

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA  
(*carica papaya L.*) DAN IDENTIFIKASI SENYAWA LCMS  
TERHADAP SOD dan MDA PADA JANTUNG TIKUS  
JANTAN GALUR (*Sprague Dawley*)**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**PERA AMELIA  
1913206036**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG  
AGUSTUS 2023**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA  
(*carica papaya L.*) DAN IDENTIFIKASI SENYAWA LCMS  
TERHADAP SOD dan MDA PADA JANTUNG TIKUS  
JANTAN GALUR (*Sprague Dawley*)**

**SKRIPSI**

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



Oleh :

**PERA AMELIA**

**1913206036**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG  
AGUSTUS 2023**

HALAMAN PERSETUJUAN  
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA  
(*carica papaya L.*) DAN IDENTIFIKASI SENYAWA LCMS  
TERHADAP SOD dan MDA PADA JANTUNG TIKUS  
JANTAN GALUR (*Sprague Dawley*)**

Yang diajukan oleh:

PERA AMELIA  
1913206036

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



apt. Choirul Huda, M. Farm  
NIDN 0726038502

Pembimbing Pendamping,



apt. Arif Santoso, M. Farm  
NIDN 0728118604

HALAMAN PENGESAHAN  
SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA  
(*carica papaya L.*) DAN IDENTIFIKASI SENYAWA LCMS  
TERHADAP SOD dan MDA PADA JANTUNG TIKUS  
JANTAN GALUR (*Sprague Dawley*)

Oleh :

PERA AMELIA

1913206036

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

Tanggal 18 Agustus 2023

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

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

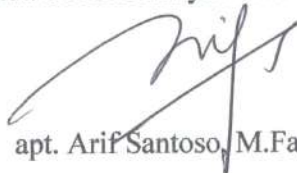
2.apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm

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 di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, 11 Agustus 2023

Pera Amelia

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum wr,wb*

Dengan mengucapkan syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Adapun judul skripsi penelitian ini **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Dan Identifikasi Senyawa LCMS terhadap SOD dan MDA pada Jantung Tikus Jantan Galur (*Sprague Gawley*)”**, skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat melakukan penelitian pada Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

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

1. Bapak apt. Arif Santoso, M. Farm selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm selaku Ketua Kaprodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Bapak apt. Choirul Huda, M. Farm selaku Dosen Pembimbing I atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Bapak apt. Arif Santoso, M. Farm selaku Dosen Pembimbing II atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
5. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm dan Ibu Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc selaku Dosen penguji yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, serta kesabarannya dalam memberikan masukan dalam penyempurnaan tugas akhir ini.
6. Bapak atau ibu ketua laboran dan seluruh laboran yang ada di Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
7. Kedua orang tua, Bapak Malik dan Ibu Srianah yang telah memberikan do'a, dukungan dan semangat selama penyusunan tugas akhir.
8. Teman-teman angkatan 2019 farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang selalu memberikan semangat.
9. Serta seluruh pihak yang telah ikut membantu baik secara langsung

ataupun tidak langsung dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

10. Semua saudara saya yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam menyusun skripsi ini

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk memperbaiki skripsi. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan menambah pengetahuan dari semua Pihak.

*Wassalamu'alaikum wr.wb.*

Tulungagung, 11 Agustus 2023

Pera Amelia

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA  
(*carica papaya L.*) DAN IDENTIFIKASI SENYAWA LCMS  
TERHADAP SOD dan MDA PADA JANTUNG TIKUS  
JANTAN GALUR (*Sprague Dawley*)**

Pera Amelia  
Prodi S1 Farmasi

**INTISARI**

Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat berimplikasi pada berbagai penyakit organ hati, ginjal, jantung. Stres oksidatif adalah kondisi dimana radikal bebas yang diproduksi melebihi kapasitas pertahanan antioksidan. Stress oksidatif dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya serangan oksidan terhadap asam lemak tidak jenuh yang ditandai dengan meningkatkan kadar SOD dan menurunnya kadar MDA. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk menguji efektifitas ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) terhadap kadar SOD dan MDA pada jantung tikus jantan *Sprague Dawerly* yang di induksi tinggi lemak selama 17 hari. Penelitian ini menggunakan metode *eksperimental* terhadap 30 tikus *Sprague Dawerly*. Sampel biji pepaya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%. Kandungan senyawa biji pepaya di indentifikasi menggunakan instrumen LC-MS yang memiliki golongan senyawa tertinggi yaitu alkaloid dengan komposisi tertinggi yaitu *carpain*. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu kontrol normal (KN), kontrol positif (K+) , kelompok negatif (K-), perlakuan 1 (150mg/kgBB), perlakuan 2 (250mg/kgBB ), perlakuan 3 (350mg/kgBB). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji pepaya terhadap MDA kelompok K+ dengan P1, P2, P3 tidak ada perbedaan bermakna diperoleh nilai 0,606 sedangkan SOD K+ dan P1, P2, P3 tidak ada perbedaan bermakna diperoleh nilai 0,228. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya dapat menurunkan MDA dengan dosis 350mg/kgBB sebanding dengan kontrol posiif.

**Kata Kunci** : SOD, MDA, Ekstrak Biji Pepaya, *Sprague Dawerly*



EFFECT OF PAPAYA (*Carica papaya* L.) SEED ETHANOL EXTRACT AND IDENTIFICATION OF LCMS COMPOUNDS ON SOD and MDA IN RAT HEARTS MALE STRAINS (Sprague Dawley)

Pera Amelia

Pharmacy S1 Study Program

**ABSTRACT**

*The existence of free radicals in the body can have implications for various diseases of the liver, kidneys, heart. Oxidative stress is a condition where the free radicals produced exceed the antioxidant defense capacity. Oxidative stress in the body can cause oxidant attacks on unsaturated fatty acids which are characterized by increasing levels of SOD and decreasing levels of MDA. The aim of this study was to test the effectiveness of the ethanol extract of papaya (*Carica papaya* L.) seeds on SOD and MDA levels in the hearts of high-fat induced Sprague Dawerly rats for 17 days. This study used an experimental method on 30 Sprague Dawerly rats. Papaya seed samples were extracted using the maceration method with 70% ethanol. The compound content of papaya seeds was identified using the LC-MS instrument which has the highest compound group, namely alkaloids with the highest composition, namely carpain. Rats were divided into 6 treatment groups, namely normal control (KN), positive control (K+), negative group (K-), treatment 1 (150mg/kgBB), treatment 2 (250mg/kgBB), treatment 3 (350mg/kgBB). The results of this study indicated that the administration of papaya seed ethanol extract to the MDA group K+ with P1, P2, P3 showed no significant difference, obtained a value of 0.606 while SOD K+ and P1, P2, P3 showed no significant difference, obtained a value of 0.228. Giving papaya seed ethanol extract can reduce MDA with a dose of 350 mg/kg BW comparable to positive control.*

*Keywords : SOD, MDA, Papaya Seed Extract, Sprague Dawerly*

## DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
INTISARI.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR PERSAMAAN .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Jantung.....	7
2.1.1 Definisi jantung .....	7
2.2 Dislipidemia .....	7
2.2.1 Definisi .....	7
2.3 Radikal Bebas .....	9
2.4 SOD ( <i>Superoxide Dismutase</i> ).....	9
2.5 MDA ( <i>Malondialdehida</i> ).....	10
2.6 Uraian Tanaman Pepaya ( <i>carica papaya L.</i> ).....	11
2.6.1 Tanaman pepaya ( <i>carica papaya L.</i> ) .....	11
2.6.2 Klasifikasi .....	11
2.6.3 Morfologi tanaman pepaya ( <i>carica papaya L.</i> ).....	12
2.6.4 Manfaat tanaman Pepaya.....	13
2.6.5 Kandungan Kimia.....	14
2.7 Simplisia .....	17
2.7.1 Pengertian Simplisia.....	17
2.7.2 Syarat-syarat Simplisia.....	18

2.7.3 Tahap Pembuatan Simplisia .....	18
2.7.4 Ekstrak .. .....	19
2.8 Rotary Evaporator .....	19
2.9 Ekstraksi .....	19
2.9.1 Ekstraksi Cara Dingin .....	20
2.9.2 Ekstraksi Cara Panas .....	21
2.10 Pelarut .....	22
2.10.1 Pelarut Sebelum Ekstrak .....	22
2.11 Analisis LC-MS .....	25
2.12 Hewan uji .....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
3.1 Alat dan Bahan .....	29
3.1.1 Alat .....	29
3.1.2 Bahan .....	29
3.2 Populasi Penelitian .....	29
3.3 Sampel Penelitian .....	29
3.4 Variabel Penelitian .....	30
3.4.1 Variabel Bebas .....	30
3.4.2 Variabel Kontrol .....	30
3.4.3 Variabel Terikat .....	30
3.5 Metode Penelitian .....	30
3.5.1 Determinasi Tanaman .....	30
3.5.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia .....	31
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Etanol biji pepaya ( <i>carica papaya L.</i> ) .....	32
3.5.4 Rendemen Ekstrak .....	32
3.5.5 Uji Bebas Etanol .....	33
3.5.6 Srining Fitokimia .....	33
3.5.7 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	35
3.6 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif .....	35
3.6.1 Kontrol Negatif Larutan CMC-Na 0,5% .....	35
3.6.2 Kontrol Positif Fruktosa .....	35
3.7 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak .....	36
3.8 Pengelompokan Terhadap Hewan Uji .....	36
3.9 Cara Pengambilan Organ Jantung Pada Tikus .....	37

3.10	Cara Pengukuran Sampel SOD dan MDA Jaringan Jantung Tikus .....	37
3.10.1	Cara Pengukuran Sampel SOD Jaringan Jantung Tikus .....	37
3.10.2	Cara Pengukuran Sampel MDA Jaringan Jantung Tikus .....	38
3.11	Analisis LC-MS .....	39
3.12	Analisis Data .....	39
3.12.1	Uji Normalitas .....	39
3.12.2	Uji Homogenitas .....	39
3.12.3	Uji One Way Anova .....	40
3.13	Kerangka Penelitian Ekstrak Etanol Biji Pepaya dan pengukuran kadar SOD dan MDA .....	40
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>43</b>
4.1	Persetujuan <i>Ethical Clearance</i> .....	43
4.2	Determinasi Tanaman .....	43
4.3	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia .....	44
4.3.1	Susut Pengeringan Simplisia .....	44
4.4	Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya ( <i>Carica Papaya L.</i> ) .....	44
4.5	Uji Kadar Air Ekstrak .....	45
4.6	Uji Kadar Abu Ekstrak .....	46
4.7	Rendemen Ekstrak .....	46
4.8	Uji Bebas Etanol .....	47
4.9	Skrining Fitokimia .....	48
4.9.1	Uji Flavonoid .....	49
4.9.2	Uji Tanin .....	50
4.9.3	Uji Saponin .....	51
4.9.4	Uji Alkaloid .....	52
4.10	Kadar Malondialdehid (MDA) Jantung Tikus .....	59
4.11	Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) Jantung Tikus .....	62
<b>BAB V KESIMPULAN .....</b>		<b>65</b>
5.1	Kesimpulan .....	65
5.2	Saran .....	65
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>66</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>72</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Susut Pengerinan Simplisia .....	44
Tabel 4.2 Hasil Kadar Air Simplisia.....	45
Tabel 4.3 Hasil Kadar Abu Ekstrak Etanol Biji Pepaya .....	46
Tabel 4.4 Hasil Rendemen Ekstrak.....	46
Tabel 4.5 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Biji Pepaya .....	47
Tabel 4.6 Hasil skrining fitokimia pada ekstrak biji pepaya.....	49
Tabel 4.7 Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Biji Pepaya.....	52
Tabel 4.8 Pengukuran kadar MDA .....	59
Tabel 4.9 Hasil Uji Kadar MDA dengan ANOVA.....	61
Tabel 4.10 Pengukuran kadar SOD.....	62
Tabel 4.11 Hasil Uji Kadar SOD dengan ANOVA .....	61

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Biji pepaya.....	12
Gambar 2.2 Tikus Putih .....	28
Gambar 3.1 Kerangka Ekstrak Biji Pepaya .....	41
Gambar 4.1 Hasil Uji Bebas Etanol .....	48
Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid .....	50
Gambar 4.3 Hasil Uji Tanin .....	51
Gambar 4.4 Hasil Uji Saponin .....	52
Gambar 4.5 Hasil Uji Alkaloid .....	53
Gambar 4.6 Hasil <i>Chromatogram</i> LC-MS .....	52

**DAFTAR PERSAMAAN**

(Persamaan 3. 1)..... 31  
(Persamaan 3. 2)..... 31  
(Persamaan 3. 3)..... 31



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat <i>Ethical Clearance</i> .....	75
Lampiran 2 Surat Sertifikat Hewan Uji .....	76
Lampiran 3 Surat Keterangan Penelitian .....	77
Lampiran 4 Hasil Determinasi Biji Pepaya.....	78
Lampiran 5 Hasil Kadar Abu Ekstrak Etanol Biji Pepaya.....	79
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian.....	81
Lampiran 7 Perlakuan Hewan Uji.....	84
Lampiran 8 Perhitungan Dosis .....	86
Lampiran 9 Hasil Tabel Pemeriksaan Kadar MDA .....	89
Lampiran 10 Analisis Data SPSS.....	90
Lampiran 11 Hasil Tabel Pemeriksaan Kadar MDA.....	93
Lampiran 12 Analisis Data SPSS.....	96
Lampiran 13 Jadwal Penelitian .....	96



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jantung merupakan organ tubuh yang paling fungsional karena peranannya sebagai pemompa darah agar dapat mengalir ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah. Jantung bekerja dengan cara melakukan kontraksi dan relaksasi pada otot-ototnya. Sehingga mampu mengalirkan darah yang mengandung banyak oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh. Secara bersamaan juga memompa darah dari seluruh tubuh menuju jantung. Fungsi jantung sangat penting dan saling berkaitan dengan banyak organ lain dalam tubuh, oleh sebab itu apabila jantung mengalami masalah dalam kerjanya tentu akan mengganggu kerja organ tubuh lainnya (American Heart Association, 2014).

Dislipidemia sebagai salah satu faktor kemungkinan penyebab penyakit jantung merupakan suatu kelainan salah satu atau keseluruhan metabolisme lipid yang dapat berupa peningkatan ataupun penurunan profil lipid dari keadaan normal, meliputi peningkatan kadar kolesterol, peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL), peningkatan kadar trigliserida, dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Pramono, 2009). Dislipidemia adalah kelainan penurunan ataupun peningkatan profil lipid pada plasma dari keadaan normal diakibatkan oleh gangguan metabolisme lipid (Monika, 2014).

Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat berimplikasi pada berbagai penyakit kerusakan sel, jaringan, organ hati, ginjal, jantung serta kondisi degeneratif, seperti aging, arthritis, kanker dan lain-lain. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit terluarnya (Murray *et al.*, 1996). Adanya elektron bebas yang tidak berpasangan mengakibatkan radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Untuk menstabilkan diri, radikal bebas cenderung bereaksi dengan senyawa lain untuk mendapatkan pasangan elektron (Mandisandora, 2010).

Stres oksidatif adalah kondisi dimana radikal bebas yang diproduksi pada latihan fisik melebihi kapasitas pertahanan antioksidan. Dalam beberapa

penelitian yang dilakukan, telah dibuktikan bahwa pemberian aktivitas fisik berat berupa perenangan terhadap hewan percobaan dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang ditandai dengan meningkatnya kadar MDA (Oktaviani, 2013). Stress oksidatif dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya serangan oksidan terhadap asam lemak tidak jenuh yang menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksida lipid. Pada proses tersebut mengakibatkan terputusnya asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel, seperti malondialdehid (MDA) (Hairrudin, 2009). Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel, sehingga status antioksidan yang tinggi biasanya di ikuti oleh penurunan kadar MDA (Murray *et al.*, 1996). Produk peroksidasi lipid seperti MDA merupakan salah satu parameter untuk menentukan adanya radikal bebas (Patil *et al.*, 2008). Peningkatan kadar MDA berbanding lurus dengan meningkatnya stress oksidatif dalam tubuh, sehingga dapat dijadikan indikator stress oksidatif (Irawan, 2013). Stress oksidatif ini terjadi dikarenakan sifat ROS yang sangat reaktif di dalam tubuh sehingga mampu memicu terjadinya perubahan berbagai molekul seperti DNA, protein dan lipid (Santoso *et al.*, 2021).

Secara alami, tubuh memiliki antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis untuk melawan radikal bebas yang berpotensi mengganggu keseimbangan fungsi tubuh (Murray, *et al*, 1996). Enzim superoksida dismutase (SOD) merupakan pertahanan pertama terhadap aktivasi senyawa oksigen reaktif (ROS). Pada keadaan stress oksidatif terjadi penurunan sistem enzimatis SOD dan glutathion peroksidase. Jika produksi radikal bebas melebihi kemampuan antioksidan endogen untuk menetralkannya maka kelebihan radikal bebas sangat potensial menyebabkan kerusakan sel. Oleh sebab itu tubuh memerlukan penambahan antioksidan dari luar tubuh yang lebih dikenal dengan antioksidan eksogen seperti vitamin E, vitamin C, sayur-sayuran hijau dan buah-buahan (Lingga, 2012).

Antioksidan eksogen banyak berasal dari bahan alam. Salah satu contoh tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan eksogen di Indonesia adalah biji pepaya (*Carica papaya L.*) dengan jenis varietas California. Beberapa senyawa dari biji pepaya Tanaman pepaya varietas 'California' menjadi salah satu jenis

pepaya yang diminati dan ditanam para petani karena keuntungannya menjanjikan. Biji pepaya california mempunyai aktivitas sebagai antioksidan di dalam metabolit sekunder, diduga metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik yakni flavonoid. Hasil analisis fitokimia menunjukkan biji pepaya mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin (Arsyiyanti, 2012).

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Sandhiutami, dkk (2016) diketahui bahwa ekstrak etanol biji pepaya memberikan efek antioksidan dengan meningkatkan aktivitas SOD dan tidak ada perbedaan bermakna dengan vitamin E sebagai kontrol positif dan dapat menurunkan kadar MDA plasma secara bermakna namun tidak sekuat vitamin E sebagai kontrol positif.

Penelitian terdahulu "*Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Kadar Malondialdehid pada Mencit Stress Oksidatif dengan Perenangan*" oleh Ni Made Dwi Sandhiutami dkk., 2016 yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dapat mempertahankan aktivitas SOD dan menurunkan kadar MDA. Hal tersebut ditunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb memberikan efek antioksidan dengan meningkatkan aktivitas SOD dan penurunan kadar MDA plasma pada perlakuan ini disebabkan adanya kandungan zat aktif vitamin E dan flavonoid didalam biji pepaya yang bertindak sebagai antioksidan eksogen. Persamaan penelitian diatas dengan peneliti yaitu memiliki kesamaan obyek yaitu biji pepaya (*Carica papaya L.*) dan terhadap kadar SOD dan MDA.

Pengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mas Spretrometry*). LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mas Spretrometry*) adalah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifitas deteksi spektrometer massa. Kromatografi cair memisahkan komponen sampel dan kemudian ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa. Keuntungan menggunakan analisis LC-MS yaitu dapat lebih luas menganalisis berbagai komponen, seperti senyawa termal labil,

polaritastinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein (Mangurana *et al.*, 2019).

Berdasarkan kandungan senyawa antioksidan pada biji pepaya tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk membuktikan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya dan identifikasi senyawa LCMS terhadap SOD dan MDA pada jantung tikus jantan galur dan menentukan konsentrasi optimum terhadap kadar SOD dan MDA pada jantung tikus jantan galur (*Sprague Dawley*).

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa apa yang terkandung dalam biji pepaya (*Carica papaya L.*) dengan metode LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) yang mempunyai aktivitas antioksidan?
2. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) dengan menggunakan metode LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) terhadap SOD (*Superoxide*) dan MDA (*Malondialdehida*) pada jantung tikus jantan galur (*Sprague Dawley*)?
3. Berapakah konsentrasi optimum ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) dengan menggunakan metode LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) terhadap SOD (*Superoxide*) dan MDA (*Malondialdehida*) pada jantung tikus jantan galur (*Sprague Dawley*)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam biji pepaya (*Carica papaya L.*) dengan menggunakan metode LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) yang mempunyai aktivitas antioksidan.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) menggunakan metode LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) terhadap SOD (*Superoxide*) dan MDA (*Malondialdehida*) pada jantung tikus jantan galur (*Sprague Dawley*).
3. Mengetahui konsentrasi optimum ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) terhadap SOD (*Superoxide*) dan MDA (*Malondialdehida*) pada jantung tikus jantan galur (*Sprague Dawley*).

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Instansi Kesehatan sebagai referensi untuk mengembangkan pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya l.*) dengan lcms (*liquid chromatography mass spectrometry*) terhadap sod (*superoxide*) dan mda (*malondialdehida*) pada jantung tikus jantan galur (*sprague dawley*)
2. Bagi Instansi Pendidikan untuk memberikan informasi dan referensi untuk mahasiswa dalam melakukan penelitian berikutnya.

3. Bagi Peneliti untuk menambah informasi dan pengetahuan tentang ekstrak etanol biji papaya terhadap kadar sod dan mda pada jantung tikus *Sprague Dawley* serta untuk memenuhi tugas akhir sebagai persyaratan kelulusan.
4. Bagi masyarakat sebagai sumber informasi ilmiah mengenai pemberian ekstrak biji papaya (*carica papaya L.*) terhadap kadar sod dan mda



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Jantung

##### 3.1.1 Definisi jantung

Jantung adalah organ vital dalam tubuh kita yang bekerja memompa darah ke seluruh tubuh. Jantung bekerja *non-stop* selama kita hidup. Karena itu, pastikanlah jantung kita selalu dalam keadaan yang sehat. Jantung yang berfungsi sebagai pompa yang melakukan tekanan terhadap darah sehingga darah dapat mengalir ke seluruh tubuh. Pembuluh darah berfungsi sebagai saluran untuk mendistribusikan darah dari jantung ke semua bagian tubuh dan mengembalikannya kembali ke jantung (Taylor, 2010). Jantung terdiri dari bagian atas yang disebut serambi (atrium) dan bagian bawah yang disebut dengan bilik (*ventricle*). Otot-otot jantung memompa darah dari satu ruangan ke ruangan lainnya. Setiap kali terjadi proses pemompaan, katup jantung membuka sehingga darah dapat mengalir ke ruangan yang dituju. Selanjutnya katup menutup untuk mencegah aliran balik darah (Setiaji, 2011).

#### 3.2 Dislipidemia

##### 3.2.1 Definisi

Dislipidemia merupakan suatu kondisi dimana terjadi abnormalitas kadar lipid di dalam darah, diantaranya peningkatan kadar kolesterol, LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan kadar trigliserida, serta penurunan kadar HDL (*High Density Lipoprotein*), yang merupakan faktor penting dalam risiko terjadinya penyakit jantung koroner dan stroke (Hayudanti *et al* 2016). (Pramono, 2009) juga menyebutkan bahwa dislipidemia merupakan faktor resiko utamapenyakit jantung koroner. Dislipidemia adalah salah satu komponen dalam tiras sindrom metabolik selain diabetes dan hipertensi. Klasifikasi dislipidemia berdasarkan patogenesis penyakit adalah sebagai berikut:

##### 3.2.1.1 Dislipidemia Primer

Kelainan penyakit genetik dan bawaan yang dapat menyebabkan kelainan lipid dalam darah.

##### 3.2.1.2 Dislipidemia Sekunder

Dislipidemia sekunder disebabkan oleh suatu keadaan seperti hiperkolesterolemi yang diakibatkan oleh hipotiroidisme, nefrotik syndrome, kehamilan, anoreksia nervosa, dan penyakit

hati obstruktif, hipertrigliserida disebabkan oleh DM, konsumsi alkohol, gagal ginjal kronik, miokardinfark, nefrotik sindroma, gagal ginjal akut, penyakit hati, dan akromegali (Hardjoeno, 2013).

Hubungan dyslipidemia dengan jantung Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid ditandai dengan peningkatan atau penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol *low density lipoprotein* (LDL), trigliserida (TG) dan penurunan kadar kolesterol *high density lipoprotein* (HDL). Peningkatan kadar kolesterol, terutama LDL atau trigliserida dalam darah perlu mendapat perhatian karena merupakan faktor terjadinya aterosklerosis atau penyakit jantung koroner (Guyton *et al.*, 2013).

Berdasarkan suatu penelitian disebutkan bahwa dislipidemia dapat memicu timbulnya penyakit jantung, dimana apabila kandungan lemak dalam darah semakin meningkat maka resiko terkena penyakit jantung juga akan semakin meningkat (Larasanty, 2015).

Lipid atau lemak didefinisikan sebagai senyawa organik heterogen yang terdapat di alam dan bersifat relatif tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut non-polar. Lipid adalah senyawa yang berisi karbon dan hidrogen, yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik (Hartono A, 2006). Lemak adalah suatu zat yang kaya akan energi, berfungsi sebagai sumber energi yang utama untuk proses metabolisme tubuh. Lemak yang beredar didalam tubuh diperoleh dari dua sumber yaitu dari makanan dan hasil produksi organ hati, yang bisa disimpan didalam sel-sel lemak sebagai cadangan energi (Madja, 2007).

Menurut Rohman *et al.*, (2012) lemak babi merupakan salah satu lemak hewani yang biasanya dipakai bersama dengan lemak dari tumbuhan seperti minyak zaitun dan minyak sawit untuk produksi margarin atau minyak pada makanan yang lainnya. Lemak babi (lard) merupakan lemak yang diperoleh dari proses rendering jaringan adiposa babi (*Sus scrofa*) yang segar, bersih, dalam kondisi sehat saat disembelih (Codex Alimentarius, 2010). Jaringan tersebut tidak termasuk tulang, kulit yang dikelupas, kulit kepala, telinga, ekor, organ, saluran pernafasan, pembuluh darah besar, scarp fat, dan sedapat mungkin tidak mengandung jaringan otot. Lemak babi memiliki konsistensi lembut dan semi padat 27°C, tetapi meleleh sempurna pada 42°C lemak babi yang telah diolah lebih lanjut dapat mengandung refined lard, lard stearin, atau hydrogenated lard (Sudjadi dan Rohman, 2012).

Lemak babi juga merupakan komponen yang mungkin digunakan dalam sediaan kosmetika seperti dalam krim dan minyak. Dalam kosmetika, lemak babi dapat berfungsi sebagai penstabil



emulsi (emulsifier), agen pengkondisian kulit (emolien), sebagai surfaktan dan untuk meningkatkan viskositas (Jerome, 1972). Lemak dan minyak-minyak yang lain juga digunakan untuk sediaan farmasetik karena sifatnya yang mampu melarutkan obat-obat non polar seperti testosteron dan estradiol dan kemampuannya berfungsi sebagai media penghantar obat (Alvarez dan Rodriguez, 2000).

Penelitian mengenai analisis lemak babi juga dilakukan oleh Permana (2014) pada lemak babi dan lemak sapi. Hasil pada analisis dilakukan oleh Permana menunjukkan bahwa lemak sapi dan lemak babi memiliki perbedaan yang cukup mencolok pada kandungan asam lemak tak jenuh dan asam lemak trans. (Permana, 2014).

### 3.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu hasil samping proses metabolisme normal yang disebut Reactive Oxygen Species (ROS) dan senyawa nitrogen reaktif (SNR) yang terintegrasi (Winarsih, 2007). Produksi ROS dapat mengganggu homeostasis atau menstimulasi pertumbuhan sel, tergantung pada besarnya jumlah ROS yang diproduksi dalam tubuh kita. Tetapi bila produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan, akan mengarahkan sel menuju stres oksidatif (Widayati, 2012). Antioksidan diperlukan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif yang merupakan penyebab terjadinya penyakit. Antioksidan endogen diperlukan dalam mekanisme perlawanan tubuh terhadap stres oksidatif. Tetapi bila jumlah radikal bebas dan spesies reaktif di dalam tubuh kita melebihi kapasitas antioksidan endogen, maka tubuh kita akan memerlukan asupan antioksidan eksogen (Werdhasari, 2014). superoxide dismutase (SOD) adalah suatu antioksidan endogen yang bekerja dengan cara mengatur kadar ROS (Landis & Tower, 2005; Younus, 2018). Stres oksidatif menyebabkan kerusakan oksidatif lipid yang dapat dideteksi dengan peningkatan kadar Malondialdehyde (MDA) dalam sel (Zainuri & Wanandi, 2012).

### 3.4 SOD (*Superoxide Dismutase*)

*Superoxide Dismutase* (SOD) adalah metalloenzymes yang mengandung atom tembaga, seng atau besi yang dibentuk dalam sitosol dan yang mengandung mangan dibentuk didalam matrik mitokondria, cara kerjanya dengan mengkatalisis dismutasi pada superoxide menjadi hydrogen peroxide dan oksigen, hydrogen peroxide mudah untuk berdifusi melewati membran plasma (Birben, dkk., 2012). Selanjutnya hydrogen peroxide diubah menjadi molekul air oleh enzim katalase dan glutathion peroksidase. SOD merupakan enzim antioksidan yang berefek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh pertama dalam menghadapi radikal bebas. Keberadaan SOD dapat

ditemukan di otak, hati, sel darah merah, ginjal, tiroid, testis, otot jantung, mukosa lambung, kelenjar ptuitari, pankreas dan paru. SOD ditemukan pada seluruh makhluk hidup yang penting bagi perlindungan sistem aerobik untuk mencegah keracunan oksigen ( dan derivat radikal bebas dalam oksigen). Aktivitas SOD dapat dijadikan acuan pengukuran stress oksidatif dalam tubuh (Mohanty, 2012). Kadar SOD juga dipengaruhi oleh usia jika semakin tua maka kadar SOD semakin menurun, selain itu juga dikendalikan oleh faktor genetic.

### 3.5 MDA (*Malondialdehida*)

*Malondialdehid* (MDA) merupakan senyawa ketoaldehid yang memiliki tiga rantai karbon dengan rumus  $C_3H_4O_2$ , dihasilkan dari peroksidasi lipid di tubuh (Patrick, 2006). Peroksidasi lipid sendiri merupakan hasil kerja radikal bebas yang diketahui paling awal dan paling mudah pengukurannya. Peroksidase lipid dapat merusak struktur membrane, menyebabkan perubahan permeabilitas, menghambat proses metabolic dan perubahan transport ion (Patrick, 2006). Pengukuran tingkat peroksidasi lipid dilakukan dengan mengukur produk akhirnya, salah satunya yakni MDA (Dalle *et al.*, 2006). *Malondialdehid* (MDA) adalah senyawa yang sangat reaktif dan terakumulasinya MDA merupakan indikator awal mekanisme kerusakan sel dan jaringan (Salvayre *et al.*, 2010).

*Malondialdehid* (MDA) sebagai produk akhir dari proses peroksidasi lipid digunakan sebagai indikator kerusakan sel gaster oleh karena proses stress oksidatif yakni peroksidasi lipid pada membran sel gaster dengan *Reactive Oxygen Spesific* (ROS) yang meningkat (Tandon, 2006). Jika MDA terakumulasi semakin banyak akan menyebabkan mutasi DNA yang dapat mengarah pada penyakit yang lebih berat (Tandon, 2006).

Analisis kerusakan sel oleh radikal bebas dengan menggunakan pengukuran kadar MDA merupakan analisis secara tidak langsung dan cukup mudah, mengingat analisis radikal bebas secara langsung sulit untuk dilakukan karena radikal radikal ini sangat tidak stabil (Winarsi, 2007). Radikal bebas dapat dengan mudah merebut electron senyawa lain agar mencapai kestabilan. Reaksi ini umumnya berlangsung sangat cepat sehingga pengukurannya sulit bila diukur dalam bentuk senyawa radikal bebas (Winarsi, 2007). Kadar MDA diukur dengan menggunakan metode TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substance*), dengan dasar reaksi MDA terhadap asam tiobarbiturat dan selanjutnya dinilai menggunakan Spektrofotometer (Janero, 2001).

### 3.6 Uraian Tanaman Pepaya (*carica papaya L.*)

#### 3.6.1 Tanaman pepaya (*carica papaya L.*)

Pohon pepaya umumnya tidak bercabang atau bercabang sedikit, tumbuh hingga setinggi 5-10 m dengan daun-daunan yang membentuk serupa spiral pada batang pohon bagian atas. Daunnya menyirip lima dengan tangkai yang panjang dan berlubang dibagian tengah. Bunga pepaya memiliki mahkota bunga berwarna kuning pucat dengan tangkai pada batang. Bunga biasanya ditemukan pada daerah sekitar pucuk. Bentuk buah bulat hingga memanjang, dengan ujung biasanya runcing. Warna buah ketika muda hijau gelap dan setelah masak hijau muda hingga kuning. Daging buah berasal dari karpela yang menebal, berwarna kuning hingga merah tergantung varietasnya atau sekelompok tanamannya. Bagian tengah berongga. Biji-biji pada buah yang masih muda berwarna putih dan pada buah yang sudah masak berwarna hitam atau kehitaman dan terbungkus semacam lapisan berlendir untuk mencegahnya dari kekeringan (Putra, 2015).

#### 3.6.2 Klasifikasi

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

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Dilleniidae</i>
Ordo	: <i>Violales</i>
Famili	: <i>Caricaceae</i>
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya L..(California)</i>



**Gambar 2.1**Biji pepaya (Putra, 2015)

Nama pepaya dalam bahasa Indonesia diambil dari bahasa Belanda “papaja” dan pada masa lainnya diambil dari Arawak ”papaya”. Dalam bahasa jawa disebut “kates” dan bahasa sunda disebut “gedang”. Nama daerah lain dari pepaya yaitu peute, betik, ralempaya, punti kayu (Sumatra), pisang malaka, bandas, manjan (Kalimantan), kalajawa, padu (Nusa Tenggara), kapalay, kaliki, unti jawa (Sulawesi). Nama asing pepaya antara lain papaya (Inggris) dan fan mu gua (Cina) (Herbie, 2015).

### **3.6.3 Morfologi tanaman pepaya (*carica papaya L.*)**

#### **3.6.3.1 Batang**

Menurut Agustina (2017) Batang (caulis) merupakan bagian yang penting untuk tempat tumbuh tangkai daun dan tangkai buah. Bentuk batang pada tanaman pepaya yaitu berbentuk bulat, dengan permukaan batang yang memperlihatkan berkas-berkas tangkai daun, dapat dilihat pada gambar 2. Arah tumbuh batang yaitu tegak lurus yaitu arahnya lurus ke atas. Permukaan batang tanaman pepaya yaitu licin. Batangnya berongga, umumnya tidak bercabang atau bercabang sedikit, dan tingginya dapat mencapai 5-10 m.

#### **3.6.3.2 Daun**

Menurut Hamzah (2014) daun pepaya tersusun spiral menutupi ujung batang. Daunnya termasuk tunggal, bulat, ujung meruncing, pangkal bertoreh, dan memiliki bagian tepi bergigi. Diameter daun berkisar 20-75 cm. Daun pepaya ditopong oleh tangkai daun yang berongga dengan panjang sekitar 20-100 cm. Daun permukaan atas berwarna hijau tua sedangkan permukaan bawah berwarna hijau muda. Daun pepaya memiliki pertulangan daun menjari sehingga helaian daun menyerupai telapak tangan.

### 3.6.3.3 Akar

Menurut Agustina (2017) Akar (*radix*) pepaya merupakan akar dengan sistem akar tunggang (*radix primaria*), karena akar lembaga tumbuh terus menjadi akar pokok yang bercabang-cabang menjadi akar-akar yang lebih kecil. Bentuk akar bulat dan berwarna putih kekuningan.

### 3.6.3.4 Bunga

Menurut Sunarjono (2008) pepaya keluar dari ketiak daun, tunggal atau dalam rangkaian. Bunga pepaya ada yang berkelamin tunggal (betina/putik atau jantan/benang sari saja) atau berkelamin sempurna (hermafrodit) yang memiliki putik dan benang sari yang fertil. Dengan demikian ada pohon betina dan pohon jantan (pohon gantung), dan pohon sempurna sesuai dengan bunga yang dikandung. Pepaya tergolong penyerbuk silang dengan perantara angin. Bunganya berbentuk trompet kecil. Mahkota bunga berwarna kekuningan.

### 3.6.3.5 Buah

Menurut Seftiana (2010) buah pepaya memiliki bentuk buah bulat hingga memanjang, dengan ujung biasanya meruncing. Warna buah pepaya ketika muda berwarna hijau gelap, dan setelah masak berwarna hijau muda hingga kuning. Daging buah berasal dari karpela yang menebal, berwarna kuning hingga merah, tergantung varietasnya. Bagian tengah buah pepaya berongga dengan biji buah berwarna hitam atau kehitaman dan terbungkus semacam lapisan berlendir (*pulp*) untuk mencegahnya dari kekeringan. Dalam usaha tani, biji-biji yang digunakan untuk ditanam kembali diambil dari bagian tengah buah. Menurut penelitian Safitri, Rahmawanty dan Sari (2022) diketahui bahwa variasi konsentrasi ekstrak etanol biji *C. papaya* berpengaruh terhadap meningkatnya aktivitas antioksidan pada sediaan masker gel *peel-off* berdasarkan nilai IC50. Semakin besar konsentrasi ekstrak maka aktivitas antioksidan semakin besar.

## 3.6.4 Manfaat tanaman Pepaya

Tanaman pepaya memiliki senyawa nutrisi dan non nutrisi (senyawa aktif) yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Tidak hanya buah pepaya dalam kondisi yang matang saja dapat dikonsumsi sehari-hari. Buah pepaya muda, biji, daun, bunga, dan akar dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan diantaranya sebagai pelancar ASI, mengobati kekurangan darah (*anemia*). Biji buah pepaya digunakan sebagai obat demam, pembesaran hati dan limpa. Bunga digunakan sebagai obat hepatitis. Daun sebagai obat biri-biri dan cacangan. Getah tanaman pepaya dapat digunakan sebagai obat luka bakar, jerawat, dan penyakit kulit lainnya (Kharisma, 2017).

Air rebusan buah pepaya biasa dijadikan nutrisi untuk bayi. Menurut Susilawati (2017) Air rebusan buah pepaya yang diberikan kepada bayi yang berumur 10 hari keatas mempengaruhi kenaikan berat badan rata-rata sebesar 279,78 gram.

Tanaman pepaya sebagai antioksidan menurut Maisarah dkk. (2013) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol *Carica papaya* terbaik adalah pada ekstrak daun muda papaya lalu diikuti oleh ekstrak buah mentah, ekstrak buah matang, dan ekstrak biji papaya.

### 3.6.5 Kandungan Kimia

Bahan alam memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai zat antibakteri. Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder. Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu Reo Berhimpon and Montolalu (2017). Berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Sylvia (2017) diketahui bahwa biji pepaya mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Menurut hasil uji fitokimia yang dilakukan oleh penulis dapat diketahui bahwa biji buah pepaya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan kuinon. Ada beberapa kandungan dari biji buah pepaya (*Carica papaya Linn*) yaitu:

#### 3.6.5.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik dan berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif pada flavonoid terjadi karena kemampuan flavonoid mengkelat logam (Redha, 2010). Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen ( $C_6$ ) terikat pada suatu rantai propana ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan  $C_6-C_3-C_6$  (Putri *et al.*, 2019). Pada suhu  $50^\circ C$  merupakan suhu yang relatif aman untuk mencegah kerusakan pada senyawa metabolit khususnya flavonoid. Sistem aromatik terkonjugasi merupakan senyawa fenol yang terkandung dalam flavonoid. Sistem aromatic terkonjugasi pada suhu tinggi mudah rusak dan golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula yang mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Oktavia, 2011).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar, umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, air, dan lain-lain (Romadanu *et al.*, 2014). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara

membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga mampu merusak membran sel bakteri dan terjadi keluarnya senyawa intraseluler. flavonoid berperan dalam inhibisi sintesis DNA dan RNA bakteri melalui ikatan hidrogen yang terbentuk. Senyawa ini dapat mengganggu proses metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi dari sel bakteri. Sistem respirasi ini diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi yang cukup. Energi dibutuhkan bakteri untuk menyerap berbagai metabolit dan biosintesis makromolekul. Jika terjadi gangguan regulasi tersebut maka dapat menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Ngajow *et al.*, 2013). Titik didih dari senyawa flavonoid adalah  $>90^{\circ}\text{C}$  (Roller, 2003).

Sifat fisika dan kimia flavonoid sendiri adalah Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Senyawa polifenol ini mempunyai sifat kimia senyawa fenol yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa, dan bila dibiarkan lama dengan asam pada keadaan dingin dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis glikosida dan ester malonil. Sangat peka terhadap oksidasi udara dalam larutan netral dan basa. Sifat fisika flavonoid seperti kelarutan, kemudahan menghablur dapat sangat berubah bila turunannya terbentuk. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Jenis utama flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan yaitu dihidrokalkon, kalkon, flavan, katekin, leukoantosianidin, flavanon, flavanonol, flavon, flavonol, garam flavinium, antosianidin, dan auron. Aglikon flavonoid bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. (Asih, 2014).

### 3.6.5.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki beberapa khasiat yaitu sebagai anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin dibagi menjadi dua yaitu tanin terhidrolisis dan terkondensasi (Malanggi *et al.*, 2012). Tanin tidak tahan pemanasan apabila suhu melebihi  $60^{\circ}\text{C}$  sehingga menyebabkan perubahan struktur senyawa (Handayani, 2019). Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu bertindak sebagai antibakteri dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma bakteri sehingga terbentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri. Senyawa tanin merupakan senyawa makromolekul dari polifenol yang bersifat polar (Handayani, 2019). Mekanisme kerja dari tanin yaitu mengikat adesin, menghambat enzim, mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel, membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel dan ion logam sehingga menyebabkan

toksisitas pada bakteri (Handayani, 2019). Tanin mampu menghambat pertumbuhan candida albicans dengan membentuk senyawa yang tidak larut dengan titik didih  $>98,89^{\circ}\text{C}$  (Sirait, 2007).

Sifat fisika dan kimia adalah sifat kimia tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid. Karena itu di dalam air bersifat koloid dan asam lemah. Semua jenis tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Dengan garam besi memberikan reaksi warna. Reaksi ini digunakan untuk menguji klasifikasi tanin, karena tanin dengan garam besi memberikan warna hijau dan biru kehitaman. Tetapi uji ini kurang baik, karena selain tanin yang dapat memberikan reaksi warna, zat-zat lain juga dapat memberikan warna yang sama. Sifat kimia tannin Sifat fisik tanin Umumnya tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh. Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut. Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astrigent). Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka. Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik, fungistatik dan merupakan racun. (Browning, 1966).

### 3.6.5.3 Saponin

Saponin merupakan senyawa golongan terpenoid dari glikosida terpen dan sterol yang terdapat dalam tumbuhan. Senyawa aktif permukaan dari saponin bersifat seperti sabun, dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Handayani, 2019). Saponin merupakan senyawa yang bersifat polar (Handayani, 2019). Saponin tidak tahan pemanasan apabila suhu melebihi  $60^{\circ}\text{C}$  sehingga menyebabkan perubahan struktur senyawa (Handayani, 2019). Saponin mempunyai rasa pahit dan tajam (Handayani, 2019). Titik didih saponin adalah  $>90^{\circ}\text{C}$  (Wiryowidagdo, 2008).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendanaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak (Sudarmi *et al.*, 2017).



Sifat fisika dan kimia saponin adalah Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa nonvolatile dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik. (L.Heng, 2005).

#### **3.6.5.4 Alkaloid**

Alkaloid merupakan senyawa basa organik yang mengandung nitrogen yang mayoritas banyak terdapat dalam tumbuhan, dan minoritas terdapat dalam mikroorganisme dan hewan. Nama alkaloid sebenarnya berasal dari alkali yang berarti basa (Seager & Slabaugh, 2014).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. (Chairani A & Harfiani E, 2018).

Alkaloid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dengan satu atau lebih atom nitrogen yang umumnya berada dalam farmakologis pada manusia dan hewan. Ciri-ciri alkaloid umumnya berbentuk padat (kristal), meskipun dalam suhu kamar ada yang cair (misalkan nikotin), memutar bidang polarisasi, berasa pahit, bentuk garam larut dalam air dan larut dalam pelarut organik dalam bentuk bebas atau basanya (Harborne, 1997).

### **3.7 Simplisia**

#### **3.7.1 Pengertian Simplisia**

Simplisia merupakan bahan alamiah yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan yang dipergunakan sebagai obat (Ningsih, 2016). Simplisia harus memenuhi persyaratan untuk menjamin keseragaman senyawa aktif dan menjamin keamanan dalam penggunaannya. Faktor yang mempengaruhi persyaratan mutu yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia, cara pengepakan dan penyimpanan simplisia. Menurut (Ningsih, 2016) simplisia dibedakan menjadi 3 jenis yaitu:

##### **3.7.1.1 Simplisia Nabati**

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh atau eksudat tanaman. Eksudat merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dan dikeluarkan dengan cara tertentu dari selnya.

### 3.7.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani yaitu simplisia yang berupa hewan / binatang utuh, bagian hewan atau zat-zat bermanfaat yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.

### 3.7.1.3 Simplisia Pelikan (mineral)

Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

### 3.7.2 Syarat-syarat Simplisia

Simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu:

1. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
2. Kadar air, harus kurang dari 10%.
3. Adanya keseragaman bobot.
4. Bahan tambahan, tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2010).

### 3.7.3 Tahap Pembuatan Simplisia (Prasetyo *et al.*, 2011)

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut:

1. Pengumpulan bahan baku : kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.
2. Sortasi basah : dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia.
3. Pencucian : dilakukan untuk menghilangkan tanah dari pengotor lainnya yang melekat pada simplisia. Pencucian dilakukan 3x dengan air mengalir.
4. Perajangan : dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan.
5. Pengeringan : untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia.
6. Sortasi kering : bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.
7. Pengepakan

8. Penyimpanan dan pemeriksaan mutu.

#### 3.7.4 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan dengan cara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan utama obat sesedikit mungkin terkena panas (Depkes RI, 2014).

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer (*Extractum tenue*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang mudah mengalir. Ekstrak kental (*Extractum spissum*) merupakan sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%. Ekstrak kering (*Extractum siccum*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi 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 (*Extractum fluidum*) merupakan sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat (Depkes RI, 2014).

#### 3.8 Rotary Evaporator

*Rotary Evaporator* adalah alat yang digunakan untuk melakukan ekstraksi, penguapan pelarut yang efisien dan lembut. Prinsip alat ini adalah proses pemisahan ekstrak dari cairan penyarinya (etanol) dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu, cairan penyarinya dapat menguap 5- 10°C dibawah titik didih pelarutnya disebabkan oleh karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, uap larutan penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu penampung. Prinsip ini membuat pelarut dapat dipisahkan dari zat terlarut didalamnya tanpa pemanasan yang tinggi (Rachman,2009).

#### 3.9 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan penarikan kandungan kimia pada tumbuhan yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Didalam simplisia yang akan

diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut serta senyawa yang tidak bisa larut misalnya serat, karbohidrat, protein serta lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat pada aneka macam simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut serta cara ekstraksi yg tepat (Hidayah, 2020). Terdapat dua cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu dengan cara dingin dan cara panas. Cara dingin meliputi maserasi, perkolasi dan cara panas meliputi refluks, soxhletasi, infus, dekok dan digesti (Wijaya *et al.*, 2018). Tujuan ekstraksi cara panas yaitu untuk mempercepat proses ekstraksi dibandingkan cara dingin (Tiwari *et al.*, 2011).

### **3.9.1 Ekstraksi Cara Dingin**

#### **3.9.1.1 Maserasi**

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, methanol, etanol-air atau pelarut lainnya (Hidayah, 2020).

Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang paling sederhana karena hanya melalui proses perendaman bahan tanaman atau serbuk simplisia dalam pelarut atau cairan penyari yang sesuai. Prinsip kerjanya didasarkan pada kemampuan larutan penyari untuk dapat menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung berbagai komponen aktif. Zat aktif akan terdistribusi atau larut dalam larutan penyari atau pelarut. Adanya perbedaan konsentrasi antara dua jenis pelarut yang digunakan menyebabkan berbagai komponen aktif di dalam sel dan di luar sel didesak keluar hingga tercapai titik kesetimbangan. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi keseimbangan konsetrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Dirjen POM, 1979).

#### **3.9.1.2 Perkolasi**

Perkolasi merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan sempurna (Exhaustiva extraction) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Mekanisme kerja dari perkolasi yaitu dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori (Handayani, 2019).

Serbuk sampel diletakkan dalam sebuah wadah perkolator lalu pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan kemudian pelarut akan menetes perlahan pada bagian bawah. Keuntungan metode perkolasi adalah penyarian menggunakan pelarut yang selalu baru, sedangkan kerugian dari metode perkolasi adalah pelarut akan mengalami kesulitan dalam menjangkau seluruh area sampel yang tidak homogen, membutuhkan waktu cukup lama dan membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak (Mukhtarini, 2011).

### **3.9.2 Ekstraksi Cara Panas**

#### **3.9.2.1 Refluks**

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan bantuan pemanasan (Laksmiani *et al.*, 2015). Refluks merupakan proses ekstraksi yang menggunakan titik didih pelarut selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang terbatas. Umumnya dilakukan pengulangan proses ekstraksi tiga sampai lima kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Handayani, 2019).

#### **3.9.2.2 Destilasi**

Destilasi atau penyulingan adalah metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali kedalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap terlebih dahulu. Sedangkan zat yang memiliki titik didih yang lebih tinggi akan mengembun dan akan menguap apabila telah mencapai titik (Fatimura, 2014). Destilasi hanya bisa dilakukan untuk memisahkan komponen-komponen yang memiliki perbedaan titik didih dan tidak bisa digunakan untuk memisahkan komponen dengan titik didih yang berdekatan atau sama (Fatimura, 2014).

#### **3.9.2.3 Infus**

Infus merupakan sediaan sari yang dibuat dengan cara menyari zat kandungan zat aktif menggunakan pelarut air dengan suhu 90°C selama 15 menit. Sarian yang dihasilkan tidak stabil dan mudah tercemar kuman dan kupang sehingga tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Murtiwi, 2014).

#### **3.9.2.4 Sokhlet**

Sokhlet merupakan ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru dengan alat khusus sehingga ekstraksi berjalan secara kontinu dengan jumlah pelarut yang cukup konstan (Sholikin, 2016). Ekstraksi dengan sokhlet dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa yang mempunyai

kelarutan terbatas dalam pelarut. Ekstraksi sokhlet merupakan salah satu metode yang paling baik untuk memisahkan senyawa bioaktif dari alam. Kelebihan sokhlet dibanding yang lain antara lain yaitu sampel dapat kontak dengan pelarut yang murni secara berulang, kemampuan mengekstraksi sampel lebih tanpa tergantung jumlah pelarut yang banyak. Karena dalam prosedur obat dan pengobatan untuk alasan toksisitas, pelarut berperan dalam proses farmasetis, mempengaruhi kinetika kristalisasi dan morfologi kristal produk (Rais, 2014).

Komponen instrumen sokhletasi dan fungsinya adalah sebagai berikut: Kondensor berfungsi sebagai pendingin, dan mempercepat proses pengembunan; Pipa F berfungsi sebagai jalannya pelarut yang menguap dalam proses ekstraksi; Timbel berfungsi sebagai wadah untuk sampel yang ingin diambil ekstraknya; Sifon berfungsi sebagai perhitungan siklus, bila pada sifon penuh dengan larutan kemudian kembali ke labu alas dinamakan 1 siklus; Labu alas berfungsi sebagai wadah pelarut dan ekstrak; Hot plate berfungsi sebagai media pemanas (Efruan *et al.*, 2016).

Kelemahan metode sokhlet yaitu dapat menyebabkan solute rusak atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Tiwari *et al.*, 2011). Beberapa syarat pelarut yang digunakan dalam proses sokhletasi yaitu, pelarut yang mudah menguap, titik didih pelarut yang rendah, pelarut dapat melarutkan senyawa yang diinginkan, pelarut tersebut akan terpisah dengan cepat setelah pengocokan, sifat sesuai dengan senyawa yang akan diisolasi (polar atau non polar).

### **3.10 Pelarut**

Pelarut merupakan suatu zat yang untuk melarutkan zat lain. Jenis pelarut sangat mempengaruhi keberhasilan determinasi senyawa aktif dalam proses ekstraksi. Sifat pelarut yang baik yaitu memiliki toksisitas yang rendah, memiliki efek pengawetan, mudah menguap, penyerapan cepat dari ekstrak, tidak menyebabkan ekstrak menjadi kompleks atau terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung dengan senyawa yang diambil. Faktor yang mempengaruhi dalam pemilihan pelarut yaitu jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, potensial bahaya kesehatan dari pelarut, dan keragaman senyawa yang akan diekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011).

#### **3.10.1 Pelarut Sebelum Ekstrak**

##### **3.10.1.1 Etanol**

Etanol biasa disebut dengan etil alcohol, diproduksi melalui fermentasi gula, karbohidrat dan pati, biasa digunakan sebagai pelarut, aseptik, obat penenang, industri parfum dan obat-obatan. Etanol merupakan pelarut organik (Handayani, 2019).

Sifat-sifat etanol:

Nama lain	: Etanol, hidroksi ethan, metil karbinol, ansol
Rumus bangun	: $C_2H_5OH$
Sifat	: Mudah menguap berbau khas, tidak beresidu
Berat molekul	: 46,7 Titik leleh : $-117,3 - 112^{\circ}C$
Berat jenis	: 0,789 g/ml
Kelarutan	: Dalam air, eter, kloroform, dan metil alkohol

Etanol merupakan senyawa alcohol dengan formula  $C_2H_5OH$  mempunyai bentuk cair, larut dalam air, tidak berwarna, eter, kloroform dan aseton. Dihasilkan dari peragi kanji, hidrolisis bromoetana dengan kalium hidroksida (Handayani, 2019). Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan keelektronegatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil ( $C_2H_5$ ) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar (Chandra, 2015). Etanol memiliki berat molekul 46,04 gr/mol, massa jenis 0,789 gr/cm<sup>3</sup>, titik didih  $78,4^{\circ}C$ , viskositas pada  $20^{\circ}C$  1,200 cP, momen dipol sebesar 1,69 D (gas), konstanta dielektrik 24,3 pada  $20^{\circ}C$ , dan tidak berwarna (Chandra, 2015).

Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% karena etanol adalah pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar, nonpolar dan semi polar (Febriani, 2014). Pelarut Etanol 70% dipilih karena presentase air sebanyak 4% dan etanol sebanyak 70% dapat mengurangi kontaminasi atau pertumbuhan mikroorganisme didalam ekstrak (Cobra *et al.*, 2019) dan dapat menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengestraksi dikarenakan lebih aman dan bisa digunakan untuk melarutkan berbagai senyawa organik yang tidak dapat larut dalam air (Cobra *et al.*, 2019).

### 3.10.1.2 Suspensi untuk ekstrak

### 3.10.1.3 CMC NA

*Carboxymethyl Cellulose* (CMC) adalah bahan serbaguna yang digunakan secara luas dalam berbagai bidang dimana gugus karboksimetil pada CMC berfungsi sebagai hidrokoloid yang

memiliki kemampuan untuk mengentalkan air, menanggulangi padatan dalam media cair, menstabilkan emulsi, menyerap kelembaban dari atmosfer, dan bahan baku pembentuk film. Aplikasi CMC banyak digunakan pada berbagai industri seperti deterjen, cat, keramik, tekstil, kertas, dan makanan yang berfungsi sebagai pengental, penstabil emulsi atau suspensi, dan bahan penaut silang (Wijayani, dkk, 2005). CMC berasal dari turunan selulosa yang berantai lurus, panjang, larut dalam air, dan anionik polisakarida (Tasaso, 2015). Sifat CMC yang dikenal sebagai bahan yang *biodegradable*, tidak berwarna, tidak berbau, tidak beracun, memiliki rentang pH sebesar 6,5 sampai 8,0 dan stabil pada rentang pH 2 – 10, serta larut dalam air (Eriningsih, dkk, 2011).

Struktur CMC merupakan rantai polimer yang terdiri dari molekul selulosa yang terdiri dari unit anhidroglukosa. Unit anhidroglukosa ini memiliki tiga gugus hidroksil dan beberapa atom hidrogen akan disubstitusi oleh karboksimetil (Kamal, 2010). Pada proses sintesis CMC terdapat proses eterifikasi polimer linier dengan gugus karboksimetil ( $-\text{CH}_2\text{-COOH}$ ) yang terikat pada beberapa gugus OH dari monomer glukopiranos. Struktur karboksimetil selulosa mempunyai kerangka dasar 1,4- $\beta$ -Dglukopiranos dari polimer selulosa seperti yang digambarkan pada Setiap unit anhidroglukosa ( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ ) selulosa memiliki tiga gugus hidroksil ( $-\text{OH}$ ) yang akan diganti atau disubstitusi oleh gugus karboksil. Beberapa sifat penting yang diperhatikan untuk keberhasilan CMC antara lain kelarutan, absorpsi di permukaan, viskositas dan yang terpenting adalah derajat substitusi (Aprilia, 2009).

Sintesis CMC terdiri dari dua tahapan yaitu alkalisasi dan karboksimetilasi. Pada proses alkalisasi dan karboksimetilasi, pelarut yang digunakan adalah isopropil alkohol. Pada sintesis CMC, digunakan medium reaksi, salah satunya adalah isopropil alkohol. Isopropil alkohol bersifat *inert* sehingga isopropil alkohol tidak ikut bereaksi. Pada reaksinya, isopropil alkohol akan memecahkan ikatan selulosa sehingga selulosa lebih mudah berikatan dengan Na dari NaOH (Pustaka Pangan, 2012).

#### 3.10.1.4 Aquades

Aquades merupakan air hasil penyulingan yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni dalam laboratorium. Aquades berwarna bening, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa. Aquades biasa digunakan untuk membersihkan alat-alat laboratorium dari zat pengotor (Petrucci, 2008). Aquades merupakan pelarut yang jauh lebih baik dibandingkan hampir semua cairan yang umum dijumpai. Senyawa yang segera melarut di dalam aquades mencakup berbagai senyawa



organik netral yang mempunyai gugusfungsional polar seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton. Kelarutannya disebabkan oleh kecenderungan molekul aquades untuk membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil gula dan alkohol atau gugus karbonil aldehidadan keton (Lehninger, 1988). Rumondor dan Porotu'o (2014) mengemukakan bahwa aquadesmerupakan air yang melalui proses pengolahan yang memenuhi standar medis dankimiawi. Aquades aman bagi kesehatan apabila telah memenuhi persyaratan fisika, mikrobiologis, kimiawi dan radioaktif.

### 3.11 Analisis LC-MS

LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) merupakan sebuah teknik analisis yang menggabungkan dari kemampuan fisik dari kromatografi cair dengan spesifisitas deteksi spektrofotometri massa. Data dari sebuah LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) digunakan untuk memberikan informasi seperti struktur, berat molekul kuantitas dan identitas komponen dari sampel tertentu, dan senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel isebut fase diam, elusi pelarut melalui kolom disebut fase gerak (Himawan, 2010). Prinsip kerja dari LC-MS yaitu pemisahan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran yang selanjutnya ion bermuatan akan dideteksi oleh detektor spectrometri massa. Penggunaan LC-MS semakin meningkat pada akhir-akhir ini, dikarenakan semakin kecilnya dosis obat dan semakin kompleknya komposisi obat yang beredar saat ini. Penggunaan LC-MS dapat dilakukan tanpa proses derivatisasi atau cara lain untuk meningkatkan polaritas sampel atau fase gerak, dikarenakan alat tersebut dapat merubah sampel menjadi ion yang mampu dideteksi oleh detector. (Widyaningrum *et al.*, 2021).

Kelebihan dari teknologi LC-MS yaitu hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spectrometer massa sebagai detektor, aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis karena penerapan LC-MS tidak terbatas untuk molekul volatil (biasanya dengan berat molekul dibawah 500 Da), 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 (Khotimah, 2016).

### 3.12 Hewan uji

Tikus merupakan hewan mamalia yang sering dimanfaatkan sebagai hewan uji dalam berbagai penelitian ilmiah karena memiliki kesamaan dengan manusia, siklus hidup yang relatif singkat, bentuk tubuh yang tidak terlalu besar dan memiliki daya adaptasi yang baik (Kartika, Siregar & Fuah, 2013).

Biologis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan dternakkan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pangamatan laboratorium. Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Selain itu, penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun dengan lama reproduksi 1 tahun. Kelompok tikus laboratorium pertama-tama dikembangkan di Amerika Serikat antara tahun 1877 dan 1893. Keunggulan tikus putih dibandingkan tikus liar antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Secara umum, berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur empat minggu beratnya 35-40g, dan berat dewasa rata-rata 200-250 g, tetapi bervariasi tergantung pada galur. Galur *Sprague Dawley* merupakan galur yang paling besar diantara galur yang lain.

Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian. Galur-galur tersebut antara lain : Wistar, *Sprague-Dawley*, Long Evans, dan Holdzman. Dalam penelitian ini digunakan galur *Sprague-Dawley* dengan ciri-ciri berwarna putih, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang daripada badannya (Smith dan Mangkoewidjojo 1988). Tikus ini pertama kali diproduksi oleh peternakan *Sprague-Dawley*. Tikus *Sprague Dawley* merupakan jenis outbred tikus albino serbaguna secara ekstensif dalam riset medis.

### 3.12.1 Instrumen untuk SOD dan MDA

Alat-alat yang digunakan pada *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*(ELISA) ini adalah sebagai berikut:

1. Elisa Reader
2. Mikropipet *single & tip*
3. Mikropipet *Multichannel* 20-200  $\mu$ l
4. Inkubator
5. Tabung Ependorf

6. Vor



Microplate Washer

ELISA Plate & Reservoir

Microplate Reader

Incubator

ELISA Kit

Micropipette

**3.12.2 Klasifikasi tikus putih (*Rattus novergicus*) menurut Krinke (2000) adalah sebagai berikut :**

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Chordata</i>
Subphylum	: <i>Vertebrata</i>
Class	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Family	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Ratus</i>
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>
Galur/strain	: <i>Sprague Dawley</i>



**Gambar 2.2** Tikus Putih (Komang *et al.*, 2014)

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ayakan mesh 80, beaker glass (Pyrex), labu ukur (Pyrex), bejana kaca, cawan porselen, batang pengaduk, blender, corong (Pyrex), kertas saring, waterbath, timbangan, kapas, bunsen, kain saring, api bunsen, handskun, LCMS (*Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy*), Rotary evaporator, tabung reaksi (Pyrex), sonde oral, sarung tangan, tempat makan dan minum, spuit injeksi oral, pipet tetes, kapas, blood collection tube, sentrifugas, ELISA READER: Labtron tye LMPR-AIZ, Kit MDA: MBS S268427 SOD: MBS 036924.

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi serbuk biji papaya, etanol 70% (ONEMED), Aquadestilata (ONEMED), CMC-Na 0,5%, FRUKTOSA, lemak babi, pakan standar, hewan uji tikus, asam sulfat pekat, asam klorida, asam asetat glasial, serbuk magnesium (Mg), HCl, FeCl<sub>3</sub> 1% (EMSURE®), besi III klorida, Ketamin, Xyla.

#### **3.2 Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan putih galur *Sprague Dawerly* (SD) yang diperoleh dari Malang, Jawa Timur.

#### **3.3 Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pepaya di peroleh di desa Mirigambar, Rt/Rw 01/06. Kecamatan Sumbergempol, Tulungagung, Jawa timur.

### **3.4 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yaitu segala sesuatu pada bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti menjadi hal yang akan dipergunakan buat dipelajari sebagai akibatnya diperoleh informasi perihal hal tadi buat diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang dipergunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol serta variabel terikat.

#### **3.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas artinya variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang menghipnotis perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi dosis 150 mg/kgBB dari ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) dosis 250mg/kgBB dari ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) dosis 350mg/kgBB dari ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*).

#### **3.4.2 Variabel Kontrol**

Variabel kontrol atau terkendali yaitu variabel yang dirancang kontinu atau dikendalikan sehingga korelasi variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi sang faktor luar yang tak pada teliti (Sugiyono, 2013). Variabel kontrol negatif menggunakan CMC dan kontrol positif menggunakan fruktosa.

#### **3.4.3 Variabel Terikat**

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi adanya variabel bebas. Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya terhadap SOD (*Superoxide*) dan MDA (*Malondialdehida*) dari ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*).

### **3.5 Metode Penelitian**

#### **3.5.1 Determinasi Tanaman**

Sampel tanaman biji pepaya (*carica papaya L.*) yang terdapat di kabupaten Tulungagung diidentifikasi di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman.

### 3.5.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

#### 3.5.2.1 Pembuatan Simplisia

Biji pepaya yang telah dikumpulkan dikeluarkan dari buahnya, kemudian disortasi basah, setelah itu dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Biji pepaya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan serta tidak langsung terkena sinar matahari (Purwanti dkk, 2018). Sampel biji pepaya yang kering dihaluskan menggunakan blender, lalu diayak dengan ayakan mesh 80, ditimbang hasil ayakan.

#### 3.5.2.2 Uji Susut Pengerinan

Susut pengeringan merupakan salah satu parameter non spesifik yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Parameter susut pengeringan pada dasarnya adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen (Depkes RI., 2000).

Susut pengeringan dihitung dari penimbangan berat sebelum dan sesudah dikeringkan hingga bobot tetap. Dengan rumus (Depkes RI., 2008):

$$\% \text{ susut pengeringan} = \frac{\text{bobot biji basah} - \text{bobot biji kering}}{\text{bobot biji basah}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3. 1})$$

#### 3.5.2.3 Penetapan Kadar Air Serbuk Simplisia

Penetapan kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan cara menimbang 10 g serbuk simplisia biji pepaya (*carica papaya L.*), kemudian serbuk simplisia dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam.

Rumus persentase kadar air serbuk simplisia :

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{Bobot Awal} - \text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3. 2})$$

Persyaratan kadar air pada simplisia adalah tidak lebih dari 10% karena reaksi enzimatis tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% dan dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

### 3.5.3 Pembuatan Ekstrak Etanol biji pepaya (*carica papaya L.*)

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Perbandingan antara serbuk dan pelarut 1:10. Serbuk sebanyak 100 gr dimasukkan ke dalam bejana kaca, lalu dimasukkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml sampai simplisia terendam. Bejana kaca disimpan di ruangan tertutup agar terlindung dari sinar matahari secara langsung dan didiamkan selama 5x24 jam, sambil sesekali diaduk atau dikocok bertujuan agar proses penyarian zat dalam simplisia terjadi sempurna dan agar simplisia tak jenuh. Setelah 5 hari, maserat dikeluarkan dan disaring dengan menggunakan kain saring. Dilakukan remaserasi bertujuan untuk menarik senyawa yang tertinggal saat maserasi awal, kemudian hasil filtrat (cairan) dipisahkan. Ekstrak tersebut dipisahkan menggunakan alat *Rotary Evaporator* untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental (Doloksaribu & Putri, 2017). Penelitian ini dilakukan dengan alat *Rotary Evaporator* berlokasi di Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur.

### 3.5.4 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak biji pepaya (*carica papaya L.*) dihitung dengan membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan (Hidayah, 2020).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3. 3})$$

Hasil perhitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan (%), semakin tinggi nilai rendemen maka nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan (Wijaya *et al.*, 2018).

### 3.5.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran tersebut dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian



tabung ditutup dengan kapas. Hasil positif bebas etanol ditunjukkan dengan tidak terdapat bau ester (Depkes RI, 1995). Tujuan uji bebas etanol adalah untuk menghindari pengaruh etanol dimana etanol bersifat desinfektan sehingga dikhawatirkan akan mempengaruhi aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 70%.

### 3.5.6 Penetapan Kadar Abu Ekstrak Etanol Biji Pepaya

Timbang ekstrak sebanyak 2-3 g, masukkan ke dalam cawan yang telah dipijar dan ditara, dipijarkan perlahan-lahan, dinginkan dan timbang. Jika dengan cara ini abu tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, aduk, saring menggunakan kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring beserta sisa penyaringan dalam cawan yang sama. Masukkan filtrat ke dalam cawan, uapkan dan pijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam %b/b (Farmakope Herbal, 2017). Tujuan kadar abu untuk mengetahui nilai gizi suatu bahan pangan, serta menunjukkan total mineral yang terkandung dalam bahan yang bersifat toksis (Pangestuti & Darmawan, 2021). Berdasarkan persyaratan Ditjen Pom (2000), bahwa kadar abu tidak lebih dari 3,7%. Hasil kadar abu yang telah dingin, ditimbang sehingga kadar abu dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(\text{berat cawan+abu}) - \text{berat cawan kosong}}{(\text{berat cawan+simplisia}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\% \dots \dots \dots \text{ (Persamaan 3.4)}$$

### 3.5.7 Srining Fitokimia

#### 3.5.7.1 Uji Flavonoid

Sampel sebanyak kurang lebih 0,5 ml dicampur dengan 3 ml etanol 70%, kemudian dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Purwati *et al.*, 2017). Perubahan warna yang terjadi pada identifikasi flavonoid tersebut disebabkan karena flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl (Latifah, 2015).

#### 3.5.7.2 Uji Saponin

Sampel diambil sebanyak 0,5 gram ditambah dengan 10 ml *aquadestilata* panas, didinginkan dan kemudian dikocok selama 10 menit. Terbentuknya busa

yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Purwati *et al.*, 2017). Busa yang ditimbulkan karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusun saponin yaitu sapogenin non polar dan rantai polar yang larut dalam air sehingga membentuk busa (Latifah, 2015).

#### **3.5.7.3 Uji Tanin**

Sampel sebanyak 2 gram ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 ml larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Purwati *et al.*, 2017). Terbentuknya senyawa hijau kehitaman pada ekstrak dikarenakan tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  (Latifah, 2015).

#### **3.5.7.4 Uji Alkaloid**

Ekstrak biji pepaya sebanyak 2 gram ditambahkan larutan kloroform 5 ml dan amoniak 5 ml di dalam tabung reaksi dipanaskan, dikocok lalu disaring. Ditambahkan 5 tetes larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dan dikocok sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan asam (atas) dipipet dan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Kedalam tabung reaksi pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer, tabung reaksi kedua ditambahkan pereaksi dragendroff. Reaksi mayer akan terbentuk endapan putih dan pereaksi dragendroff erbetuk endapan merah jingga (Garnita *et al.*, 2022).

#### **3.5.7.5 Uji Kandungan Senyawa Biji Pepaya menggunakan LCMS**

Uji kandungan senyawa ekstrak biji pepaya merupakan pengujian menggunakan alat LCMS yang bertempat di Universitas Muhammadiyah Malang. Tujuan menggunakan LCMS adalah untuk menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein. Senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak). Keuntungan dari LC-MS yaitu dapat menganalisis secara lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termal labil dan bermassa molekul tinggi (Mangurana *et al.*, 2019).

Prosedur LC-MS Sampel cair diambil sebanyak 2 ml, ditempatkan pada labu takar 100 ml. Ditambahkan dengan metanol 90% sampai tanda volum 100

ml, homogenkan dan diamkan selama 30 menit dalam suhu dingin. Saring larutan dengan erlenmeyer vaccum filter, sehingga didapatkan filtrat. Ambil 10 ml filtrat untuk dilakukan sentrifugasi. Lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4 C selama 10 menit. Ambil supernatan yang diperoleh tempatkan pada tabung reaksi.

Selanjutnya pengenceran ekstrak ambil 1 ml ekstrak tempatkan pada labu takar 25 ml dan tambahkan dengan dengan metanol 90% sampai tanda batas. Larutan disaring dengan membran filter, cellulose acetate 0,45 m dan dilakukan degassing. Larutan siap digunakan untuk analisis LCMS

### **3.5.8 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Handayani, 2019).

### **3.6 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

#### **3.6.1 Kontrol Negatif Larutan CMC-Na 0,5%**

Na CMC ditimbang sebanyak 0,5 gr, kemudian dilarutkan menggunakan 50 ml air panas, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian di add kan hingga batas 100 ml (Manek *et al.*, 2020).

#### **3.6.2 Kontrol Positif Fruktosa**

##### **3.6.2.1 Pembuatan fruktosa**

Pemberian sediaan fruktosa diberikan sebanyak 3-5 ml menggunakan sediaan fruktosa cair 10% dari total pakan, intake fruktosa yang tinggi apabila lebih dari 10% dari total kalori yang dibutuhkan (Lozano *et al.*, 2016)

##### **3.6.2.2 Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya**

Berat badan rata-rata tikus 200gr. Pada pembuatan dosis ekstrak biji pepaya digunakan 3 variasi dosis yaitu 150 mg, 250 mg, 350 mg. Konversi dosis manusia 70 kg ke tikus 200 g jadi 0,018. Maka pemberian untuk tikus dengan dosis 150 mg/kgBB yaitu 2,7 mg, 250 mg/kgBB yaitu 5,4 mg, dan dosis 350

mg/kgBB yaitu 8,1 mg. Pemberian untuk tikus secara peroral menggunakan sonde, sediaan ekstrak biji pepaya berupa suspensi maka ekstrak biji pepaya ditimbang dilarutkan dalam pelarut CMC-Na 0,5% ad 30ml.

### 3.7 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak

Pakan tinggi lemak yang digunakan adalah 5 mL minyak babi. Pemberian pakan tinggi lemak diberikan secara oral menggunakan sonde (Wulandari dkk., 2015). Cara pembuatan pakan sebagai berikut: panaskan lemak babi hingga menjadi minyak, kemudian gerus pakan standart sampai halus lalu campurkan dengan minyak hingga homogen, diberikan selama 2 minggu sampai tikus hiperkolesterol (Alaydrus *et al.*, 2020).

### 3.8 Pengelompokan Terhadap Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur *Sprague dawley* dengan berat badan 150-250gram dan berumur 8 minggu yang berasal dari Malang Jawa Timur, tidak cacat fisik dan sehat. Penggunaan hewan coba ini telah mendapatkan sertifikat layak etika dari Universitas Brawijaya. Hewan uji diaklimasi selama 2 minggu sebelum perlakuan, dengan diberikan makanan dan minuman. Adaptasi ini bertujuan untuk hewan uji tidak mengalami stres dan dalam keadaan sehat saat dimulai penelitian., tetap diberikan air minum (Isrul *et al.*, 2020). Hewan uji tikus sebanyak 30 ekor tikus jantan galur *Sprague dawley*. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok tiap kelompok berisi 5 ekor tikus diberi makan secara oral pada tikus yang di induksi pakan tinggi lemak dan tinggi fruktosa selama 2 minggu, diukur kadar SOD dan MDA dibandingkan dengan kelompok normal, kemudian diberi perlakuan sekali sehari selama 2 minggu.

Kelompok (Normal)	: Pakan standart tambah makan + minum
Kelompok (Negatif)	: Pakan standart dan diberi lemak babi selama 2 minggu tanpa pengobatan
Kelompok (Positif)	: Pakan standart dan diberi lemak babi selama 2 minggu kemudian diberi fruktosa
Perlakuan 1	: Pakan standart diberi lemak babi selama 2 minggu kemudian diberi suspensi ekstrak etanol biji pepaya

Perlakuan 2	dengan dosis 150 mg/kgBB peroral per hari selama 2 minggu : Pakan standart diberi lemak babi selama 2 minggu kemudian diberi suspensi ekstrak etanol biji pepaya dengan dosis 250 mg/kgBB peroral per hari selama 2 minggu
Perlakuan 3	: Pakan standart diberi lemak babi selama 2 minggu kemudian diberi suspensi ekstrak etanol biji pepaya dengan dosis 350 mg/kgBB peroral per hari selama 2 minggu

### 3.9 Cara Pengambilan Organ Jantung Pada Tikus

Setelah akhir hari masa perlakuan, tikus *Sprague Dawley*. diterminasi/dieuthanasi secara dislocatio os cervical (cervical dislocatio) yang dilakukan dengan steril dan cepat. Organ hati/ginjal/jantung dilakukan pencucian dengan buffer fosfat sallin (PBS). Setelah itu organ jantung ditiriskan dan ditimbang beratnya. dilakukan analisa SOD dan MDA jaringan jantung di lab Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang. Persiapan homogenat jantung sebanyak 1,25 g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCL, kemudian disentrifuse pada 4000 rpm, 10 menit. Sehingga diperoleh supernatan jernih (homogenat). Supernatan jernih (homogenat) ini digunakan untuk analisis kadar MDA

### 3.10 Cara Pengukuran Sampel SOD dan MDA Jaringan Jantung Tikus

#### 3.10.1 Cara Pengukuran Sampel SOD Jaringan Jantung Tikus

Prosedur Analisis Kadar SOD sebagai berikut :

1. Pengukuran aktivitas SOD dalam supernatant diukur dengan metode misra dan fridovich.
2. Sebanyak 500 mL supernatant ditambahkan ke 0.800 mL buffer karbonat (100 mM, pH 10.2) dan 100 mL efinefrin (3 mM).
3. Perubahan absorbansi masing-masing sampel kemudian dicatat pada panjang gelombang 480 nm dengan spektrofotometer selama 2 menit pada selang waktu 15 detik.

4. Demikian pula untuk larutan blanko dan standard, satu unit SOD didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang dibutuhkan untuk menghambat 50% dari autooksidasi.
5. Campuran diencerkan 1/10 kemudian baca absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer

Kadar SOD dihitung sesuai rumus berikut :

$$\text{Aktivitas SOD (\%)} = (1 - A/B) \times 100\%$$

Keterangan :

A= Absorbansi larutan sampel

B= Absorbansi larutan kontrol

(Persamaan 3. 4 )

### 3.10.2 Cara Pengukuran Sampel MDA Jaringan Jantung Tikus

Prosedur Analisis Kadar SOD sebagai berikut :

1. Larutan stok pereaksi 1,1,3,3-tetra metoksi propana (TMP) konsentrasi 6M diencerkan menjadi 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,10; 0,11; 0,12; dan 0,13 ppm.
2. Selanjutnya, ditambah 2,0 ml HCL dingin (0,25 N) yang mengandung 15% TCA, 0,38% TBA dan 0,5% BHT.
3. Campuran dipanaskan 80°C selama 1 jam, disentrifuse pada 3500 rpm selama 10 menit.
4. Supernatan diambil diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  532 nm.
5. Sebanyak 0,5 ml supernatan jernih (hati) ditambah 2,0 ml HCl dingin (0,25 N) yang mengandung 15% TCA, 0,38% TBA dan 0,5% BHT.
6. Campuran dipanaskan 80°C selama 1 jam. Setelah dingin, campuran disentrifuse pada 3500 rpm selama 10 menit. 7. Supernatan diambil diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  532 nm. Sebagai larutan standar digunakan TMP (tetra metoksi propana).

Rumus Penghitungan Kadar MDA Sebagai Berikut :

Absorbansi sampel pada maks – Intersep standar pada maks : Slope standar pada maks

### 3.11 Analisis LC-MS

Identifikasi senyawa ekstrak merupakan pengujian lanjutan dari skrining fitokimia, dimana kita menguji ekstrak biji papaya (*carica papaya L.*) menggunakan LC-MS. Pada uji ini sampel dikirim di UMM (Universitas Muhammadiyah Malang). Tujuan menggunakan LCMS adalah untuk menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein (Mangurana *et al.*, 2019).

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

Selanjutnya pengenceran ekstrak ambil 1 ml ekstrak tempatkan pada labu takar 25 ml dan tambahkan dengan dengan metanol 90% sampai tanda batas. Larutan disaring dengan membran filter, cellulose acetate 0,45  $\mu$ m dan dilakukan degassing. Larutan siap digunakan untuk analisis LCMS

### 3.12 Analisis Data

#### 3.12.1 Uji Normalitas

Data yang berdistribusi normal penting sebagai salah satu syarat untuk melakukan uji statistik parametrik pada data numerik, seperti uji t-tes, anova dan uji korelasi (Hardisman, 2020).

Kriteria penghitungan uji normalitas dalam penelitian ini sebagai berikut.

- 1) Angka signifikasi  $> 0.05$ , maka data berdistribusi normal
- 2) Angka signifikasi  $< 0.05$ , maka data berdistribusi tidak normal

#### 3.12.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas adalah suatu prosedur uji statistik yang bertujuan untuk memperlihatkan bahwa dua atau lebih kelompok data sampel yang telah diambil berasal dari populasi yang memiliki variansi yang sama.

Perumusan hipotesis :

H<sub>0</sub> : data yang didapatkan memiliki variasi yang sama atau homogen.

H<sub>1</sub> : data yang didapatkan memiliki variasi yang tidak sama atau tidak homogen.

Pengambilan keputusan :

1) Jika  $p > 0,05$ ; maka H<sub>0</sub> diterima

2) Jika  $p \leq 0,05$ ; maka H<sub>1</sub> diterima

### 3.12.3 Uji One Way Anova

Uji One Way Anova bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Maka perbedaan dari uji oneway ANOVA ditunjukkan dengan nilai ( $p < 0,05$ ) kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji TUKEY yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak etanol biji pepaya dengan variasi konsentrasi yang berbeda terhadap kadar SOD dan MDA pada jantung tikus galur Sprague Dawley.

Perumusan hipotesis :

H<sub>0</sub> : tidak ada pengaruh variasi konsentrasi optimum pada ekstrak etanol (Biji pepaya) terhadap kadar SOD dan MDA pada jantung tikus galur *Sprague Dawley*.

H<sub>1</sub> : ada pengaruh variasi konsentrasi optimum pada ekstrak etanol (Biji pepaya) terhadap kadar SOD dan MDA pada jantung tikus galur *Sprague Dawley*.

Pengambilan keputusan :

1) Jika  $p > 0,05$ ; maka H<sub>0</sub> diterima

2) Jika  $p \leq 0,05$ ; maka H<sub>1</sub> diterima

### 3.13 Hipotesis

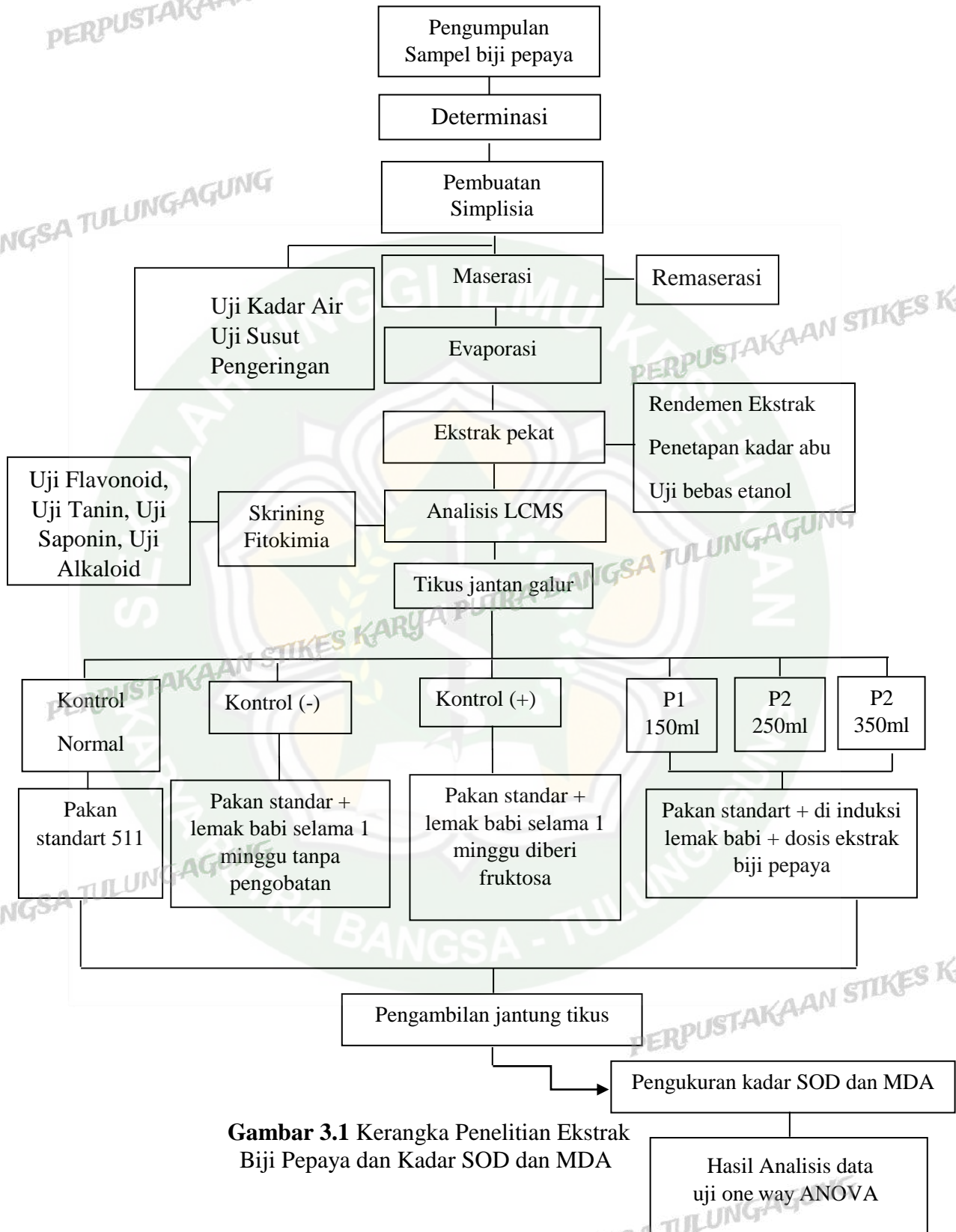
1. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*carica papaya L.*) memiliki aktivitas terhadap kadar SOD dan MDA pada jantung tikus jantan galur (*Sprague Dawley*).



2. Variasi konsentrasi optimum 350mg ekstrak etanol biji pepaya (carica papaya L.) terhadap SOD dan MDA pada jantung tikus jantan galur (*Sprague Dawley*).
3. Senyawa ekstrak etanol biji pepaya diduga memiliki senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin



### 3.1 Kerangka Penelitian Ekstrak Etanol Biji Pepaya dan pengukuran kadar SOD dan MDA



**Gambar 3.1** Kerangka Penelitian Ekstrak Biji Pepaya dan Kadar SOD dan MDA

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Persetujuan *Ethical Clearance*

*Ethical Clearance* yang diajukan ke komite penelitian di Universitas Surabaya untuk penelitian praklinik, yang telah disetujui oleh *Institutional Ethical Committee* University of Surabaya dengan nomer surat 106/KE/IV/2023 pada tanggal 20 Maret berlaku sampai 17 Mei 2023. Surat keterangan *Ethical Clearance* dapat dilihat pada **Lampiran 1**

#### 4.2 Deteriminasi Tanaman

Determinasi biji pepaya dilakukan di Upt Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Malang. Hasil determinasi dengan nomor surat 067/ 568/ 102.20/ 2023 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah 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-121b-124b-125a-126a:Caricaceae-1:C.papaya. bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji hasil biji pepaya dapat dilihat pada **Lampiran 4** Morfologi tanaman biji pepaya Habitus: Perdu, tinggi  $\pm 10$  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 berlandkai 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.

### 4.3 Pembuatan Simplisia

Biji pepaya yang telah dikumpulkan dikeluarkan dari buahnya, kemudian disortasi basah, setelah itu dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Biji pepaya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan serta tidak langsung terkena sinar matahari (Purwanti dkk, 2018). Sampel biji pepaya yang kering dihaluskan menggunakan blender, lalu diayak dengan ayakan mesh 80, ditimbang hasil ayakan. Pengayakan bertujuan untuk mendapatkan serbuk dengan ukuran yang seragam, semakin kecil ukuran sampel dan seragam, mempermudah pelarut untuk menarik senyawa sehingga dapat mengoptimalkan proses ekstraksi (Komang dkk., 2020).

### 4.4 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

#### 4.3.1 Susut Pengerinan Simplisia

Tujuan susut pengerinan untuk batas maksimal dan rentang besar senyawa yang hilang pada proses pengerinan (Najib *et al.*, 2017). Pemeriksaan susut pengerinan menggunakan Pemeriksaan susut pengerinan menggunakan metode gravimetri dilakukan di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Hasil susut pengerinan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil Susut Pengerinan Simplisia

Sampel	Replikasi	Bobot Biji Basah (gram)	Bobot Biji Kering	% Hasil
Serbuk Biji Pepaya ( <i>Carica Papaya L.</i> )	1	13 gr	11,9 gr	9,7 ± 2,50%
	2	13 gr	11,7 gr	
	3	13 gr	11,6 gr	

Hasil yang diperoleh pada uji susut pengerinan simplisia biji pepaya yaitu 9,7 %. Hasil pengujian susut pengerinan simplisia biji pepaya memenuhi standar yang telah ditetapkan yaitu tidak lebih dari 10% (Ulya *et al.*, 2022). Jika semakin kecil nilai dari susut pengerinan maka semakin baik proses pengerinan yang dilakukan pada sampel tersebut (Sutomo dkk., 2021).

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

Pembuatan ekstrak biji pepaya menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena metode maserasi biaya relatif murah, peralatan yang

digunakan dapat dijumpai, dan dapat menarik senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan (Chairunnisa *et al.*, 2019). Langkah pertama metode maserasi dengan memasukkan serbuk biji pepaya (*Carica Papaya L.*) sebanyak 100gram kedalam botol dan ditambahkan etanol 70% sebanyak 1000ml sambil penggojokkan beberapa kali. Maserat yang telah diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Dilakukan remaserasi bertujuan untuk menarik senyawa yang tertinggal saat maserasi awal, kemudian hasil filtrat (cairan) dipisahkan. Dipisahkan menggunakan alat *Rotary Evaporator* untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental. Setelah diperoleh ekstrak kental dilakukan penyimpanan ekstrak didalam lemari pendingin (Doloksaribu & Putri, 2017). Penelitian ini dilakukan dengan alat *Rotary Evaporator* berlokasi di Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur.

#### 4.6 Uji Kadar Air Ekstrak

Tujuan dilakukan penetapan kadar air pada simplisia untuk mengetahui kandungan atau jumlah air dalam simplisia biji pepaya. Kadar air penting ditetapkan karena untuk menjaga kualitas simplisia dan mencegah terjadinya pertumbuhan mikroba. Semakin kecil kandungan air dalam simplisia dapat mengurangi resiko pertumbuhan mikroba (Rosidah *et al.*, 2020). Uji kadar air simplisia dilakukan di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Umumnya kandungan kadar air yang dipersyaratkan adalah kurang dari 10% (Insani *et al.*, 2022). Hasil uji kadar air dapat dilihat pada **Tabel 4.2**. Pengujian kadar air pada sampel diperoleh hasil sebesar 1,86 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan sudah memenuhi persyaratan kadar air yang telah ditetapkan.

**Tabel 4.2** Hasil Kadar Air Simplisia

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	%Hasil
Serbuk Biji Pepaya ( <i>Carica Papaya L.</i> )	10 gr	9,85 gr	1,5%
		9,83 gr	1,7%
		9,76 gr	2,4%
		Rata-rata	1,86%

#### 4.7 Uji Kadar Abu Ekstrak

Kadar abu bertujuan untuk mengetahui nilai gizi suatu bahan pangan, serta menunjukkan total mineral yang terkandung dalam bahan yang bersifat toksis (Pangestuti & Darmawan, 2021). Pengujian kadar abu dilakukan di Universitas Brawijaya Malang. Berdasarkan persyaratan Ditjen POM (2000) kadar abu tidak lebih dari 3,7%.

**Tabel 4.3** Hasil Kadar Abu Ekstrak Etanol Biji Pepaya

Sampel	Kadar Abu	Metode
Ekstrak Biji Pepaya ( <i>Carica Papaya L.</i> )	17,38 ± 0,07	Gravimteri

Standar kadar abu yaitu tidak lebih dari 3,7%, faktor yang mempengaruhi kadar abu tidak memenuhi persyaratan antara lain menurut Sudarmadji, et.al, (1989) dalam Lubis (2008), bahwa kadar abu tergantung pada jenis bahan, cara pengabuan, waktu dan suhu yang digunakan saat pengeringan serta semakin rendah komponen non mineral yang terkandung dalam bahan akan semakin meningkatkan persen abu relatif terhadap bahan. Hasil kadar abu ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) yang diperoleh pada **Tabel 4.3** yaitu 17,38%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar abu ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki kandungan mineral yang tinggi oleh sebab itu tidak memenuhi persyaratan.

#### 4.8 Rendemen Ekstrak

Tujuan rendemen ekstrak untuk menentukan perbedaan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari suatu bahan terhadap awal berat bahan simplisia serta untuk mengetahui banyak senyawa bioaktif yang terdapat dalam bahan tereskraksi (Suhendar *et al.*, 2020). Hasil rendemen ekstrak biji pepaya dapat dilihat pada **Tabel 4.4**.

**Tabel 4.4** Hasil Rendemen Ekstrak

Sampel	Bobot serbuk simplisia	Bobot ekstrak	% Hasil
Ekstrak Biji Pepaya ( <i>Carica Papaya L.</i> )	1000 gr	120 gr	12%

Hasil uji rendemen ekstrak biji pepaya sebesar 12 % dari bobot ekstrak 120 gr dibagi bobot serbuk simplisia 1000gr dikali 100%. Rendemen merupakan

perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Hasil nilai rendemen ekstrak biji pepaya sudah memenuhi syarat yaitu  $> 10\%$  (Nafi'atul Insani dkk., 2022). Jika semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin besar ekstrak yang dihasilkan (Wijaya *et al.*, 2018).

#### 4.9 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol bertujuan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga diperoleh ekstrak biji pepaya murni tanpa terkontaminasi etanol (Suhendar *et al.*, 2020). Uji bebas etanol dilakukan dengan cara masukkan 2 tetes  $H_2SO_4$  dan 2 tetes asam asetat kemudian dipanaskan dengan air bunsen, jika tidak tercium bau ester maka positif bebas etanol (Suhendar *et al.*, 2020). Cara kedua uji bebas etanol dapat dilakukan dengan ditambahkan 2 tetes asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) pekat dan 1 mL kalium dikromat, jika terdapat perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan, maka ekstrak mengandung etanol (Klau *et al.*, 2021). Pengujian Bebas Etanol ini dilakukan di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa. Hasil uji bebas etanol ekstrak biji pepaya dapat dilihat **Tabel 4.5** dan **Gambar 4.1**.

**Tabel 4.5** Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Biji Pepaya

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Ekstrak Biji Pepaya ( <i>Carica Papaya L.</i> )	$H_2SO_4$ + asam asetat	+	Tidak tercium bau ester
Ekstrak Biji Pepaya ( <i>Carica Papaya L.</i> )	$H_2SO_4$ + kalium dikromat	+	Tidak terjadi perubahan warna



Ekstrak biji pepaya



(A)



Ekstrak biji pepaya



(B)

**Gambar 4.1** Hasil Uji Bebas Etanol : (A) Sesudah Perlakuan tidak tercium bau ester. (B) Sesudah Perlakuan tidak terjadi perubahan warna

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak positif bebas etanol yang ditandai dengan tidak tercium bau ester dan tidak terjadinya perubahan warna pada ekstrak, sehingga dapat disimpulkan bahwa diperoleh ekstrak yang dapat digunakan untuk penelitian ke tahap selanjutnya.

#### 4.10 Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolisme sekunder yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya dengan cara menambahkan beberapa



bahan kimia, sehingga dapat diidentifikasi dengan adanya perubahan warna pada sampel. Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Kimia STIKes Karya Putra Bangsa. Kandungan senyawa metabolisme sekunder didalam ekstrak biji pepaya yaitu flavonoid, tanin, dan saponin, alkaloid yang mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil skrining fitokimia ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) didapatkan hasil positif senyawa metabolisme sekunder dapat dilihat Tabel 4.6.

**Tabel 4.6** Hasil skrining fitokimia senyawa sekunder aktif pada ekstrak biji pepaya

Identifikasi	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Sampel + serbuk Mg + HCL	+	Hitam kemerahan atau jingga
Tanin	Sampel + FeCl <sub>3</sub>	+	Biru kehitaman
Saponin	Sampel + aquadest panas 10 ml	+	Busa stabil
Alkaloid	Kloroform + Amoniak + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Pereaksi Meyer	+	Endapan putih
	Kloroform+ Amonik + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Pereaksi Dragendroff	+	Endapan merah jingga

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

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak biji pepaya positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin, alkaloid. Berdasarkan penelitian (Meirindasari *et al.*, 2013), kandungan kimia yang terdapat didalam biji pepaya adalah flavonoid, tanin dan saponin.

#### 4.10.1 Uji Flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak biji pepaya didapatkan hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna hitam kemerahan atau jingga setelah ditambahkan serbuk Mg dan HCL pekat yang bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Dewi *et al.*, 2021).

Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.2.



(A)

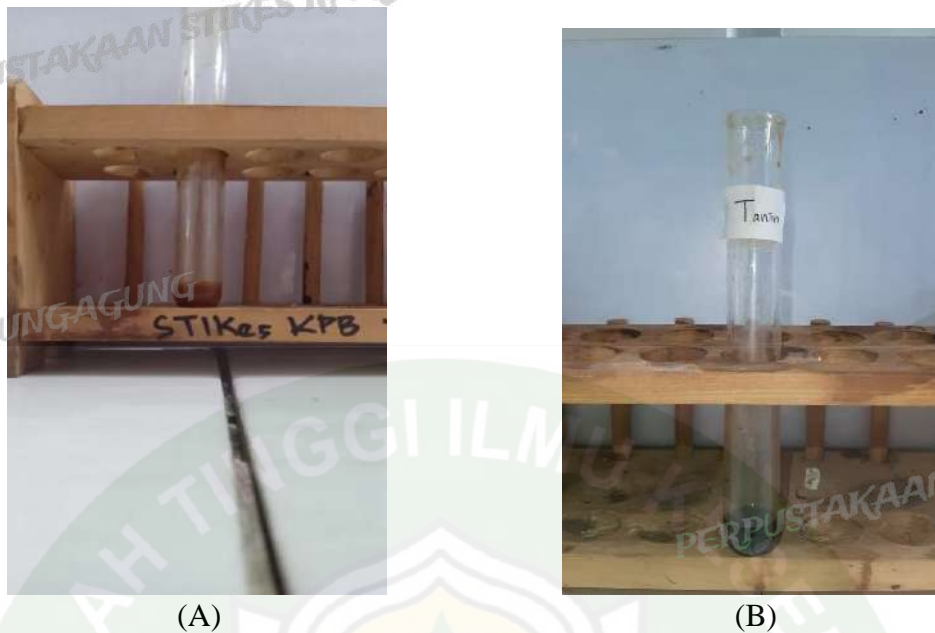


(B)

**Gambar 4.2** Hasil Uji Flavonoid (A) Sebelum Perlakuan (B) Setelah Perlakuan

#### 4.10.2 Uji Tanin

Hasil uji tanin pada ekstrak biji pepaya menunjukkan positif dengan terjadinya perubahan warna biru kehitaman. Uji tanin dengan penambahan  $FeCl_3$  dapat menunjukkan adanya gugus fenol, karena tanin merupakan salah satu senyawa polifenol yang ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman. Terjadinya perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman pada ekstrak ditambahkan  $FeCl_3$  karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $Fe^{3+}$  (Halimu *et al.*, 2017). Hasil uji tanin dapat dilihat pada Gambar 4.3.



(A)

(B)

**Gambar 4.3** Hasil Uji Tanin (A) Sebelum Perlakuan (B) Setelah Perlakuan

#### 4.10.3 Uji Saponin

Hasil uji saponin ekstrak biji pepaya ditandai dengan terbentuknya busa stabil dengan tinggi 3 cm (Isnania *et al.*, 2014). Hasil uji saponin dalam ekstrak biji pepaya memberikan hasil positif yang artinya dalam ekstrak terkandung saponin. Hasil uji saponin dapat dilihat pada **Gambar 4.4**. Menurut Sulistyarini *et al.*, (2020) Busa yang muncul diakibatkan karena senyawa saponin mengandung senyawa larut dalam air (*hidrofilik*) dan larut dalam pelarut nonpolar (*hidrofobik*) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan, saat dikocok gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofobik akan berikatan dengan udara sehingga terbentuknya busa.



(A)



(B)

**Gambar 4.4** Hasil Uji Saponin (A) Sebelum Perlakuan (B) Setelah Perlakuan  
**4.10.4 Uji Alkaloid**

Hasil uji alkaloid ekstrak biji pepaya dapat ditunjukkan adanya endapan warna putih. Endapan putih dihasilkan setelah penambahan pereaksi Meyer. Endapan putih yang terlihat setelah ekstrak ditambahkan dengan pereaksi Meyer yaitu kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dan akan bereaksi dengan ion logam  $K^+$  dari pereaksi Meyer. Sedangkan jika ditambahkan pereaksi Dragendorff terjadi perubahan warna menjadi endapan merah jingga. Endapan tersebut adalah kaliumalkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis (Ramadhani *et al.*, 2020). Hasil uji alkaloid dapat dilihat pada Gambar 4.5



(A)



(B)

(Peaksi Mayer)



(C)

(Pereaksi Dragendroff)

**Gambar 4.5** Hasil Uji Alkaloid (A) Sebelum Perlakuan (B) Setelah Perlakuan (C) Setelah Perlakuan

#### 4.7 Uji Kandungan Ekstrak Etanol Biji Pepaya Menggunakan LC-MS

LC-MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas, dan kualitas komponen sampel tertentu, senyawa dipisahkan karena interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) (Mangurana et al., 2019). LC-MS analisis yang menggabungkan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifitas deteksi spektrometer massa. Cara kerja LC-MS adalah komponen elusi dilanjutkan ke dalam spektrometer massa melalui jalur antar muka, analit-analit dipisahkan berdasarkan kepolarannya, kecepatan untuk sampai ke detektor akan berbeda. Hal ini dikarenakan pada spektrum yang diamati dengan peak yang terpisah (Mangurana et al., 2019).

Keuntungan dari LC-MS yaitu dapat menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein. Komponen elusi dari kolom kromatografi kemudian diteruskan ke spektrometer massa melalui antar muka khusus Prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alatnya terdiri atas kolom (sebagai fasa diam) dan larutan tertentu sebagai fasa geraknya tekanan tinggi digunakan untuk mendorong fasa gerak. Campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolarannya dan kecepatannya untuk sampai ke detektor (waktu retensinya) akan berbeda, hal ini akan teramati pada spektrum yang puncak-puncaknya terpisah (Himawan 2010).

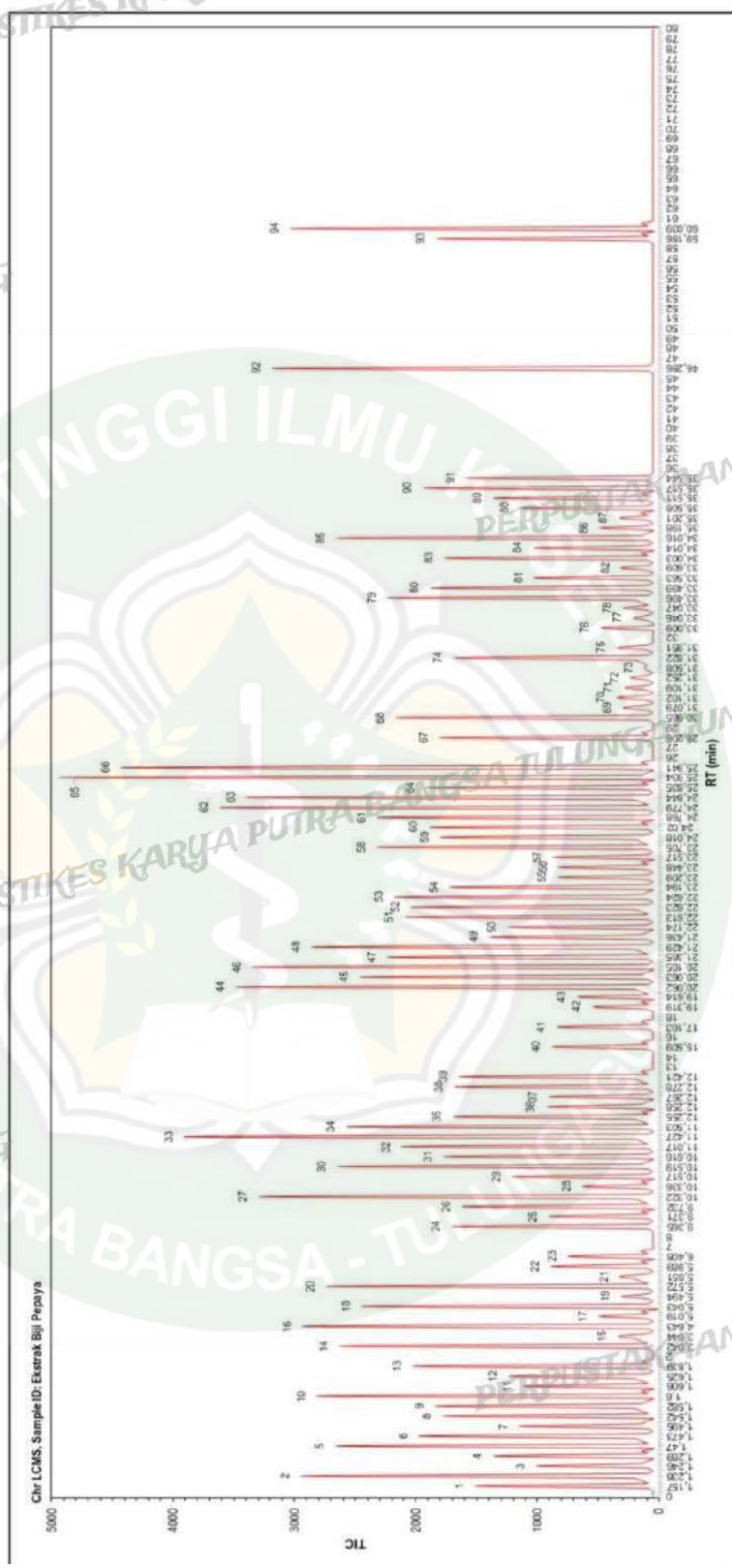
Analisis LC-MS senyawa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang. Analisis LC-MS kali ini fase gerak menggunakan ethanol 95% sedangkan fase diam menggunakan Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2mm x 150 mm, 3  $\mu$ m). Hasil dari analisis LC-MS diketahui bahwa senyawa yang terkandung ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) sebanyak 94 senyawa pada kandungan ekstrak biji pepaya, dapat dilihat pada **Gambar 4.6**. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol biji pepaya

menggunakan LC-MS terdapat no peak tertinggi yaitu senyawa *carpaine* (alkaloid) dan *quercetin* (flavonoid) dapat dilihat pada **Tabel 4.7**.

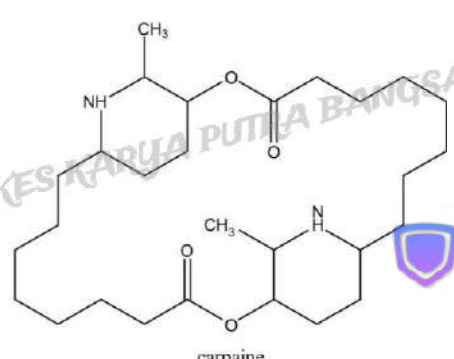
**Tabel 4.7.** Deteksi dan Identifikasi Senyawa Tertinggi Ekstrak Etanol Biji Pepaya

No Peak	Nama Senyawa	Waktu retensi	Komposisi %	Analisis Komponen
65	<i>Carpaine</i>	25,934	3,12924	Rumus kimia $C_{28}H_{50}N_2O_4$ BM : 478,7180 m/z : 478,3771 (100.0%)
33	<i>Quercetin</i>	11,427	2,47910	Rumus Kimia $C_{15}H_{10}O_7$ BM : 302,2380 m/z : 302,0427 (100.0%)

LCMS CHROMATOGRAM RESULT, SAMPLE ID: EKSTRAK BIJI PEYAYA



4.7.1 Senyawa Pada





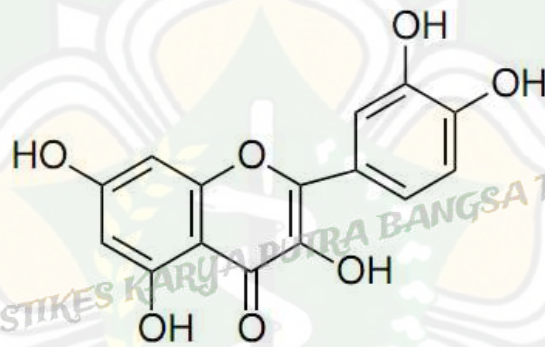
tertinggi yaitu pada no peak 65 senyawa *carpaine* dengan komposisi sebesar 3,12924% yang muncul pada waktu retensi menit ke-25,934. Golongan senyawa alkaloid yang diperoleh dengan total komposisi yaitu 10,38% dari 4 senyawa golongan alkaloid. Hasil *Mass-Spektrometry* senyawa *carpaine* diperoleh dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Mekanisme alkaloid (*Carpaine*) dapat menghambat aktivitas enzim lipase melalui fase dan alkaloid dapat berkerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen seperti pada flavonoid. Senyawa tersebut dapat menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui fase, akibatnya penyerapan lemak oleh hati terhambat sehingga tidak dapat diubah menjadi kolesterol. Alkaloid berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung atom nitrogen di dalam strukturnya, atom tersebut mempunyai pasangan elektron bebas yang berfungsi untuk meredam aktivitas radikal bebas di dalam tubuh (Puspitarsari *et al.*, 2018). Senyawa alkaloid banyak ditemukan dalam pelarut polar karena golongan senyawa alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan adalah senyawa- senyawa polar yang akan terekstraksi pada pelarut yang bersifat polar. Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Mekanisme ini menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer. (Sudirman, 2011). Hasil struktur senyawa *carpaine* dapat dilihat pada **Gambar 4.7**.

**Gambar 4.7** Struktur senyawa *Carpaine* (Chemdraw, 2023)

#### 4.7.2 Senyawa *Quercetin*

Pada golongan senyawa flavonoid dari hasil LC-MS memiliki kadar tertinggi yaitu pada no peak 33 senyawa *quercetin* dengan komposisi sebesar 2,47910% yang muncul pada waktu retensi menit ke-11,427. Golongan senyawa flavonoid yang diperoleh dengan total komposisi yaitu 43,33% dari 32 golongan senyawa flavonoid. Hasil *Mass-Spektrometry* senyawa *quercetin* dapat dilihat pada **Lampiran 8** ). Flavonoid adalah antioksidan eksogen yang dapat mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif dengan dua mekanisme yaitu langsung dan tak

langsung. Jika secara langsung dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik radikal bebas sedangkan tak langsung dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. (Artha *et al.*, 2017). senyawa *quercetin* dengan komposisi sebesar 2,47910% yang muncul pada waktu retensi menit ke-11,427. *Quercetin* merupakan salah satu flavonoid yang mampu menunjukkan kemampuan untuk mencegah oksidasi low-density lipoprotein (LDL) dengan menangkalkan radikal bebas. Kandungan quercetin ekstrak biji pepaya dapat mencegah terjadinya radikal bebas dan pereoksidase lemak ( Arifin & Ibrahim., 2018). Hasil struktur senyawa *quercetin* dapat dilihat pada **Gambar 4.8**.



**Gambar 4.8** Struktur senyawa *quercetin* (G. S. Kelly,2021)

#### 4.11 Kadar Malondialdehid (MDA) Jantung Tikus

Pengujian aktivitas antioksidan biji pepaya pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur Malondialdehid (MDA) pada jantung tikus. Malondialdehid merupakan produk akhir dari oksidasi lipid. Semakin tinggi kadar MDA dalam suatu organ maka semakin tinggi pula tingkat stres oksidatif yang terjadi dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid dan tingginya jumlah radikal bebas. (Nurmasitoh dan Pramaningtyas, 2015).

Pengukuran kadar MDA pada penelitian ini menggunakan pemeriksaan ELISA READER yang diukur secara spektrofotometer. Mda direaksikan dengan asam tiobarbiturat (TBA) akan membentuk senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum. Pada penelitian ini digunakan panjang gelombang 532 nm.

**Tabel 4.7** Pengukuran kadar MDA

Kelompok	Kadar rata-rata (nmol/mL) $\pm$ SD
Negatif	24,45 $\pm$ 4,71
Normal	19,60 $\pm$ 2,83
Positif	9,11 $\pm$ 0,74
Perlakuan I (150mg/kgBB)	15,06 $\pm$ 6,28 <sup>a</sup>
Perlakuan II (250mg/kgBB )	8,49 $\pm$ 1,87 <sup>a</sup>
Perlakuan III (350mg/kgBB)	3,50 $\pm$ 1,65 <sup>a</sup>

Keterangan: (a) : tidak berbeda signifikan dengan k+

Berdasarkan hasil pada **Tabel 4.8**, setelah perlakuan selama 17 hari kelompok kontrol normal tidak diberi perlakuan hanya diberikan pakan dan minum standart memiliki kadar MDA rata-rata 19,60 nmol/mL, kelompok kontrol positif yang diberikan fruktosa memiliki kadar MDA rata-rata sebesar 8,49 nmol/mL dari hasil tersebut kadar MDA antara positif dengan kelompok dosis 250 mg/kgBB memiliki kadar hampir sama ( $p > 0,5$ ). Pada kontrol positif diberikan fruktosa karena diet tinggi lemak fruktosa menunjukkan penurunan ekspresi yang menyebabkan oksidasi lipid menurun dan meningkatnya akumulasi lipid

(Basciano *et.al.*, 2005). Pada kelompok kontrol negatif memiliki kadar 19,60nmol/mL.

Pada perlakuan (P1, P2 dan P3) tikus diberikan ekstrak biji pepaya yang bertujuan untuk mencegah peningkatan kadar MDA pada tikus. Pada kelompok dosis 150 mg/kgBB memiliki kadar sebesar 15,06 nmol/mL dan pada kelompok dosis 250 mg/kgBB memiliki kadar sebesar 8,49 nmol/mL dari kedua kelompok ini masih lebih tinggi dari kelompok dosis 350 mg/kgBB yang menandakan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol 70% biji pepaya diketahui memiliki senyawa alkaloid untuk mencegah radikal bebas yang dapat merusak organ jantung pada hewan uji coba yaitu tikus. karena adanya gugus hidroksil yang terikat pada strukturnya. Posisi dan jumlah gugus hidroksil mempengaruhi aktivitas antioksidan suatu senyawa. Radikal bebas sangat berbahaya karena dapat merusak komponen-komponen sel tubuh seperti lipid, protein, dan DNA maka diperlukan senyawa antioksidasi untuk menetralkan radikal bebas (Hamid, 2010).

Hasil pengukuran kadar MDA dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan sistem komputerisasi menggunakan SPSS (*Statistical Product Service Solution*) nomer 22 dilakukan uji normalitas. Menurut Ghazali (2012) Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah dalam model regresi, variabel pengganggu atau residual memiliki distribusi normal. Untuk mengetahui apakah suatu data terdistribusi secara normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan yaitu menggunakan uji Shapiro-Wilk karena sampel yang digunakan jumlahnya kurang dari 50.

Uji normalitas dikatakan normal apabila 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 signifikan sebesar 0,087 kelompok KN, 0,056 kelompok K+, 0,152 kelompok K-, 0,063 kelompok P1, 0,375 kelompok P2, 0,922 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 syarat dalam analisis *independent sample t test* dan Anova

(sianturi). Uji homogen merupakan bukan syarat yang mutlak dalam *One Way Anova*, meskipun asumsi dalam uji homogenitas tidak terpenuhi maka ada pemilihan uji lanjut (*Post Hock Test*) dalam *One Way Anova*.

Uji homogenitas dapat dikatakan data tersebut homogen apabila nilai signifikan  $\geq 0,05$ . Berdasarkan hasil uji homogenitas MDA jantung homogen dengan nilai signifikan 0,118. Berdasarkan uji normalitas dan uji homogenitas maka dilakukan uji parametrik yaitu uji *One Way Anova*. Uji homogenitas dimaksudkan untuk memperlihatkan bahwa dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki varian yang sama. Metode yang digunakan untuk uji homogenitas data dalam penelitian ini adalah uji *One Way Anova*. (Sugiyono,2013) Setelah uji normalitas selanjutnya dilakukan uji homogenitas. Uji ini untuk mengetahui apakah kedua sampel memiliki varians yang homogen atau tidak, uji homogenitas yang digunakan adalah varians terbesar dibandingkan dengan varians terkecil.

**Tabel 4.8** Hasil Uji Kadar MDA dengan ANOVA

Kelompok	Rata-rata	Sig
Between Groups	553,890	0,000
Within Groups	63,882	

Pengambilan keputusan dalam analisis *One Way Anova* apabila nilai signifikan  $> 0,05$  maka rata-rata sama, jika nilai signifikan  $< 0,05$  maka rata-rata berbeda. Berdasarkan hasil pengolahan data yang diperoleh yaitu signifikan 0,000 maka data-data tersebut dinyatakan ada perbedaan nyata. Pengujian dilanjutkan dengan uji tukey lanjutan yang digunakan untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah uji 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, maka dapat dilakukan pengujian hipotesis komparasi dengan menggunakan uji Tukey (Usmadi, 2020).

Pada uji Tukey MDA kelompok P1 didapatkan nilai signifikan yaitu sebesar 57.3720, P2 didapatkan nilai signifikan sebesar 58.3420 dan P3 didapatkan nilai signifikan sebesar 62.1420. Pada kelompok K+ yang berada dalam satu kolom

dengan P2 dan P3 yang berarti tidak beda nyata. K+ dengan P1 tidak berbeda berada pada satu kolom dengan P2 dan P3. Pada P1 berarti berbeda nyata dengan perlakuan 2 dan perlakuan 3. Hasil statistik kadar MDA dapat dilihat pada **Lampiran 11**.

#### 4.12 Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Jantung Tikus

*Superoxide Dismutase* (SOD) merupakan antioksidan enzimatik yang menjadi garis pertahanan pertama melawan ROS seperti enzim *superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan antioksidan nutrisi akan menangkap radikal bebas dan berperan sebagai sistem scavenging radikal bebas. SOD adalah salah satu enzim antioksidan utama yang menangkal radikal bebas. Bertindak sebagai sistem pertahanan endogen seluler yang mengubah O<sub>2</sub> menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan oksigen. Aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang menyebabkan stress oksidatif. Tingginya aktivitas SOD akan tergambarkan oleh rendahnya produk oksidasi lipid.

**Tabel 4.9** Pengukuran kadar SOD

Kelompok	Kadar rata-rata (nmol/mL) ± SD
Kelompok Negatif	36,34±7,54
Kelompok Normal	49,64±11,2
Kelompok Positif	65,46±5,92
Perlakuan I (150mg/kgBB),	57,37±4,83 <sup>a</sup>
Perlakuan II (250mg/kgBB )	58,34±6,80 <sup>a</sup>
Perlakuan III (350mg/kgBB)	62,14±9,69 <sup>a</sup>

Keterangan: (a) : tidak berbeda signifikan dengan k+

Pengujian statistik menunjukkan bahwa aktivitas SOD semua kelompok hewan coba tidak berbeda signifikan. Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok positif memiliki aktivitas tertinggi sebesar 65,46 unit/100µL. Pada dosis 150 mg/kgBB dengan rata-rata sebesar 57,37 unit/100µL tidak berbeda signifikan juga dengan dosis 250 mg/kgBB dengan rata-rata sebesar 58,34 unit/100µL. Namun

perlakuan kelompok negatif dan normal cenderung menurunkan aktivitas SOD di jantung sebesar 36,34 dan 49,65. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelompok positif dan dosis 350 mg/kgBB mempunyai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan menurunnya aktivitas peroksidasi lipid membran ditandai peningkatan aktivitas antioksidan endogen yaitu enzim SOD yang menangkap anion superoksida dan mengubahnya menjadi hidrogen peroksida.

Peningkatan aktivitas enzim SOD dapat terjadi akibat aktivitas antioksidan Stres oksidatif yang meningkat akibat hipoksia yang kronis terjadi karena produksi ROS yang berlebihan tanpa adanya kompensasi aktivitas enzim antioksidan (Pialoux *et al.*, 2009). Dan beberapa penelitian telah membuktikan bahwa selama terjadinya hipoksia maka produksi ROS akan meningkat sehingga menekan aktivitas enzim SOD. Karena hipoksia merupakan pemicu terjadinya inhibisi parsial aktivitas rantai transport electron akibat dari bocornya electron sehingga terbentuklah ROS (Winarsi *et al.*, 2012). Selama terjadinya siklus hipoksia, ROS akan terbentuk secara enzimatik melalui jalur xantin oksidase. Hal ini dapat mengakibatkan stres oksidatif semakin tinggi sehingga sehingga berdampak pada penurunan aktivitas enzim SOD (Winarsi *et al.*, 2012)

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 0,514 kelompok KN, 0,981 kelompok K+, 0,933 kelompok K-, 0,064 kelompok P1, 0,806 kelompok P2, 0,500 kelompok P3. Kemudian pengujian dapat dilanjutkan dengan uji homogen menggunakan uji Levene. Berdasarkan hasil uji homogenitas SOD ginjal homogen dengan nilai signifikan 0,005.

Pada uji Tukey SOD kelompok P1 didapatkan nilai signifikan yaitu sebesar 15.0660, P2 didapatkan nilai signifikan sebesar 8.4940 dan P3 didapatkan nilai signifikan sebesar 3.4980. Pada kelompok K+ yang berada dalam satu kolom dengan P2 dan P3 yang berarti tidak beda nyata. Pada kelompok K+ yang berada dalam satu kolom dengan P2 dan P3 yang berarti tidak beda nyata. K+ dengan P1 tidak berbeda berada pada satu kolom dengan P2 dan P3. Pada P1 berarti berbeda

nyata dengan perlakuan 2 dan perlakuan 3. Hasil statistik kadar SOD dapat dilihat pada **Lampiran 14**.

**Tabel 4.10** Hasil Uji Kadar SOD dengan ANOVA

Kelompok	Rata-rata	Sig
Between Groups	302,872	0,000
Within Groups	14,737	

Pengambilan keputusan dalam analisis One Way Anova apabila nilai signifikan  $> 0,05$  maka rata-rata sama, jika nilai signifikan  $< 0,05$  maka rata-rata berbeda. Berdasarkan hasil pengolahan data yang diperoleh yaitu signifikan 0,000 maka data-data tersebut dinyatakan ada perbedaan nyata. Hasil pengolahan data statistika One Way Anova yang dilanjutkan Tukey bahwa pemberian ekstrak etanol biji pepaya dosis 350 mg/kgBB menunjukkan hasil yang sebanding dengan kontrol positif.

Penelitian yang dilakukan ini menggambarkan ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan variasi dosis 150 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 350 mg/kgBB mempunyai efek dalam menurunkan kadar *Malondialdehida* (MDA) dan meningkatkan kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada jantung tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* yang diinduksi dengan lemak babi, hal ini ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dosis 350 mg/kgBB merupakan dosis yang efektif atau peningkatan paling banyak sebagai antioksidan dibandingkan dengan dosis 150 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB karena efek yang diberikan hampir sebanding dengan kontrol positif (K+) yaitu dengan pemberian fruktosa.



## BAB V

### KESIMPULAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Analisis LCMS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) terhadap ekstrak biji pepaya pada penelitian ini terdapat 94 senyawa. Adapun 2 hasil puncak tertinggi yang disebut carpaine dari golongan alkaloid yang memiliki berat molekul 478,3771 (m/z) dengan rumus kimia  $C_{28}H_{50}N_2O_4$  dan quercetin golongan flavanoid berat molekul 302,0427 (m/z) dengan rumus  $C_{15}H_{10}O_7$ .
2. Ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki pengaruh terhadap kadar SOD dan kadar MDA pada jantung tikus jantan galur Sprague Dawley.
3. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) variasi pada kelompok positif dan dosis 350 mg/kgBB paling optimum memiliki antioksidasi sebanding dengan kelompok positif dengan parameter penurunan kadar MDA dan menghambat peningkatan kadar SOD perbandingan dengan dosis lainnya.

#### 5.2 Saran

Perlunya penelitian lebih lanjut dapat menggunakan bentuk lain dari biji pepaya contoh bentuk bubuk maupun ekstrak buah pepaya (*Carica papaya L.*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Aprilia, L. (2009). *“Preparasi Produk Nata de Pina dan Aplikasi Pengikatannya Terhadap Logam Kobalt (II).* Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Bogor.
- Arsyiyanti Cut. Pengaruh pemberian jus biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap kadar asam urat tikus *Sprague Dawley* dislipidemia. Artikel penelitian. 2012.9
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). ‘Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid’. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
- 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>.
- BPOM. 2010. “Petunjuk Operasional Pedoman Cara Pembuatan Kosmetik Yang Baik.” (361).
- Basciano H, Federico L and Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr & Metab.* 2005; 2(5).
- Cobra, Lea Shella, Helda Wika Amini, and Amalia Eka Putri. 2019. “Skirining Fitokimia Ekstrak Sokhletasi Rimpang Kunyit ( *Curcuma Longa* ) Dengan Pelarut Etanol 96 %.” 1(1):12–17.
- Chandra, Andy. 2015. “Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia Rebaudiana Dengan Variabel Jenis Pelarut Dan Temperatur Ekstraksi.” *Journal of Petrology* 369(1):1689–99. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Chairani A, Harfiani E. Efektivitas getah jarak sebagai antiseptik terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida* sp. secara in vitro. *Jurnal Kedokteran Unila* 2018;2(2):84-92.
- Efruan, Gian Kirana, Martanto Martosupono, and Ferdy S. Rondonuwu. 2016. “Review: Bioaktifitas Senyawa 1,8-Sineol Pada Minyak Atsiri.” *Seminar Nasioonal Pendidikan Dan Sainstek* 2016:171–81.
- Fadhila, Z. N., Dewayanti, A. A., Syariri, D., Daniati, odilia P., Nugrahaeni, T. S., & Andriani, D. (2022). Penetapan Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Kulit Semangka. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 159–166. <https://doi.org/10.36387/jifi.v5i1.857>
- Fatimura, Muhrinsyah. 2014. “Jurnal Media Teknik.” *Pusat Penelitian Fakultas Teknik Universitas Pgri Palembang* 11(1):23–31.

Febriani, Nurida Wulan. 2014. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Dari Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Bacillus Subtilis* Serta Profil KLTnya." 1–18.

Hairrudin, Helianti D. Efek protektif propolis dalam mencegah stres oksidatif akibat aktifitas fisik berat (*swimming stress*). *Jurnal Ilmu Dasar*. 2009. 10(2):15.

Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O., Usman, L.A., Ameen, O.M., Lawal, A. Antioxidant : its Medical and Pharmacological Applications. *African Journal of pure and applied chemistry* vol.4(8), 2010, pp. 142- 151

Handayani, Kristina. 2019. "Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica Papaya* Linn .) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923."

Hidayah, Nurul. 2020. "Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Biduri (*Calotropis Gigantea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*." *Skripsi. STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung*.

Himawan R. F. (2010). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Harjanto. Stres oksidatif pada latihan olahraga. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 2003. 53(3):126. Herbie, 2015

Irawan, R. 2013. Hubungan Obesitas terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma pada Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter UIN Syarif Hidayatullah Jakarta 2013. Laporan Penelitian, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Kamal, Netty. (2010). "Pengaruh Bahan Aditif CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) Terhadap Beberapa Parameter Pada Larutan Sukrosa". Vol.1, Edisi 17.

Klau, M. L. C., Indriarini, D., & Nurina, R. L. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara *in Vitro*. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 9(1), 102–111. <https://doi.org/10.35508/cmj.v9i1.4942>

Laksmiani, N. P. L., N. M. .. Susanti, I. N. K. Widjaja, A. A. M. I. Rismayanti, and Wirasuta IM. A. G. 2015. "Pengembangan Metode Refluks Untuk Ekstraksi Andrografolid Dari Herba Sambiloto." *Jurnal Farmasi Udayana* 4(2):82–90.

Lingga Lanny. The healing power of antioxidant. Jakarta: PT. Gramedia; 2012. xii.

- Malacrida CR, Kimura M dan Jorge N. Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. Departement of Food Engineering and Technology. Brazil: Sao Paulo State University; 2011. 4.
- Malangngi, Liberty, Meiske Sangi, and Jessy Paendong. 2012. "Penentuan Kandungan Tanin Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea Americana Mill.)." *Jurnal MIPA*. doi: 10.35799/jm.1.1.2012.423.
- Mukhtarini. 2011. "Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif." *Jurnal of Pharmacy* V:361.
- Murray RK, Granner D, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. 25th Ed. Aplleton & Lange;1996
- Murtiwi, Muhadela Tiara. 2014. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Macaranga Tunarius (L.) Mull. Arg. Terhadap Streptococcus Pyogenes ATCC 19615." *Skripsi* 1–119.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., & Waris, R. (2017). Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Teh Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 241–245. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.268>
- Ngajow, Mercy, Jemmy Abidjulu, and Vanda S. Kamu. 2013. "Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia Pinnata*) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro." *Jurnal MIPA* 2(2):128. doi: 10.35799/jm.2.2.2013.3121.
- Ningsih, Indah Yulia. 2016. "Modul Saintifikasi Jamu : Penanganan Pasca Panen." *Universitas Jember* 8–30.
- Nurdianti, L., Sandria Subarna, S., Suhendy, H., Yuliana, A., Setiawan Prodi, F. S., & Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, S. (2020). perbandingan formula sediaan gel hand sanitizer dengan zat aktif ekstrak etanol daun pepaya (*carica folium* l) dan ekstrak etanol biji pepaya (*carica semen* l) terhadap bakteri Staphylococcus aureus. *Journal of Pharmacopolium*, 3(3), 136–143.
- Nurmasitoh, T., Pramaningtyas, M.D. 2015. Honey Improves Lipid Profile of Dietinduced Hipercholesterolemic Rats. *Universa Medicina*. 34:3. 177-186
- Oktaviani Tri. Efek rebusan daun sambaing solok (*Aerva sanguinolenta* (L.) Blume) terhadap kadar MDA pada mencit dan aktivitas antioksidan secara *in vitro* [skripsi]. Jakarta: Universitas Pancasila; 2013. 28-30.
- Patil, SB. Kodliwadmatc, MV dan Sheela, MK, 2008, Correlation Between Lipid Peroxidation and Non-enzymatic Actioxidant in Pregnancy Induced Hypertension, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, Vol. 23, No. 1, Hal 45-4.

- Pialoux, V., Hanly, P. J., Foster, G. E., Brugniaux, J. V., Beaudin, A. E., Hartmann, S. E., ... Poulin, M. J. (2009). Effects of exposure to intermittent hypoxia on oxidative stress and acute hypoxic ventilatory response in humans. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.
- Prakash, Aruna, Fred Rigelhof, dan Uegene Miller, 2001. *Antioxidant Activity Medallion Laboratories: Analytical Progress, A Publication of Medallion Lab: 1-4*. Pustaka Pangan, 2012
- Prasetyo S., Susiana, Prima K., A., Yosephine, Felicia. 2011. "Pengaruh Rasio Biji Teh/Pelarut Air Dan Teperatur Pada Ekstraksi Saponin Biji Teh Secara Batch."
- Prashant Tiwari, BimleshKumar, Mandeep Kaur, GurpreetKaur, Harleen Kaur. 2011. "Phytochemical Screening and Extraction." *Hepatology* 66(6):1866–84. doi: 10.1002/hep.29375.
- Puspitarsari, Laode, Herman. 2018. Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Brotowali (*Tinospora tuberculata* Beumee). ISTN. Jagakarsa Jakarta.
- Putri, Atikah Halimah, Ria Siti Putriyana, and Novia Silviani. 2019. "Isolasi Dan Ekstraksi Kelompok Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe Pinnata*)."  
*Fullerene Journal of Chemistry* 4(2):28. doi: 10.37033/fjc.v4i2.52
- Rachmawati, S., & PM, W. (2013). Kadar Melamin pada Produk Berbahan Susu dan Susu Bubuk yang Dianalisis secara Liquid Chromatography Mass Spectrometry ( LC-MS ). *JITV (Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner)*, 18(1), 63–69.
- Rais, Ichwan Ridwan. 2014. "Ekstraksi Andrografolid Dari (Burm.f.) Nees Menggunakan Ekstraktor Soxhlet." *Pharmaciana* 4(1). doi: 10.12928/pharmaciana.v4i1.402.
- Redha, A. 2010. "Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis." *Jurnal Berlin* 9(2):196–202. doi: 10.1186/2110-5820-1-7.
- Reo, A. R., S. Berhimpon, and R. Montolalu. 2017. Metabolit Sekunder *Gorgonia* (*Paramuricea clavata*), *Jurnal Ilmiah Platax*, 5(1), pp. 42–48. doi: 2302-3589.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia Diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal Of Pharmacy And Natural Product*, 3(1), 8– 18. <https://doi.org/10.35473/Ijpn.v3i1.481>

- Romadanu, Romadanu, Siti Hanggita, and Shanti Lestari. 2014. "Penguujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo Nucifera*)." *Jurnal Fishtech* 3(1):1–7. doi: 10.36706/fishtech.v3i1.3523.
- Rosidah, I., Zainuddin, Z., Agustini, K., Bunga, O., & Pudjiastuti, L. (2020). Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). *Farmasains: Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*, 7(1), 13–20. <https://doi.org/10.22236/farmasains.v7i1.4175>
- Santoso, A., Hidayati, T., Akrom, A., & Nurani, L. H. (2021). The Effect of Black Cumin Seed Oil on Alanine Aminotransferase Levels which are Influenced by Nutritional Status in Active Smokers. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 18(2), 432. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v18i2.13256>
- Seager, S. L. & Slabaugh, M. R. (2014). *Organic and Biochemistry for Today*, Eighth Edition. USA: Brooks/Cole, Cengage Learning.
- Sandhiutami, Ni Made Dwi. 2010. *Antioxidant Activity Test and Determination of Phenolic and Flavonoid Contents From Buah Merah (Pandanus conoideus LAM)*. Universitas Pancasila.
- Sholikin, Laila Nurhidayatus. 2016. "Identifikasi Fraksi Aktif Antivirus Hepatitis C Dari Ekstrak Etanol 80% Herba *Scoparia Dulcis* Linn." *Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Departemen Farmakognosi Dan Fatokimia: Surabaya*.
- Sudarmi, Kadek, Ida Bagus Gede Darmayasa, and I. Ketut Muksin. 2017. "Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium Cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* ATCC." *SIMBIOSIS Journal of Biological Sciences* 5(2):47. doi: 10.24843/jsimbiosis.2017.v05.i02.p03.
- Sugiyono. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta. 2013
- Suhendar, U., Utami, N. F., Sutanto, D., & Nurdayanty, S. M. (2020). pengaruh berbagai metode ekstraksi pada penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol daun iler (*plectranthus scutellarioides*). *fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83. <https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2069>
- Sylvia, O. 2017. 'Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Dari Dua Varietas terhadap Bakteri *Escherichia coli* Ovalina', *Jurnal Stikna*, 1(2), pp. 183–188.
- Tiwari, P.. 2011. "Phytochemical Screening and Extraction: A Riview. *International Pharmaceutical Scienca*," 1:98–106.

Utra, W. S. 2015. *Kitab Herbal Nusantara Kumpulan Resep & Ramuan Tanaman Obat Untuk Berbagai Gangguan Kesehatan*. Edisi 1 . Editor Andien. Yogyakarta: Katahati.

Wijaya, Heri, Novitasari, and Siti Jubaidah. 2018. "Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambut Laut (*Sonneratia Caseolaris* L. Engl)." *Jurnal Ilmiah Manuntung* 4(1):79–83.

Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Indonesian Journal of Biotechnology Medicine*, 3, 59–68.

Widayati, E. (2012). Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxidant. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*, 50(128), 26–32.

Winarsih. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

Wijayani, A., U. Khoirulah dan T. Siti. (2005). "Karakterisasi Karboksimetil Selulosa (CMC) dari *Eceng Gondok* (*Eichornia crassipes* (Mart) Solms)". *Indo. J. Chem.* 5 (3): 228 – 23.

Zainuri, M., & Wanandi, S. I. (2012). Aktivitas Spesifik Manganese Superoxide Dismutase (Mnsod) dan Katalase pada Hati Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya dengan Kerusakan Oksidatif. *Media Of Health Research and Development*, 22(2 JUN), 87–92.

Zhou K, Wang H, Mei W, Li X, Lou Y dan Dai H. Antioxidant activity of papaya seed extracts. *China*. 2011. 6

Tasaso, P. (2015). "Optimizing of Reaction Conditions for Synthesis of Carboxymethyl Cellulose from Oil Palm Fronds". *International Journal of Chemical Engineering and Application*. 6 (2) : 102  
<http://netsains.net/2011/09/mengenal-kromatografi-dan-hplc/>

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Sertifikat Ethical Clearance



**Institutional Ethical Committee**  
**University of Surabaya**  
Jalan Raya Kalirunglut, Surabaya, 60293, Gedung FF 02.01  
 Telepon (031) 2981213, Faksimile (031) 2981256  
 Email : komite\_etik@unit.uabaya.ac.id

---

No.: 106/KE/IV/2023

**ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE**

TO WHOM IT MAY CONCERN

This is to certify that Sherly Ayuramasari has obtained the necessary ethics approvals for the research project entitled "Identification of Ethanol Extract of Papaya (*Carica papaya* L.) Seeds with LCMS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) and Effect of Administration on SOD (Superoxidase Dismutase) and MDA (Malondialdehyde) in the Kidney and Heart of Male Rat (*Sprague Dawley*) Strains" for the time period March 20, 2023—May 17, 2023. The Ethics Committee expects to be informed about, any serious adverse event occurring in the course of the study or any revision in the protocol.

Surabaya, 13.04.2023



**Dr. rer. nar Sunstyo Emantoko Dwi Putra**

Head of  
 Institutional Ethical Committee  
 University of Surabaya



Lampiran 2. Surat Sertifikat Hewan Uji

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

**SURAT KETERANGAN**  
No. 072/SSI/SPN/V/2023

Yang bertanda tangan di bawah ini :

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

Menerangkan bahwa :

Nama : Pera Amelia  
Program Studi : Farmasi  
Institusi : Stikes Karya Putra Bangsa, Sumbergempol, Tulungagung  
Alamat : Ds. Sumberejo Rt02/Rw01 Kec. Durenan Kab. Trenggalek

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

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

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

Malang, 25 Mei 2023  
Kepala Laboratorium,



drh. Dewi Mariyam

**Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001**

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

laboratorium@satwasehatindonesia.com  
www.satwasehatindonesia.com

Lampiran 3. Surat keterangan peneliti



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

SURAT KETERANGAN

Nomor : 067/SSI/SPN/V/2023  
Perihal : Surat Keterangan Peneliti

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

Nama : Pera Amelia  
Program Studi : Farmasi  
Perguruan Tinggi : Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung  
Alamat : Ds. Sumberejo Rt03/Rw01 Kec. Durenan Kab. Trenggalek

Dengan ini menyatakan mahasiswa tersebut benar melaksanakan penelitian di Laboratorium Satwa Sehat Indonesia, pada tanggal 25 Mei 2023. Dengan judul :

*"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (CARICA PAPAYA L.) TERHADAP SOD (SUPEROXIDE) DAN MDA (MALONDIALDEHIDA) PADA JANTUNG TIKUS JANTAN GALUR (SPRAGUE DAWLEY) PARAMETER TIAP ORGAN: SOD DAN MDA"*

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

Malang, 25/05/2023

Kepala Laboratorium,



(Dewi Mariyam, drh)

SIP. 520.11/0005/35.73.406/2023

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001  
Office & Lab : Jl. Dako No. 52, Tidar, Malang  
Klinik Malang : Jl. Raya Candi V, No 368 Kav. 9 -10, Tidar, Malang  
Rumah Sakit Batu : Jl. Karate No. 16, Ngaglik, Batu  
laboratorium@satwasehatindonesia.c  
www.satwasehatindonesia.c

### Lampiran 4. Hasil determinasi Biji Pepaya



**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/ 568/ 102.20/ 2023  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : PERA AMELIA  
NIM : 1913206036  
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

- 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), Periek (Gayo), Pastela (Batak), Embelik (Karo), Gedang (Lampung), Gedang (Sunda), Kates (Jawa), Kates (Madura), Gedang (Bali), Kustela (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*.
- Morfologi : Habitus: Perdu, tinggi ±10 m. Batang: Tidak ber kayu, 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 berlandkai pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompet, tepi bertaji 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.
- Bagian yang digunakan : Biji.
- Penggunaan : Penelitian.
- 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, 08 Maret 2023

**KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU**

**ACHIMAD MABRUR, SKM, M.Kes.**  
Pembina  
NIP. 19680203 199203 1 004

-UU ITE No 11 Tahun 2008 Pasal 3 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 BSEI.



Lampiran 5. Hasil Kadar Abu Ekstrak Biji Pepaya




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

**LAPORAN HASIL ANALISIS**  
 NO : 3154/UN10.F09.12/TA.00.02.3/2023

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

Malang, 02 Mei 2023  
 Ketua Departemen Kimia,  
  
 TTE oleh:  
**YUNIAR PONCO PRANANTO**  
 02 Mei 2023 22:49  
 Verifikasi melalui:  
<https://cekkub.ac.id>  
 Yuniar Ponce Prananto, S.Si., M.Sc., Ph.D.  
 NIP. 198106202005011002

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

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

No	Kode	Parameter	Hasil Analisis		Metode Analisis	
			Kadar	Satuan	Pereaksi	Metode
1.	BP	Kadar Abu	17,38 ± 0,07	%	-	Gravimetri
2.	BP	Kadar Air	6,76 ± 0,09	%	-	Gravimetri

- Catatan:
- 1. Hasil analisis ini adalah nilai rata-rata pengerjaan analisis secara duplo.
  - 2. Hasil analisis ini hanya berlaku untuk sampel yang kami terima dengan kondisi sampel saat itu.

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

1. Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)



2. Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Pepaya



Biji pepaya kering



Pengayakan



Menimbang serbuk



Maserasi



Penyaringan



Rotary evaporator



Ekstrak kental

**3. Uji Bebas Etanol**

**a. Uji bebas dengan dilakukan mencium bau ester**



Sebelum Perlakuan



Sesudah perlakuan

**b. Uji bebas etanol dengan dilakukan perubahan warna**



Sebelum perlakuan



Sesudah perlakuan

**4. Rendemen ekstrak**



**5. Skining fitokimia**

**a. Uji Flavonoid**



Sebelum perlakuan



Sesudah perlakuan

**b. Uji Saponin**



Sebelum perlakuan

Sesudah perlakuan

c. Uji Tanin



Sebelum perlakuan



Sesudah perlakuan

d. Uji Alkaloid



Sebelum perlakuan



Sesudah pereaksi Mayer



Sesudah pereaksi Dragendroff



### 7. Perlakuan Hewan Uji



Kandang tikus



Tikus jantan *Sprague Dawley*



Alat sonde dan minyak babi



Ekstrak biji pepaya



Pemberian secara oral menggunakan sonde



Anastesi



Alat pembedahan



Pembedahan



Pengambilan organ jantung



Organ jantung



Jantung dimasukkan ke dalam pot salep dan diberi formalin

**Pelaksanaan penelitian hewan uji di Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang**



## Lampiran 8. Perhitungan Dosis

### 1. Pembuatan Dosis Ekstrak Biji Pepaya

Dosis ekstrak biji pepaya yang digunakan adalah 150 mg, 250 mg, 350 mg.

- **Dosis I** = 150 mg/kgBB tikus  
 = 150 mg/kgBB x 0,2 kg = 30 mg/kgBB  
**Dosis lambung** = 5 x 7 x 2,5 ml = 87,5 ml  
 = 5 x 30 x 7 = 1050 mg/87,5 ml

Maka ekstrak ditimbang sebanyak 1.050 mg kemudian dilarutkan  
87,5 ml CMC-Na 0,5%

- **Dosis II** = 250 mg/kgBB tikus  
 = 250 mg/kgBB x 0,2 kg = 50 mg/kgBB  
**Dosis lambung** = 5 x 7 x 2,5 ml = 87,5 ml  
 = 5 x 50 x 7 = 1.750 mg/87,5 ml

Maka ekstrak ditimbang sebanyak 1.750 mg kemudian dilarutkan  
87,5 ml CMC-Na 0,5%

- **Dosis III** = 350 mg/kgBB tikus  
 = 350 mg/kgBB x 0,2 kg = 70 mg/kgBB  
**Dosis lambung** = 5 x 7 x 2,5 ml = 87,5 ml  
 = 5 x 70 x 7 = 2.450 mg/87,5 ml

Maka ekstrak ditimbang sebanyak 2.450 mg kemudian dilarutkan  
87,5 ml CMC-Na 0,5%

Keterangan :

Angka 5 : jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Angka 7 : jumlah hari terapi

Angka 87,5 ml : jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x jumlah  
hari terapi x 2,5 ml lambung tikus

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

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

3. Pembuatan pakan tinggi lemak

Minyak babi murni 5ml.



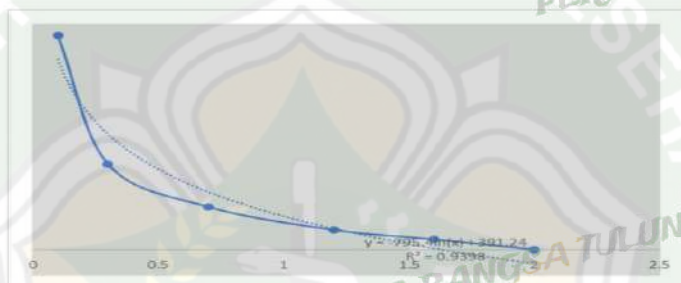
### Lampiran 9. Hasil Tabel Pemeriksaan Kadar MDA

KODE SAMPEL	MDA (ng/100 $\mu$ L)		RERATA
Kontrol normal 1.1	16.58	16.57	16.58
KN1.2	17.91	17.80	17.86
KN1.3	18.21	18.32	18.27
KN1.4	27.43	27.58	27.51
KN1.5	17.56	17.99	17.78
Kontrol positif 1.1	7.85	7.90	7.88
K+1.2	9.26	9.85	9.56
K+1.3	9.23	9.67	9.45
K+1.4	9.36	10.05	9.71
K+1.5	8.73	9.21	8.97
Kontrol negatif 1.1	27.69	27.58	27.64
K-1.2	26.14	26.25	26.20
K-1.3	16.05	16.08	16.07
K-1.4	26.23	26.36	26.30
K-1.5	25.67	25.99	25.83
Perlakuan 1.1	10.53	10.57	10.55
P1.2	25.92	25.99	25.96
P1.3	11.74	11.28	11.51
P1.4	12.23	12.96	12.60
P1.5	14.73	14.68	14.71
Perlakuan 2.1	10.51	10.58	10.55
P2.2	9.21	9.23	9.22
P2.3	9.67	9.66	9.67
P2.4	6.51	7.01	6.76
P2.5	6.32	6.22	6.27
Perlakuan 3.1	2.49	2.69	2.59
P3.2	4.29	4.69	4.49
P3.3	5.50	5.68	5.59
P3.4	1.02	1.63	1.33
P3.5	3.39	3.58	3.49

Dari data kurva standar yang digunakan didapatkan persamaan garis:  $Y = 0,795.4\ln(x) + 0,391$  dengan nilai  $r = 0,9398$

Kurva Standart MDA

NO	KONSENTRASI MDA STANDART (ng/100 $\mu$ L)	Nilai Optical Density (OD <sub>450</sub> )
1	2	0
2	1,6	120
3	1,2	230
4	0,7	500
5	0,3	1000
6	0,1	2500



### Lampiran 10. Hasil Statistik Kadar MDA Jantung

#### A. Uji Normalitas

##### Tests of Normality

	kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MDA	kontrol normal	.136	5	.200*	.990	5	.981
	kontrol positif	.158	5	.200*	.980	5	.933
	kontrol negatif	.283	5	.200*	.917	5	.514
	perlakuan 1	.360	5	.033	.717	5	.014
	perlakuan 2	.179	5	.200*	.960	5	.806
	perlakuan 3	.260	5	.200*	.915	5	.500

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

a. Lilliefors Significance Correction

## B. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.046	5	24	.414

## C. Uji Anova

**ANOVA**

MDA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2769.448	5	553.890	8.670	.000
Within Groups	1533.179	24	63.882		
Total	4302.627	29			

## D. Uji Post Hock

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: MDA

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol positif	-15.81200*	5.05500	.046	-31.4417	-.1823
	kontrol negatif	13.31000	5.05500	.128	-2.3197	28.9397
	perlakuan 1	-7.71800	5.05500	.651	-23.3477	7.9117
	perlakuan 2	-8.68800	5.05500	.533	-24.3177	6.9417
kontrol positif	kontrol normal	15.81200*	5.05500	.046	.1823	31.4417
	kontrol negatif	29.12200*	5.05500	.000	13.4923	44.7517
	perlakuan 3	-12.48800	5.05500	.173	-28.1177	3.1417



	perlakuan 1	8.09400	5.0550 0	.606	-7.5357	23.7237
	perlakuan 2	7.12400	5.0550 0	.721	-8.5057	22.7537
	perlakuan 3	3.32400	5.0550 0	.985	-12.3057	18.9537
kontrol negatif	kontrol normal	-13.31000	5.0550 0	.128	-28.9397	2.3197
	kontrol positif	-29.12200*	5.0550 0	.000	-44.7517	-13.4923
	perlakuan 1	-21.02800*	5.0550 0	.004	-36.6577	-5.3983
	perlakuan 2	-21.99800*	5.0550 0	.003	-37.6277	-6.3683
	perlakuan 3	-25.79800*	5.0550 0	.000	-41.4277	-10.1683
perlakuan 1	kontrol normal	7.71800	5.0550 0	.651	-7.9117	23.3477
	kontrol positif	-8.09400	5.0550 0	.606	-23.7237	7.5357
	kontrol negatif	21.02800*	5.0550 0	.004	5.3983	36.6577
	perlakuan 2	-9.97000	5.0550 0	1.000	-16.5997	14.6597
	perlakuan 3	-4.77000	5.0550 0	.931	-20.3997	10.8597
perlakuan 2	kontrol normal	8.68800	5.0550 0	.533	-6.9417	24.3177
	kontrol positif	-7.12400	5.0550 0	.721	-22.7537	8.5057
	kontrol negatif	21.99800*	5.0550 0	.003	6.3683	37.6277
	perlakuan 1	.97000	5.0550 0	1.000	-14.6597	16.5997
	perlakuan 3	-3.80000	5.0550 0	.973	-19.4297	11.8297

perlakuan 3	kontrol normal	12.48800	5.0550 0	.173	-3.1417	28.1177
	kontrol positif	-3.32400	5.0550 0	.985	-18.9537	12.3057
	kontrol negatif	25.79800*	5.0550 0	.000	10.1683	41.4277
	perlakuan 1	4.77000	5.0550 0	.931	-10.8597	20.3997
	perlakuan 2	3.80000	5.0550 0	.973	-11.8297	19.4297

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

### E. Uji Tukey

#### MDA

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	5	36.3440		
kontrol normal	5	49.6540	49.6540	
perlakuan 1	5		57.3720	57.3720
perlakuan 2	5		58.3420	58.3420
perlakuan 3	5		62.1420	62.1420
kontrol positif	5			65.4660
Sig.		.128	.173	.606

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

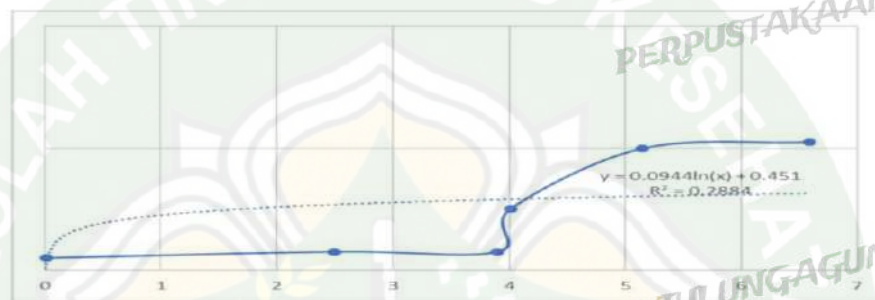
### Lampiran 11. Hasil Tabel Pemeriksaan Kadar SOD

KODE SAMPEL	SOD (unit/100 $\mu$ L)		RERATA
Kontrol normal 1.1	50.17	51.06	50.62
KN1.2	54.10	55.04	54.57
KN1.3	64.68	65.25	64.97
KN1.4	42.13	42.96	42.55
KN1.5	35.24	35.87	35.56
Kontrol positif 1.1	65.77	66.22	66.00
K+1.2	61.17	61.47	61.32
K+1.3	73.37	73.96	73.67
K+1.4	68.71	67.14	67.93
K+1.5	58.41	58.41	58.41
Kontrol negatif 1.1	24.83	25.98	25.41
K-1.2	35.86	36.58	36.22
K-1.3	37.59	36.98	37.29
K-1.4	35.52	36.52	36.02
K-1.5	46.30	47.25	46.78
Perlakuan 1.1	53.80	54.12	53.96
P1.2	53.62	53.85	53.74
P1.3	62.95	62.99	62.97
P1.4	62.25	62.47	62.36
P1.5	53.70	53.96	53.83
Perlakuan 2.1	62.69	62.21	62.45
P2.2	67.90	67.23	67.57
P2.3	53.02	53.22	53.12
P2.4	57.91	57.41	57.66
P2.5	50.82	50.99	50.91
Perlakuan 3.1	49.49	51.25	50.37
P3.2	53.48	54.20	53.84
P3.3	73.17	73.96	73.57
P3.4	66.15	66.15	66.15
P3.5	66.50	67.05	66.78

Dari data kurva standar yang digunakan didapatkan persamaan garis:  $Y = 0,0944 \ln(x) + 0,451$  dengan nilai  $r = 0,2884$

**Kurva Standart SOD**

NO	KONSENTRASI SOD STANDART (unit/100 $\mu$ L)	Nilai Optical Density ( $OD_{450}$ )
1	0.01	0.1
2	2.5	0.15
3	3.9	0.15
4	4.01	0.5
5	5.15	1
6	6.59	1.05
7	10	1.2



## Lampiran 12. Hasil Statistik Kadar SOD Jantung

### A. Uji Normalitas

#### Tests of Normality

	kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SDO	kontrol normal	.417	5	.005	.683	5	.006
	kontrol positif	.274	5	.200*	.835	5	.152
	kontrol negatif	.419	5	.004	.686	5	.007
	perlakuan 1	.323	5	.097	.768	5	.043
	perlakuan 2	.251	5	.200*	.893	5	.372
	perlakuan 3	.126	5	.200*	.994	5	.992

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

a. Lilliefors Significance Correction

## B. Uji Homogenitas

## C. Test of Homogeneity of Variances

SDO

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.960	5	24	.121

## D. Uji Anova

## E. ANOVA

SDO

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1514.359	5	302.872	20.552	.000
Within Groups	353.691	24	14.737		
Total	1868.050	29			

## E. Uji Post Hock

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: SDO

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol positif	10.48600*	2.42793	.003	2.9790	17.9930
	kontrol negatif	-4.80800	2.42793	.382	-12.3150	2.6990
	perlakuan 1	4.53400	2.42793	.445	-2.9730	12.0410
	perlakuan 2	11.10600*	2.42793	.002	3.5990	18.6130
kontrol positif	kontrol normal	-10.48600*	2.42793	.003	-17.9930	-2.9790
	kontrol negatif	-15.29400*	2.42793	.000	-22.8010	-7.7870
	perlakuan 1	-5.95200	2.42793	.179	-13.4590	1.5550
	perlakuan 2	.62000	2.42793	1.000	-6.8870	8.1270
kontrol negatif	kontrol normal	4.80800	2.42793	.382	-2.6990	12.3150
	kontrol positif	15.29400*	2.42793	.000	7.7870	22.8010
	perlakuan 1	9.34200*	2.42793	.009	1.8350	16.8490
	perlakuan 2	15.91400*	2.42793	.000	8.4070	23.4210

	perlakuan 3	20.91000*	2.42793	.000	13.4030	28.4170
perlakuan 1	kontrol normal	-4.53400	2.42793	.445	-12.0410	2.9730
	kontrol positif	5.95200	2.42793	.179	-1.5550	13.4590
	kontrol negatif	-9.34200*	2.42793	.009	-16.8490	-1.8350
	perlakuan 2	6.57200	2.42793	.111	-.9350	14.0790
perlakuan 2	perlakuan 3	11.56800*	2.42793	.001	4.0610	19.0750
	kontrol normal	-11.10600*	2.42793	.002	-18.6130	-3.5990
	kontrol positif	-.62000	2.42793	1.000	-8.1270	6.8870
	kontrol negatif	-15.91400*	2.42793	.000	-23.4210	-8.4070
perlakuan 3	perlakuan 1	-6.57200	2.42793	.111	-14.0790	.9350
	perlakuan 3	4.99600	2.42793	.341	-2.5110	12.5030
	kontrol normal	-16.10200*	2.42793	.000	-23.6090	-8.5950
	kontrol positif	-5.61600	2.42793	.228	-13.1230	1.8910
perlakuan 3	kontrol negatif	-20.91000*	2.42793	.000	-28.4170	-13.4030
	perlakuan 1	-11.56800*	2.42793	.001	-19.0750	-4.0610
	perlakuan 2	-4.99600	2.42793	.341	-12.5030	2.5110

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

## F. Uji Tukey

### SDO

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
perlakuan 3	5	3.4980			
perlakuan 2	5	8.4940	8.4940		
kontrol positif	5	9.1140	9.1140		
perlakuan 1	5		15.0660	15.0660	
kontrol normal	5			19.6000	19.6000
kontrol negatif	5				24.4080
Sig.		.228	.111	.445	.382

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

### Lampiran 13. Jadwal Penelitian

**Tabel 3.1** Jadwal Penelitian

Jadwal Penelitian	Tahun 2022 Bulan ke -			Tahun 2023 Bulan ke -							Tempat
	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	
1. Persiapan	√										STIKes Karya Putra Bangsa
2. Proposal		√	√								STIKes Karya Putra Bangsa
3. Seminar proposal											STIKes Karya Putra Bangsa
4. Pengajuan Ethical Clearence				√							Komisi Etik Penelitian
5. Pengambilan sampel				√							Desa Mirigambar
a. Determinasi Tanaman				√							UPT Materia Medica
b. Pembuatan Simplisia					√						Laboratorium Kartrasa
c. Maserasi					√						Laboratorium Kartasa
d. Proses Ekstraksi						√					Universitas Brawijaya Malang
e. Analisis LC-MS						√					Universitas Muhammadiyah Malang
6. Perlakuan hewan uji							√				Lab. Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang
7. Pengukuran kadarsod dan mda							√				Lab. Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang
8. Pengumpulan dan Analisis Data							√				STIKes Karya Putra Bangsa
9. Pengajuan seminar hasil								√	√		STIKes Karya Putra Bangsa
10. Pengumpulan laporan akhir									√	√	STIKes Karya Putra Bangsa