawin 2 minggu dengan siklus estrous 4–5 hari, dan berat dewasa mencapai 300–400 gram (Rejeki *et al.*, 2018).

2.7.4 Pengambilan Sampel

Pengambilan darah menggunakan alat suntik steril atau alat yang sesuai yang steril dan selalu dijaga agar tidak terjadi hemolisis. Pada umumnya pengambilan darah yang terlalu banyak pada hewan kecil akan menyebabkan syok hipovolemik, stress dan bahkan dapat menyebabkan kematian. Pengambilan darah yang tidak sesuai aturn juga dapat menyebabkan anemia pada hewan penguji. Pada umumnya pengambilan darah hanya dilakukan sekitar 10% dari total volume darah pada tubuh hewan uji dalam selang waktu 2-4 minggu. Batas maksimal koleksi darah yang tidak meresikon keselamatan hewan adalah 5,5 ml/kg berat badan untuk tikus (BPOM, 2022). Pengambilan darah dapat dilakukan melalui :

1. Ekor

Darah dapat diperoleh dengan mudah pada saluran perpendikularis pada permukaan ekor. Pengambilan sampel darah melalui vena lateral atau arteri ventral ekor mudah dilakukan, dan memungkinkan untuk dilakukan pengulangan. Koleksi dapat dilakukan dengan *syringe* maupun hanya dengan jarum untuk langsung ditampung ke dalam vial (BPOM, 2022).

2. Mata

Aplikasi dapat dilakukan dengan menusukkan pipet dengan sudut kemiringan 45°. Sampel dapat diperoleh dari kedua mata secara bergantian. Metode ini dapat

menghasilkan volume darah dalam jumlah besar, dapat mengakibatkan trauma pada mata dan kebutaan (trauma pada tikus) sehingga harus dilakukan oleh personil yang kompeten (BPOM, 2022).

2.7.5 Penanganan Sampel Darah Hewan Uji

Untuk dapat memperoleh serum, darah total (*whole blood*) dimasukkan ke tabung sentrifus kemudian di amkan pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian dipindahkan ke dalam es tidak lebih dari 20 menit dan segera di sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000rpm. Kemudian serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku -20° untuk *assay*. Jika diinginkan plasma, maka darah total diberikan Garam Etien Diamin Tetraasetat (Na_2EDTA , K_2EDTA atau K_3EDTA) atau natrium sitrat atau heparin (ANTIKOAGULAN). Garam EDTA sering digunakan karena jarang berinterferensi dengan *assay* yang dilakukan. Umumnya digunakan kadar garam EDTA sebesar 1,5mg/mL atau 5Mm pada konsentrasi akhir (BPOM, 2021).

2.7.6 Kontrol Postif

Pada terapi farmakologis kasus hiperkolesterolemia, obat golongan statin cenderung menjadi pilihan utama karena umumnya dapat ditoleransi dengan baik oleh pasien selain harganya yang masih dapat diterima (Saputri *et al.*, 2017). Pemberian simvastatin pada kelompok kontrol positif yaitu bertujuan untuk melihat perbandingan efektivitas terapi ekstrak biji pepaya yang diberikan pada kelompok perlakuan terhadap simvastatin pada durasi terapi yang sama.

Menurut penelitian (Saputri *et al.*, 2017) mekanisme kerja simvastatin sama dengan mekanisme kerja dari senyawa fenolik meliputi Flavonoid, Tanin, Saponin yaitu dengan menghambat proses sintesis kolesterol dihati. Simvastatin digunakan sebagai kontrol positif yaitu karena memiliki mekanisme kerja yang sama dengan mekanisme dari senyawa fenolik ekstrak biji pepaya.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik (Kenko), seperangkat alat gelas (Pyrex), sarung tangan kain, sarung tangan *latex*, botol maserasi, blender (Miyako), aluminium foil, tabung reaksi (Pyrex), pipet tetes, rak tabung reaksi, ayakan mesh 80, penangas air, thermometer, cawan porselin, kertas saring, spuit (one med), *vacolab tube* (one med), bak, oven, botol syrup, desikator, waterbath, *rotary evaporator* (Heidolph), LCMS (Ultimate 3000 RSLCnano).

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah biji pepaya (*Carica Papaya L.*), simvastatin 10 mg, Tikus jantan galur SD, CMC-Na, *aquadest*, etanol 70%, serbuk magnesium, asam sulfat pekat, kalium dikromat, ketamine, asam fosfotungstat, ion magnesium, asam klorida, besi III klorida, air panas, air, asam asetat glasial, 511.

3.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa di Jalan Raya Tulungagung-Blitar KM 4, Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur. Penelitian ini juga dilakukan di laboratorium Riset dan Diagnosa Klinik Hewan Satwa Sehat di Jalan Dako No. 52, Tidar, Malang. Adapun pertimbangan memilih lokasi penelitian tersebut merupakan tempat dimana peneliti menjadi pendidikan S1-Farmasi.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD) yang diperoleh dari drh. Rachmad Priyadi selaku peternak hewan coba tikus dan mecit.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji pepaya (*Carica Papaya L.*) untuk pembuatan serbuk simplisia, yang diperoleh dari Desa Mirigambar, Rt 01/Rw 06, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.5 Variabel penelitian

Variabel penelitian pada dasarnya adalah suatu hal yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulan (Purwanto, 2019). Terdapat jenis-jenis variabel yaitu variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat dijadikan penyebab atau yang dapat mempengaruhi perubahan atau munculnya variabel terikat (Purwanto, 2019). Variabel bebas yang terdapat pada penelitian ini variasi konsentrasi optimum dosis 150 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 450 mg/kgBB ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang mengontrol pengaruh variabel bebas terhadap variabel tidak bebas. Variabel kontrol merupakan variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga variabel tidak di pengaruhi oleh faktor yang tidak di teliti (Purwanto, 2019). Dalam penelitian ini yang termasuk variabel kontrol adalah metode maserasi dan tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dapat dipengaruhi atau yang menjadi akibat oleh adanya suatu variabel bebas Dalam penelitian ini yang termasuk variabel terikat adalah kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL).

3.6 Jalannya penelitian

3.6.1 Ethical Clearance

Ethical clearance atau kelayakan etik penelitian merupakan keterangan tertulis yang diberikan oleh komisi etik penelitian untuk riset yang melibatkan makhluk hidup (manusia, hewan dan tumbuhan) yang menyatakan bahwa suatu proposal riset layak dilaksanakan setelah memenuhi persyaratan tertentu (Darwin, 2014).

3.6.2 Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama untuk penelitian (Kartika, 2015). Sampel biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dilakukan proses determinasi di UPT. Materia Medica Batu, Jawa Timur.

3.6.3 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia biji pepaya dilakukan dengan cara mengambil buah pepaya kemudian buah pepaya dibelah diambil bijinya kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada biji pepaya, kemudian ditiriskan. Simplisia dari biji pepaya yang telah dicuci kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari sampai kering dengan. Biji pepaya yang sudah dikeringkan dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Kemudian masukkan serbuk ke dalam wadah dan tutup rapat (Ariani *et al.*, 2019)

3.6.4 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.6.4.1 Uji Susut Pengerinan

Susut pengerinan merupakan presentase senyawa yang hilang selama proses pemanasan (tidak hanya menggambarkan air yang hilang, tetapi juga senyawa menguap) (Handayani *et al.*, 2017).

$$\% \text{ Pengerinan} = \frac{A-B}{B} \times 100\% \quad (3.1)$$

Keterangan :

A : Bobot biji basah

B : Bobot biji kering

3.6.4.2 Uji Kadar Air

Timbang sampel sebanyak 1 g didalam cawan kering, dikeringkan dalam oven suhu 100 – 105°C selama 30 menit. Kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang sampai diperoleh berat konstan (Angelia, I., 2018). Bahan dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{Kadar air} = \frac{b-(c-a)}{a} \times 100\% \quad (3.2)$$

Keterangan :

a : Berat cawan

b : Berat sampel

c : Berat cawan+sampel

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

Pembuatan ekstrak etanol biji pepaya dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena metode ini termasuk metode ekstraksi dingin. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70%. Proses maserasi dilakukan dengan merendam 500 gram serbuk biji pepaya ke dalam gelas beaker dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2500 ml kemudian ditutup dan dibiarkan terendam selama 3 hari yang terlindungi dari cahaya dan sesekali digojok. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga mendapatkan maserat (Filtrat I) dan residunya diremaserasi dengan etanol 70 % sebanyak 1500 mL menggunakan prosedur yang sama, remaserasi dilakukan selama 2 hari sampai diperoleh maserat yang jernih (Filtrat II). Selanjutnya semua maserat etanol digabungkan (Filtrat I + Filtrat II) dan diuapkan dengan menggunakan alat penguap rotary evaporator pada temperature suhu 40°C sampai volumenya menjadi ¼ dari volume awal dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan waterbath pada suhu 40°C sehingga menghasilkan ekstrak kental (Ariani *et al.*, 2019).

3.6.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

3.6.5.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku. Untuk perhitungan rendemen ekstrak diperoleh

dengan presentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan (Nahor *et al.*, 2020). Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100\% \quad (3.3)$$

3.6.5.2 Uji Organoleptis

Uji organoleptis dapat dilakukan dengan mengamati perubahan-perubahan yang meliputi bentuk, warna, dan bau pada sediaan (Wardani & Saryanti, 2021).

3.6.5.3 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat ditambahkan kedalam sampel ekstrak kemudian dihomogenkan. Tabung disumbat dengan kapas lalu dipanaskan. Selain cara tersebut, 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 dapat dikatakan bebas etanol (Mauti *et al.*, 2018).

3.6.6 Skrining Fitokimia

Menurut (Isnania, 2014) skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) meliputi senyawa Flavonoid, Tanin, dan Saponin.

3.6.6.1 Flavonoid

Ambil ekstrak sebanyak 2 gram kemudian ditambahkan serbuk magnesium secukupnya untuk mengoksidasi sampel. Kemudian ditambahkan 10 tetes asam klorida 5 N kemudian ditambahkan etanol 70%. Keberadaan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hitam kemerahan pada larutan (Isnania, 2014).

3.6.6.2 Tanin

Ambil ekstrak sebanyak 2 gram kemudian ditambahkan dengan 10 ml air panas, kemudian ditetesi dengan besi III klorida kemudian ditambahkan etanol 70%, keberadaan tanin dalam sampel ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman (Isnania, 2014).

3.6.6.3 Saponin

Ambil ekstrak sebanyak 2 gram dan ditambahkan dengan 10 ml aquades kemudian dikocok kuat selama kurang lebih 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Keberadaan senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit dengan tinggi 3 cm (Isnania, 2014).

3.6.6.4 Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak + 1 ml 2N HCl. Filtrat ditempatkan dalam tabung dan ditambahkan pereaksi Mayer. Sampel positif ditandai, menghasilkan endapan putih (Pradana, 2014)

3.6.7 Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LC-MS

Hasil analisis dari LC-MS akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat diketahui jumlah senyawa yang dikandung setiap sampel. Data LC-MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kualitas komponen sampel tertentu, senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) dari property LC-MS meliputi kolom shimadzu shim pack FC-ODS (2 mm x 150 mm, 3 μ m) volume injeksi 1 μ l tegangan kapiler 3,0 kV, suhu kolom 35°C, mode fase gerak isocratic, laju aliran 0,5 ml/min, dan pelarut etanol 95% (Mangurana *et al.*, 2019).

3.7 Uji Pra-Klinik pada Tikus

3.7.1 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba

Hewan coba harus sehat dan didapat dari tempat resmi yang memiliki sertifikat, sebelum perlakuan penelitian dimulai perlu diperhatikan aspek psikologi sebelum dimulainya perlakuan, makanan harus sesuai jenis pakan dan spesies yang memiliki kandungan nutrisi yang lengkap, air minum dan pakan yang diberikan harus mudah diambil oleh hewan coba, kandang juga harus bersih (Handajani, 2021). Penelitian ini menggunakan tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD) yang berumur 8 minggu dengan berat badan rata-rata 150-180 gram. (Agustina & Murwani, 2013). Sebelum perlakuan tikus di aklimatisasi agar untuk beradaptasi dengan lingkungan penelitian.

Dalam penelitian ini menggunakan sebanyak 36 ekor tikus. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dimana 3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

3.7.2 Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak

Pembuatan pakan tinggi lemak menggunakan lemak babi dengan jumlah 5% dan pakan standart 95% dengan cara minyak babi di cairkan terlebih dahulu kemudian diberikan pakan standart, pemberian pakan tinggi lemak dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung sampai tikus mengalami hiperkolesterol selama 14 hari (Wulandari *et al.*, 2015).

3.7.3 Pembuatan Larutan Koloidal CMC-Na 0,5%

Timbang (CMC-NA) sebanyak 0,5 gram ditaburkan dalam mortir yang berisi 10 ml aquadest yang telah dipanaskan, didiamkan kurang lebih selama 15 menit hingga memperoleh masa transparan, lalu dicampur sampai homogen. Larutan CMC-Na dipindahkan ke labu ukur 100 ml. Volumnya dicukupkan dengan aquadest hingga 100 ml (Alaydrus *et al.*, 2020).

3.7.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak Biji Pepaya

Pembuatan suspensi ekstrak biji pepaya terdapat 3 variasi dosis yaitu 150 mg, 300 mg, dan 450 mg. Berat rata-rata tikus yaitu 200 gram, konversi dosis manusia (70kg) ke tikus (200 gram) menjadi 0,018. Pemberian terhadap tikus dengan dosis 150 mg sebanyak 2,7 mg, dosis 300 mg sebanyak 5,4 mg, kemudian pada dosis 450 mg sebanyak 8,1 mg. Pemberian suspensi ekstrak biji pepaya dilakukan secara per oral menggunakan sonde, sediaan ekstrak biji pepaya ditimbang dan setelah proses penimbangan ekstrak kemudian dilarutkan dalam suspensi CMC Na 0,5% secukupnya kemudian ditambah *aquadest* ad 30 ml.

3.7.5 Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan simvastatin yang memiliki mekanisme kerja yang sama dengan ekstrak biji pepaya, dosis lazim simvastatin yaitu 10 mg. Perhitungan konversi dosis untuk manusia dengan BB 70 kg pada tikus dengan BB 200 gram adalah 0,018. Volume pemberian lambung tikus secara oral 5 ml. Dosis

dari tikus ke manusia diperoleh dari konversi yang dilakukan yaitu dosis lazim 10 mg dikalikan dengan faktor konversi 0,018 sehingga mendapatkan hasil 0,18 mg/hari. Proses pembuatan suspensi simvastatin dilakukan dengan cara menimbang simvastatin sebanyak 1,08 mg kemudian disuspensikan dengan larutan CMC Na 0,5%, diaduk hingga homogen lalu di tuang dalam labu ukur dan di tambahkan *aquadest* ad 30 ml. Untuk volume pemberian dapat diberikan sebanyak 5,7 ml.

3.7.6 Perlakuan Pada Hewan Coba

Perlu diperhatikan bahwa untuk memperoleh hewan coba yang baik, peneliti harus memperhatikan kondisi tikus, pemberian pakan, pemberian air minum, sanitasi, kebersihan ruang. Hewan coba yang diperoleh dari luar laboratorium penelitian harus dilakukan adaptasi sampai menjelang perlakuan penelitian. Proses adaptasi ini harus dilakukan selama waktu tertentu dan perbedaan keadaan yang terjadi. Perbedaan keadaan yang mungkin terjadi adalah akibat perbedaan suhu, tekanan udara, suara, kebisingan, kelembaban, pencahayaan luar, dan perbedaan keadaan yang terjadi (Handajani, 2021).

Hewan coba dalam penelitian eksperimental akan diinduksi untuk menjadi model penyakit tertentu. Hewan coba akan diberikan perlakuan tertentu sebagai induksi untuk mencapai tujuan menjadi mirip menderita penyakit tertentu. Induksi terhadap hewan coba ada yang menggunakan cara melalui oral ataupun secara topikal. Proses ini akan menggunakan tata cara tertentu untuk mencapai kesamaan dengan penyakit yang diharapkan terjadi pada hewan model (Handajani, 2021).

Pada penelitian ini menggunakan hewan uji yaitu tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD) sebanyak 36 tikus dimana 6 tikus menjadi cadangan penelitian, tikus dalam penelitian ini di bagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, setiap perlakuan terdiri dari 6 tikus. Sebeum perlakuan semua tikus diaklimatisasi selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan penelitian. Sebelum melakukan penelitian semua tikus di timbang satu per satu untuk mengetahui masing-masing berat badan tikus. Kelompok tersebut dilakukan perlakuan yang berbeda dan terdiri dari :

Kelompok kontrol positif (K+) : Pakan standart (511) + Induksi tingi lemak + Larutan simvastatin

Kelompok kontrol negatif (K-) : Pakan standart (511) + Induksi tinggi lemak

Kelompok normal (N) : Pakan standart (511)

Kelompok perlakuan 1 : Pakan standart (511) + Induksi tinggi lemak + Dosis ekstrak biji pepaya 150 mg/kgBB

Kelompok perlakuan 2 : Pakan standart (511) + Induksi tinggi lemak + Dosis ekstrak biji pepaya 300 mg/kgBB

Kelompok perlakuan 3 : Pakan standart (511) + Induksi tinggi lemak + Dosis ekstrak biji pepaya 450 mg/kgBB

Untuk perlakuan pemberian pakan standart dan penginduksian secara oral, dilakukan selama 14 hari, kemudian perlakuan pemberian pengobatan dilakukan selama 14 hari. Setelah waktu penginduksian dan pengobatan dilakukan tikus di puasakan setelah tikus tidak di beri pakan melakukan proses pengambilan sampel, pengambilan sampel dilakukan setelah percobaan atau penelitian karena dilakukan proses perbandingan dengan kelompok normal.

3.7.7 Pengambilan Sampel

Metode pengumpulan spesimen darah berhubungan dengan berapa jumlah volume darah yang diperlukan untuk tujuan penelitian. Terdapat beberapa metode pengambilan darah tikus yang bisa dilakukan dengan hewan coba tetap hidup dan ada beberapa metode yang mengakibatkan hewan coba mati. Pengambilan sampel yang di ambil dari darah melalui mata tikus (*Sinus Retro Orbital*) metode ini merupakan metode pengambilan darah dengan hewan coba yang dapat bertahan hidup. Metode ini dapat dilakukan pada tikus. Pada metode ini hewan coba dapat dilakukan anestesi umum dan anestesi lokal. Sinus retro orbital terletak dibelakang mata. Pengambilan darah tikus dilakukan secara hati-hati dan tidak boleh menggores kornea mata (Handajani, 2021).

Pengambilan sampel darah diambil melalui Sinus Retro Orbitalis menggunakan mikrohematokrit, kemudian di sentrifugasi untuk mendapatkan serumnya (Agustina &

Murwani, 2013). Sebelum pengambilan sampel darah melalui Sinus Retro Orbitalis dapat dilakukan terlebih dahulu yaitu anestesi pada hewan, pengambilan sampel pada hewan dilakukan menggunakan anestesi eter, tikus dimasukkan ke dalam tabung kaca yang dasarnya terdapat kain yang sudah dibasahi dengan larutan eter kemudian ditutup sampai rapat dan di tunggu sampai tikus mati. Sebelum didekapitasi melakukan konfirmasi kematian tikus harus dilakukan dengan cara melihat respirasinya. Apabila sudah tidak ada aktifitas respirasi, tikus dilakukan proses pengambilan sampel (Permatasari *et al.*, 2013).

3.7.8 Pengukuran Kadar LDL

Pengukuran LDL dilakukan dengan metode Direct Enzymatic Colorimetric Test dengan alat spektrofotometer UV-Visible dengan bahan yang digunakan meliputi serum darah; Cholesterol esterase; Cholesterol oxidase; Catalase; N-(2-hydroxy3-sulfopropyl)-3,5-Dimethoxyaniline (HDAOS); reagen Peroxidase; 4- Aminoantipyrin (4-AA); Sodium azide 0,05% dan detergents > 1% (Wulandari *et al.*, 2015), pengukuran peningkatan kadar kolesterol dilakukan dengan prosedur :

1. Melakukan sentrifuge terhadap sampel darah pada tabung heparin dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dan memindahkan serum ke effendorf yang telah diberikan kode sampel sesuai perlakuan.
2. Nyalakan Blood Chemistry Analyzer, dan biarkan 10 menit sebelum menu "Home".
3. Membuat larutan BLANK : Siapkan masing-masing 1 tabung reaksi tiap sampel dan masukkan 100 μ L reagen LDL.
4. Membuat larutan sampel : Siapkan masing-masing 1 tabung reaksi tiap sampel dan masukkan 100 μ L sampel (Serum/Plasma/Urine).
5. Tekan menu flowcytometer dan pilih jenis uji yaitu LDLC.
6. Tunggu hingga mesin berbunyi "Beep" yang berarti alat sudah siap pada suhu ruang 37°C.
7. Tekan zero setting hingga muncul "please aspirate zero water" dan masukkan aquadest dengan menekan tombol aspirator.

8. Tunggu hingga mesin berbunyi “Beep” dan lanjutkan dengan tekan menu reagen blank dan masukkan larutan blank dengan menekan tombol aspirator.
9. Tunggu hingga mesin berbunyi “Beep” dan lanjutkan dengan tekan menu “Test” dan masukkan sample dengan menekan tombol aspirator. dan masukkan larutan blank dengan menekan tombol aspirator.
10. Tunggu selama 30 detik.
11. Kemudian baca hasil berupa kadar (IU/L) di layar dengan panjang panjang gelombang 560 nm. Kadar normal kolesterol LDL pada hewan coba tikus yaitu 7-27,1 mg/dl

3.7.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dan dapat diolah menggunakan sistem komputerisasi menggunakan program SPSS (*Statistical Product Service Solution*). Pengolahan data sebagai berikut:

3.7.9.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga bisa digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk uji normalitas data. Selanjutnya dilakukan dengan menggunakan uji *Paired-test*.

Pengambilan keputusan bermakna apabila :

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

3.7.9.2 Uji *Paired – test*

Uji *Paired-test* adalah uji yang mengukur perubahan kadar kolesterol setelah perlakuan menggunakan uji statistik parametrik. Selanjutnya dilakukan dengan menggunakan uji One Way Anova.

Pengambilan keputusan bermakna apabila :

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

3.7.9.3 Uji One Way Anova

Uji One Way Anova adalah uji yang mengetahui perbedaan pengaruh dosis optimum dari kelompok perlakuan terhadap kadar kolesterol. Selanjutnya dengan menggunakan uji lanjut LSD (*Least Significant Difference*).

Pengambilan keputusan bermakna apabila :

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

3.7.9.4 Uji Lanjut Tukey

Uji lanjut tukey uji ini untuk mengetahui atau menganalisis perubahan pada kadar kolesterol setelah perlakuan.

Pengambilan keputusan bermakna apabila :

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

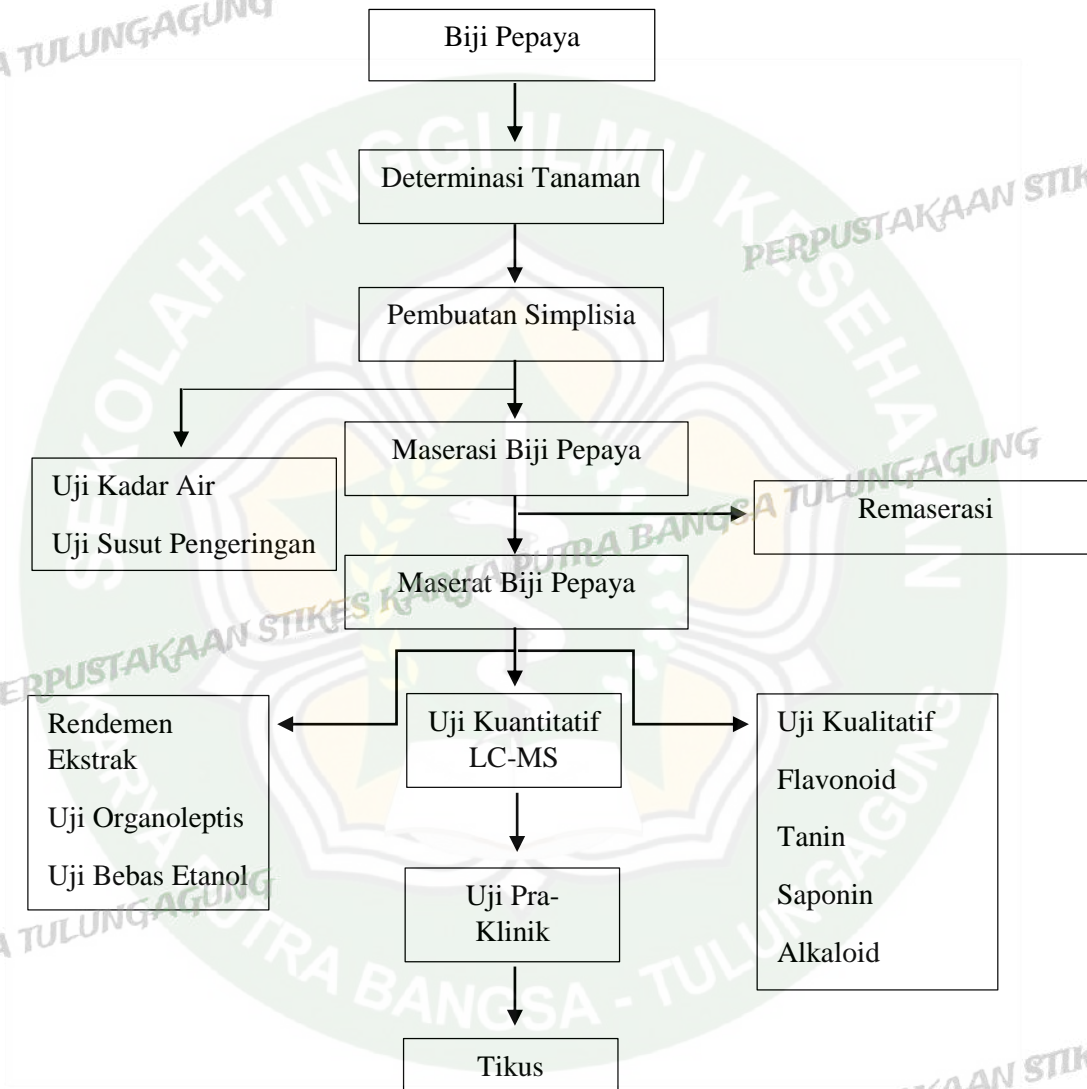
3.8 Hipotesis

Hipotesis merupakan bagian penting dari penelitian, yang harus di rancang sejak awal penelitian. Karena hipotesis meruakan jawaban sementara atas pertanyaan peneliti, yang dapat memandu jalan penelitian (Taufik, 2021).

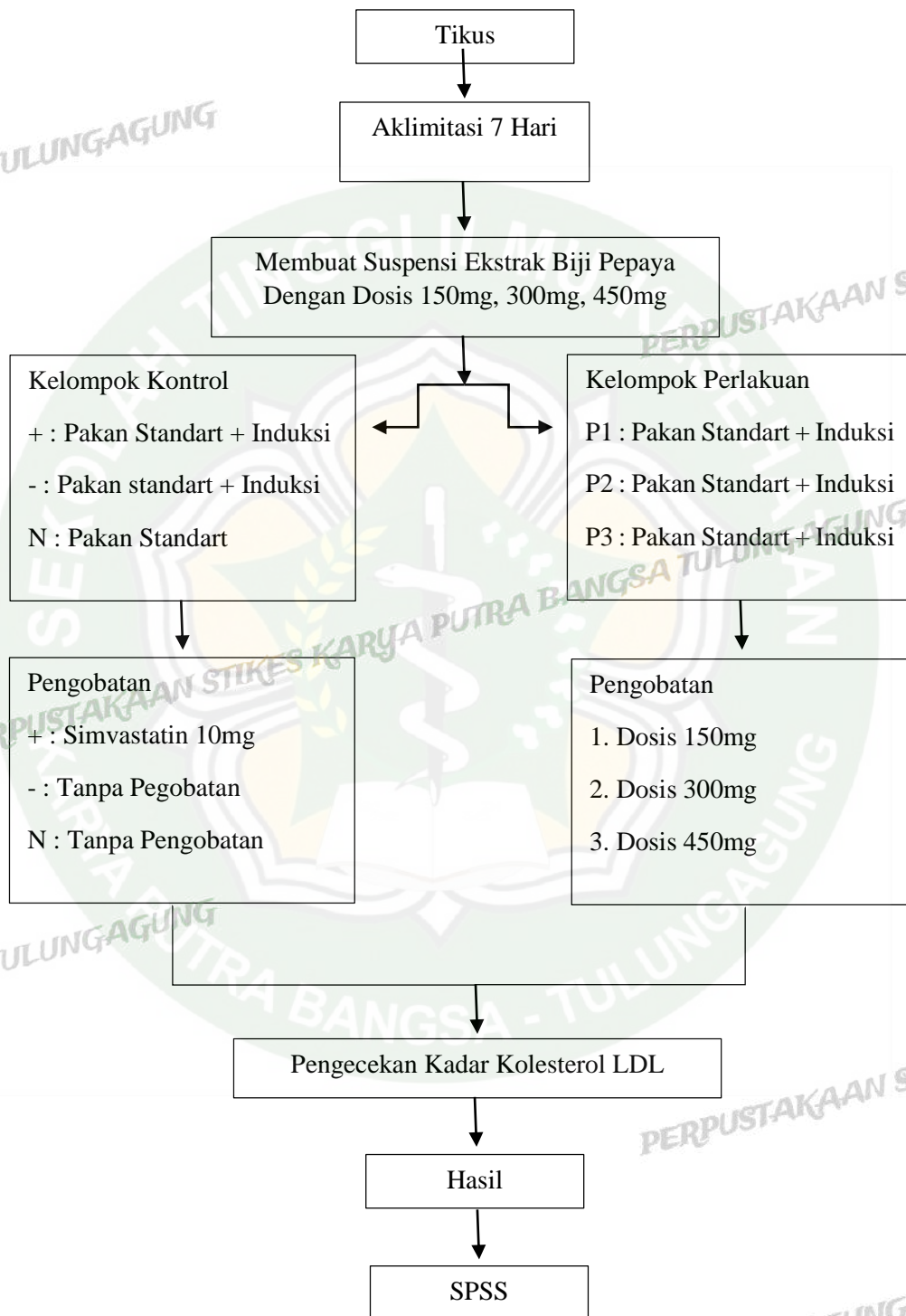
1. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki aktivitas terhadap kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL).
2. Konsentrasi dosis 300 mg/kgBB ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL).

3.9 Kerangka Penelitian

3.9.1 Pembuatan Ekstrak



3.9.2 Perlakuan Hewan Coba



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persetujuan *Ethical Clereance*

Ethical Clereance yang telah diajukan ke komite etik penelitian di Universitas Surabaya untuk penelitian praklinik, telah disetujui oleh *Institusional Ethical Committee* Universitas Surabaya pada tanggal 13 April 2023 dengan No: 110/KE/IV/2023. Surat keterangan *Ethical Clereance* dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman biji pepaya dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Berdasarkan surat determinasi dengan nomor 067/350/102.20/2023, bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman biji pepaya dengan nama latin *Carica Papaya L.*, dengan kunci determinasi 1b - 2b - 3b -4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a -15a - 109b - 119b - 120b - 119b -120b - 121b - 124b - 125a 126a: Caricaceae-1;C. *papaya*. Berdasarkan hasil dari surat determinasi tanaman dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman biji pepaya. Surat hasil determinasi tanaman biji pepaya yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu dapat dilihat pada **Lampuran 6**.

4.3 Pembuatan Simplisia Serbuk Biji Pepaya

Pembuatan simplisia biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dilakukan dengan pengambilan biji pepaya sebanyak 14 kg yang diperoleh dari Ds. Mirigambar, RT. 01/RW. 06, Sumbergempol, Tulungagung, Jawa Timur, dengan cara mengambil biji pepaya yang masih segar. Proses pembuatan simplisia dengan melakukan sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran atau benda asing sebelum pencucian melakukan pembuangan bagian yang tidak perlu, sehingga dapat menghasilkan biji pepaya yang layak proses pencucian. Pencucian menggunakan air bersih yang mengalir dengan proses pencucian sebanyak tiga kali dengan tujuan menghilangkan kotoran yang masih melekat dan kemudian ditiriskan (Wulandari, 2022). Biji pepaya kemudian dilakukan proses pengeringan untuk memperoleh biji pepaya kering dengan cara diangin-anginkan dan tidak langsung terkena sinar matahari secara langsung. Simplisia

yang telah dikeringkan kemudian dilakukan proses sortasi kering. Sortasi kering untuk menghilangkan kotoran yang masih tertinggal pada siplisia kering (Agustina *et al.*, 2015). Biji pepaya yang telah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk bubuk. Selanjutnya dilakukan proses pengayakan menggunakan ayakan berukuran 80 mesh agar bubuk biji pepaya memiliki ukuran yang seragam (Tiara *et al.*, 2022).

4.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui senyawa yang menghilang selama proses pemanasan atau pengeringan (Handayani *et al.*, 2017). Proses pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air pada biji pepaya (*Carica Papaya L.*) sehingga dapat disimpan lebih lama. sementara volume dan berat biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menjadi lebih kecil sehingga mempermudah dan menghemat ruang (Martunis, 2012). Hasil susut pengeringan dapat dipengaruhi oleh kadar air, suhu, dan lama waktu saat pengeringan. Hasil diperoleh 14% sehingga mengalami penyusutan dari berat biji basah 14 kg menjadi 2 kg biji kering dengan rumus perhitungan $\frac{\text{Bobot biji kering}}{\text{Bobot biji basah}} \times 100\%$. Hasil uji susut pengeringan dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

Tabel 4. 1 Hasil Uji Susut Pengeringan Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Sampel	Bobot Biji	Bobot Biji	% Hasil
	Basah	Kering	
Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	14 kg	2 kg	14%

4.3.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air bertujuan untuk mengetahui banyak air yang terkandung pada simplisia setelah proses pengeringan biji pepaya (*Carica Papaya L.*). Kelebihan jumlah air dalam simplisia akan mempercepat pertumbuhan mikroba maupun pembusukan, sehingga pengontrolan terhadap kadar air dapat menekan terjadinya pembusukan dan kerusakan bahan baik dalam penyimpanan dan pengolahan (Liana *et al.*, 2015). Kadar air simplisia tergantung pada waktu yang digunakan untuk pengeringan simplisia,

semakin kering maka semakin kecil juga kadar airnya, prinsipnya yaitu sampel ditimbang sebanyak 1 gram didalam cawan yang telah diketahui beratnya, kemudian dikeringkan didalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit, setelah itu didinginkan selama 15 menit dan ditimbang hingga bobot tetap (Syamsul *et al.*, 2020).

Menurut BPOM (2014), kandungan air simplisia adalah kurang dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari pertumbuhan jamur dalam simplisia karena reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air dalam simplisia <10% (Huda *et al.*, 2019). Hasil penelitian menunjukkan presentase kadar air simplisia biji pepaya (*Carica Papaya L.*) sebesar 8,6% dengan rumus perhitungan $\frac{\text{Bobot sebelum di oven} - \text{Bobot setelah di oven}}{\text{Bobot setelah di oven}} \times 100\%$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar air simplisia biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memenuhi standart mutu. Hasil uji kadar air dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4. 2 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Serbuk Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	1 gram	0,92 gram	8,6%

4.4 Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya

Pembuatan ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan menggunakan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif pada temperatur ruangan. Pada proses perendaman, bahan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Handayani & Nurcahyanti, 2015). Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia 500 gram dalam pelarut etanol 70% sebanyak 2500 mL, pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut (Isnania, 2014). Pemilihan pelarut etanol karena etanol merupakan pelarut yang mudah didapatkan, efisien, aman untuk

lingkungan, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi (Hakim & Saputri, 2020). Dalam proses perendaman dilakukan penggojokkan atau diaduk selama ± 10 menit bertujuan untuk mempercepat kontak antara serbuk simplisia dan pelarut, cairan pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel dan isi sel akan larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan yang ada di dalam dan diluar sel serta pelarut dengan konsentrasi yang tinggi akan terdesak keluar diganti dengan pelarut konsentrasi rendah (Wulandari, 2022). Selanjutnya filtrat yang terbentuk disaring menggunakan kain rangkap 2 dan dilanjutkan penyaringan menggunakan kertas saring yang bertujuan untuk menyaring serbuk yang mengendap saat dilakukan ekstraksi cara dingin (Huda *et al.*, 2019) selanjutnya dilakukan proses remaserasi atau maserasi bertingkat bertujuan untuk menarik senyawa yang masih terdapat pada sel dan tertinggal pada saat maserasi pertama.

Filtrat yang dihasilkan dari proses maserasi dan remaserasi sangat penting dilakukan, filtrat 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. 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 *et al.*, 2019).

4.4.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku yang digunakan. Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena bertujuan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Selain itu, data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak, bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan (Hasnaeni *et al.*,

2019). Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung didalamnya, semakin tinggi nilai rendemen maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku. Hasil rendemen ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) setelah dilakukan proses pemekatan dengan *rotary evaporator* diperoleh sebanyak 67,5 % dengan rumus perhitungan $\frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100\%$ (Senduk *et al.*, 2020). Hasil dapat dilihat pada tabel 4.3

Tabel 4. 3 Hasil Rendemen Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Serbuk Simplisia	%Hasil
Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	2000 gram	1350 gram	67,5%

4.4.2 Uji Organoleptis

Uji organoleptis bertujuan untuk menunjukkan bentuk, warna dan bau dari ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*). Uji organoleptis menggunakan panca indra secara langsung menunjukkan ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki tekstur cair setengah kental yang menyerupai tekstur tingtura memiliki bau khas dan memiliki warna kuning kecoklatan.

4.4.3 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) yang diperoleh bebas dari etanol sehingga mendapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi dan ekstrak dapat digunakan untuk tahap selanjutnya (Kurniawati, 2015). Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada **Tabel 4.4**

Tabel 4. 4 Hasil Uji Bebas Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>)	H ₂ SO ₄ + Asam Asetat Glisial	+	Tidak berbau khas pelarut dari etanol

Keterangan : (+) tidak terdapat kandungan etanol 70%

Uji bebas etanol dilakukan dengan penambahan 1 ml asam sulfat pekat dan asam asetat glasial ditambahkan ke dalam sampel ekstrak, hasil uji bebas etanol ditandai dengan tidak berbau khas pelarut etanol (Mauti *et al.*, 2018). Dari hasil uji yang diperoleh tidak berbau khas etanol sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) telah bebas dari etanol. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada **Gambar 4.1**



Gambar 4. 1 Hasil Uji Bebas Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

4.4.4 Sriking Fitokimia

Pengujian skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa atau metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) (Muthmainah, 2017) dengan menambahkan beberapa bahan kimia sehingga dapat diidentifikasi dengan adanya perubahan warna pada sampel. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dapat dilihat pada **Tabel 4.5**

Tabel 4. 5 Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Pepaya

Golongan Senyawa	Pereaksi	keterangan	Hasil
Flavonoid	Etanol 70% + Mg 0,1 + HCL Pekat	Jingga kehijauan	+
Tanin	Etanol 70% + FeCl 1%	Hijau	+
Saponin	<i>Aquadestilata</i> panas	Busa Stabil	+
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	Endapan Putih	+

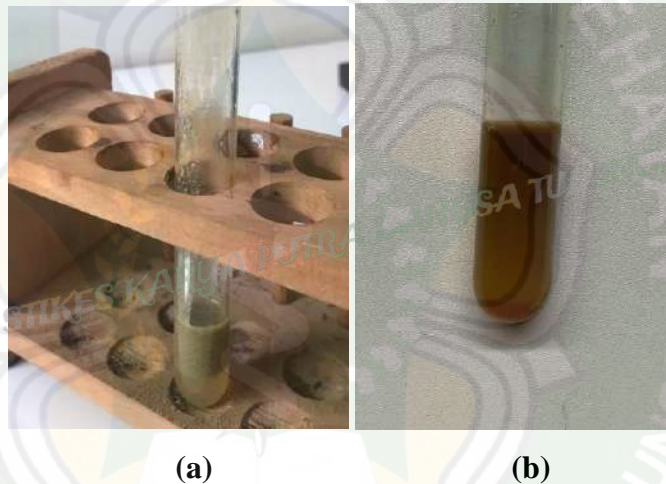
Keterangan : (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Hasil skrining fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian Agustina dan Murwani (2013), yang menyatakan jika biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki komponen utama senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek antihiperkolesterol yaitu senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid.

4.4.4.1 Uji Flavonoid

Uji skrining fitokimia pada ekstrak untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid di dalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*). Hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid, ekstrak didapatkan hasil positif (+) terdapat warna jingga kehijauan. Pengujian senyawa flavonoid dilakukan dengan cara sejumlah ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian di tambahkan dengan etanol 70% dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian ditambah dengan Mg 0,1 gram dan 2 tetes HCL pekat (Huda *et al.*, 2019). Tujuan penambahan Mg 0,1 gram dan 2 tetes HCL pekat ini untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid agar senyawa flavonoid dapat diidentifikasi, maka ikatan glikosida dengan flavonoid dalam tanaman harus diputus dengan cara mereduksi ikatan tersebut (Muthmainah, 2017).

Senyawa flavonoid mempunyai mekanisme kerja sebagai antihiperkolesterol yang memiliki fungsi menurunkan oksidasi kolesterol *Low Density Lipoprotein*, menurunkan peroksidasi lemak, dan menghambat perkembangan lesi aterosklerosis pada penyakit kardiovaskular. Efek antioksidan yang terdapat dalam biji pepaya memiliki peranan penting dalam melawan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan produk peroksidasi lipid (Saputri *et al.*, 2017). Hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid dapat dilihat pada **Gambar 4.2**



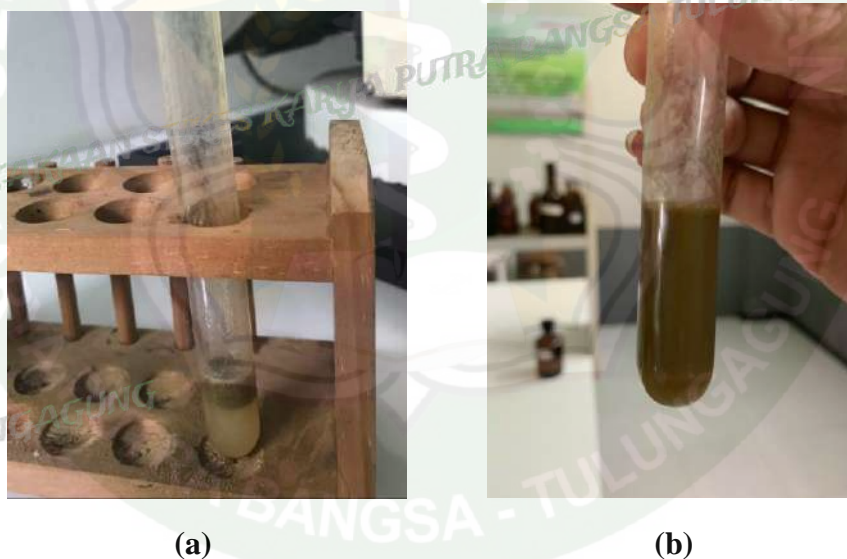
Gambar 4. 2 Hasil Uji Flavonoid (a) Sebelum Direaksikan (b) Hasil Setelah Direaksikan

4.4.4.2 Uji Tanin

Pengujian tanin dilakukan bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa tanin didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*). hasil pengujian skrining fitokimia tanin didapatkan hasil positif (+) terdapat warna hijau kehitaman. Pengujian senyawa tanin dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan etanol sampai ekstrak terendam, kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1% (Huda *et al.*, 2019). Terbentuknya warna hijau kehitaman yang menandakan terjadinya pembentukan senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang tua. Pengujian skrining fitokimia menggunakan FeCl_3 karena dapat menentukan bahwa sampel tersebut mengandung gugus fenol, adanya gugus fenol

ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 1% yang memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel tersebut terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya yaitu tanin (Kholifah, 2022).

Tanin diketahui telah terbukti memiliki efek antiplatelet dan antihiperkolesterolemik yang kuat dengan cara mereduksi absorpsi kolesterol di usus. Selain itu, tanin juga memiliki aksi mengikat asam empedu sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol di plasma, cara menurunkan kadar kolesterol dalam 61 darah dengan cara memperbesar jumlah pengeluaran kolesterol sebagai asam empedu. Tanin membentuk gel didalam usus halus dan mengikat lemak, kolesterol dan asam empedu sehingga asam empedu tidak bisa diserap dalam usus halus (Saputri *et al.*, 2017). Hasil uji skrining fitokimia senyawa tanin dapat dilihat pada gambar 4.3



Gambar 4. 3 Hasil Uji Tanin (a) Sebelum Direaksikan (b) Hasil Setelah Direaksikan

4.4.4.3 Uji Saponin

Pengujian saponin dilakukan bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa saponin didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*). hasil pengujian skrining fitokimia saponin didapatkan hasil positif (+) terbentuknya busa yang stabil. Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan cara Ekstrak diambil sebanyak ± 1 ml dididihkan

dengan 10 ml *aquadestilata* dalam penangas air. Kemudian filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (Huda *et al.*, 2019). Busa terbentuk karena adanya glikosida yang dapat memebentuk busa dalam air dan kemudian terhidrolisis menjadi glukosa. Senyawa saponin merupakan senyawa yang aktif permukaan yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. Komponen ikatan glikosida yang terdapat didalam saponin menyebabkan senyawa cenderung bersifat polar (Kholifah, 2022).

Saponin merupakan salah satu senyawa yang memiliki aksi hipolipidemik, saponin dapat menurunkan kadar kolesterol di plasma melalui penghambatan absorpsi kolesterol di usus. Saponin diketahui memiliki aksi yang menyerupai resin, sehingga menurunkan sirkulasi enterohepatik dari asam empedu (Saputri *et al.*, 2017). Hasil skrining fitokimia saponin dapat dilihat pada **gambar 4.4**



(a)

(b)

Gambar 4. 4 Hasil Uji Saponin (a) Sebelum Direaksikan (b) Hasil Setelah Direaksikan

4.4.4.4 Uji Alkaloid

Uji skrinning fitokimia pada ekstrak untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid di dalam ekstrak biji pepaya (*Crescentia cujete* L.). Hasil uji alkaloid ekstrak

didapatkan hasil positif (+) terdapat endapan putih, karena senyawa alkaloid yang direaksikan dengan HCl 2N dan pereaksi meyer. Tujuan penambahan HCl karena senyawa alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam (Pradana, 2014). Pereaksi mayer dengan senyawa alkaloid dapat menghasilkan endapan. Endapan yang terbentuk adalah kompleks kalium-alkaloid (Ergina, 2014). Pereaksi mayer merupakan pereaksi yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid karena mampu memberikan endapan putih hampir semua alkaloid dan kebanyakan alkaloid bereaksi tanpa membedakan kelompok alkaloid (Pradana, 2014). Hasil skrining fitokimia alkaloid dapat dilihat pada **gambar 4.5**

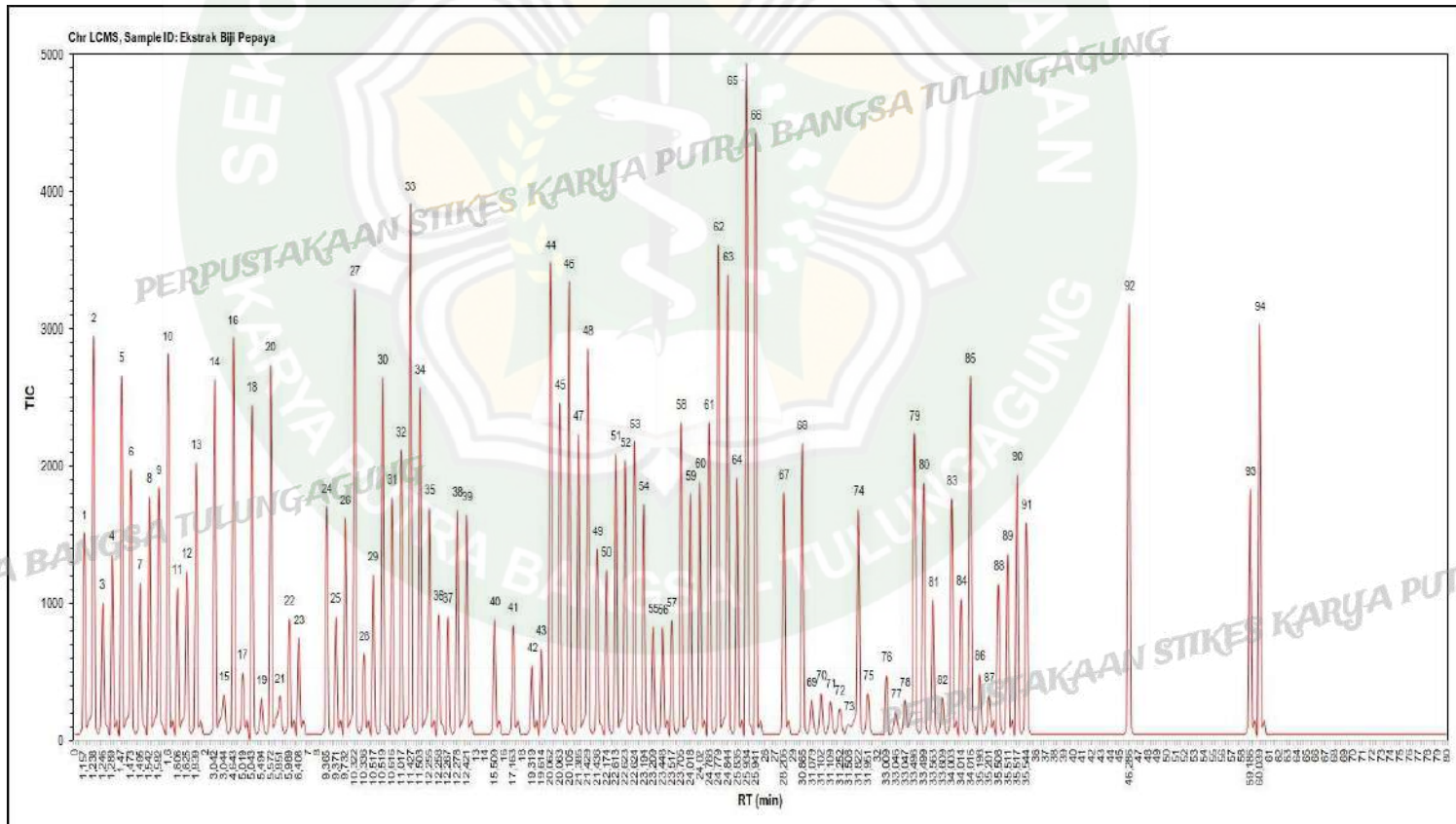


Gambar 4.5 Hasil Uji Alkaloid

4.5 Identifikasi Senyawa Menggunakan LC-MS

Prinsip *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) akan didapatkan kromatogram berupa alur tinggi puncak dan akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat diketahui jumlah senyawa yang dikandung setiap sampel. *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) merupakan teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifitas deteksi spektrometri massa. Data *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) dapat digunakan untuk mengetahui informasi mengenai berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel

LCMS CHROMATOGRAM RESULT, SAMPLE ID: EKSTRAK BIJI PEPAYA



Gambar 4. 6 Hasil Chromatogram LC-MS

Tabel 4. 6 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

No. Peak	Senyawa	Waktu Retensi (Rt)	Komposisi (%)	Golongan	Kadar
2	Fumaric acid	1,238	1,86869	Fenol	22,46%
16	Caffeic acid	4,634	1,86183		
10	Tartaric acid	1,6	1,78727		
20	5,7 dimethoxycoumarin	5,572	1,73492		
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	3,4 dihydroxybenzoic acid	1,625	0,78433		
11	Methyl salicylate	1,606	0,70736		
3	Succinic acid	1,246	0,63951		
33	Quercetin	11,427	2,4791	Flavonoid	43,33%
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-2'-rhamnoside- 7-rhamnoside	46,286	2,0198		
48	Kaempferol-3-O-rhamnoside	21,429	1,81343		
85	Kaempferol-3-(5'-feruloyloiside)	34,016	1,6852		
30	7-hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavanone	10,519	1,68012		
45	Kaempferol-4-rhamnoside	20,063	1,56121		

Tabel 4.6 Lanjutan

61	Kaempferol-3-(2'-acethylrhamnoside)	24,678	1,47105		
47	Isovitexin	21,385	1,41615		
53	Kaempferol-7-O- β -D-Glucoside	22,642	1,38104		
68	Kaempferol-3-O-(6-malonylglucoside)	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'-diacetylramnoside)	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		
74	Quercetin-3-O-(6-malonyl-glucoside)	31,822	1,06805		
26	Narigenin	9,732	1,02958		
49	Quercetin-3-arabinoside	21,436	0,8829		
89	Quercetin-3-glucoside-7-rhamnoside	35,511	0,86183		
50	Quercetin-3-O-rhamnoside	22,174	0,78791		
29	4,6-dihydroxy-3,5'-dimethyl-2'-methoxychalcone	10,517	0,76572		
7	α - phelleadrene	1,495	0,72916		
88	Kaempferol-3-(6'-caffeolglucoside)	35,508	0,72255		
94	3-O-galloylepigallocatechin-(4 β →8)epigallocatechin-3-O-gallate	3,042	1,66821	Tani n	11,47%

Tabel 4.6 Lanjutan

14	Gallic acid	11,503	1,631		
			03		
34	Epigallocatechin	23,705	1,472		
			19		
58	Epigallocatechin gallate	33,496	1,419		
			69		
79	Procyanidin B1	33,499	1,191		
			18		
80	Procyanidin B3	35,544	1,007		
			92		
93	Prodelphinidin C2	59,186	1,161		
			78		
91	Prodelphinidin B	60,039	1,924		
			55		
31	Sambunigrin	10,616	1,124	Sapo	1,12%
			90	nin	
65	Carpaine	25,934	3,129	Alka	10,38%
			24	loid	
66	Pseudocarpaine	25,941	2,806		
			37		
62	Dehydrocarpaine II	24,779	2,291		
			21		
63	Dehydrocarpaine I	24,844	2,154		
			38		

Tabel 4.6 memaparkan hasil dengan metode LC-MS pada *Total Ion Current* diatas 1000 dalam ekstrak biji pepaya terdeteksi dan teridentifikasi adanya golongan senyawa fenol, flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid dimana golongan tersebut yang berpengaruh sebagai antihiperkolesterol dan antioksidan.

4.5.1 Golongan Fenol

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan fenol yaitu sebanyak 22,46% dari 18 senyawa fenol, senyawa fenol dalam hasil LC-MS yang memiliki komposisi senyawa tertinggi yaitu fumaric acid memiliki komposisi 1,86869% dengan waktu retensi 1,238. Fenol merupakan senyawa yang menempel pada cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas memiliki kemampuan membentuk radikal fenoksi yang

stabil pada reaksi oksidasi sehingga fenol sangat potensial sebagai antioksidan (Nadila, 2022).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat digunakan untuk menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Potensinya sebagai antioksidan menyebabkan fenol memungkinkan dapat mencegah teroksidasinya kolesterol LDL sebagai tahap awal terjadinya aterosklerosis (Yunarto *et al.*, 2019).

4.5.2 Golongan Flavonoid

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan flavonoid yaitu 43,33% dari 32 senyawa flavonoid, golongan tersebut merupakan golongan senyawa terbanyak yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya yang dapat berpengaruh besar terhadap antihiperkolesterol. Senyawa flavonoid salah satu jenis kelompok senyawa terbesar yang terdapat pada tanaman, kelompok flavonoid ada sekitar 10.000 jenis flavonoid yang teridentifikasi dalam tanaman, flavonoid merupakan senyawa yang penting bagi tanaman yaitu untuk melindungi tanaman dari serangan jamur parasit, patogen dan melindungi tanaman dari cahaya tampak yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif (Martha *et al.*, 2023). Golongan flavonoid dari hasil LC-MS memiliki kandungan senyawa tertinggi yaitu quercetin dengan komposisi sebesar 2,4791 % dengan waktu retensi 11,427. Quercetin merupakan salah satu zat aktif golongan flavonoid yang memiliki aktivitas biologis yang kuat, senyawa quercetin ini berfungsi sebagai menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara mengoksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL) sehingga membentuk sel busa dan tidak terjadi kerusakan lipid (Rustanti *et al.*, 2021).

Flavonoid (quercetin) juga bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase sehingga sintesis kolesterol dapat menurun, pada saat kolesterol ditransfer dari usus menuju ke hati maka enzim HMG-CoA reduktase yang berfungsi sebagai mengubah asetil-koA menjadi mevalonad dalam sintesis kolesterol dapat terhambat maka produk sintesis kolesterol di hati akan berkurang (Artha *et al.*, 2017). Senyawa flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang telah dibuktikan dapat bermanfaat untuk mencegah kerusakan sel yang disebabkan dari stres oksidatif. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dapat secara langsung maupun tidak langsung. Flavonoid secara langsung yaitu dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari suatu radikal bebas sedangkan flavonoid tidak secara langsung yaitu meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme salah satu contohnya yaitu melalui aktivasi nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2) (Shinta & Kusuma, 2015).

4.5.3 Golongan Tanin

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya terhadap golongan tanin yaitu 11,47% dari 8 senyawa tanin. Golongan tanin dari hasil LC-MS memiliki kandungan senyawa tertinggi yaitu 3-O-galloylepigallocatechin-(4 β →8) epigallocatechin-3-O-gallate dengan komposisi 1,66821% dengan waktu retensi 3,042. Tanin merupakan salah satu senyawa golongan polifenol yang banyak dijumpai pada tanaman. Tanin dapat didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000 g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein, senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Tanin memiliki peranan biologis karena berfungsi sebagai pengendap protein dan penghelat logam (Hidayah, 2016). Tanin memiliki kemampuan dalam mengendapkan suatu protein, karena tanin dan molekul protein mengandung banyak gugus ikatan fungsional yang kuat, yang menimbulkan ikatan silang yang besar dan kompleks, tanin secara alami dapat larut dalam air dan dapat memberi warna yang bervariasi dari warna terang sampai merah

tua atau warna coklat, karena setiap turunan tanin memiliki warna yang berbeda tergantung dari sumbernya (Kurniawan & Zahra, 2021).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer gallic dan ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul glukosa, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa catechin dan gallo catechin (Noer *et al.*, 2020). Mekanisme kerja tanin sebagai antihiperkolesterol yaitu bekerja menghambat penyerapan lemak di usus dengan bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus. Selain itu, tanin dapat mengendapkan mukosa protein di permukaan usus halus sehingga mengurangi efektivitas penyerapan kolesterol dan lemak (Artha *et al.*, 2017).

4.5.4 Golongan Saponin

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan saponin yaitu 1,12% dari 1 senyawa saponin. Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman bagian akar, kulit, daun, biji, dan buah yang dapat berfungsi sebagai pertahanan. Keberadaan senyawa saponin identik dengan rasa pahit, pembentukan busa yang stabil pada larutan cair dan mampu membentuk molekul dengan kolesterol. Tanaman yang belum masak memiliki kandungan tanin yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang sudah masak. Saponin terdiri dari gula yang biasanya mengandung glukosa, galaktosa, asam glukoronat, xylosa, rhamnosa, atau methylpentosa yang berikatan dengan hydrophobic aglycone (sapogenin) yaitu steroid atau triterpenoid membentuk glikosida (Hidayah, 2016).

Biji pepaya teridentifikasi mengandung senyawa saponin yang merupakan salah satu senyawa yang poten memiliki aksi hipolipodemi. Golongan saponin yang teridentifikasi memiliki kandungan yang tinggi yaitu senyawa sambunigrin dengan komposisi 1,12490% dengan waktu retensi 10,616, mekanisme kerja saponin (sambunigrin) sebagai antihiperkolesterol yaitu bekerja dengan menurunkan kadar

kolesterol di plasma melalui proses penghambatan absorpsi kolesterol di usus. Saponin diketahui dapat memiliki aksi yang mirip dengan resin, sehingga dapat menurunkan sirkulasi enterohepatik dari asam empedu (Satriyasa *et al.*, 2017).

4.5.5 Golongan Alkaloid

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan alkaloid yaitu 10,38% dari 4 senyawa alkaloid. Golongan alkaloid yang teridentifikasi dengan komposisi tertinggi yaitu carpaine sebesar 3,12924% dengan waktu retensi 25,934. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Senyawa alkaloid sebagian besar bersumber dari tumbuhan terutama tumbuhan dengan spesies *angiosperm*. Spesies *angiosperm* mengandung senyawa alkaloid lebih dari 20%, senyawa alkaloid dapat ditemukan pada tanaman seperti bunga, daun, biji, ranting, akar, dan kulit batang. Alkaloid yang terdapat pada tanaman berfungsi sebagai racun yang dapat melindungi dari serangga dan herbivora, faktor pengatur pertumbuhan, dan senyawa simpanan yang menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan oleh tanaman (Ningrum *et al.*, 2017).

Mekanisme kerja alkaloid (carpaine) sebagai antihiperkolesterol yaitu bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen seperti senyawa flavonoid. Senyawa tersebut dapat menghambat aktivitas enzim lipase pancreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses. Berkurangnya enzim lipase pankreas dapat mengurangi deposit trigliserida yang masuk dari usus halus karena enzim tersebut mengubah trigliserida menjadi dua monogliserid dan dua asam lemak bebas sehingga dapat masuk ke dalam pembuluh darah (Artha *et al.*, 2017).

4.6 Uji Efektivitas Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol LDL

Pengujian *in vivo* dilakukan dengan hewan coba tikus galur *Sprague Dawley* dengan pertimbangan, tikus memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit, dan kecemasannya. Tikus galur *Sprague Dawley* ini merupakan jenis outbred tikus albino serbaguna secara ekstensif dalam riset medis.

Keuntungan utamanya adalah ketenangan dan kemudahan penanganannya (Maula, 2014). Hewan coba yang digunakan telah memepertimbangkan etika hewan yang harus memenuhi prinsip 3R yaitu *Repleacement*, *Reduction*, dan *Refinement* (Kholifah, 2022).

Perlakuan terhadap tikus yaitu dilakukan proses aklimatisasi selama ± 7 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan tempat penelitian. Tikus diberikan pakan standart 511 sebanyak 20 gram dan air minum aquadest ad libitum. Setelah masa aklimatisasi, tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol positif, kontrol negatif, kontrol normal, uji dosis 150 mg/kgBB, uji dosis 300 mg/kgBB, dan 450 mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

Pada penelitian ini digunakan 3 kelompok pembanding yaitu kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan kontrol normal. Kelompok kontrol positif digunakan untuk membandingkan efektivitas penurunan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) oleh simvastatin dengan ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dosis simvastatin yang digunakan adalah 10 mg untuk manusia, kemudian dosis ini dikonversikan ke dosis hewan menggunakan rumus yang tertera pada **Lampiran. 2** sedangkan, kelompok kontrol negatif digunakan untuk membandingkan penurunan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) tikus setelah pemberian pakan hiperkolesterol pada semua kelompok tikus. Kelompok kontrol normal digunakan untuk membandingkan penurunan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang normal dengan cara tidak diberi pakan hiperkolesterol atau tidak dilakukan perlakuan sama sekali. Selain itu kelompok kontrol normal juga diperlukan untuk melihat pengaruh larutan pensuspensi dalam penurunan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL). Bahan pensuspensi menggunakan CMC-Na 0,5%.

Metode yang digunakan untuk pengujian peningkatan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus yaitu dengan cara tikus dibuat hiperkolesterol yang diinduksi dengan pemberian makanan tinggi lemak dengan menggunakan lemak babi 5% dan pakan standart 95% dengan cara lemak babi di cairkan terlebih dahulu

kemudian diberikan pakan standart, pemberian pakan tinggi lemak dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung sampai tikus mengalami hiperkolesterol (Wulandari *et al.*, 2015). Komposisi makanan hiperkolesterol tersebut dipilih karena mengandung lemak yang tinggi sehingga dapat meningkatkan kadar kolesterol. Dini Fauzan M (2016), menyebutkan padapenelitian sebelumnya, bahwa penambahan lemak pada proses penginduksian dapat meningkatkan kadar kolesterol. Tikus diinduksi dengan makanan hiperkolesterol selama 14 hari terhadap semua kelompok kecuali kelompok normal. Setelah 14 hari proses penginduksian, tikus diberikan suspensi simvastatin untuk kelompok kontrol positif dan suspensi ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) pada kelompok uji berbagai dosis selama 14 hari.

Setelah dilakukannya perlakuan penginduksian dan pengobatan terhadap tikus, dilanjutkan dengan proses pengambilan sampel darah tikus. Sebelum proses pengambilan sampel darah tikus dan dilakukan proses anestesia menggunakan ketamine dan xylazine melalui *intraperitoneal* (IP) karena tidak menyebabkan peradangan peritonium dan kerusakan hati meskipun masih ditemukan nekrosis otot akut di tempat injeksi. Rute pemberian *intraperitoneal* direkomendasikan pada tikus karena dapat memberikan penyerapan yang cepat sehingga memungkinkan induksi anestesi yang cepat (Krissanti *et al.*, 2023). Tikus sebelum di anestesia dan diambil sampel darah dipuasakan terlebih dahulu selama ± 12 jamhal ini dilakukan untuk menghindari reflek muntah yang disebabkan oleh penggunaan obat anestesi (Fitriani *et al.*, 2019).

Ketamine merupakan salah satu jenis obat anestesi yang dapat digunakan pada hampir semua jenis hewan. Ketamine dapat menimbulkan efek yang membahayakan yaitu takikardia, hipersalivasi, meningkatkan kejang otot, nyeri pada tempat penyuntikan, dan bila dosis berlebih maka akan menyebabkan pemulihan berjalan lambat dan membahayakan. Efek samping tersebut yang tidak diinginkan dapat diatasi dengan mengkombinasi obat-obatan dan mengambil kelebihan masing-masing sifat. Kombinasi yang paling sering digunakan untuk anestesi terhadap hewan coba yaitu

ketamine dan xylazine, kedua obat anestesi ini merupakan agen kombinasi yang saling melengkapi antara efek analgesik dan relaksasi otot yang baik. Penggunaan xylazine dapat mengurangi sekresi saliva dan peningkatan tekanan darah yang diakibatkan oleh penggunaan ketamine. Penggunaan kombinasi ketamine dan xylazine sebagai anestesi umum memiliki banyak keuntungan yaitu mudah dalam pemberian, ekonomis, induksinya cepat begitu pula dengan pemulihannya, mempunyai pengaruh relaksasi yang baik dan jarang menimbulkan komplikasi klinis (Krissanti *et al.*, 2023).

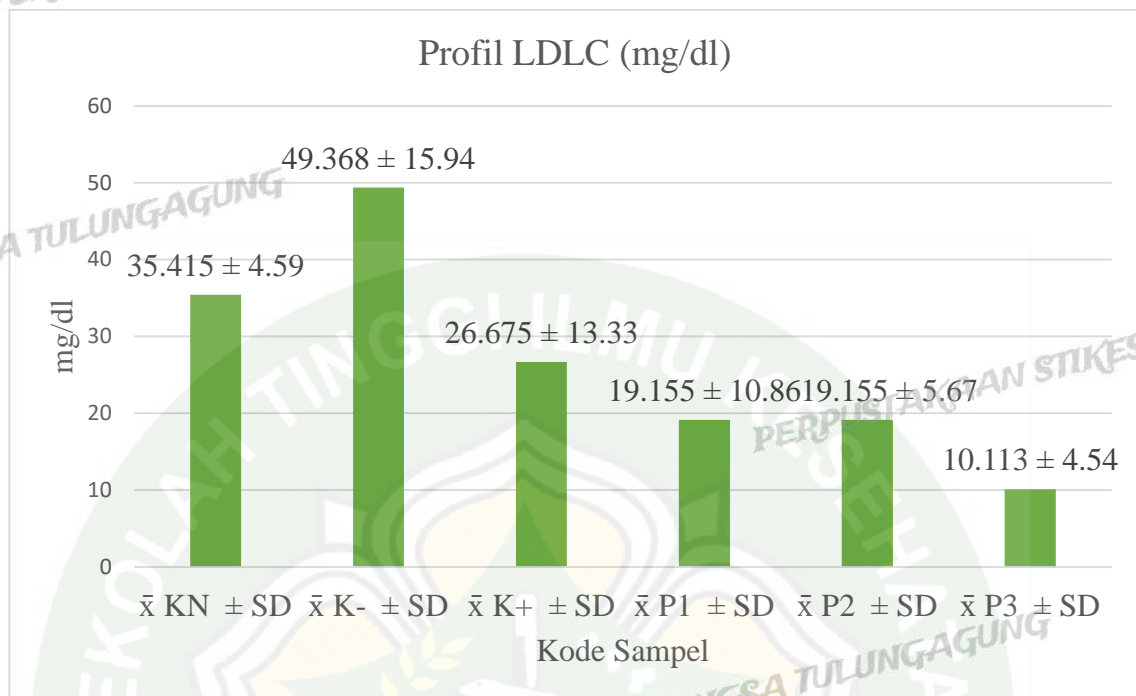
Setelah proses anestesi dilakukan proses pengambilan sampel darah tikus melalui *intracardia* atau melalui jantung tikus dan dilanjutkan dengan proses pengukuran kadar kolesterol High Density Lipoprotein (HDL). Pengukuran kadar kolesterol darah tikus dilakukan dengan proses metode *Direct Enzymatic Colorimetric Test* dengan alat spektrofotometer UV-Visible yang diperoleh berupa kadar. Pengukuran peningkatan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) dilakukan satu kali yaitu pada hari ke-29. Data profil pemeriksaan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) dapat dilihat pada **tabel 4.7**

Tabel 4. 7 Data Profil Pemeriksaan

Kode sampel	LDLC (mg/dl) \pm SD
RERATA KN	35.415 \pm 4.59
RERATA K-	49.368 \pm 15.94
RERATA K+	26.675 \pm 13.33
RERATA P1	19.155 \pm 10.86
RERATA P2	19.182 \pm 5.67
RERATA P3	10.113 \pm 4.54

Keterangan : SD = Standart Deviasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan selama 28 hari dapat menurunkan kadar kolesterol LDL yang disajikan pada **Gambar 4.6**



Keterangan :

\bar{x} = Rerata

SD = Standart Deviasi

K- = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi

K+ = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Simvastatin 10 mg

P1 = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Ekstrak Biji Pepaya 150 mg/KgBB

P2 = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Ekstrak Biji Pepaya 300 mg/KgBB

P3 = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Ekstrak Biji Pepaya 450 mg/KgBB

Gambar 4. 7 Rerata Kadar LDLC Setelah Perlakuan

Berdasarkan pemeriksaan patologi klinik yang dimaksudkan untuk mengetahui gambaran kimia darah dari hewan percobaan, kelompok tikus yang diberikan perlakuan penginduksian lemak babi selama 14 hari dan pemberian pengobatan simvastatin pada kelompok kontrol positif dan pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan variasi dosis 150 mg/KgBB, 300 mg/KgBB, dan 450 mg/KgBB pada kelompok perlakuan selama 14 hari. Pemberian simvastatin pada kelompok kontrol positif memiliki efek lebih tinggi dan menunjukkan penurunan yang paling tinggi yaitu rata-rata sebesar 26.675 mg/dl dibandingkan dengan 3 kelompok perlakuan, simvastatin

merupakan obat antihiperkolesterol yang telah terbukti khasiatnya bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase dan merupakan obat pilihan yang efektif untuk menurunkan kadar kolesterol LDL (Hariadini *et al.*, 2020). Selain pemberian obat sintesis dapat dilakukan dengan pengobatan herbal yaitu pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kelompok perlakuan 1, 2, dan 3. Berdasarkan data rerata penurunan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) Kelompok perlakuan 3 berpengaruh lebih tinggi dibanding dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 dengan rerata dosis uji 150 mg/kgBB sebesar 19.155 mg/dl, dosis uji 300 mg/kgBB sebesar 19.182 mg/dl, dan dosis uji 450 mg/kgBB sebesar 10.113 mg/dl.

Penelitian ini bahwa pemberian simvastatin pada kontrol positif dan pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan variasi konsentrasi 150 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 450 mg/kgBB memiliki pengaruh aktivitas terhadap peningkatan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL). Adanya penurunan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) setelah pemberian ekstrak biji pepaya disebabkan bahwa biji pepaya memiliki kandungan golongan senyawa yang memberikan efek sebagai antihiperkolesterol yaitu golongan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid (Alaydrus *et al.*, 2020). Flavonoid bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase sehingga sintesis kolesterol menurun, pada saat kolesterol ditranspor dari usus ke hati maka HMG-CoA reduktase yang bertugas mengubah asetil-koA menjadi mevalonat dalam sintesis kolesterol akan terhambat sehingga produk sintesis kolesterol oleh hati berkurang (Artha *et al.*, 2017). Tanin memiliki efek antihiperkolesterol yang kuat yaitu bekerja dengan cara mereduksi absorpsi kolesterol di usus. Selain itu tanin memiliki aksi mengikat asam empedu sehingga dapat menurunkan kolesterol di plasma, tanin membentuk gel dalam usus halus dan mengikat lemak, kolesterol, dan asam empedu, sehingga asam empedu tidak bisa diserap dalam usus halus sehingga terbuang melalui usus besar (Satriyasa *et al.*, 2017). Saponin berkaitan dengan kolesterol pada lumen intestinal dapat reabsorpsi kolesterol. Saponin dapat berikatan dengan asam empedu sehingga dapat menurunkan absorpsi kolesterol dalam tubuh dan dapat mempengaruhi biosintesis kolesterol dihati (Alaydrus *et al.*, 2020). Alkaloid dapat bekerja dengan

menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses yang mengakibatkan penyerapan lemak dihati terhambat sehingga tidak dapat diubah menjadi kolesterol (Artha *et al.*, 2017).

Hasil pengukuran kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan sistem komputerisasi menggunakan program SPSS (Statistical Product Service Solution) dilakukan dengan uji normalitas. Uji Normalitas adalah sebuah uji yang dilakukan dengan tujuan untuk menilai sebaran data pada sebuah kelompok data atau variabel, apakah sebaran data tersebut berdistribusi normal ataukah tidak (Fahmeyzan *et al.*, 2018). Uji normalitas yang digunakan yaitu menggunakan uji Shapiro-Wilk karena sampel yang digunakan jumlahnya kurang dari 50.

Uji normalitas dikatakan normal apabila nilai signifikan $>0,05$. Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk pada kelompok kontrol dan perlakuan diperoleh nilai signifikan $>0,05$ pada tiap kelompok berdistribusi normal dengan masing-masing signifikansi sebesar 0,017 kelompok KN, 0,552 kelompok K-, 0,030 kelompok K+, 0,039 kelompok P1, 0,717 kelompok P2, dan 0,649 kelompok P3. Kemudian pengujian dapat dilanjutkan dengan uji homogen menggunakan uji Levene. 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). Uji homogenitas merupakan bukan syarat yang mutlak dalam One Way Anova, meskipun asumsi dalam uji homogenitas tidak terpenuhi pengujian One Way Anova masih bisa dilakukan, asalkan data yang digunakan berdistribusi secara normal, jika uji homogenitas tidak terpenuhi maka ada pemilihan uji lanjut (Post Hoc Test) dalam One Way Anova.

Uji homogenitas dapat dikatakan data tersebut homogen apabila nilai signifikan $\geq 0,05$. Berdasarkan hasil uji homogenitas tersebut data LDLC adalah homogen dengan nilai signifikan 0,138. Berdasarkan uji normalitas dan uji homogenitas maka dilakukan uji parametrik yaitu uji One Way Anova. Pengujian ini dapat digunakan untuk membandingkan dua rata-rata atau lebih yang akan digunakan untuk menguji

kemampuan independent yang berarti setiap sampel tidak berhubungan dengan sampel lain (Muhson, 2016).

Pengambilan keputusan dalam analisis *One Way Anova* apabila nilai signifikansi (sig.) $>0,05$ maka rata-rata sama, jika nilai signifikansi (sig.) $<0,05$ maka rata-rata berbeda. Berdasarkan hasil pengolahan data yang diperoleh yaitu nilai signifikansi 0,000 maka data data tersebut dinyatakan ada perbedaan nyata. Pengujian dilanjutkan dengan uji tukey lanjutan yang berfungsi untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah pengujian analisis varian dilakukan, pengujian dengan uji tukey biasanya digunakan jika analisis data dalam penelitian dilakukan dengan cara membandingkan data dua kelompok sampel yang jumlahnya sama (Usmadi, 2020).

Berdasarkan hasil uji tukey lanjutan data dapat dikatakan signifikansi jika memiliki nilai sebesar $\leq 0,05$. Pada hasil uji tukey menunjukkan bahwa K+ dengan K- memiliki nilai signifikansi sebesar 0,007 maka dapat diartikan bahwa terdapat nilai yang berbeda nyata. Sedangkan pada K+ dengan P1, P2, P3 terdapat nilai signifikansi (K+ dengan P1 sebesar 0,795), (K+ dengan P2 sebesar 0,797), (K+ dengan P3 sebesar 0,083) maka dapat diartikan tidak berbeda nyata. Dapat disimpulkan K+ dengan P1, P2, P3 memiliki aktivitas yang sebanding.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki pengaruh penurunan kadar kolesterol LDL yang dikarenakan terdapat senyawa yaitu flavonoid, tanin, saponin, alkaloid telah terbukti dengan perlakuan uji skrining fitokimia yang selanjtnya dilakukan pengujian dengan analisis kuantitatif menggunakan instrumen LC-MS yang diperoleh senyawa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan fenol. Ekstrak biji pepaya pada perlakuan 3 (450 mg/dl) menunjukkan dosis yang efektif untuk penurunan kadar kolesterol LDL dibandingkan dengan perlakuan 1 (150 mg/dl) dan 2 (300 mg/dl). Hal ini menjelaskan bahwa ekstrak etanol biji pepaya pada perlakuan 3 (450 mg/dl) menunjukkan efektivitas yang hampir sama dengan kontrol positif pemberian simvastatin dalam menurunkan kadar kolesterol tikus.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki aktivitas terhadap penurunan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus jantan putih galur Sprague Dawley dilihat pada rerata kelompok normal (KN) 35.42 mg/dl, dengan penurunan rerata kelompok perlakuan P1 19.4 mg/dl, P2 13.69 mg/dl, P3 10.11 mg/dl.
2. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan dosis 450 mg/kgBB (P3) dengan rerata 10.11 mg/dl merupakan dosis yang efektif menurunkan kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan hampir sebanding dengan dengan penggunaan simvastatin 10mg pada kelompok perlakuan control positif (K+) dengan hasil rerata 10.57 mg/dl.
3. Ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terdapat senyawa zat aktif flavonoid 43,33%, tanin 11,4%, saponin 1,12%, alkaloid 10,38%, dan fenol 22,45% setelah diidentifikasi menggunakan instrumen LC- MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*)

5.2 Saran

1. Perlu adanya dilakukan pengujian uji kualitatif lengkap dan uji kuantitatif menggunakan instrumen LC-MS terhadap kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*).
2. Perlu dilakukan inovasi obat jadi yang digunakan sebagai pengobatan herbal untuk dijadikan suatu produk yang bermanfaat serta dilakukan pengujian terhadap manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, A. P., & Nurulita, Y. (2020). Pola TIC (Total Ion Current) LCMS-MS Ekstrak Etilasetat dari Produksi Metabolit Sekunder *Penicillium* sp. LBKURCC34 dengan Variasi Konsentrasi Glukosa. *Repository Universitas Riau, Ekstrak C*, 1–8.
- Agustina, D., & Murwani, H. (2013). *Pengaruh Pemberian Jus Biji Pepaya (Carica Papaya L.) Terhadap Rasio Kolesterol LDL:HDL Tikus Sprague Dawley Dislipidemia*. 2, 302–311.
- Agustina, Indrawati, D. T., & Masruhin, M. A. (2015). Aktivitas ekstrak daun salam. *Laboratorium Penelitian Dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur*, 120–123.
- Alaydrus, S., Pagal, F. R. P. A., Dermiati T, & Ervianingsih. (2020). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Penurunan Kadar Kolesteroltotal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia Diabetes. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 405–412.
- Angelia, I., O. (2018). Uji Karakteristik Kopi Non Kafein Dari Biji Pepaya Dengan Variasi Lama Penyinaran. *Journal of Agritech SelenceAgritech Selence*, 2(1), 16–29.
- Ardian, J., Jauhari, M. T., & Rahmiati, B. F. (2020). Pengaruh Pemberian Jus Jambu Biji Merah terhadap Penurunan Kadar Ldl (Low Density Lipoprotein) dan Kolesterol Total. *Nutriology: Jurnal Pangan, Gizi, Kesehatan*, 1(1), 26–34. <https://doi.org/10.30812/nutriology.v1i1.733>
- Ariani, N., Monalisa, & Febrianti, D. R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 160–166.
- Arif, S., Akrom, Nuraini, L. H., & Hidayati, T. (2022). *Pengaruh Pemberian Minyak Biji Jinten Hitam Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Perokok AKtif*. 7(1), 174–183.
- 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. <https://doi.org/10.23886/ejki.5.7151>.
- Azizah, N., & Fatmawati. (n.d.). *Karakterisasi Tumbuhan Sungkai (Peronema Cenescens Jack.) Asal Tiga Lokasi Di Provinsi Berdasarkan Metode LC-MS*. 1–9.
- BPOM. (2021). Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 18 Tahun 2021 Tentang Pedoman Uji Farmakodinamik Praktlinik Obat Tradisional. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI*, 1, 15–24.

- BPOM. (2022). *Pedoman Uji Farmakodinamik Praklinik Obat Tradisional*. 490.
- BPOM RI. (2021). Persyaratan Keamanan Dan Mutu Obat Tradisional. *Bpom Ri*, 11, 1–16.
- Cahaya, G., & Ayu, P. R. (2017). Pengaruh Jus Biji Pepaya (*Carica Papaya L .*) terhadap Kadar Kolesterol Darah pada Dislipidemia The Effect of Papaya Seed (*Carica papaya L .*) Juice to Blood Cholesterol Levels on Dyslipidemia Rats. *Majority*, 7(1), 77–82.
- Damayanti, K. W., Purnama, L. S., & Setyawati Trisna, E. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Biji Pepaya (*Carica papaya L .*): Narative Review (Antibacterial Activity Of Ethanolic Extract Of *Carica Papaya (Carica papaya L .)* Seed : Narative Review). *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 355–359.
- Dini Fauzan M. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*) Terhadap Penurunan Kadar Kolestrol Total Pada Tikus Jantan Yang Diindukasi Pakan Hiperkolesterol. *UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*, 4(2), 1–13.
- Ergina. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. *J. Akad. Kim*, 3(3), 165–172.
- Erma Kasumayanti, M. (2020). Pengaruh Pemberian Jus Buah Naga Merah Terhadap Penurunan Kolesterol Pada Penderita Hiperkolesterolemia Usia 35 – 50 Tahun Di Puskesmas Kampar. *Jurnal Ners*, 4(23), 47–55.
- Fahmeyzan, D., Soraya, S., & Etmy, D. (2018). Uji Normalitas Data Omzet Bulanan Pelaku Ekonomi Mikro Desa Senggigi dengan Menggunakan Skewness dan Kurtosi. *Jurnal VARIAN*, 2(1), 31–36. <https://doi.org/10.30812/varian.v2i1.331>
- Fitriani, D., Rusmini, H., & Marek, Y. W. (2019). PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA PEPAYA (*Carica papaya L*) TERHADAP KADAR HIGH DENSITY LIPOPROTEIN (HDL) DAN LOW DENSITY LIPOPROTEIN (LDL) DARAH TIKUS (*Rattus norvegicus*) GALUR Sprague dawley JANTAN YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 6(4), 247–256. <https://doi.org/10.33024/jikk.v6i4.2293>
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Handajani, F. (2021). *Metode Pemilihan dan pemnbuatan hewan model beberapa penyakit pada penelitian eksperimental*.

Handayani, & Nurcahyanti, H. (2015). Ekstraksi Minyak Atsiri Daun Zodia (*Evodia Suaveolens*) Dengan Metode Maserasi dan Distilasi Air. *Jbat*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.15294/jbat.v3i1.3095>

Handayani, S., Wirasutisna, K. R., & Insanu, M. (2017). *Penapisan Fitokimia Dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar*. 5(3), 10.

Hariadini, A. L., Sidharta, B., Ebtavanny, T. gusti, & Minanga, E. putri. (2020). Hubungan Tingkat Pengetahuan Dan Ketepatan Penggunaan Obat Simvastatin Pada Pasien Hiperkolesterolemia Di Apotek Kota Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 005(02), 91-96. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.4>

Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2), 166–174. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>

Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2), 89–98. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.11.2.89-98>

Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat *Zibethinus folium* Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*, 3(1), 7. <https://doi.org/10.51804/jsh.v3i1.333.7-14>

Hujjatusnaina, N., Aridiansyah, Indah, B., Afitri, E., & Widyastuti, R. (2021). *BUKU REFERENSI EKSTRAKSI*. 4(1), 88–100.

Isnania, I. (2014). Aktivitas Diuretik Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Pharmacon*, 3(3), 188–195.

Iswari, S., & Pujiastuti, Y. A. (2017). Pengaruh Suhu Dan Waktu Operasi Pada Proses Destilasi Untuk the Effect of Temperature and Operation Time on the Process of Distillation for Aquades Processing in Faculty of Engineering University Mulawarman. *Jurnal Chemurgy*, 01(1), 31–35.

Kartika. (2015). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel ((*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1), 1–5. <https://doi.org/10.26874/kjif.v3i1.90>

Kholifah, N. (2022). Efektivitas Dan Formulasi Sediaan Facialwash Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*) Terhadap Variasi Gelling Agent Secara In Vivo. In *Braz Dent J.* (Vol. 33, Issue 1).

Komang, M. S. W. N., Putu, T. N. L., & Nengah, A. I. (2014). Studi Pengaruh Lamanya Pemaparan Medan Magnet Terhadap Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit) Pada

- Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Buletin Fisika*, 15(1), 31–38.
- Krissanti, I., Hanifa, R., & Dwiwina, R. G. (2023). Efektivitas dan Pengaruh Kombinasi Anestesi Ketamine-Xylazine pada Tikus (*Rattus norvegicus*). *Seminar Nasional Biologi (SEMABIO)*, 18(1), 245–252.
- 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.
- 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. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193–199.
- Liana, M., Fitrianiingsih, S. P., & Mulqie, L. (2015). *Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Jamur Kuping Hitam (Auricularia Polytricha (Mont.) Sacc.)*. 267–273.
- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, Y., & Sahidin, S. (2019). Analisa Lc-ms/ms (Liquid Chromatograph Mass Spectrometry) Dan Metabolit Sekunder Serta Potensi Antibakteri Ekstrak n-Heksana Spons *Callyspongia aerizusa* Yang Diambil Pada Kondisi Tutupan Terumbu Karang Yang Berbeda Di Perairan Teluk Staring. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 131–141. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1126>
- Martha, R. D., Fatimah, Danar, & Parbuntari, H. (2023). *Identification of Flavonoid Compounds in Ethanol Extract of Majapahit plant (Crescentia cujete) Leaves and their Potential as Anticancer*. 8757(1), 34–48.
- Martunis. (2012). *Pengaruh Suhu Dan Lama Pengeringan Terhadap Kuantitas Dan Kualitas Pati Kentang Varietas Granola*. 3, 26–30.
- Maula, I. F. (2014). Uji Antifertilisasi Ekstrak N-Heksan Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Secara In Vivo. In *Skripsi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Mauti, I. M., R, R. D., & T, R. S. D. (2018). Uji in Vitro Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70 % Biji Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Universitas Nusaa Cendana*, 15, 317–326.
- Muhson, A. (2016). Pedoman Praktikum Analisis Statistik. *Universitas Negeri Yogyakarta*, 53(9), 5–76.
- Mukhriani. (2014). Farmako Analisis. *Universitas Islam Negeri (IUN) ALuddin*, 1–188. <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/438>

Muthmainah. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi Poltekes Makasar*, XIII(2), 1–14.

Nadila, P. (2022). *Penetapan Kadar Total Fenolik Flavonoid Dan Karotenoid Ekstrak Batang Bajakan Tampala (Spatholobus Littolaris Hassk.)*.

Nadiroh, A., Hariani Jurusan Biologi, D., Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, F., & Negeri Surabaya, U. (2022). *The Effects of Japanese Papaya Leaf Extract on Cholesterol Levels, Morphometry, and Liver Histology of Hypercholesterolemic Mice*. 11(1), 101–112. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index>

Nahor, E. M., Rumagit, B. I., & Tou, H. Y. (2020). Comparison of the Yield of Andong Leaf Ethanol Extract (*Cordyline fruticosa L.*) Using Maceration and Soxhletation Extraction Methods. *Journal Poltekkes Manado*, 1(1), 40–44.

Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono, S. (2017). Alkaloid compound identification of *Rhodomyrtus tomentosa* stem as biology instructional material for senior high school X grade. *JPBI (Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia)*, 2(3), 231–236. <https://doi.org/10.22219/jpbi.v2i3.3863>

Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2020). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid ssebagai kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia L.*). *Suparyanto Dan Rosad (2015)*, 5(3), 248–253.

Nugroho, A. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. In *Lambung Mangkurat University Press* (Issue January 2017).

Nwangwa, E. K., & Ekhoeye, E. I. (2013). *Anti-Hyperlipidemic Activity of Aqueous Extract of Carica Papaya Seed in Albino Rats fed with High Fat Diet*. 262–266.

Perina, I., Satiruiani, Soetaredjo, F. E., & Hindarso, H. (2007). Ekstraksi Pektin dari Berbagai Macam Kulit Jeruk. *Widya Teknik*, 6(1), 1–10.

Peristowati, & Puspitasari. (2018). *Potensi daun pepaya dalam menjaga kesehatan reproduksi wanita*. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>

Perkeni. (2021). *Penerbit PB PERKENI*. 1–2.

PERKENI. (2019). Pedoman Pengelolaan Dislipidemi di Indonesia 2019. *PB. Perkeni*, 9.

PERKI. (2013). *pedoman tatalaksana dislipidemia*. <https://doi.org/10.1136/bcr.09.2008.0970>

Permatasari, N., Handayani, M. P., & Diah. (2013). Efek Jus Belimbing (*Averrhoa carambola Linn.*) dalam Meningkatkan Pembentukan Kolagen pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar. *Prodenta Journal of Dentistry*, 1, 7–14.

- Pradana. (2014). Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser Dan Pengaruh Ekstrak 70% Umbi Binahong (*Antredara Cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Aloksa. *European Journal of Endocrinology*, 171(6), 727–735. <https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/171/6/727.xml>
- Purwanto, N. (2019). Variabel Dalam Penelitian Pendidikan. *Jurnal Teknodik*, 6115, 196–215. <https://doi.org/10.32550/teknodik.v0i0.554>
- Putri, I. N. (2015). Pengaruh Paparan Gelombang Elektromagnetik Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Serum Effect of Electromagnetic Field Exposure on Total Cholesterol and Triglyceride Levels of Plasma. *Majority*, 4(7), 135–142.
- Rondang Tambun, Harry P. Limbong, Christika Pinem, & Ester Manurung. (2017). Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu Dan Suhu Pada Ekstraksi Fenol Dari Lengkuas Merah. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 5(4), 53–56. <https://doi.org/10.32734/jtk.v5i4.1555>
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2015). *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*.
- Saputri, L. O., Satriyasa, B. K., Putu, W., & Yasa, S. (2017). Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica Papaya*) Dapat Menurunkan Kadar Kolesterol Total dan Kadar Serumglutamat Piruvat Transaminase (SGPT) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Hiperkolesterolemia. 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.22225/WMJ.2.1.73.1>
- Sari, D. K. (2014). Tanda gejala dan bahaya hiperkolesterolemia. *Tanda Gejala Dan Bahaya Hiperkolesterolemia*, Vol.3(1988), 1–8.
- Satriyasa, B. K., Putu, W., Yasa, S., & Saputri, L. O. (2017). Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica Papaya*) Dapat Menurunkan Kadar Kolesterol Total dan Kadar Serumglutamat Piruvat Transaminase (SGPT) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Hiperkolesterolemia. 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.22225/WMJ.2.1.73.1>
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9. <https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659>
- Shinta, A., & Kusuma, W. (2015). The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde. *J Majority*, 4(3), 14.
- Sigarlaki, E. D., & Tjiptaningrum, A. (2016). Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Kadar Kolesterol Total. *Jurnal Majority*, 5(5), 14–17.
- Srirejeki, P., Putri, E. A. C., & Prasetya, R. E. (2018). Ovariektomi Pada Tikus Dan

Mencit. In *Airlangga University Press*.

- Syamsul, E. S., Supomo, & Jubaidah, S. (2020). Karakterisasi Simplisia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 184–190. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i3.15319>
- Taufik. (2021). Hipotesis Penelitian Kuantitatif. *Jurnal Ilmu Administrasi*, 3(2), 96–102.
- Tiara, A., Zannah, K. Y., Cundari, L., Jannah, A. M., & Santoso, D. (2022). Pengaruh Dosis Biokulan Biji Pepaya (*Carica papaya* L .) Dan Waktu Pengadukan Terhadap Nilai Ph Dan Turbiditas Pada Pengolahan Limbah Cair Tempe. *Seminar Nasional AVoER XIV*.
- Usmadi, U. (2020). Pengujian Persyaratan Analisis (Uji Homogenitas Dan Uji Normalitas). *Inovasi Pendidikan*, 7(1), 50–62. <https://doi.org/10.31869/ip.v7i1.2281>
- Wahjuni. (2015). *Dislipidemia menyebabkan stress oksidatif ditandai oleh meningkatnya malondiadehid*. 4(1), 88–100.
- Wardani, V. K., & Saryanti, D. (2021). Formulasi Transdermal Patch Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Basis Hydroxypropil Metilcellulose (HPMC). *Smart Medical Journal*, 4(1), 38. <https://doi.org/10.13057/smj.v4i1.43613>
- Wulandari, N. D. (2022a). Uji Aktivitas Bakteri Fraksi Daun Majapahit (*Crescentia Cujete* L.) Terhadap Bakteri *Escheria Coli* Atcc 25922 Secara In-Vitro. *Braz Dent J.*, 33(1), 1–12.
- Wulandari, N. D. (2022b). UJI AKTIVITAS BAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT (*Crescentia cujete* L.) TERHADAP BAKTERI *Escheria coli* ATCC 25922 SECARA IN-VITRO. In *Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung*.
- Wulandari, Susilowati, S., & Asih, M. (2015). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Dan Simvastatin Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Low Density Lipoprotein (LDL) Tikus Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim Semarang, Ldl*, 24–32.
- Yunarto, N., Aini, N., Oktoberia, I. S., Sulistyowati, I., & Kurniatri, A. A. (2019). Aktivitas Antioksidan serta Penghambatan HMG CoA dan Lipase dari Kombinasi Ekstrak Daun Binahong-Rimpang Temu Lawak. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 89–96. <https://doi.org/10.22435/jki.v9i2.1930>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Ekstrak Biji Pepaya

1. Pembuatan Dosis Ekstrak 150 mg

Dosis Ekstrak Biji Pepaya pada tikus : Dosis ekstrak biji pepaya x Konversi

$$: 150 \text{ mg} \times 0,018 = 2,7 \text{ mg}/200\text{gBB}$$

Pembuatan larutan stok : Vol. maks pemberian x jumlah tikus

$$: 5 \text{ ml} \times 6 = 30 \text{ ml}$$

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

Jadi menimbang 16,2 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 30 ml pelarut **CMC Na**

0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus :

a. $\frac{206 \text{ gr}}{200\text{gr}} \times 2,7 \text{ ml} = 2,7 \text{ mg}$

b. $\frac{230 \text{ gr}}{200\text{gr}} \times 2,7 \text{ ml} = 3,1 \text{ mg}$

c. $\frac{217 \text{ gr}}{200\text{gr}} \times 2,7 \text{ ml} = 2,9 \text{ mg}$

d. $\frac{227 \text{ gr}}{200\text{gr}} \times 2,7 \text{ ml} = 3,0 \text{ mg}$

e. $\frac{222 \text{ gr}}{200\text{gr}} \times 2,7 \text{ ml} = 2,9 \text{ mg}$

f. $\frac{219 \text{ gr}}{200\text{gr}} \times 2,7 \text{ ml} = 2,9 \text{ mg}$

2. Pembuatan Dosis Ekstrak 300 mg/kgBB

Dosis Ekstrak Biji Pepaya pada tikus : Dosis ekstrak biji pepaya x Konversi

$$: 300 \text{ mg} \times 0,018 = 5,4 \text{ mg}/200\text{gBB}$$

Pembuatan larutan stok : Vol. maks pemberian x jumlah tikus

$$: 5 \text{ ml} \times 6 = 30 \text{ ml}$$

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

Jadi menimbang 32,4 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 30 ml pelarut **CMC Na**

0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus :

$$a. : \frac{221 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5,4 \text{ ml} = 5,9 \text{ mg}$$

$$b. \frac{212 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5,4 \text{ ml} = 5,7 \text{ mg}$$

$$c. \frac{214 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5,4 \text{ ml} = 5,7 \text{ mg}$$

$$d. \frac{220 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5,4 \text{ ml} = 5,9 \text{ mg}$$

$$e. \frac{209 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5,4 \text{ ml} = 5,6 \text{ mg}$$

$$f. \frac{213 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5,4 \text{ ml} = 5,7 \text{ mg}$$

3. Pembuatan Dosis Ekstrak 450 mg/kgBB

Dosis Ekstrak Biji Pepaya pada tikus : Dosis ekstrak biji pepaya x Konversi

$$: 450 \text{ mg} \times 0,018 = 8,1 \text{ mg}/200\text{gBB}$$

Pembuatan larutan stok : Vol. maks pemberian x jumlah tikus

$$: 5 \text{ ml} \times 6 = 30 \text{ ml}$$

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

Jadi menimbang 48,6 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 30 ml pelarut **CMC Na**

0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus :

$$a. \frac{101 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 8,1 \text{ ml} = 4,0 \text{ mg}$$

$$b. \frac{209 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 8,1 \text{ ml} = 8,4 \text{ mg}$$

$$c. \frac{208 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 8,1 \text{ ml} = 8,4 \text{ mg}$$

$$d. \frac{214 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 8,1 \text{ ml} = 8,6 \text{ mg}$$

$$e. \frac{221 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 8,1 \text{ ml} = 8,9 \text{ mg}$$

$$f. \frac{215 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 8,1 \text{ ml} = 8,3 \text{ mg}$$

Lampiran 2 Perhitungan Kontrol Positif

Dosis lazim simvastatin : 10 mg

Konversi dosis manusia ke tikus : dosis lazim x faktor konversi

$$: 10 \text{ mg} \times 0,018 = 0,18 \text{ mg}/200\text{gBB}$$

Dosis rata – rata tikus : $\frac{230 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,18 = 0,207 \text{ mg}$

Vol. maks pemberian oral : 5 ml

Pembuatan larutan stok : vol. maks pemberian x jumlah tikus

$$: 5 \text{ ml} \times 6 = 30 \text{ ml}$$

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

$$: 1,08 \text{ mg}$$

Menimbang simvastatin sebanyak 1,08 mg kemudian dilarutkan dalam 30 ml pelarut

CMC Na 0,5%.

Jika menggunakan tablet simvastatin maka zat aktif yang ditimbang adalah :

Berat 1 tablet simvastatin 750 mg, maka tablet simvastatin yang timbang yaitu $\frac{1,08 \text{ mg}}{10 \text{ mg}}$

$$\times 750 \text{ mg} = 81 \text{ mg}$$

Maka menimbang simvastatin sebanyak 81 mg dilarutkan dalam pelarut yang sesuai.

Volume pemberian :

$$a. \frac{221 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5 \text{ ml} = 5,7 \text{ mg}$$

$$b. \frac{226 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5 \text{ ml} = 5,6 \text{ mg}$$

$$c. \frac{243 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5 \text{ ml} = 6,0 \text{ mg}$$

$$d. \frac{227 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5 \text{ ml} = 5,6 \text{ mg}$$

$$e. \frac{203 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5 \text{ ml} = 5,0 \text{ mg}$$

$$f. \frac{210 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5 \text{ ml} = 5,2 \text{ mg}$$

Lampiran 3. Perhitungan CMC Na 0,5%

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


Lampiran 4. Perhitungan Lemak Babi 5%

$$\text{Lemak Babi } 5\% = \frac{5 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 5 \text{ gram}$$

Lampiran 5. Persetujuan *Ethical Clearance*


 <p>Institutional Ethical Committee University of Surabaya</p> <p>Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya, 60293, Gedung FF 02.01 Telepon (031) 2981213, Faksimile (031) 2981256 Email : komite_etik@unit.uabaya.ac.id</p>
<p>No.: 110/KE/IV/2023</p> <p>ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE</p> <p>TO WHOM IT MAY CONCERN</p> <p>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 (<i>Carica papaya</i> L.) on Total Cholesterol, Triglyceride, LDL, and HDL Levels in <i>Sprague Dawley</i> 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.</p> <p>Surabaya, 13.04.2023</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>Dr.rer.nat.Sulistyio Emantoko Dwi Putra</p> <p>Head of Institutional Ethical Committee University of Surabaya</p>

Lampiran 6. Determinasi Tanaman



**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 : 067/350/102.20/2023
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama :
NIM :
Fakultas : 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), Gedang (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 bertoreh, tepi, bergerigi, 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 malai, 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, 16 Februari 2023

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU



ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

- UUITE 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!



Lampiran 7. Surat Pernyataan Tempat Penelitian


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

Nomor : 063/SSI/SPN/II/2023
Perihal : Surat Keterangan Peneliti

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

Nama : Inang Mahendra
Program Studi : Farmasi
Perguruan Tinggi : Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung
Alamat : Desa Sumberingin Kidul, Kecamatan Ngunut, Kabupaten Tulungagung

Dengan ini menyatakan mahasiswa tersebut benar melaksanakan penelitian di Laboratorium Satwa Sehat Indonesia, pada tanggal 22 Februari 2023. Dengan judul penelitian :

"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (CARICA PAPAYA L) TERHADAP PENINGKATAN KADAR LOW DENSITY LIPOPROTEIN (LDL) PADA TIKUS JANTAN PUTIH GALUR SPRAGUE DAWLEY"

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

Malang, 22/04/2023
 Penanggung Jawab Laboratorium,

(drh Dewi Mariyam)
 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. Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.co
 www.satwasehatindonesia.co

Lampiran 8. Surat Pernyataan Pembelian Tikus



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

SURAT KETERANGAN
No. 075/SSI/SPN/IV/2023

Yang bertandatangan di bawah ini :

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

Menerangkanbahwa :

Nama : Inang mahendra
Program Studi: Farmasi
Institusi : Stikes Karya Putra Bangsa, Sumbergempol, Tulungagung
Alamat : Ds. Panjerejo Kec. Rejotangan Kab. Tulungagung

Pada tanggal 8 Maret 2023 telah melakukan penelitian In Vivo, dengan menggunakan hewan coba berupa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Spague dawley 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
Spesiec : *Rattus norvegicus*
(*American Fancy Rat and Mouse Association, 2004*)

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

Malang, 12 April 2023
Kepala Laboratorium,



SATWA SEHAT
INDONESIA

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 : JL. Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com

Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Profil Kimia Darah LDLC


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

Tabel 1. Profil Kimia Darah

Kode Sampel	LDLC (mg/dl)	Normal Range
KN.1	38.26	
KN.2	34.52	
KN.3	38.47	
KN.4	26.56	
KN.5	36.57	
KN.6	38.11	
RERATA	35.415	
K-1	42.06	
K-2	47.96	
K-3	54.29	
K-4	63.89	
K-5	65.49	
K-6	22.52	
RERATA	49.368	
K+1	52.58	
K+2	28.46	7-27.2 mg / dl
K+3	19.63	
K+4	20.36	
K+5	22.91	
K+6	16.11	
RERATA	26.675	
P1.1	14.13	
P1.2	40.09	
P1.3	19.05	
P1.4	19.18	
P1.5	11.91	
P1.6	10.57	
RERATA	19.155	
P2.1	13.32	
P2.2	12.14	
P2.3	26.95	

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. Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

P2.4	20.19
P2.5	23.09
P2.6	19.4
RERATA	19.182
P3.1	10.37
P3.2	15.26
P3.3	2.35
P3.4	8.29
P3.5	10.72
P3.6	13.69
RERATA	10.113

 INCREASE
 DECREASE

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 Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

Tabel 2. Hasil Analisa Statistika ANOVA yang Dilanjutkan Tukey (sig > 0,05)

Kode Sampel	Notasi
KN	35.42±4.6 ^{acd}
K-	16.11±14.9 ^a
K+	10.57±10.3 ^{acd}
P1	19.4±5.6 ^{abcd}
P2	13.69±5.8 ^{abcd}
P3	10.11±4.5 ^{bed}


Keterangan : Notasi data dengan perbedaan (sig < 0,05)

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. Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com

Lampiran 10. Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus

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


Pemeriksaan Berat Badan Hewan Coba Tikus

Kode Sampel	BB (GR)
KN.1	206,3
KN.2	235,6
KN.3	212,5
KN.4	229,5
KN.5	210,3
KN.6	226,4
RERATA	220,1
K-1	202,3
K-2	205,1
K-3	209,5
K-4	202,4
K-5	205,3
K-6	207,4
RERATA	205,3
K+1	211,9
K+2	226,8
K+3	243,2
K+4	214,5
K+5	203,9
K+6	210,6
RERATA	218,5
P1.1	206,5
P1.2	230,1
P1.3	217,6
P1.4	227,4
P1.5	222,7
P1.6	219,4
RERATA	220,6
P2.1	221,1
P2.2	212,1
P2.3	214,3
P2.4	220,6
P2.5	209,5

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. Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.com
 www.satwasehatindonesia.com

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

P2.6	213,4
RERATA	215,2
P3.1	101,3
P3.2	209,4
P3.3	208,4
P3.4	214,6
P3.5	221,5
P3.6	205,6
RERATA	193,5

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. Karate No. 16, Ngaglik, Batu

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com

Lampiran 11. Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)



Biji Pepaya



Serbuk Biji Pepaya



Alat



Penimbangan Serbuk Simplisia



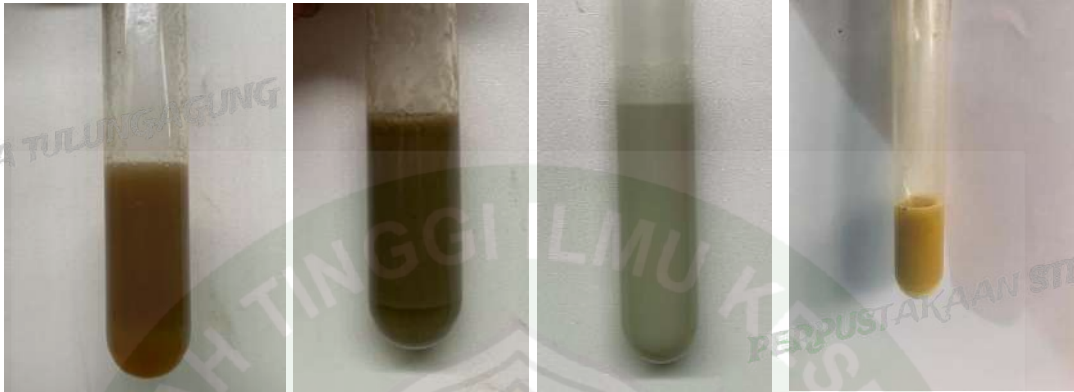
Proses Perendaman Simplisia



Proses Pemekatan Rotary Evaporasi



Ekstrak Biji Pepaya

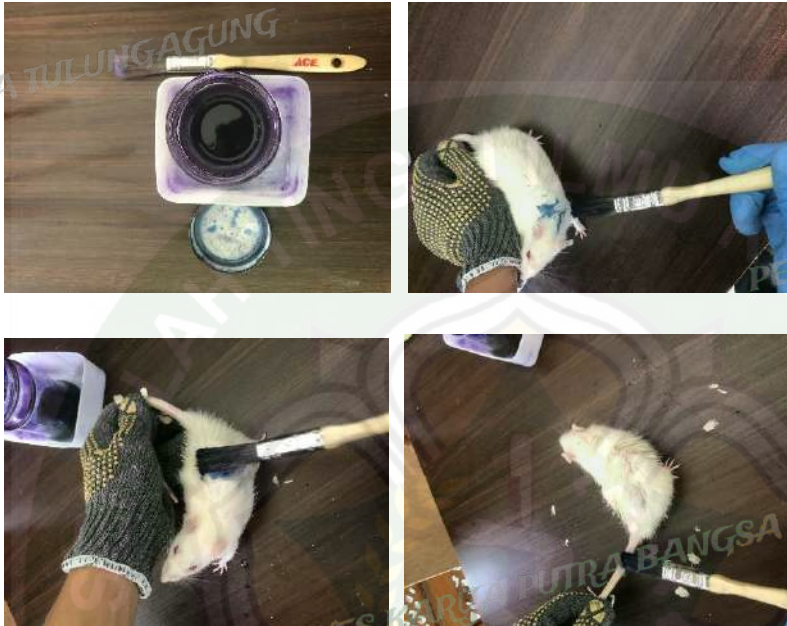
Lampiran 12. Skrining Fitokimia

Flavonoid Tanin Saponin alkaloid

Lampiran 13. Uji Bebas Etanol

Lampiran 14. Perlakuan Hewan Coba

14.1 Penandaan Hewan Coba



14.2 Pengelompokan Hewan Coba



14.3 Penimbangan Hewan Coba



14.4 Pakan 511



14.5 Pemberian Lemak Babi



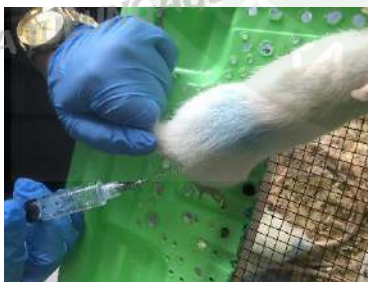
14.6 Pemberian Suspensi Simvastatin



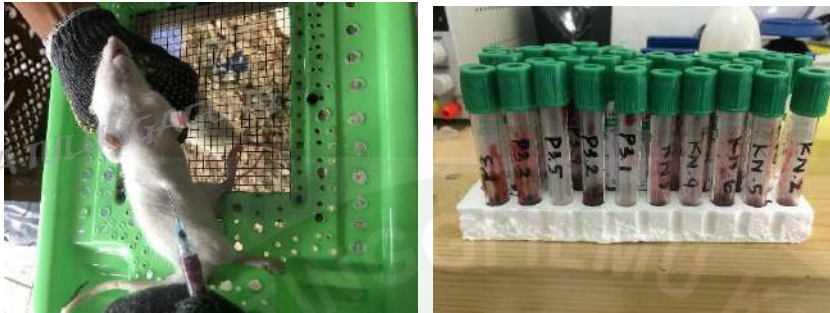
14.7 Pemberian Ekstrak Biji Pepaya



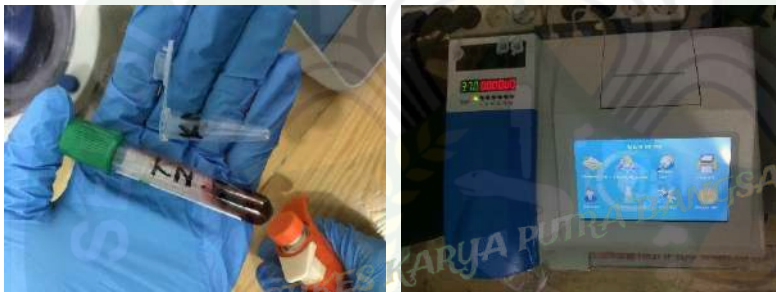
14.8 Anestesi Hewan Coba



14.9 Pengambilan Sampel



14.10 Pemeriksaan Sampel



Lampiran 15. Analisis Data SPSS

15.1 Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kelompok Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
LDLC	KN	,266	6	,200*	,743	6	,017
	K-	,157	6	,200*	,926	6	,552
	K+	,280	6	,154	,769	6	,030
	P1	,332	6	,037	,781	6	,039
	P2	,183	6	,200*	,947	6	,717
	P3	,189	6	,200*	,939	6	,649

15.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
LDLC	1,824	5	30	,138

15.3 Uji One Way Anova

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LDLC	Between Groups	5870,165	5	1174,033	11,290	,000
	Within Groups	3119,703	30	103,990		
	Total	8989,868	35			

15.4 Uji Tukey Lanjutan

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LDLC	K-	KN	13,95333	5,88756	,199	-3,9542	31,8609
		K+	22,69333*	5,88756	,007	4,7858	40,6009
		P1	30,21333*	5,88756	,000	12,3058	48,1209
		P2	30,18667*	5,88756	,000	12,2791	48,0942
		P3	39,25500*	5,88756	,000	21,3474	57,1626
		KN	-8,74000	5,88756	,676	-26,6476	9,1676
	K+	K-	-22,69333*	5,88756	,007	-40,6009	-4,7858
		P1	7,52000	5,88756	,795	-10,3876	25,4276
		P2	7,49333	5,88756	,797	-10,4142	25,4009
		P3	16,56167	5,88756	,083	-1,3459	34,4692
		KN	-16,26000	5,88756	,092	-34,1676	1,6476
		K-	-30,21333*	5,88756	,000	-48,1209	-12,3058
	P1	K+	-7,52000	5,88756	,795	-25,4276	10,3876
		P2	-,02667	5,88756	1,000	-17,9342	17,8809
		P3	9,04167	5,88756	,645	-8,8659	26,9492
		KN	-16,23333	5,88756	,093	-34,1409	1,6742
		K-	-30,18667*	5,88756	,000	-48,0942	-12,2791
		K+	-7,49333	5,88756	,797	-25,4009	10,4142

Lampiran 15.4 Lanjutan

	P1	,02667	5,88756	1,000	-17,8809	17,9342
	P3	9,06833	5,88756	,642	-8,8392	26,9759
	KN	-25,30167*	5,88756	,002	-43,2092	-7,3941
	K-	-39,25500*	5,88756	,000	-57,1626	-21,3474
P3	K+	-16,56167	5,88756	,083	-34,4692	1,3459
	P1	-9,04167	5,88756	,645	-26,9492	8,8659
	P2	-9,06833	5,88756	,642	-26,9759	8,8392

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG



PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG