

**IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
DENGAN LCMS DAN PENGARUH PEMBERIAN TERHADAP
SOD DAN MDA PADA GINJAL TIKUS JANTAN**

SKRIPSI



Oleh :

SHERLY AYURAMADASARI

1913206043

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

2023

**IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
DENGAN LCMS DAN PENGARUH PEMBERIAN TERHADAP
SOD DAN MDA PADA GINJAL TIKUS JANTAN**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S. Farm.) Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

SHERLY AYURAMADASARI

1913206043

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

2023

IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL Biji PEPAYA
DENGAN LCMS DAN PENGARUH PEMBERIAN TERHADAP
SOD DAN MDA PADA GINJAL TIKUS JANTAN

Yang diajukan oleh :

SHERLY AYURAMADASARI

1913206044

Yang disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

apt. Choirul Huda, M.Farm

NIDN. 07 260385 02

Rahma Diyan Martha, S.Si, M.Sc

NIDN. 07 100291 01

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

HALAMAN PENGESAHAN
SKRIPSI

IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
DENGAN LCMS DAN PENGARUH PEMBERIAN TERHADAP
SOD DAN MDA PADA GINJAL TIKUS JANTAN

Oleh :

SHERLY AYURAMADASARI

1913206043

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

Tanggal : 18 Agustus 2023

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

Anggota Penguji 1. Rahma Diyan Martha, S.Si.,M.Sc.

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

3. apt. Dara Pranidya Tilarso.,M.Farm

(... ..)
(... ..)
(... ..)
(... ..)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

(Signature)
apt. Arif Santoso, M.Farm

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

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, 7 Juli 2023

Sherly Ayuramadasari

KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah Subhanahuwata'ala atas kelimpahan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Biji Pepaya Dengan LCMS Dan Pengaruh Pemberian Terhadap SOD dan MDA Pada Ginjal Tikus Jantan”** sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes). Tidak lupa shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi kita Muhammad SAW, yang telah menuntun kita dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang.

Dalam penyusunan dan penulisan proposal ini penulis banyak sekali mengalami hambatan, namun berkat bantuan, serta dukungan dari berbagai pihak, akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak apt. Arif Santoso, M.Farm selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
2. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm, selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
3. Bapak apt. Choirul Huda, M.Farm, selaku pembimbing 1 yang telah memberikan pengarahan, bimbingan dan motivasi selama penyusunan naskah.
4. Ibu Rahma Diyan Martha, S. Si., M. Sc, selaku pembimbing 2 yang telah memberikan saran , bimbingan dan masukan selama penyusunan naskah.
5. Orang tua yang telah memberikan dukungan, semangat, motivasi dan doa yang sangat berarti bagi penulis dalam penyusunan skripsi ini.
6. Kakek, nenek dan seluruh anggota keluarga yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan doa dalam mengerjakan proposal ini.
7. Semua saudara saya yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam menyusun skripsi ini
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan secara satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk melengkapi segala kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Akhir kata penulis ucapkan terimakasih, semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kedepannya.

Tulungagung, 7 Juli 2023

Sherly Ayuramadasari

IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA DENGAN LCMS DAN PENGARUH PEMBERIAN TERHADAP SOD DAN MDA PADA GINJAL TIKUS JANTAN

SHERLY AYURAMADASARI

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Dislipidemia dapat menyebabkan kerusakan dari jaringan ginjal yang mengakibatkan stress oksidatif. Tanaman yang dapat meningkatkan SOD dan menurunkan kadar MDA yaitu biji pepaya. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk menguji efektivitas ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar SOD dan MDA pada ginjal tikus jantan *Sprague Dawley* yang diinduksi tinggi lemak selama 17 hari. Penelitian ini menggunakan model *eksperimental* terhadap 30 tikus *Sprague Dawley*. Sampel biji pepaya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70 %. Kandungan senyawa ekstrak etanol biji pepaya diidentifikasi menggunakan instrumen LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*). Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol normal (KN), kontrol (K+), kelompok negatif (K-), perlakuan 1 (150mg/kgBB), perlakuan 2 (250mg/kgBB), perlakuan 3 (350mg/kgBB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya terhadap penurunan MDA pada perlakuan 3 (350mg/kgBB) dengan kadar rata-rata $3,48 \pm 1,27$. Hasil peningkatan SOD pada kontrol positif dengan rata-rata $63,69 \pm 5,83$ dan perlakuan 3 (350mg/kgBB) dengan kadar rata-rata $58,47 \pm 9,54$ tidak ada perbedaan bermakna. Identifikasi kandungan senyawa pada ekstrak etanol biji pepaya menggunakan instrumen LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) diperoleh senyawa *carpaine* sebesar 3,12924%, *quercetin* sebesar 2,47910%, *3-O-galloyleigallocatechin (4 β →epigallocatechin-3-O-gallate)* sebesar 1,92455%, *fumaric acid* sebesar 1,86869%, dan *sambunigrin* sebesar 1,12490%.

Kata kunci : SOD, MDA, Ginjal, Ekstrak Biji Pepaya, LCMS

IDENTIFICATION OF PAPAYA SEED ETHANOL EXTRACT COMPOUNDS WITH LCMS AND THE INFLUENCE OF ADMINISTERING SOD AND MDA IN KIDNEY OF MALE RATS

SHERLY AYURAMADASARI

Pharmacy S1 Study Program

ABSTRACT

Dyslipidemia can cause damage to kidney tissue resulting in oxidative stress. Plants that can increase SOD and reduce MDA levels are papaya seeds. The aim of this study was to test the effectiveness of papaya (*Carica papaya* L.) seed ethanol extract on SOD and MDA levels in the kidneys of male Sprague Dawley rats induced by high fat for 17 days. This study used an experimental model of 30 Sprague Dawley rats. Papaya seed samples were extracted using the maceration method with 70% ethanol. The compound content of the ethanol extract of papaya seeds was identified using the LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) instrument. Mice were divided into 6 groups: normal control (KN), control (K+), negative group (K-), treatment 1 (150 mg/kgBB), treatment 2 (250 mg/kgBB), treatment 3 (350 mg/kgBB). The results showed that papaya seed extract reduced MDA in treatment 3 (350 mg/kg BW) with an average level of 3.48 ± 1.27 . The results of an increase in SOD in the positive control with an average of 63.69 ± 5.83 and treatment 3 (350 mg/kg BW) with an average level of 58.47 ± 9.54 there was no significant difference. Identification of the compound content in the ethanol extract of papaya seeds using the LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) instrument obtained carpaine compounds of 3.12924%, quercetin of 2.47910%, 3-O-galloyleigallocatechin (4β -epigallocatechin-3-O-gallate) of 1.92455%, fumaric acid of 1.86869%, and sambunigrin of 1.12490%.

Keywords : SOD, MDA, Kidney, Papaya Seed Extract, LCMS

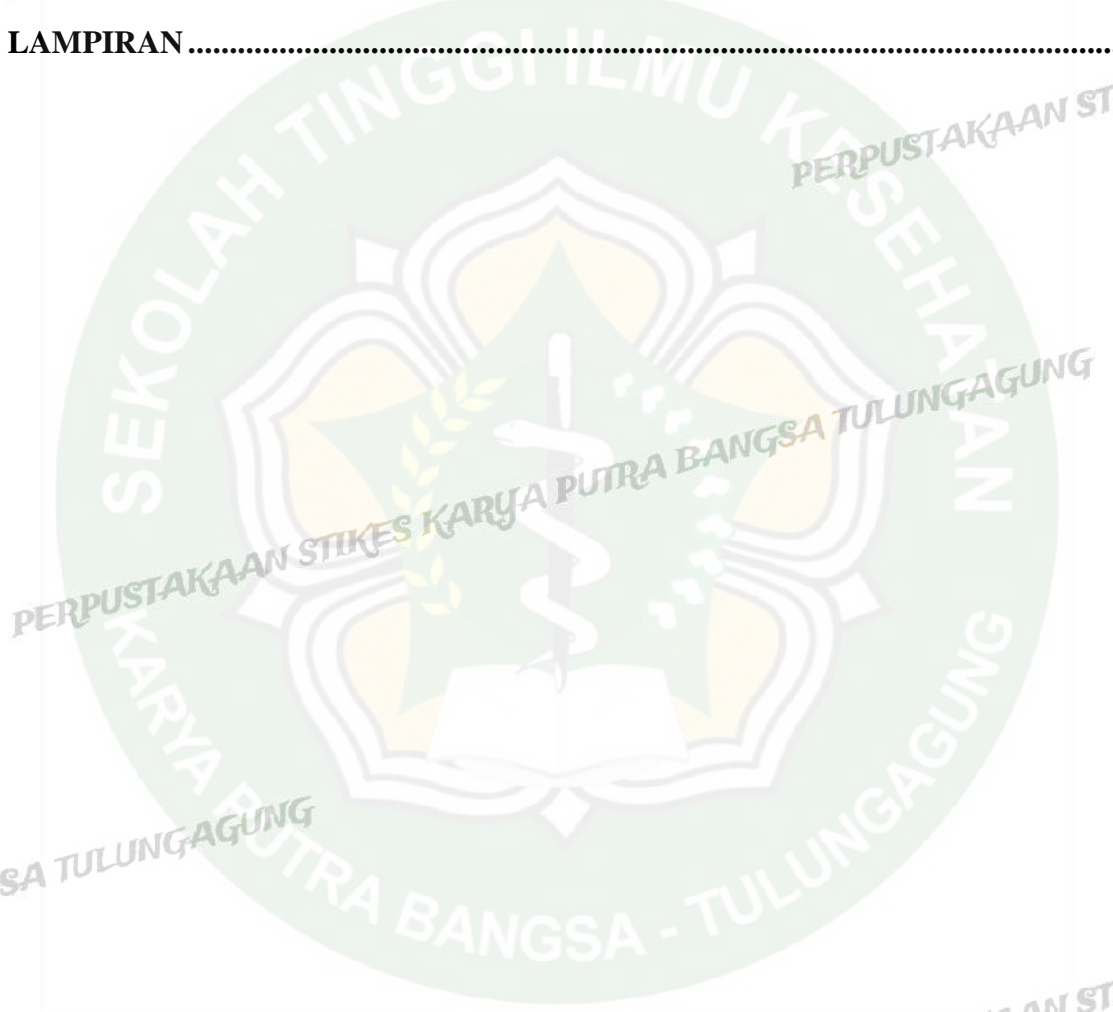
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
INTISARI.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	4
1.5 Relevansi Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ginjal	6
2.1.1 Definisi Ginjal.....	6
2.1.2 Fungsi Ginjal	7
2.2 Dislipidemia	7
2.2.1 Definisi Dislipidemia	7
2.2.2 Etiologi Dislipidemia	7
2.3 Radikal Bebas.....	8
2.4 Superoxide Dismutase (SOD).....	9
2.5 Malondialdehid (MDA)	9
2.6 Tanaman Pepaya (<i>Carica papaya L</i>).....	10
2.6.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya.....	11
2.6.2 Morfologi Tanaman Pepaya	11
2.6.3 Kandungan Senyawa Tanaman Pepaya.....	15
2.7 Simplisia	19

2.7.1	Defini Simplisia	19
2.7.2	Klasifikasi Simplisia	19
2.7.3	Syarat simplisia	20
2.7.4	Penyiapan simplisia.....	20
2.7.5	Pengumpulan bahan baku	20
2.8	Ekstrak	23
2.8.1	<i>Rotary Evaporator</i>	24
2.9	Ekstraksi.....	24
2.9.1	Ekstraksi cara dingin	25
2.9.2	Ekstraksi cara panas	26
2.10	Pelarut	27
2.10.1	Etanol.....	27
2.10.2	Carboxymethyl Cellulose Sodium (Na-CMC)	28
2.10.3	Aquades	28
2.11	Analisis LCMS	29
2.12	Hewan Uji	29
2.12.1	Definisi Tikus	29
2.12.2	Klasifikasi Tikus	30
2.12.3	Pengambilan sampel organ hewan uji	31
BAB III METODOLOGI		32
3.1	Alat dan Bahan	32
3.1.1	Alat	32
3.1.2	Bahan.....	32
3.2	Lokasi Penelitian	32
3.3	Populasi Penelitian	33
3.4	Sampel Penelitian	33
3.5	Variabel Penelitian	33
3.5.2	Variabel Kontrol	33
3.5.3	Variabel Terikat	34
3.6	Metode Penelitian	34
3.6.1	<i>Ethical Clearance</i>	34

3.6.2	Determinasi Tanaman	34
3.6.3	Pembuatan Simplisia	34
3.6.4	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	35
3.6.5	Skrining Fitokimia	37
3.6.6	Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LC-MS	38
3.7	Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif	38
3.7.1	Kontrol Negatif Larutan CMC Na 0,5 %	38
3.7.2	Kontrol Positif Fruktosa	38
3.8	Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya	39
3.8.1	Pembuatan Pakan Tinggi Lemak	39
3.8.2	Perlakuan Terhadap Hewan Coba	39
3.9	Cara Pengambilan Organ Ginjal Tikus	40
3.10	Persiapan Homogenat	40
3.11	Pengukuran Sampel SOD dan MDA Jaringan Ginjal Tikus	41
3.11.1	Pengukuran Sampel SOD Jaringan Ginjal Tikus	41
3.11.2	Pengukuran Sampel MDA Jaringan Ginjal	41
3.12	Analisis LCMS	42
3.13	Analisis Data	43
3.13.1	Uji Normalitas	43
3.13.2	Uji Homogenitas	43
3.14	Hipotesis	44
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		46
4.1	Persetujuan <i>Ethical Clearance</i>	46
4.2	Determinasi Tanaman	46
4.3	Pembuatan Simplisia Serbuk Biji Pepaya	47
4.3.1	Uji Susut Pengeringan Simplisia	47
4.3.2	Uji Kadar Air Simplisia	48
4.3.3	Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya	49
4.3.4	Skrining Fitokimia	52
4.4	Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LCMS	55
4.4.1	Senyawa Golongan Fenol	58

4.4.2	Senyawa Golongan Flavonoid	58
4.4.3	Senyawa Golongan Tanin.....	58
4.4.4	Senyawa Golongan Saponin	59
4.4.5	Senyawa Golongan Alkaloid	59
4.5	Kadar Malondialdehid (MDA) Ginjal Tikus	60
4.6	Kadar Superoxide Dismutase (SOD) Ginjal Tikus	62
DAFTAR PUSTAKA.....		66
LAMPIRAN		75



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Susut Pengeringan Simplisia	48
Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air Simplisia.....	48
Tabel 4.3 Hasil rendemen ekstrak	50
Tabel 4.4 Hasil Kadar Abu Ekstrak Etanol Biji Pepaya	50
Tabel 4.5 Hasil Uji Bebas Etanol	51
Tabel 4.6 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji pepaya	52
Tabel 4.7 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Biji Pepaya.....	56
Tabel 4.8 Pengukuran kadar MDA.....	630
Tabel 4.9 Pengukuran kadar SOD	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi Ginjal	6
Gambar 2.2 Tanaman Pepaya.....	11
Gambar 2. 3 Daun Pepaya.....	12
Gambar 2. 4 Batang Pepaya	12
Gambar 2. 5 Akar Pepaya	13
Gambar 2. 6 Buah pepaya	14
Gambar 2. 7 Biji pepaya	14
Gambar 2. 8 Bunga Pepaya	15
Gambar 2. 9 Tikus Putih	30
Gambar 2. 10 Pembedahan pengambilan organ.....	31
Gambar 4.1 Hasil Uji Bebas Etanol.....	51
Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid	53
Gambar 4.3 Hasil Uji Saponin	54
Gambar 4.4 Hasil Uji Tanin	54
Gambar 4.5 Hasil Uji Alkaloid.....	55
Gambar 4.6 Hasil <i>Chromatogram</i> LC-MS.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Sertifikat Ethical Clereance	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 Air dan Kadar Abu	79
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian.....	80
Lampiran 7 Perhitungan Dosis	87
Lampiran 9 Kurva Standart MDA.....	90
Lampiran 10 Kurva Standart SOD	91
Lampiran 11 Hasil Pemeriksaan MDA.....	93
Lampiran 12 Hasil Pemeriksaan SOD..	94
Lampiran 13 Hasil Statistik Kadar MDA Ginjal.....	95
Lampiran 14 Hasil Statistik Kadar SOD Ginjal.....	97
Lampran 15 Jadwal Penelitian.....	100

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perubahan pola hidup yang modern pada masyarakat Indonesia yang saat ini disoroti pada pola mengkonsumsi makanan. Masyarakat sering mengkonsumsi makanan cepat saji yang telah mengandung kadar lemak, minyak, karbohidrat tinggi dan juga rendah serat. Hal ini jika dikonsumsi secara berlebihan dapat mengakibatkan terbentuknya kolesterol dalam tubuh (Maghfiroh dkk., 2021).

Dislipidemia merupakan salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Dislipidemia dihasilkan dari abnormalitas pada metabolisme lipid ataupun transportasi lipid plasma, gangguan dalam sintesis serta kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma (Agung, 2021). Kelainan dari metabolisme lipid dimana terjadinya peningkatan kadar kolesterol total, kadar *Low-Density Lipoprotein* (LDL), kadar Trigliserida (TG) dan juga penurunan kadar *High-Density Lipoprotein* (HDL) (PERKENI, 2019).

Dislipidemia sebagai salah satu faktor penyebab penyakit ginjal. Pada jenis lipid dan lipoprotein yang tidak normal pada penyakit ginjal dengan bervariasi termasuk hipertrigliseridemia, peningkatan LDL dengan HDL yang rendah, serta normal atau meningkat dan juga hiperkolesterolemia (Sriwijaya dkk., 2017). Pada penyakit ginjal terjadi gangguan profil lipid dan lipoprotein (dislipidemia) yang mengakibatkan gangguan maturasi dan juga perubahan komposisi HDL selain itu gangguan metabolisme trigliserida yang kaya lipoprotein yang mengakibatkan komposisinya meningkat dalam darah (Nurlia Ahmad dkk., 2018).

Ginjal merupakan organ berbentuk kacang dengan letak ditengah punggung dari bagian kedua sisi tulang belakang. Setiap 1 ginjal berisi 1 million unit filtrasi yang disebut dengan nefron (Sembiring dkk., 2021). Ginjal termasuk organ dalam tubuh manusia yang penting dalam metabolisme, dikarenakan memiliki fungsi untuk menyaring ataupun membersihkan darah dengan mengeluarkan zat sisa organik antara lain seperti urea, asam urat, kreatinin serta produk pengurai

hemoglobin dan hormon tetapi karena paparan zat toksis yang menyebabkan terjadi kerusakan ginjal (Almunawati dkk., 2017).

Stres oksidatif disebabkan oleh ROS terutama *malondialdehyde* (MDA) menimbulkan suatu penyakit, MDA menyebabkan ikatan silang dalam lemak, protein dan asam nukleat yang akan mengganggu fungsi fisiologis tubuh. Malondialdehyde (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang disebabkan oleh ROS, dimana MDA menyebabkan reaksi addesi dengan protein serta asam nukleat dan dianggap sebagai manifestasi utama stress oksidatif (Intan dkk., 2020).

Secara alami, tubuh mempunyai antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis untuk melawan radikal bebas yang berpotensi mengganggu keseimbangan fungsi tubuh (Made dkk., 2016). Enzim *superoksida dismutase* (SOD) yaitu pertahanan senyawa terhadap aktivasi senyawa oksigen rekatif (ROS). Pada keadaan stress oksidatif akan terjadi penurunan sistem enzimatik SOD dan juga glutation peroksidase. Jika produksi radikal bebas melebihi kemampuan antioksidan endogen untuk menetralkannya maka kelebihan radikal bebas sangat potensial menyebabkan kerusakan sel. Maka dari itu tubuh memerlukan pasokan antioksidan dari luar tubuh yang dikenal dengan antioksidan eksogen seperti vitamin E, vitamin C, sayuran maupun buah-buahan (Made dkk., 2016)

Antioksidan memiliki peranan yang sangat penting bagi kesehatan tubuh manusia karena memiliki fungsi menghambat dan menetralsir terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas (Cahyanto dkk., 2020). Antioksidan eksogen banyak berasal dari bahan alam. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan eksogen di Indonesia adalah biji pepaya (*Carica papaya L.*) (Made dkk., 2016).

Pada biji pepaya merupakan bagian dari buah pepaya yang terdapat didalam bagian buahnya yang tidak bisa dimakan (Ramadhana & Syukri, 2016.). Pada biji pepaya mengandung senyawa antioksidan yaitu flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Beberapa khasiat dari biji pepaya diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan di dalam metabolit sekunder adalah senyawa fenolik yakni flavonoid (Made dkk., 2016).

Perbandingan penggunaan ekstrak biji pepaya dengan jus pepaya yaitu dari segi kualitatif, kandungan dari zat ekstrak biji pepaya dan juga jus biji pepaya adalah sama akan tetapi secara kuantitas ekstrak biji pepaya mengandung zat fitokimia lebih tinggi dibandingkan biji pepaya dalam bentuk jus. Perbedaan dalam jus biji pepaya saring karena terdapat penambahan air sehingga konsentrasi biji pepaya dalam jus berkurang yang akan menyebabkan kandungan flavonoid dalam jus menurun (Agustina, 2013). Pada ekstrak biji pepaya menggunakan pelarut etanol lebih efektif menarik senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid lebih optimal (Farida, 2012). Jadi pemilihan menggunakan ekstrak biji pepaya lebih efektif dibandingkan dengan menggunakan jus biji pepaya.

LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) merupakan teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifitas deteksi spektrometri massa. Keuntungan dari LC-MS yaitu dapat menganalisis secara lebih luas berbagai komponen seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi ataupun bermassa molekul tinggi serta juga protein (Ode & Mangurana, 2019). Pada instrument LC-MS terdapat kelebihan instrument yaitu memiliki sensitivitas, fleksibilitas dan akurasi deteksi yang sangat tinggi (Mappa, 2021).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pepaya dengan LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) terhadap SOD dan MDA pada ginjal tikus jantan galur dan menentukan konsentrasi optimum terhadap kadar SOD dan MDA pada ginjal tikus jantan galur (*Sprague Dawley*).

1.2 Rumusan Masalah

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

1.3 Tujuan Penelitian

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

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sampel pada penelitian yang digunakan dari tanaman pepaya (*Carica papaya L.*), yaitu bagian biji pepaya yang diambil dari di Desa Mirigambar RT 01 RW 06, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung , Jawa Timur.
2. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan maserasi yang menghasilkan ekstrak dari biji pepaya (*Carica papaya L.*).
3. Pengukuran kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehida* (MDA) dilakukan pada organ ginjal tikus jantan galur (*Sprague Dawley*).

1.5 Relevansi Penelitian

Pada penelitian ini memiliki relevansi dengan penelitian sebelumnya sebagai berikut :

1. Penelitian pertama yang memiliki relevansi adalah “*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.
2. Penelitian kedua yang memiliki relevansi adalah “*Potensi Jus Buah Pepaya (Carica papaya L.) Mencegah Nefrotoksisitas pada Tikus Wistar yang Terpapar Pb Asetat*” oleh Devi dkk., 2020). Yang menunjukkan bahwa jus pepaya is 200 mg/kg BB merupakan dosis terbaik karena berpotensi mampu mencegah nefrotoksisitas Pb Asetat yaitu dapat meningkatkan aktivitas SOD jaringan ginjal. Persamaan penelitian diatas dengan penelitian yaitu memiliki kesamaan obyek yaitu kadar SOD.

BAB II

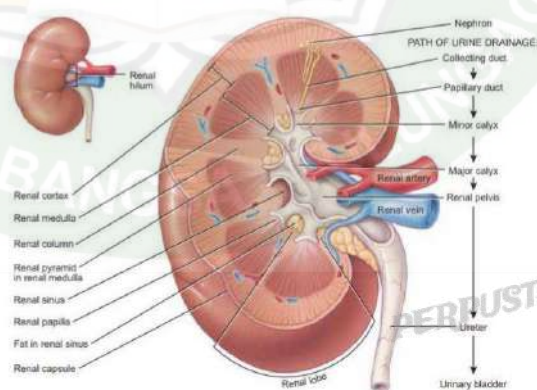
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Definisi Ginjal

Ginjal merupakan organ berbentuk kacang dengan letak ditengah punggung dari bagian kedua sisi tulang belakang. Setiap ginjal berisi 1 million unit filtrasi yang disebut nefron. Ginjal merupakan organ dalam tubuh yang penting dalam sistem metabolisme. Ginjal ialah organ kedua setelah hati dan sering menjadi sasaran kerusakan zat-zat kimia, organ ini dapat menerima 25-30% sirkulasi dalam darah untuk pembersihan, sehingga sebagai organ filtrasi terjadinya perubahan patologik yang tinggi. Hal ini disebabkan adanya zat kimia yang diekskresikan melalui urin (Almunawati dkk., 2017). Pada (Gambar 2.1) berikut mengenai anatomi ginjal.

Ginjal pada tikus terletak pada retroperitoneal dikelilingi oleh jaringan adiposa berwarna putih dan kantong jaringan adiposa berwarna coklat pada bagian panggul dan dikelilingi oleh kapsul ginjal. Kedua ginjal terletak pada bagian atas dinding abdomen. Ginjal kanan relatif kranial karena besarnya lobus hati kanan dan ginjal kiri terletak lebih caudal (Fabiana, 2019).



Gambar 2.1 Anatomi Ginjal (Jenkins and Tortora, 2013)

2.1.2 Fungsi Ginjal

Ginjal berfungsi untuk mengeluarkan produk limbah dari aliran darah. Ginjal memiliki fungsi lain ialah pengatur komposisi serta volume darah, menjaga kestabilan asam basa, pengatur tekanan darah, banyaknya konsentrasi elektrolit pada cairan ekstrak sel dan lain-lain. Organ ini sangat penting di dalam tubuh yang berfungsi untuk menyaring (filtrasi) dan mengeluarkan zat-zat sisa metabolisme (racun) dari darah menjadi urin (T Mikhael, 2018).

Sementara itu, ginjal memiliki beberapa fungsi lain yang sangat penting yaitu membentuk sel darah merah (faktor renal eritropoetik), mengatur tekanan darah dengan fungsi absorpsi dan ekskresi cairan dalam tubulus, serta mengatur metabolisme kalsium (Kurniawidjaja dkk., 2021)

2.2 Dislipidemia

2.2.1 Definisi Dislipidemia

Dislipidemia adalah salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Dislipidemia dihasilkan dari abnormalitas pada metabolisme lipid ataupun transportasi lipid plasma yang merupakan gangguan dalam sintesis dan degradasi lipoprotein plasma. Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan atau penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang utama ditandai dengan kenaikan kadar kolesterol total, Low-Density Lipoprotein (LDL), dan trigliserida serta penurunan kadar High-Density Lipoprotein (HDL) (Agung, 2021).

Kadar kolesterol serum dan trigliserida didalam darah terbungkus didalam protein pengangkut lemak yang disebut lipoprotein. LDL dan VLDL membawa lemak ke sel tubuh. Oksidasi kolesterol dan trigliserida menyebabkan pembentukan radikal bebas yang diketahui merusak sel-sel endotel. Kadar trigliserida di atas 200 mg/dl perlu diwaspadai dan perlu dikendalikan (Agung, 2021).

2.2.2 Etiologi Dislipidemia

Pada masyarakat yang cenderung mengalami perubahan pada pola konsumsi makanan yang tinggi lemak. Selain itu perubahan gaya hidup sedentari yaitu perilaku yang tidak banyak melakukan gerakan dan hanya duduk, membaca dan

menonton televisi. Hal ini berujung dengan munculnya berbagai penyakit dislipidemia (Nasution dkk., 2021)

Faktor resiko terjadinya dislipidemia diantaranya yaitu diet, stress, tidak aktif secara fisik serta merokok. Dislipidemia dapat bersifat primer atau genetik dan bersifat sekunder yang merupakan pengaruh dari suatu kondisi tertentu ataupun pengaruh dari penggunaan suatu obat yang dapat meningkatkan kadar lipid plasma (Dearta, 2020).

Kadar kolesterol ditentukan oleh faktor genetik yang multiple dan faktor lingkungan. Hiperkolesterolemia sering ditemukan sebagai akibat penyakit-penyakit tertentu. Berbagai klasifikasi dapat ditemukan dalam kepustakaan, yang paling mudah adalah pembagian dislipidemia primer dan dislipidemia sekunder sebagai berikut :

1. Dislipidemia primer

Dislipidemia primer merupakan dislipidemia akibat kelainan genetik. Pasien dislipidemia sedang disebabkan oleh hiperkolesterolemia poligenik dan dislipidemia kombinasi familial.

2. Dislipidemia sekunder

Dislipidemia sekunder merupakan dislipidemia yang terjadi akibat suatu penyakit lain misalnya hipotiroidisme, sindroma nefrotik, diabetes melitus dan juga sindroma metabolik. Pada hipertigliserida disebabkan oleh diabetes melitus, konsumsi alkohol, gagal ginjal kronik, miokard infark dan kehamilan (PERKENI, 2019).

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron bebas ataupun tidak berpasangan, sehingga radikal bebas tidak stabil. Dengan sifat yang tidak stabil, radikal bebas bersifat sangat reaktif dan mengikat molekul-molekul atau senyawa untuk memperoleh pasangan elektron dan mencapai kestabilan. Radikal bebas dapat terbentuk dalam tubuh serta berlangsung secara terus-menerus sehingga mengakitnya timbulnya penyakit. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas melalui donor elektron sehingga radikal bebas lebih stabil dan tidak reaktif (Huselan dkk., 2015).

Radikal bebas mengakibatkan terjadinya stress oksidatif jika jumlah dalam tubuh berlebih, keadaan ini mengakibatkan terjadinya kerusakan oksidatif pada tingkat sel, jaringan hingga organ tubuh yang akan mempercepat terjadinya penuaan dan timbulnya penyakit (Simanjuntak dkk., 2020).

2.4 Superoxide Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (SOD) adalah kelompok enzim yang berfungsi mengkatalisasi pembuangan anion superoksida secara efisien. Anion superoksida dihasilkan secara enzimatis dalam sistem xanthine-xanthine oksidase dan non-enzimatis dalam sistem phenazine methosulphate-NADH, dan diuji dengan reduksi nitro blue tetrazolium. Pemeriksaan sejarah evolusi enzim memberikan penjelasan lebih lanjut mengenai peran SOD modern dalam fisiologi dan penyakit. Hal ini menjelaskan tentang reaksi molekuler, subseluler, lokasi dan spesifik isoform SOD (Simanjuntak dkk., 2020). Superoksida dismutase (SOD) merupakan pertahanan pertama terhadap aktivasi senyawa oksigen reaktif (ROS). SOD dalam tubuh memiliki peranan sebagai oksidan untuk mengatasi reaksi radikal bebas melalui pengikatan ion logam, penangkapan oksigen serta mengurangi tosisitas oksigen menjadi bentuk non radikal (Made dkk., 2016).

2.5 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) adalah suatu penanda stress oksidatif dan tergolong senyawa alkaloid yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid melalui proses enzimatis maupun non enzimatis. Kadar MDA yang tinggi menunjukkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel (Situmorang dkk., 2020).

Substansi yang sudah dikenal dan banyak dipakai sebagai petanda biologis peroksidasi lipid dan stress oksidatif adalah MDA. Saat ini MDA sering digunakan sebagai petanda stress oksidatif khususnya pada berbagai keadaan klinis yang berkaitan dengan proses peroksidasi lipid. Stress oksidatif yang disebabkan oleh ROS terutama malondialdehid (MDA) akan menimbulkan suatu penyakit, karena MDA dapat menyebabkan ikatan silang dalam lemak, protein dan asam nukleat yang bisa mengganggu fungsi fisiologis tubuh (Situmorang dkk., 2020).

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa MDA merupakan komponen pengukuran terhadap peroksidasi lipid yang bersifat stabil dan akurat. Keunggulan

pengukuran MDA dibanding dengan produk peroksidasi lipid yang lain adalah metode lebih murah dan bahan yang mudah didapat. Kelemahan dari MDA yaitu tidak adanya nilai normal, dan tidak spesifik untuk penyakit tertentu sebab MDA dapat menginduksi beberapa penyakit sistemik dan kronis misalnya diabetes dan penyakit kardiovaskular (Ayuningati dkk., 2018).

2.6 Tanaman Pepaya (*Carica papaya L*)

Pepaya (*Carica papaya L*) merupakan tanaman buah berupa herba dari family Caricecae dan juga merupakan komoditi hortikultura yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi selain itu banyak digemari masyarakat baik dalam maupun luar Indonesia, buahnya pun tersedia setiap saat.. Pepaya di Indonesia umumnya tumbuh menyebar di dataran rendah dan di dataran tinggi dengan ketinggian 1.000 mdpl (Rizki dkk., 2018).

Pohon pepaya dapat tumbuh dengan baik di dataran rendah hingga ketinggian 100 meter diatas permukaan laut dan tumbuh optimal di daerah dengan ketinggian 600-700 meter di atas permukaan laut. Di daerah jawa tanaman ini dikenal dengan nama kates. Buah berbentuk bulat panjang yang bervariasi dengan mempunyai warna kulit hijau waktu muda sedangkan warna kuning setelah masak, dengan biji berwarna hitam dan banyak. Tanaman ini dikatakan sebagai tanaman serba guna karena dari bunga, akar, daun, batang dan biji dapat dimanfaatkan sebagai keperluan manusia dan hewan. Daun pepaya mempunyai kandungan metabolik sekunder alkholid yang cukup banyak dibandingkan dengan yang terdapat dalam buah. Daunnya juga memilik kandungan enzim papain yang sering dimanfaatkan untuk melunakkan daging dan sebagian masyarakat memanfaatkannya untuk mengobati kanker (Puspita dan Peristiowati, 2016).

Tanaman pepaya (*Carica papaya L*) merupakan tanaman yang cocok ditanam di kondisi iklim/cuaca yang optimal untuk tanaman pepaya adalah tipe iklim biasa sampai sedang, memiliki temperatur antara 15°C – 35 °C dengan kelembapan udara 40% dan curah hujan merata setiap tahun (Ratnawati dkk., 2019).

2.6.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya

Pepaya (*Carica papaya L*) pada (Gambar 2.2) termasuk tanaman herba yang berasal dari family Caricaceae yang berasal dari daerah Meksiko, tetapi sekarang ini tanaman pepaya telah dijumpai didaerah tropik maupun sub tropik antara lain India, Ceylon, Malaysia Filipina, Amerika Serikat, Hawaii dan Indonesia. Tanaman ini tergolong dalam family Caricaceae dari divisi Spermatopyhta (Puspitasari dan Peristiowati, 2016).

Klasifikasi tanaman pepaya menurut Ulfa dkk., (2018), sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotylidoneae
Ordo	: Caricales
Family	: Caricaceae
Genus	: Carica
Spesies	: <i>Carica papaya L</i>



Gambar 2.2 Tanaman Pepaya (Kurnia, 2018)

2.6.2 Morfologi Tanaman Pepaya

2.6.2.1 Daun (*Folium*)

Daun dari tanaman pepaya pada (Gambar 2.3) merupakan daun tunggal dengan memiliki ukuran yang lebar dan bercangap. Tangkai yang panjang dan berongga mengandung getah yang berwarna putih. Pada permukaan atas daun memiliki warna hijau muda. Sebagai daun tunggal tanaman pepaya tumbuh melingkar membentuk spiral dari berbagai atas pohon (Kurnia, 2018). Daun tunggal, berbentuk bulat yang memiliki ujung yang runcing, pangkalnya bertoleh

dan memiliki tepi yang bergerigi dengan diameter 25-27 cm. Pepaya memiliki daun yang spiral dibagian atas dilengkapi dengan tangkai daun sekitar 1m, daunnya memiliki warna kehijauan atau keunguan (Hidayati dkk., 2020).



Gambar 2. 3 Daun Pepaya (Anitha dkk., 2018)

2.6.2.2 Batang (Caulis)

Batang dari tanaman pepaya pada (Gambar 2.4) merupakan suatu bagian yang penting digunakan sebagai tempat tumbuhnya tangkai daun dan juga tangkai buah. Bentuk batang dari tanaman pepaya yaitu bulat dengan permukaan batang yang memiliki bekas-bekas tangkai daun. Pada arah tumbuh dari batang tanaman pepaya yaitu tegak lurus ke atas dengan permukaan batang yang mempunyai tekstur licin, berongga dan pada umumnya tidak memiliki cabang ataupun bercabang sedikit serta tumbuh dengan tinggi sekitar 5-10 meter (Putri dkk., 2020). Batang pepaya tebal, yang terdiri satu lapis floem sekunder, kaya serat dan memiliki dua lapisan skelerenkim yang terletak tepat di dalam kulit kayu (Hidayati dkk., 2020).



Gambar 2. 4 Batang Pepaya (Anitha dkk., 2018)

2.6.2.3 Akar (*Radix*)

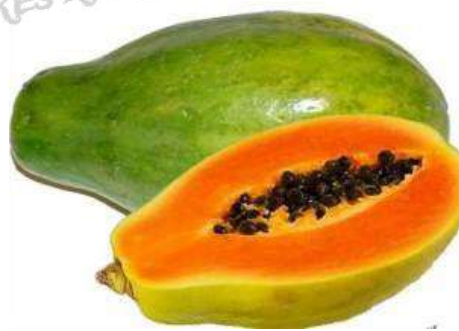
Akar dari tanaman pepaya pada (Gambar 2.5) merupakan bagian pokok nomor tiga (disamping batang dan daun) bagi tumbuhan yang tubuhnya telah merupakan komus. Tanaman pepaya memiliki akar serabut (*radix advencita*) karena akar-akar ini tidak berasal dari calon akar yang asli atau akar liar serta bentuknya seperti serabut. Sistem akar serabut yaitu jika akar lembaga dalam perkembangan selanjutnya mati kemudian disusul oleh sejumlah akar yang kurang lebih sama besar serta semuanya keluar dari pangkal batang (Peristiowati dkk., 2018).



Gambar 2. 5 Akar Pepaya (Anitha dkk., 2018)

2.6.2.4 Buah (*Carica papaya L*)

Buah pada tanaman pepaya pada (Gambar 2.6) memiliki bentuk yang besar, berair dan juga mirip melon yang memiliki biji hitam di bagian tengah (Karunamoorthi dkk., 2014). Ukuran buah sendiri tergantung pada jenisnya, yang mempunyai karakteristik beragam yaitu bulat, lonjong, besar ataupun kecil. Warna dagingnya ada yang merah, kuning. Pada dagingnya lunak dan berair. Sedangkan rasanya ada yang manis segar dan juga ada yang kurang manis meskipun sudah matang (Kurnia, 2018).



Gambar 2. 6 Buah pepaya (Hidayati dkk., 2020)

2.6.2.5 Biji (Semen)

Pada (Gambar 2.7) biji pepaya berwarna hitam, rasa tajam dan pedas ,bulat panjang, kecil dan bagian luarnya terbungkus dengan selaput yang berisi cairan (Aravind dkk., 2013). Biji pepaya kering mirip dengan merica dan dapat digunakan dengan cara yang sama ditambahkan pada makanan terutama makanan kaya protein (Hidayati dkk., 2020).



Gambar 2. 7 Biji pepaya (Hidayati dkk., 2020)

2.6.2.6 Bunga (Flos)

Pada (Gambar 2.8) bunga pepaya biasanya tumbuh dan tersusun pada tangkai bunga yang menempel pada batang pohon. Warna pada bunga dasarnya yaitu kuning muda atau putih kekuningan dan baunya harum serta memiliki aneka ragam bentuk. Konon perbedaan bentuk ini menunjukkan jenis kelamin dari bunga itu sendiri yaitu jenis kelamin jantan, betina dan sempurna (Rohmat Kurnia, 2018).



Gambar 2. 8 Bunga Pepaya (Anitha dkk., 2018)

2.6.3 Kandungan Senyawa Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya memiliki banyak manfaat dan juga kegunaan untuk kesehatan. Pepaya bernilai gizi tinggi serta memiliki manfaat mulai dari akar, daun, bunga, getah dan biji daun pepaya memiliki manfaat sebagai antioksidan senyawa yang berkhasiat yaitu vitamin C yang memiliki peran penting dalam proses tubuh manusia sebagai antioksidan, menjaga fleksibilitas pembuluh darah, meningkatkan sirkulasi darah serta memfasilitasi penyerapan zat besi dalam tubuh manusia. Daun pepaya memiliki kandungan flavonol, vitamin C dan vitamin E. Selain sebagai antikanker dan antioksidan juga memiliki fungsi sebagai antibakteri dan antiinflamasi (Dewi dkk., 2020). Buah pepaya mempunyai khasiat sebagai antioksidan yang buahnya mengandung banyak vitamin A, vitamin B9, vitamin C dan vitamin E. Selain itu juga mengandung mineral seperti fosfor, magnesium, zat besi serta kalsium dan daun pepaya mengandung komponen aktif yang meningkatkan kapasitas total antioksidan dalam darah dan mengurangi tingkat peroksidasi lemak (Made dkk., 2016)

Pada batang pepaya mengandung β -sitosterol, glukosa, fruktosa, sukrosa, galaktosa dan xylitol (Tarun, 2015). Getah pepaya memiliki kandungan enzim papain, kemopapain dan lisozim. Enzim papain berfungsi mencegah protein pada makanan menjadi molekul yang lebih sederhana dengan cara menghidrolisis ikatan peptide oligopeptida pendek atau asam amino sehingga lebih mudah dicerna dan diserap oleh tubuh sehingga dapat memperlancar metabolisme dalam tubuh (Prihatini & Dewi, 2021). Biji pepaya memiliki manfaat sebagai

antioksidan melalui zat fitokimia yang dikandung yaitu meliputi flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid (Sugitha dkk., 2021).

2.6.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok substansi alam dengan struktur fenol dengan bervariasi dan banyak ditemukan di buah-buahan, sayur-sayuran, kulit kayu, akar, batang, bunga, dan bagian tumbuhan lainnya. Flavonoid terbagi menjadi beberapa kelompok yaitu flavon, kalkon, flavonol dan isoflavon berdasarkan atom karbon pada cincin C yang mengikat cincin B dan oksidasi dari cincin C (Alfaridz dkk., 2015).

Flavonoid merupakan senyawa polifenol sehingga bersifat kimia senyawa fenol yaitu agak asam dan dapat larut dalam basa, dan karena merupakan senyawa polihidroksi (gugus hidroksil) maka juga bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar. Flavonoid termasuk golongan polifenol karena adanya gugus hidroksil (-OH) dan memiliki struktur inti $C_6-C_3-C_6$. Flavonoid mempunyai berbagai aktivitas seperti antibakteri, antioksidan, antiinflamasi dan antiaging. Secara umum flavonoid berupa glikosida yang berikatan dengan gula sehingga bersifat polar. Ekstraksi flavonoid yang dapat digunakan pelarut polar seperti etanol, metanol, etil asetat aseton, isopraponol, dan air (Pratiwi dkk., 2016). Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat non polar, namun flavonoid mempunyai gugus gula yang menyebabkan mudah larut dalam polar maupun semi polar (Firdiyani dkk., 2015). Titik didih flavonoid adalah $> 90^\circ C$ (Roller, 2003).

Flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang sudah terbukti manfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif. Flavonoid secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA (Andriyani dkk., 2014). Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan secara langsung yaitu dengan mendonorkan ion hidrogen yang dapat menetralsir efek toksik dari radikal bebas. Secara tidak langsung flavonoid mampu meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 relates factor 2* (Nrf2) sehingga ekspresi gen SOD (*Superoxide Dismutase*) meningkat (Shinta & Kusuma, 2015).

2.6.3.2 Tanin

Senyawa metabolit sekunder tanin yaitu suatu zat organik yang cukup kompleks serta terdiri dari senyawa fenolik yang terkandung pada berbagai jenis tanaman. Secara umum senyawa tannin disebut sebagai asam galotanat atau asam tanat yang terdapat didalam seluruh bagian tumbuhan seperti pada kulit kayu, batang, daun maupun buahnya. Karakteristik yang dimiliki senyawa tanin yaitu berbentuk seperti serpihan yang mengkilat, mempunyai warna kekuningan hingga coklat muda atau serbuk amorf. Memiliki sedikit aroma yang khas atau tidak memiliki aroma (Aisyah dkk., 2021).

Sifat kimia tanin yaitu memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Karena itu dalam air bersifat koloid dan asam lemah. Tannin dapat terhidrolisis oleh asam, basa dan enzim. Ikatan kimia yang terjadi antara tannin-protein atau polimer lainnya terdiri ikatan hidrogen, ikatan ionic dan ikatan kovalen. Sedangkan sifat fisika tannin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi satu polimer, sebagian tannin berbentuk amorf dan tidak mempunyai titik leleh (Nofita & Dewangga, 2021). Titik didih tannin tidak digunakan suhu lebih dari 80°C karena tannin tidak tahan dengan pemanasan yang terlalu tinggi (Andriani dkk., 2019).

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang mempunyai berbagai macam khasiat meliputi antidiare, antioksidan, antibakteri dan astringent (Makatamba & Rundengan, 2020). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tannin terkondensasi dan tannin terhidrolisis. Tanin memiliki peran biologis begitu kompleks, mulai dari pengendap protein sampai pengkhelat logam. Tanin juga berfungsi sebagai antioksidan biologis dan menghambat pertumbuhan tumor (Jafar dkk., 2020).

Tanin bersifat polar dan sebagai senyawa organik yang terdistribusi meluas pada tanaman yang menjadi zat bermanfaat untuk industri dan kesehatan (Wulandari dkk., 2013). Mekanisme kerja tannin sebagai aktivitas antioksidan yaitu menangkap radikal bebas. Semakin banyak kandungan tannin maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Malangngi dkk., 2012). Senyawa polifenol bersifat multifungsi dan berperan sebagai antioksidan karena dapat menghambat enzim

atau mengikat ion logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas (Anggraito dkk., 2018).

2.6.3.3 Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa yang banyak terkandung dalam tanaman yang lama digunakan untuk pengobatan tradisional. Saponin adalah senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi dan merupakan kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efeknya biologis (Purnamaningsih dkk., 2017).

Saponin memiliki berat molekul 414,6231 gram/mol dan rumus molekul $C_{27}H_{42}O_3$. Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi, hingga mencapai $158^{\circ}C$ dan densitas $0,5 \text{ g/cm}^3$ pada suhu $20^{\circ}C$. Saponin dapat larut dalam berbagai pelarut seperti air, etanol dan juga metanol. Beberapa juga dapat larut dalam eter, kloroform, benzene, etil asetat atau asam asetat (Santosa dkk., 2011). Sifat fisika kimia saponin tahan terhadap pemanasan, dapat merangsang selaput mukosa dan beracun pada binatang berdarah dingin tetapi tidak beracun bagi manusia karena tidak diadsorpsi dari saluran pencernaan (Lindeboom, 2005).

Senyawa ini jenis glikosida yang mengandung molekul gula dengan 2 jenis aglikon yaitu steroid dan triptenoid. Jika saponin steroid dan triterpenoid dihidrolisis masing-masing dapat menghasilkan saraponin dan sapogenin (Darma & Marpaung, 2020). Mekanisme kerja dari senyawa saponin merupakan senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas untuk mencegah terjadinya stress oksidatif (Hamizah dkk., 2012). Saponin merupakan antioksidan sekunder yang mampu menghambat peroksidasi lipid dengan cara membentuk hidroperoksida. Saponin mempunyai efek antioksidan yang berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme peningkatan pembentukan SOD dan katalase (Arpasha dkk., 2015).

2.6.3.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa basa organik yang mengandung nitrogen yang banyak terdapat dalam tumbuhan. Nama alkaloid sebenarnya berasal dari alkali yang berarti basa (Halimatus dkk., 2016). Alkaloid secara umum mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian

dari cincin heterosiklik. Kebanyakan alkaloid berbentuk padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Alkaloid dapat juga berbentuk amorf atau cairan (Hammado, 2020).

2.7 Simplisia

2.7.1 Defini Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Riyani dkk., 2022). Menurut Departemen Kesehatan RI simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Sapitri dkk., 2022).

2.7.2 Klasifikasi Simplisia

Simplisia dibagi menjadi 3 golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral sebagai berikut (Lutfiah, 2022):

a) Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, eksudat tumbuhan atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tumbuhan merupakan isi sel dari tanaman yang keluar secara spontan ataupun dengan cara sengaja dilepaskan dari sel. Simplisia nabati dikenal oleh masyarakat awam dengan tanaman obat. Tanaman obat merupakan tanaman yang memiliki khasiat menyembuhkan maupun pencegahan penyakit.

b) Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah hewan utuh atau zat bermanfaat yang diproduksinya dan masih berupa bahan kimia campuran.

c) Simplisia Pelikan atau Mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah bahan mineral atau pelikan yang belum mengalami proses pengolahan atau yang telah mengalami proses pengolahan sederhana dan masih berupa bahan kimia campuran.

2.7.3 Syarat simplisia

Simplisia memiliki beberapa persyaratan antara lain :

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, 2014).

2.7.4 Penyiapan simplisia

Sumber simplisia tanaman obat bisa berupa bahan tumbuhan liar maupun tumbuhan hasil budidaya. Tumbuhan liar merupakan tumbuhan yang tumbuh di hutan sendiri, pekarangan, pagar-pegar atau bisa ditempat lain. Tanaman budidaya merupakan tanaman yang dengan sengaja ditanam untuk menghasilkan simplisia. Tumbuhan liar pada umumnya kurang baik dijadikan sumber simplisia dibanding dengan tanaman budidaya karena simplisia dari tanaman liar memiliki mutu yang tidak tetap atau bervariasi (Parfati dkk., 2018).

Pembuatan simplisia yang baik dimulai dengan pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, penirisan perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan (Gafur & Rizki, 2021).

2.7.5 Pengumpulan bahan baku

Pada pengumpulan kualitas bahan baku simplisia dipengaruhi beberapa faktor hal yang meliputi umur tumbuhan, bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat berhubungan dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tumbuhan yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada bagian tumbuhan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar (Tarigan dkk., 2017).

2.7.5.1 Sortasi basah

Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Kotoran tersebut

dapat berupa tanah, kerikil, rumput/gulma, tanaman lain yang mirip, bahan yang telah rusak atau busuk, serta bagian tanaman lain yang memang harus dipisahkan dan dibuang. Pemisahan bahan simplisia dari kotoran bertujuan untuk menjaga kemurnian dan mengurangi kontaminasi awal yang dapat mengganggu proses selanjutnya, mengurangi cemaran mikroba, dan memperoleh simplisia dengan jenis serta ukuran yang seragam. Tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Pembersihan simplisia dari tanah yang terikat dapat mengurangi jumlah mikroba awal. Pada tahapan sortasi basah dilakukan pemilihan bahan berdasarkan ukuran panjang, lebar, besar kecil. Sortasi basah harus dilakukan secara teliti dan cermat dan juga dilakukan secara bersamaan dengan pencucian dan penirisan. Pada saat pencucian bahan dibolak-balik untuk memisahkan kotoran yang menempel (Parfati dkk., 2018).

2.7.5.2 Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih (sumur, PAM, atau air dari mata air). Simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air mengalir dan dicuci dalam waktu sesingkat mungkin. Pada satu kali pencucian sayur mayur dapat menghilangkan kurang lebih 25% jumlah mikroba awal. Pencucian sebanyak 3 kali, mikroba tertinggal 42% dari jumlah awal. Dalam pencucian harus memperhatikan kualitas air untuk mencuci. Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari mikroba karena pencucian yang digunakan biasanya mengandung mikroba (Parfati dkk., 2018).

Sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Jika air yang digunakan untuk pencucian kotor maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Pencucian sebaiknya dilakukan dengan menggunakan air mengalir agar kotoran yang terlepas tidak menempel kembali. Pencucian lebih efektif jika dilakukan dalam bak bertingkat yang menerapkan konsep air mengalir (Parfati dkk., 2018).

2.7.5.3 Perajangan

Perajangan simplisia dilakukan untuk memudahkan proses pengeringan, pengepakan dan juga penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau ataupun dengan alat mesin perajang yang khusus sehingga diperoleh irisan yang tipis atau potongan dengan ukuran yang sudah dikehendaki. Semakin tipis bahan yang dikeringkan, semakin cepat pula penguapan air, sehingga mempercepat waktu dalam pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat yang berkhasiat yang mudah menguap sehingga dapat mempengaruhi komposisi bauran juga rasa yang diinginkan (Indriaty dkk., 2021).

2.7.5.4 Pengeringan

Pengeringan merupakan terjadinya penguapan air ke udara karena perbedaan kandungan uap air antara udara dengan bahan yang dikeringkan (Zakaria dkk., 2017). Pada pengolahan simplisia memerlukan pengeringan, dapat dilakukan dengan dua cara diantaranya adalah dengan pengeringan secara alamiah (bantuan sinar matahari dan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan (oven, uap panas atau alat lainnya) (Riyani dkk., 2022). Hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, lamanya pengeringan dan luas permukaan bahan. Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringan. Bahan simplisia umumnya dapat dikeringkan pada suhu $\leq 60^{\circ}\text{C}$. Pada umumnya proses pengeringan buatan akan menghasilkan simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengeringannya lebih merata dalam waktu relatif cepat, dan tidak dipengaruhi kondisi cuaca, selain itu proses pengeringan dapat dipersingkat menjadi hanya beberapa jam asalkan senyawa aktifnya stabil (Inorah., 2013).

Pengeringan juga bertujuan untuk mengurangi kadar air bahan sampai batas perkembangan mikroorganisme dan kegiatan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan terhambat atau bahkan terhenti sama sekali. Dengan demikian, bahan yang dikeringkan mempunyai waktu simpan lebih lama (Riyani dkk., 2022).

Keuntungan yang diperoleh dengan menggunakan pengering buatan yakni kondisi pengeringan terkontrol dan waktu pengeringan bisa lebih cepat dengan tidak bergantung oleh cuaca, sehingga menghasilkan produk yang berkualitas baik. Ciri-ciri waktu pengeringan sudah berakhir apabila simplisia dapat dipatahkan dengan mudah dengan kadar air \pm 8-10%. Kualitas simplisia dengan kadar air tersebut cukup baik untuk pengolahan lebih lanjut dan penyimpanan (Zakaria dkk., 2017).

2.7.5.5 Penyerbukan dan Pengayakan

Tujuan pembuatan serbuk untuk membuat partikel lebih kecil sehingga akan memudahkan jika adanya pengekstraksian. Pada proses pengayakan bertujuan agar mendapatkan serbuk dengan luas permukaan bahan dengan pelarutnya lebih cepat larut dan senyawa yang diharapkan dapat terserap dengan baik (Prastowo, 2013).

2.7.5.6 Sortasi kering

Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda asing yang telah mengalami proses pengeringan, seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lainnya yang masih ada atau tertinggal pada simplisia kering. Bahan yang gosong dan rusak akibat pengeringan dilakukan dengan pemilahan (Indriaty dkk., 2021).

2.7.5.7 Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling tercampur antara simplisia satu dengan yang lainnya. Pada persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia yaitu harus inert artinya tidak bereaksi dengan bahan yang lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, maupun penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air (Indriaty dkk., 2021).

2.8 Ekstrak

Ekstrak merupakan suatu pengambilan zat aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan akan diuapkan kembali sehingga zat aktif ekstrak menjadi pekat. Bentuk dari ekstrak yang dihasilkan dapat berupa

ekstrak kental atau kering tergantung jumlah pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016).

2.8.1 Rotary Evaporator

Rotary Evaporator merupakan alat untuk mengubah sebagian atau keseluruhan sebuah pelarut dari suatu larutan dari wujud air menjadi wujud uap yang akan berpindah ke labu cairan sehingga konsentrasi akan lebih pekat atau sesuai kebutuhan. Dalam proses evaporasi, larutan pekat merupakan produk yang diharapkan sesuai hasil, sedangkan uapnya dapat diperoleh kembali tanpa hilang sehingga dapat digunakan kembali untuk proses ekstraksi (Wijaya dkk., 2018). Prinsip kerja dari *rotary evaporatory* adalah memisahkan hasil maserat dengan pelarut menggunakan pemanasan dibawah titik didih pelarut, penurunan tekanan pada labu dan pemutaran dengan kecepatan tertentu sehingga senyawa yang terkandung dalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi. Proses ini dilakukan sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes pada labu rotary evaporator (Mega Yulia., 2019). Salah satu faktor yang mempengaruhi dalam proses evaporasi pada evaporator vakum adalah tekanan dan juga laju evaporasi. Tekanan pada vakum merupakan kondisi vakum yang terjadi pada ruang penguapan yang dihasilkan dari operasi pompa vakum yang ada di bagian evaporator (Syakdani dkk., 2019).

2.9 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode pemisahan ekstraksi menggunakan prinsip kelarutan *like dissolve like* dimana suatu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Wijaya & Jubaidah, 2022). Ekstraksi juga termasuk cara pemisahan senyawa aktif yang terkandung dalam suatu tanaman (Noviyanty dkk., 2019).

Tujuan ekstraksi yaitu untuk menarik atau memisahkan senyawa dari simplisia atau campurannya. Pemilihan metode dilakukan dengan memperhatikan senyawa, pelarut yang digunakan. Metode ekstraksi yang sering digunakan adalah maserasi dan refluks. Metode ekstraksi terbagi menjadi menjadi ekstraksi dingin

(maserasi dan perkolasi) dan ekstraksi panas (soxhletasi, refluks, infusa) (Pambudi dkk., 2017).

2.9.1 Ekstraksi cara dingin

2.9.1.1 Maserasi

Metode maserasi mempunyai prinsip *like dissolve like*, dimana senyawa akan larut dalam pelarut yang sifatnya sama. Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar. Kemudian pelarut akan menembus dinding sel sampai rongga sel, yang mengakibatkan zat aktif yang dikandung didalamnya akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang terdapat dalam sel mengandung zat aktif sedangkan pelarut yang terdapat di luar sel tidak mengandung zat aktif. Perbedaan konsentrasi akan mengakibatkan terjadinya proses difusi (Anjaswati dkk., 2021).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan karena menggunakan peralatan yang sederhana, biaya yang murah, dapat digunakan untuk senyawa termolabil dan juga tanpa pemanasan. Akan tetapi metode ini membutuhkan pelarut yang lebih banyak (Mariam Ulfah dkk., 2022). Ekstraksi dengan maserasi masih banyak digunakan karena relatif lebih aman untuk senyawa kimia yang bersifat termolabil dimana proses ekstraksi tidak menggunakan panas, dengan proses dan alat sederhana serta biaya relatif murah (Hikmawanti dkk., 2021).

Faktor yang dapat mempengaruhi kerja maserasi yaitu pelarut, waktu, suhu, perbandingan, bahan dan ukuran partikel. Dalam waktu maserasi perlu diperhatikan, semakin lama dalam perendaman maka waktu kontrak pelarut dengan bahan semakin tinggi, tetapi jika terlalu singkat senyawa yang dihasilkan kurang optimal (Chairunnisa dkk., 2019). Pada ukuran simplisia akan berpengaruh terhadap ekstrak yang dihasilkan, dimana semakin kecil ukuran maka semakin besar rendemen ekstrak yang diperoleh, hal ini dikarenakan kontak antara partikel dengan pelarut semakin luas (Sahi dkk., 2021).

2.9.1.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi yang umum digunakan di industri dan dipengaruhi oleh waktu dan perbandingan bahan pelarut. Waktu atau lamanya proses ekstraksi menentukan kandungan senyawa yang keluar dari bahan. Begitu juga perbandingan bahan pelarut, jumlah ekstrak yang terlibat dalam perpindahan menentukan tingkat perbedaan konsentrasi yang sangat penting dalam proses difusi yang akan mempengaruhi kandungan senyawa (Rosidah dkk., 2017).

2.9.2 Ekstraksi cara panas

2.9.2.1 Soxhletasi

Prinsip soxhletasi adalah penyaringan yang berulang-ulang sehingga hasil yang didapatkan sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Pelarut organik dapat menarik senyawa organik dalam bahan alam secara berulang-ulang. Metode ekstraksi secara soxhlet menghasilkan rendemen yang lebih besar jika dibandingkan dengan maserasi. Hal ini disebabkan karena adanya perlakuan panas yang dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam kondisi suhu kamar, serta terjadinya penarikan senyawa yang lebih maksimal oleh pelarut yang selalu bersirkulasi dalam proses kontak dengan simplisia sehingga memberikan peningkatan rendemen. Ekstraksi menggunakan soxhlet merupakan salah satu metode yang paling baik digunakan dalam memisahkan senyawa bioaktif dari alam (Anam dkk., 2014).

Kelebihan dari metode soxhletasi adalah menggunakan alat soxhlet yaitu dapat mengekstraksi bahan aktif dengan lebih banyak meskipun menggunakan pelarut yang lebih sedikit, penyarian dilakukan secara sempurna (tetesan terakhir tidak berwarna), tidak memerlukan tahap penyarian setelah tahap leaching, ekstraksi soxhlet tidak bergantung pada bagian tanaman yang akan diekstrak. Sedangkan kekurangan dari metode soxhletasi adalah ekstraksi ini memerlukan waktu yang cukup lama, maka bahan aktif yang tidak tahan panas mengalami dekomposisi (Endarini, 2016).

2.9.2.2 Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan bantuan pemanasan dan mampu mengekstraksi andrografolid yang merupakan senyawa tahan panas (N.P.L dkk., 2015). Refluks adalah ekstraksi dengan suhu titik didih pelarutnya dengan waktu dan jumlah pelarut yang terbatas serta terdapat pendingin balik (Mukhriani, 2014).

2.9.2.3 Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Pembuatan dengan cara pemanasan simplisia di atas pemanas air selama 15 menit dihitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Setelah itu diangkat dan dilakukan penyarian dalam keadaan panas. Infusa merupakan ekstraksi yang menggunakan pelarut polar yaitu air. Senyawa yang memiliki kepolaran yang sama akan lebih mudah tertarik atau terlarut dengan kepolaran yang sama .

2.10 Pelarut

2.10.1 Etanol

Etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan untuk proses ekstraksi. Beberapa alasan penggunaan etanol yang sangat luas antara lain karena etanol relative tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi serta aman untuk ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan makanan. Alasan lain karena etanol merupakan pelarut yang mudah didapatkan, efisien, aman untuk lingkungan dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi (Hakim & Saputri, 2020). Titik didih etanol murni adalah 78°C (Fahmi dkk., 2014).

Konsentrasi pada etanol sangat mempengaruhi hasil dari ekstrak yang didapatkan. Penggunaan etanol sebagai pelarut dapat dikombinasikan dengan air yang dinyatakan dengan satuan persen (%) dan sekaligus dapat dijadikan parameter dalam proses ekstraksi (Hakim & Saputri, 2020). Pelarut pada metode ekstraksi yang digunakan yaitu etanol 70 % karena etanol ini dapat menarik

senyawa zat aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya (Hasanah & Novian, 2020).

2.10.2 Carboxymethyl Cellulose Sodium (Na-CMC)

Carboxymethyl Cellulose Sodium (Na-CMC) adalah senyawa turunan selulosa yang dapat larut dalam air. Na-CMC sering digunakan sebagai zat aditif dalam dunia industri makanan, farmasi, detergen, tekstil dan produk kosmetik sebagai pengental, penstabil emulsi atau suspensi serta bahan pengikat. Proses sintesis Na-CMC ini melalui dua tahap yaitu tahap alkalisasi dan tahap karboksimetilasi. Alkalisasi menggunakan NaOH yang bertujuan untuk mengaktifkan gugus-gugus OH pada molekul selulosa. Pada proses karboksimetilasi, gugus -OH pada struktur selulosa yang tergantikan oleh $\text{ClCH}_2\text{COONa}$ (natrium monokloroasetat) merupakan penanda terbentuknya Na-CMC. Penggunaan natrium monokloroasetat (NaMCA) dalam jumlah yang optimal akan meningkatkan karakteristik dari Na-CMC (Salimi dkk., 2021).

2.10.3 Aquades

Aquades merupakan pelarut utama dalam kegiatan praktikum di laboratorium, bersifat murni, berwarna bening, tidak berbau dan tidak memiliki rasa. Aquades adalah pelarut yang sangat baik karena berbagai senyawa organik netral yang mempunyai gugus fungsional polar, seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton cepat larut (Tominik & Haiti, 2020).

Aquades merupakan air hasil penyulingan yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni dalam laboratorium. Aquades merupakan pelarut yang jauh lebih baik dibandingkan dengan cairan yang umumnya telah dijumpai. Selain itu aquades juga mudah melarutkan senyawa lainnya, mencakup berbagai senyawa organik netral dengan mempunyai gugus fungsional polar seperti gula, alkohol, aldehida dan keton (Marjuni dkk., 2021). Aquades mampu melarutkan berbagai macam zat kimia seperti garam, gula, asam serta sebagian molekul organik (Putri dkk., 2021).

2.11 Analisis LCMS

Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS) merupakan teknik analisis dengan menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan menggunakan spesifitas deteksi spektrometri massa. Dalam kromatografi cair dengan memisahkan komponen-komponen sampel kemudian ion bermuatan dan dideteksi oleh spectrometer massa. Pada data LC-MS digunakan untuk memberikan informasi mengenai berat molekul, struktur, identitas serta kuantitas komponen sampel tertentu. Senyawa akan dipisahkan atas dasar interaksi relative dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) (Ode & Mangurana, 2019).

Keuntungan dari LC-MS yaitu dapat menganalisis secara luas berbagai komponen seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi ataupun bermassa molekul tinggi bahkan juga protein. Komponen elusi dari kolom kromatografi akan diteruskan ke spektrometer massa melalui antar muka khusus. Prinsipnya ialah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya. Campuran analit akan berpisah berdasarkan kepolaran dan kecepatan untuk ke detector (waktu retensi) akan berbeda (Ode & Mangurana, 2019).

2.12 Hewan Uji

2.12.1 Definisi Tikus

Tikus sebagai hewan model (hewan coba) yang telah banyak digunakan untuk penelitian dikarenakan siklus hidupnya pendek, biaya perawatan lebih murah, relatif mudah perawatannya dan tersedia database dalam menginterpretasikan data yang relevan untuk manusia (Sadiah dkk., 2022). Dari 75-100 juta per tahun hewan vertebrata yang digunakan dalam penelitian yaitu tikus. Tikus banyak digunakan dalam penelitian biomedik diantaranya bidang toksikologi, gerontology, kardiologi, kedokteran gigi, imunologi, reproduksi, neurosains, dan parasitologi (Andersen dkk., 2016). Penggunaan hewan percobaan pada penelitian kesehatan banyak dilakukan untuk uji kelayakan ataupun keamanan suatu bahan obat serta untuk penelitian yang berkaitan dengan suatu penyakit (Tolistiawaty dkk., 2014).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau dikenal dengan nama Norway Rat merupakan hewan yang sering digunakan dalam penelitian biomedik. Beberapa galur tikus laboratorium yang umum digunakan pada penelitian yaitu Sprague Dawley, Wistar, Biobreeding, Long-Evans. Tikus merupakan organisme model utama yang digunakan untuk mempelajari fungsi gen manusia, karena sebagian proses biologis pada tikus sangat mirip dengan yang terjadi pada manusia (Weidner dkk., 2016).

Tikus Sprague Dawley yaitu galur yang banyak digunakan dalam penelitian dengan pertimbangan perkembangan biakannya yang cepat, temperamennya yang tenang dan juga relatif mudah penanganannya (Andreollo dkk., 2012). Pada penelitian laboratorium tikus sebagai hewan model harus memenuhi persyaratan tertentu yaitu memiliki galur yang sama, jenis kelamin tertentu, rentang usia tidak jauh berbeda, berat badan merata, menunjukkan fisik yang sehat dengan ciri mata cerah, aktivitas motorik normal, bulu tidak berdiri dan harus sesuai dengan tujuan penelitian misalnya untuk penelitian obat-obat hormonal wanita maka digunakan tikus betina (BPOM, 2014).

2.12.2 Klasifikasi Tikus

Pada (Gambar 2.9) tikus Sprague Dawley dapat mencapai usia hingga 3,5 tahun dengan berat badan tikus dewasa berkisar 250-300 g untuk betina sedangkan 450-520 g untuk tikus jantan (Andreollo dkk., 2012).



Gambar 2. 9 Tikus Putih (Komang dkk., 2014)

Klasifikasi tikus putih menurut Rejeki (2018) sebagai berikut :

- Kingdom : Animalia
- Filum : Chordate
- Kelas : Mamalia
- Ordo : Rodenita
- Famili : Murinane
- Genus : Rattus
- Spesies : Rattus
- Galur/strain : *Sprague Dawley*

2.12.3 Pengambilan sampel organ hewan uji

Pada penelitian eksperimental selain sampel darah, juga dapat dilakukan pengambilan sampel organ dari hewan coba. Organ yang diambil dari hewan coba akan dilakukan beberapa pemeriksaan. Pada abdomen dapat diambil organ sistem pencernaan antara lain lambung, usus halus, sekum, hati, limpa dan juga prankeas. Organ lain yang abdomen yang bisa di ambil antara lain ginjal dan kandung empedu. Setelah proses pengambilan organ pada (Gambar 2.10), organ disimpan dalam wadah untuk proses selanjutnya atau disimpan dalam larutan pengawet lain atau pendingin sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan yang dilakukan peneliti (Risbandini, 2020).



Gambar 2. 10 Pembedahan pengambilan organ (Risbandini, 2020).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ayakan mesh 80, oven, beaker glass (pyrex), bejana kaca, labu ukur (pyrex), pipet tetes, cawan porselin, batang pengaduk, blender, corong, kain saring, kertas saring, waterbath, kapas, bunsen, api bunsen, *handskun*, sarung tangan, alat bedah hewan, meja bedah hewan, underpad, spuit 1 cc dan 3 cc, sonde oral, tempat makan dan minum, tabung reaksi, bejana maserasi, sentrifugasi, timbangan analitik, klip besar, *rotary evaporator* (IKA RV 10 digital), LC-MS (Shimadzu LCMS – 8040 LC/MS), ELISA READER (Labtron type LMPR-A12).

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi serbuk biji pepaya (*Carica papaya L*), etanol 70%, CMC-Na 0,5%, aquadest, fruktosa, lemak babi, hewan uji tikus sprague dawley, xyla, ketamin, asam sulfat pekat, pakan standart, asam klorida, HCL, asam asetat glasial, NaCl, Reagen MBS MDA (S268427) dan SOD (S036924) .

3.2 Lokasi Penelitian

1. Lokasi proses maserasi di Laboratorium Botani STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Lokasi evaporasi di Universitas Brawijaya.
3. Lokasi determinasi di UPT Materia Batu, Malang.
4. Lokasi analisis LCMS di Universitas Muhammadiyah Malang.
5. Lokasi pengajuan *Ethical Clearence* di UBAYA.
6. Lokasi pengukuran SOD dan MDA dilakukan di Laboratorium Klinik Hewan Satwa Malang

3.3 Populasi Penelitian

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

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pepaya yang terdapat di Desa Mirigambar RT 01 RW 06, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah objek yang menempel (dimiliki) pada diri subjek. Objek penelitian dapat berupa orang, benda, transaksi, atau kejadian yang dikumpulkan dari subjek penelitian yang menggambarkan suatu kondisi ataupun nilai masing-masing subjek penelitian (Hardani dkk., 2020). Macam-macam variabel penelitian antara lain variabel bebas, variabel kontrol, variabel dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang terutama digunakan dalam menganalisis hubungan antara variabel tak bebas yang dipengaruhi oleh variabel bebas (Winarno, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian eksperimen ini adalah dosis 150 mg/kgBB ekstrak biji pepaya, dosis 250 mg/kg BB ekstrak etanol biji pepaya, dan dosis 350 mg/kg BB ekstrak etanol biji pepaya yang diberikan secara peroral.

3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga pengaruh variabel independen terhadap dependen tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol sering digunakan peneliti bila akan melakukan perbandingan (Sugiyono, 2009). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah metode maserasi dan tikus jantan galur *Sprague Dawley*.

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang secara struktur berpikir keilmuan menjadi variabel yang disebabkan oleh adanya perubahan variabel lainnya. Variabel ini dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Hardani dkk., 2020). Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol biji pepaya terhadap SOD (*Superoxide dismutase*) dan MDA (*Malondialdehida*) pada ginjal tikus jantan galur (*Sprague dawley*).

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Ethical Clearance

Ethical Clearance atau kelayakan etik penelitian merupakan keterangan tertulis yang diberikan oleh komisi etik penelitian untuk riset yang melibatkan makhluk hidup (manusia, hewan, dan tumbuhan) yang menyatakan bahwa suatu proposal riset layak dilaksanakan setelah memenuhi persyaratan (Insani dkk., 2013). Pengajuan *Ethical Clearance* dilakukan di Universitas Surabaya, Jawa Timur.

3.6.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui identitas tanaman dan jenis tanaman yang akan diteliti untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Kartika, 2015). Sampel tanaman diidentifikasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang, Jawa Timur.

3.6.3 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). Biji pepaya yang telah dikeringkan kemudian disortasi kering, lalu diserbuk menggunakan blender, lalu diayak menggunakan ayakan mesh 80 kemudian ditimbang. Hasil dari pengayakan tersebut, serbuk disimpan dalam wadah tertutup (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

3.6.4 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.6.4.1 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Susut pengerinan merupakan pengurangan berat bahan simplisia setelah dikeringkan. Susut pengerinan bertujuan untuk mengetahui batas maksimal dan rentang besarnya pengukuran susut bahan pada proses pengerinan dengan syarat susut pengerinan antara 16-25,8 % (Depkes RI, 2000). Simplisia dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit. Dihitung berat kadar susut pengerinan dalam g per g terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara. Dapat dihitung dengan rumus (Depkes RI, 2008).

$$\% \text{ susut pengerinan} = \frac{\text{Bobot biji basah}}{\text{Bobot biji kering}} \times 100 \%$$

3.6.4.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air pada simplisia, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Depkes RI, 2000). Kadar air simplisia tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2008).

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan menimbang 10 gram serbuk biji pepaya dan masukkan kedalam *moisture analyzer*, kemudian suhu diatur sampai 105°C selama 3-5 menit. Nilai kadar air serbuk simplisia akan terlihat pada layar dan memenuhi syarat apabila <10%. Perhitungan kadar air serbuk simplisia dengan rumus berikut (Depkes RI, 1985).

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

3.6.4.3 Pembuatan Ekstraksi Biji Pepaya

Serbuk biji pepaya sebanyak 100 gram dimaserasi menggunakan etanol 70% (1:10) perbandingan serbuk dan pelarut, kemudian dimasukkan dalam bejana kaca, ditambahkan etanol 70% sebanyak 1000 ml sampai serbuk terendam sempurna. Untuk bejana kaca disimpan diruang tertutup agar terlindungi dari sinar matahari, di diamkan selama 5 hari x 24 jam sambil diaduk atau dikocok. Setelah 5 hari, maserat dikeluarkan dan disaring dengan menggunakan kain saring. Selanjutnya di remaserasi hingga maserat menjadi jernih kemudian hasil filtrat

remaserasi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* di Universitas Brawijaya dengan suhu 40°C, dan untuk pengentalan diatas waterbath (Apriliani dkk., 2022).

3.6.4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

3.6.4.4.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin dkk., 2006). Nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan (Dewastisari, 2018). Rumus dari rendemen ekstrak sebagai berikut (Depkes RI, 2000). Menurut Budiyanto (2015) menyatakan bahwa semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

3.6.4.4.2 Penetapan Kadar Abu Ekstrak

Penetapan kadar abu bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa anorganik total serta menentukan karakteristik sisa kadar abu non organik setelah pengabuan (Supriningrum dkk., 2021).

Uji kadar abu total dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 2-3 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan krus silikat yang sudah dipijar dan ditara, setelah itu dipijarkan perlahan-lahan hingga abu habis, didinginkan dan ditimbang. Jika dengan cara ini abu tidak bisa hilang, maka ditambahkan air panas lalu disaring melalui kertas saring bebas abu. Sisa dan kertas saring dipijarkandi dalam cawan krus yang sama. Kemudian filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan hingga bobot tetap pada suhu 800± 25°. Dihitung kadar abu total terhadap bahan uji dinyatakan dalam %b/b. Hasil abu yang telah dingin, ditimbang sehingga kadar abu dapat dihitung dengan rumus berikut :

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

3.6.4.4.3 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat ditambahkan dalam sampel ekstrak kemudian dihomogenkan. Tabung disumbat dengan kapas lalu dipanaskan. Bebas etanol jika tidak tercium bau ester (Kurniawati, 2015). Tujuan dari uji bebas etanol adalah untuk menghindari pengaruh dari etanol dimana etanol bersifat desinfektan sehingga dikhawatirkan dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri dalam ekstrak etanol 70% (Konay dkk., 2019).

3.6.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan yang dapat memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti (Kristianti dkk., 2008). Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) meliputi senyawa flavonoid, tanin, dan saponin.

3.6.5.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan serbuk magnesium dan 2-4 tetes HCl pekat. Kemudian campuran dikocok. Terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavon (Siti dkk., 2015).

3.6.5.2 Uji Saponin

Sampel ekstrak biji pepaya diambil 2 gram dan ditambahkan dengan 10 ml aquades kemudian dikocok kurang lebih selama 1 menit. Kemudian didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Jika terjadi senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit (Isnania dkk., 2014).

3.6.5.3 Uji Tanin

Ekstrak etanol biji pepaya 2 gram direaksikan dengan larutan FeCl_3 sebanyak 3 tetes. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin (Novisa dkk., 2021)

3.6.5.4 Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 2 gram ditambahkan larutan kloroform 5 ml dan amoniak 5 ml didalam tabung reaksi dipanaskan, dikocok kemudian disaring. Ditambahkan 5 tetes H_2SO_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 terbentuk endapan jingga (Garnita dkk., 2022).

3.6.6 Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LC-MS

Pada hasil analisis data LC-MS akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga akan diketahui jumlah senyawa yang dikandung pada sampel. Data LC-MS dapat digunakan untuk memberikan informasi mengenai berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu. 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 dkk., 2019).

3.7 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

3.7.1 Kontrol Negatif Larutan CMC Na 0,5 %

Na CMC ditimbang sebanyak 0,5 gr, ditaburkan dalam mortar yang berisi 10 ml aquadet yang telah dipanaskan, diamkan selama 15 menit hingga memperoleh masa transparan, lalu campur sampai homogen. Setelah itu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan volumenya dicukupkan dengan aquadest hingga batas 100 ml (Manek dkk., 2020).

3.7.2 Kontrol Positif Fruktosa

Pemberian fruktosa diberikan sebanyak 3 ml menggunakan sediaan fruktosa cair 10%.

3.8 Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya

Pada pembuatan dosis ekstrak biji pepaya digunakan 3 variasi dosis yaitu 150 mg, 250 mg, 350 mg. berat rata-rata tikus yaitu 200 gram, jumlah dosis yang diberikan pada tikus dengan dosis 150 mg sebanyak 1.260 mg/ml, 250 mg sebanyak 2100 mg/ml, dan 350 mg sebanyak 2.940 mg/ml. Pemberian suspensi ekstrak biji pepaya dilakukan secara oral menggunakan sonde, sediaan ekstrak biji pepaya kemudian ditimbang dan dilarutkan dalam pelarut CMC-Na 0,5% secukupnya kemudian ditambahkan aquadet ad 30 ml.

3.8.1 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak

Pakan lemak tinggi yang digunakan adalah pakan standart 95% dan lemak babi 5%. 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 dkk., 2020).

3.8.2 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sprague dawley* dengan berat badan 150-250 gram dan berumur 8 minggu yang berasal dari Malang Jawa Timur, tidak cacat secara fisik dan sehat. Penggunaan hewan coba ini telah mendapatkan serifikat layak etik dari komisi etik peneliti Universitas Surabaya. Alasan dalam menggunakan tikus berkelamin jantan karena tidak ada pengaruh hormon esterogen yang akan mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol (Kumar dkk., 2012). Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasikan (aklimatisasi) selama kurang lebih 1 minggu dengan menempatkan di dalam kandang pada lingkungan yang nyaman, tidak gaduh, kandang yang bersih dan diberikan pakan pellet dan minum libitum. Tujuan dari aklimitasi yaitu agar hewan uji dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya (Risha dkk., 2018).

Hewan uji tikus sebanyak 30 ekor tikus jantan galur *Sprague dawley*. Hewan uji ini dibagi menjadi 6 kelompok berisi 5 ekor tikus yang diberi pemberian pakan standart dan penginduksian secara oral selama 10 hari, kemudian diberi perlakuan sehari sekali selama 7 hari.

Kelompok kontrol positif = Pakan standart + Induksi tinggi lemak + Larutan fruktosa

Kelompok kontrol negatif = Pakan standart + Induksi tinggi lemak

Kelompok Normal = Pakan standart

Kelompok Perlakuan 1 = Pakan standart + Induksi tinggi lemak + Ekstrak etanol biji pepaya dengan dosis 150 mg/kgBB

Kelompok Perlakuan 2 = Pakan standart + Induksi tinggi lemak + Ekstrak etanol biji pepaya dengan dosis 250 mg/kgBB

Kelompok Perlakuan 3 = Pakan standart + Induksi tinggi lemak + Ekstrak etanol biji pepaya dengan dosis 350 mg/kgBB

3.9 Cara Pengambilan Organ Ginjal Tikus

Setelah akhir hari masa perlakuan, tikus jantan galur (*Sprague dawley*) diterminasi/ dieuthanasi secara dislocation os cervical (cervical dislocatio) yang dilakukan dengan steril dan cepat. Hewan coba yang diberi anastesi xyla dan ketamine kemudian dibedah pada bagian abdomen. Setelah itu dilakukan pengambilan organ ginjal dan dilakukan pencucian dengan buffer fosfat sallin (PBS). Kemudian organ ginjal ditiriskan dan ditimbang beratnya.

3.10 Persiapan Homogenat

Ginjal sebanyak 1,25 g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCL, kemudian disentrifugase pada 4000 rpm, 10 menit. Sehingga diperoleh supernatan jernih (homogenat). Supernatan jernih (homogenat) ini digunakan untuk analisis kadar SOD dan MDA.

3.11 Pengukuran Sampel SOD dan MDA Jaringan Ginjal Tikus

3.11.1 Pengukuran Sampel SOD Jaringan Ginjal Tikus

Prinsip pemeriksaan kadar SOD yaitu reaksi antara xantine dan xanthine oxidase (XO) menghasilkan radikal superoksida. Pengukuran SOD dilakukan secara tidak langsung dengan Nitro Biru Tetrazolium (NBT) (Thrisnadia.,2019).

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 standart, satu unit SOD didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang dibutuhkan untuk menghambat 50% dari autooksidasi.
5. Campuran diencerkan 1/10 kemudian baca absorban 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

3.11.2 Pengukuran Sampel MDA Jaringan Ginjal

Prosedur Analisis Kadar MDA sebagai berikut :

1. Larutan stok pereaksi 1,1,3,3 – tetra metoksi propane (TMP) konsentrasi 6M diencerkan menjadi 0,05; 0,06; 0,07; 0,0; 0,09; 0,10; 0,11; 0,12; dan 0,13 ppm.
2. Selanjutnya, ditambah 2,0 ml HCL dingin (0,25N) 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 λ 532 nm.
5. Sebanyak 0,5 ml supernatan jernih 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. Supernatant diambil diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada λ 532 nm. Sebagai larutan standar digunakan TMP (Tetra Metoksi Propana).

Selanjutnya, dilakukan perhitungan menggunakan persamaan regresi $y = a + bx$, dengan koefisien korelasi (r) untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi larutan standar.

Rumus Penghitungan Kadar MDA Sebagai Berikut :

$$\frac{\text{Absorbansi sampel pada } \lambda \text{ maks} - \text{Intersep standar pada } \lambda \text{ maks}}{\text{Slope standar pada } \lambda \text{ maks}}$$

3.12 Analisis LCMS

Analisis dilakukan di UMM (Universitas Muhammadiyah Malang). Pada pengujian ini merupakan skrining lanjutan dari skrining fitokimia untuk melakukan pengujian dari ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*). Analisis pada biji pepaya (*Carica papaya L.*) dilakukan untuk mengenai senyawa yang terkandung dalam biji pepaya (*Carica papaya L.*).

Analisis LCMS dilakukan dengan mengambil sampel cair 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. Mengambil 10 ml filtrat untuk dilakukan sentrifugasi. Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4 C selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh tempatkan pada tabung reaksi. Selanjutnya pengenceran ekstrak ambil 1 ml ekstrak tempatkan pada labu takar 25 ml dan tambahkan dengan dengan metanol 90% sampai tanda batas. Larutan disaring

dengan membran filter, cellulose acetate 0,45 μm dan dilakukan degassing. Larutan siap digunakan untuk analisis LCMS.

3.13 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah menggunakan sistem komputerisasi menggunakan program SPSS (*Statistical Product Service Solution*) dengan pengolahan data sebagai berikut:

3.13.1 Uji Normalitas

Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah dalam model regresi, variabel pengganggu atau residual memiliki distribusi normal atau tidak (Penerapan dkk., 2021).

Pengambilan kesimpulan hasil uji normalitas dapat dilihat :

1. Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka dinyatakan data berdistribusi normal.
2. Jika nilai signifikansi $\leq 0,05$, maka dinyatakan data berdistribusi tidak normal

3.13.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas digunakan sebagai bahan acuan untuk menentukan keputusan uji statistik (Penerapan dkk., 2021). Dasar atau pedoman pengambilan keputusan dalam uji homogenitas yaitu :

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

3.13.3 Uji One Way Anova

Uji One Way Anova bertujuan untuk membandingkan lebih dari dua rata-rata serta data sampel dianggap mewakili populasi (Riduwan, 2004). Uji oneway ANOVA dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji TUKEY. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak etanol biji pepaya dengan variasi konsentrasi yang berbeda terhadap kadar SOD dan MDA pada ginjal tikus galur *Sprague Dawley*.

Perumusan hipotesis :

H₀ : tidak ada pengaruh variasi konsentrasi optimum pada ekstrak etanol biji pepaya terhadap kadar SOD dan MDA pada ginjal tikus galur *Sprague Dawley*.

H₁ : ada pengaruh variasi konsentrasi optimum pada ekstrak etanol biji pepaya terhadap kadar SOD dan MDA pada ginjal tikus galur *Sprague Dawley*.

Pengambilan keputusan :

1. Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima
2. Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima

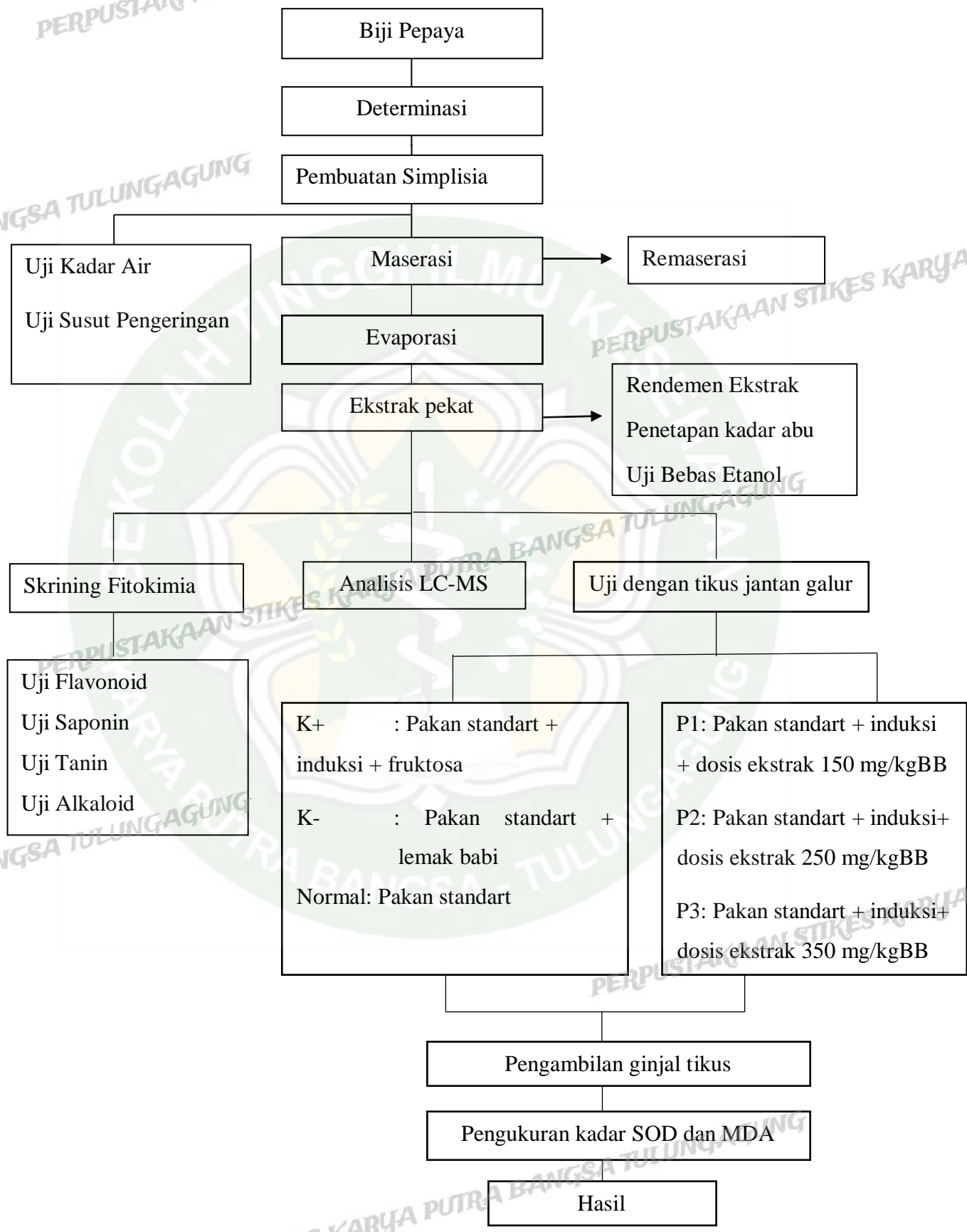
3.14 Hipotesis

3.14.1 Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas terhadap kadar SOD dan MDA pada tikus galur *Sprague Dawley*

3.14.2 Variasi konsentrasi optimum 350 mg ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar SOD dan MDA pada tikus galur *Sprague Dawley*.

3.14.3 Senyawa ekstrak etanol biji pepaya diduga memiliki senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

3.15 Kerangka Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persetujuan *Ethical Clearance*

Ethical Clearance yang diajukan ke komite etik penelitian di Universitas Surabaya untuk penelitian praklinik, yang telah disetujui oleh *Institutional Ethical Commite*. Universitas Surabaya dengan nomer surat 106/KE/IV/2023 pada tanggal 13 April 2023 dan berlaku selama 20 Maret 2023 sampai 17 Mei 2023. Surat keterangan *Ethical Clearance* dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman pepaya dilakukan di UPT Materia Medika Batu, dengan nomor surat 067/162/102.20/2023. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah biji pepaya dengan nama latin *Carica papaya* L memiliki kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a: Caricaceae-1. Bagian yang digunakan untuk penelitian ini adalah biji. Hasil determinasi biji pepaya dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

Morfologi tanaman pepaya yaitu mempunyai batang yang tidak berkayu, silindris, berongga putih kotor dan tinggi ± 10 m. Daunnya tunggal, bulat, ujung runcing, pangkal bertoleh, tepi, bergerigi dengan diameter 25-75 cm, pertulangan menjari, panjang tangkai 25-100 cm dan hijau. Bunga tunggal, bentuk bintang, diketiak 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 Cbertaju lima, bertabung panjang, putih kekuningan. Buahnya buni, bulat memanjang, berdaging, masih muda berwarna hijau setelah tua berwarna jingga. Bijinya berbentuk bulat atau bulat panjang, kecil, bagian luar dibungkus selaput yang berisi cairan, masih muda putih setelah tua hitam. Akarnya tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan. Pembuktian kebenaran dari tanaman yang digunakan diperkuat dengan adanya surat determinasi tanaman yang dikeluarkan oleh UPT Materia Medika Batu.

4.3 Pembuatan Simplisia Serbuk Biji Pepaya

Pembuatan simplisia biji pepaya (*Carica papaya L.*) dilakukan dengan pengambilan biji pepaya yang diperoleh dari Ds. Mirigambar, RT.01/RW 06, Sumbergempol, Tulungagung, Jawa Timur. Penyiapan bahan baku simplisia dimulai dengan pengumpulan biji pepaya sebanyak 13 kg dari buah pepaya yang masih segar yang berwarna hijau. Biji pepaya di sortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada biji pepaya. Kemudian dilakukan proses pengeringan yang bertujuan untuk menurunkan kandungan air dalam suatu simplisia, biji pepaya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan serta tidak langsung terkena sinar matahari (Purwanti dkk, 2018). Pengeringan secara langsung terkena matahari berpengaruh terhadap kerusakan kandungan kimia bahan yang dikeringkan (Dharma dkk., 2020).

Simplisia yang sudah kering dilakukan proses sortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotor lainnya yang masih tertinggal pada simplisia kering (Indriaty dkk., 2021). Proses penyiapan serbuk simplisia dilakukan dengan menghaluskan simplisia kering menggunakan blender kemudian diayak menggunakan ayakan mesh no 80. Menurut Depkes (2017) semakin besar nomor mesh yang digunakan semakin kecil partikel yang diperoleh. 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).

4.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Susut pengeringan merupakan salah satu parameter non spesifik yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang atau menguap pada proses pengeringan (Sutomo dkk., 2021). Hasil susut pengeringan dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Hasil Susut Pengeringan Simplisia

Sampel	Replikasi	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	% Hasil
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 saat uji susut pengeringan simplisia biji pepaya yaitu 9,7 %. Hasil uji susut pengeringan simplisia biji pepaya memenuhi standar yang telah ditetapkan yaitu tidak lebih dari 10% (Ulya dkk., 2020). Jika semakin kecil nilai dari susut pengeringan maka semakin baik proses pengeringan yang dilakukan pada sampel tersebut (Sutomo dkk., 2021).

4.3.2 Uji Kadar Air Simplisia

Penentuan kadar air adalah pengukuran kandungan air pada simplisia yang telah dikeringkan dan diserbukkan. Tujuan penetapan kadar air yaitu memberikan batasan minimal rentang besarnya kandungan air di dalam serbuk simplisia (Retnaningtyas dkk., 2016). Menurut FHI (2000), umumnya kandungan kadar air yang dipersyaratkan adalah kurang dari 10%. 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 Uji 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 %	1,7 %
		9,76 %	2,4 %
Rata-rata			1,86%

4.3.3 Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya

Proses ekstraksi serbuk simplisia biji pepaya menggunakan metode maserasi. Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam suatu wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar (Badaring dkk., 2020). Pemilihan metode maserasi karena menggunakan peralatan yang sederhana, relatif murah, dapat menghindari terjadinya penguapan komponen senyawa karena tidak menggunakan panas (Padmawati dkk., 2020). Pada proses maserasi menggunakan serbuk simplisia sebanyak 100 gram dengan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol 70% dipilih karena dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut organik lainnya (Hasanah & Novian, 2020). Prinsip kelarutan adalah *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Arsa dkk., 2020). Pada proses perendaman dilakukan penggojokan atau pengadukan yang berulang agar dapat mempercepat waktu larutan penyari dalam mengekstraksi sampel (Handoyo, 2020).

Selanjutnya ekstrak disaring menggunakan kertas saring yang bertujuan untuk menyaring serbuk yang mengendap, setelah itu dilakukan proses remaserasi yang bertujuan untuk memaksimalkan penyarian zat aktif yang terkandung dalam simplisia (Anjaswati dkk., 2021). Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental (Sayakti dkk., 2022).

4.3.3.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku (Nahor dkk., 2017). Tujuan dari rendemen ekstrak dilakukan untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan terhadap awal berat bahan simplisia serta untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan yang terekstraksi (Utami dkk., 2020). Hasil dari rendemen ekstrak biji pepaya dapat dilihat pada **Tabel 4.3**. Pengujian rendemen ekstrak diperoleh hasil sebesar 12% dari bobot

ekstrak 120 gr dibagi dengan bobot serbuk simplisia 1000 gr dikali 100%. Hasil nilai rendemen ekstrak biji pepaya sudah memenuhi syarat yaitu $> 10\%$ (Nafi'atul Insani dkk., 2022). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin besar ekstrak yang dihasilkan (Nahor., 2019).

Tabel 4.3 Hasil rendemen ekstrak

Sampel	Bobot Serbuk Simplisia	Bobot Ekstrak	% Hasil
Ekstrak Biji pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	1000 gr	120 gr	12%

4.3.3.2 Penetapan Kadar Abu Ekstrak

Tujuan dilakukannya pengujian kadar abu yaitu untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Utami dkk., 2017). Berdasarkan persyaratan Ditjen POM (2000) kadar abu yang berlaku adalah tidak lebih dari 3,7%.

Tabel 4.4 Hasil Kadar Abu Ekstrak Etanol Biji Pepaya

Sampel	Kadar Abu	Satuan	Metode
Ekstrak Biji pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	17,38 ± 0,07	%	Gravimetri

Hasil uji kadar abu dapat dilihat pada **Tabel 4.4**. Pengujian kadar abu pada sampel diperoleh hasil sebesar 17,38%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa belum memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 3,7%, hal ini menunjukkan ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki kandungan mineral yang tinggi. Menurut Sudarmadji dkk (1997) peningkatan kadar abu terjadi karena semakin tinggi suhu pengeringan maka semakin banyak air yang teruap dari bahan yang dikeringkan.

4.3.3.3 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ekstrak terbebas dari etanol, sehingga diperoleh ekstrak yang murni tanpa adanya kontaminasi (Yasir dkk., 2021). Hasil uji bebas etanol ekstrak biji pepaya dapat dilihat pada **Tabel 4.5**.

Tabel 4.5 Hasil Uji Bebas Etanol

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Biji pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	$H_2SO_4 + CH_3COOH$	+	Bebas etanol

Keterangan: (+) tidak tercium bau ester

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara 1 ml CH_3COOH dan 1 ml H_2SO_4 ditambahkan dalam sampel ekstrak kemudian dihomogenkan. Tabung disumbat dengan kapas lalu dipanaskan. Bebas etanol jika tidak tercium bau ester (Kurniawati, 2015). Hasil uji bebas etanol pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa ekstrak positif bebas etanol yang ditandai dengan tidak terciumnya bau etanol dan tidak terjadi perubahan warna pada ekstrak, sehingga dapat disimpulkan bahwa diperoleh ekstrak yang dapat digunakan untuk penelitian tahap selanjutnya.



(A)



(B)

Gambar 4.1 Hasil Uji Bebas Etanol (A) Sebelum Direaksikan (B) Setelah Direaksikan

4.3.4 Skrining Fitokimia

Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Kimia STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung untuk mengetahui senyawa atau metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel dengan cara menambahkan beberapa bahan kimia sehingga dapat diidentifikasi dengan adanya perubahan warna pada sampel. Pada penelitian ini dilakukan 4 macam skrining, yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid yang mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil skrining fitokimia ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) didapatkan hasil positif senyawa metabolit sekunder dapat dilihat pada **Tabel 4.6**.

Tabel 4.6 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji pepaya

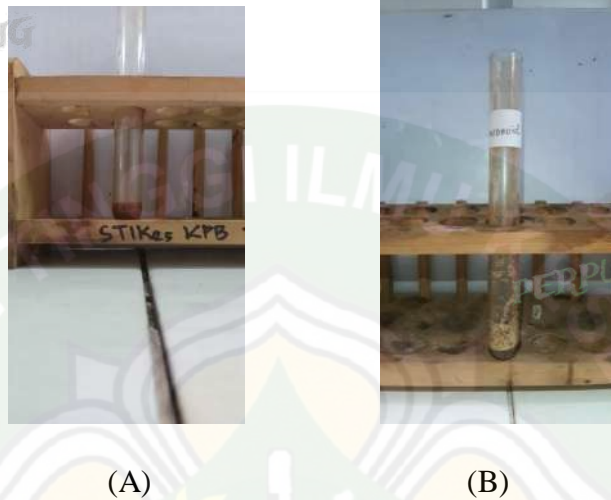
Golongan senyawa	Pereaksi	Keterangan	Hasil
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat	Perubahan warna orange	+
Saponin	Aquadest	Terbentuk busa stabil	+
Tanin	FeCl ₃	Perubahan warna Hijau kehitaman	+
Alkaloid	Kloroform + Amoniak + H ₂ SO ₄ + pereaksi mayer	Endapan putih	+
	Kloroform + Amoniak + H ₂ SO ₄ + pereaksi ragendroff	Endapan jingga	+

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

4.3.4.1 Uji Flavonoid

Pengujian flavonoid dapat diuji keberadaannya dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat pada ekstrak. Senyawa flavonoid akan terbentuk perubahan warna merah, jingga atau orange ketika terinduksi dengan Mg dan HCl pekat hal ini menunjukkan bahwa sampel telah mengandung flavonoid (Rahman, 2020). Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antioksidan yakni berikatan dengan

radikal bebas. Hasil uji flavonoid pada ekstrak biji pepaya menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi orange yang dilihat pada **Gambar 4.2**. Warna orange pada uji flavonoid disebabkan karena adanya terbentuknya garam flavilium pada saat penambahan Mg dan HCl.



(A)

(B)

Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid (A) Sebelum Direaksikan (B) Setelah Direaksikan

4.3.4.2 Uji Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan menambahkan aquadest pada ekstrak kemudian dikocok selama kurang lebih 1 menit, apabila terdapat busa maka positif adanya senyawa saponin pada ekstrak. Saponin merupakan senyawa yang bersifat aktif permukaan dan dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Hasil uji saponin pada ekstrak biji pepaya menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya busa stabil yang dapat dilihat pada **Gambar 4.3**. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Astuti, 2012).



(A)

(B)

Gambar 4.3 Hasil Uji Saponin (A) Sebelum Direaksikan (B) Setelah Direaksikan

4.3.4.3 Uji Tanin

Pengujian tanin dapat diuji keberadaannya dengan menambahkan $FeCl_3$ pada ekstrak. Senyawa tanin merupakan senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, ketika ditambahkan $FeCl_3$ akan terjadi perubahan warna biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa dalam sampel (Rimijuna dkk.,2017). Hasil uji tanin pada ekstrak biji pepaya menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna hijau kehitaman yang dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.



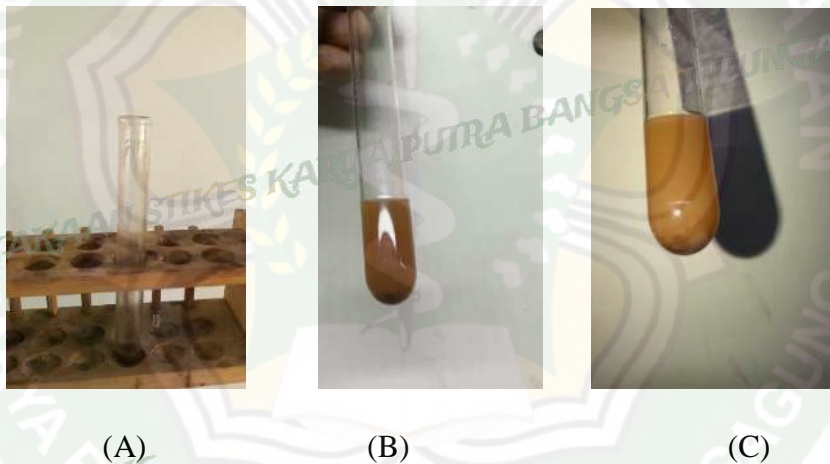
(A)

(B)

Gambar 4.4 Hasil Uji Tanin (A) Sebelum Direaksikan (B) Setelah Direaksikan

4.3.4.4 Uji Alkaloid

Pengujian alkaloid dilakukan dengan menambahkan larutan kloroform dan amoniak, kemudian ditetesi dengan H_2SO_4 dan ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendroff. Hasil alkaloid dengan penambahan reagen mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih dan pada penambahan reagen dragendroff ditandai dengan terbentuknya endapan jingga. Pada uji alkaloid mayer endapan putih dihasilkan dari nitrogen pada alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap. Hasil uji positif alkaloid pada uji dragendroff endapan tersebut adalah kalium alkaloid (rengganis). Hasil uji alkaloid pada ekstrak biji pepaya menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terjadinya perubahan endapan putih dan jingga yang dapat dilihat pada **Gambar 4.5**.



Gambar 4.5 Hasil Uji Alkaloid (A) Sebelum Direaksikan (B) Setelah Direaksikan Dragendroff (C) Setelah Direaksikan Mayer

4.4 Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LCMS

Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS) adalah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifitas deteksi spektrometri massa. Prinsip kerja dari LC-MS adalah suatu analit dipisahkan dalam kolom kromatografi cair kemudian diionisasi dan dipisahkan lagi berdasarkan perbandingan massa dengan muatan dari masing-masing ion, sebelum diteruskan pada spectrometer massa yang selanjutnya akan

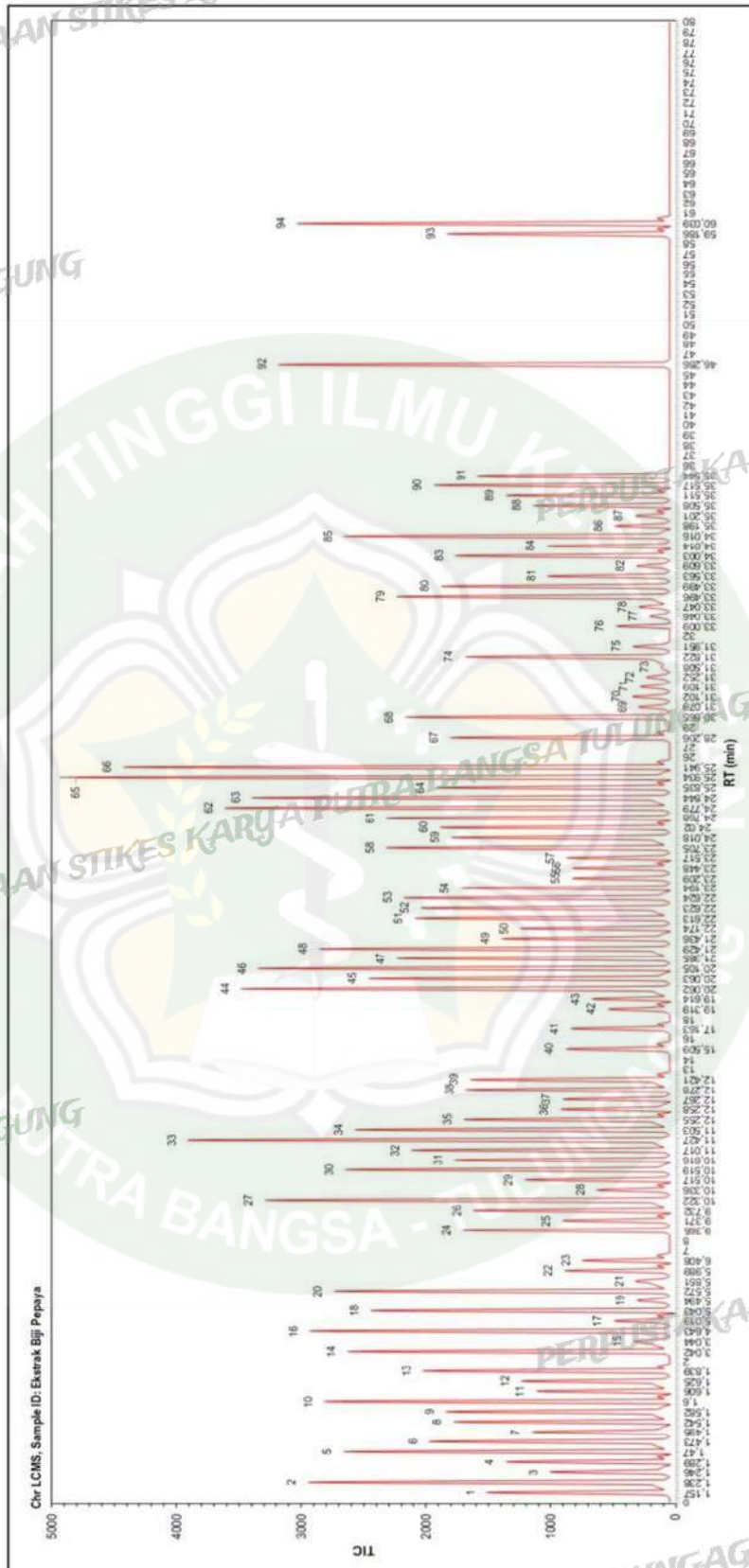
dibaca oleh detektor dan divusualisasi dalam bentuk kromatogram dan fragmentasi senyawa, alatnya terdiri dari atas kolom (sebagai fase diam) dan larutan tertentu sebagai fase geraknya (Ode & Mangurana, 2019).

Analisis LC-MS senyawa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang. Analisis LC-MS kali ini fase gerak menggunakan etanol 95% dan fase diam Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2mm x 150 mm, 3 μ m). Hasil identifikasi senyawa ekstrak etanol biji pepaya menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) menghasilkan 94 senyawa dengan puncak terendah hingga tertinggi dapat dilihat pada **Gambar 4.6**.

Tabel 4.7 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Biji Pepaya

No. Peak	Senyawa	Waktu Retensi (Rt)	Komposisi (%)	Golongan Senyawa
2	Fumaric acid	1,238	1,86869	Fenol
33	Quercetin	11,427	2,47910	Flavonoid
94	3-O-galloylepigallocatechin (4 β →epigallocatechin-3-O-gallate	60,039	1,92455	Tanin
31	Sambunigrin	10,616	1,12490	Saponin
65	Carpaine	25,934	3,12924	Alkaloid

LCMS CHROMATOGRAM RESULT, SAMPLE ID: EKSTRAK BIJI PEPAAYA



Gambar 4.6 Hasil Chromatogram LC-MS

4.4.1 Senyawa Golongan Fenol

Pada golongan fenol dari hasil LC-MS memiliki kadar tertinggi pada no peak 2 dengan waktu retensi 1,238 yaitu dengan nama *fumaric acid*. Senyawa *fumaric acid* memiliki rumus kimia $C_4H_4O_4$ dengan berat molekul (m/z) 116,0110 dan komposisi 1,86869%. Golongan senyawa fenol yang diperoleh dengan total komposisi yaitu 22,46% dari 18 senyawa golongan fenol. Hasil *Mass-Spektrometry* senyawa *fumaric acid* dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Mekanisme kerja fenol (*Fumaric acid*) kemampuannya dalam membentuk radikal fenoksi yang stabil pada reaksi oksidasi menyebabkan senyawa fenolik sangat potensial sebagai antioksidan (Dhurhanian & Novianto, 2019).

4.4.2 Senyawa Golongan Flavonoid

Pada golongan senyawa flavonoid dari hasil LC-MS memiliki kadar tertinggi pada no peak 33 dengan waktu retensi 11,427 yaitu dengan nama *quercetin*. Senyawa *quercetin* memiliki rumus kimia $C_{15}H_{10}O_7$ dengan berat molekul (m/z) 302,0427 dan komposisi 2,47910 %. Golongan senyawa flavonoid yang diperoleh dengan total komposisi yaitu 43,33% dari 32 golongan senyawa flavonoid. *Mass-Spektrometry* senyawa *quercetin* dapat dilihat pada **Lampiran 8**. *Quercetrin* merupakan antioksidan yang bekerja dengan mekanisme menangkap radikal bebas (Wirna dkk., 2014). Kandungan *quercetin* ekstrak biji pepaya dapat meredam efek radikal bebas yang berlebih dan mencegah terjadinya peroksidase lemak. Biji pepaya mengandung flavonoid jenis *quercetin* berperan dalam reduksi radikal bebas yang akan menurunkan jumlah ROS sehingga kadar antioksidan yaitu SOD meningkat (Ruth dkk., 2020).

4.4.3 Senyawa Golongan Tanin

Pada golongan senyawa tanin dari hasil LC-MS memiliki kadar tertinggi pada no peak 94 dengan waktu retensi 60,039 yaitu dengan nama *3-O-galloylepigallotechnin-3-O-gallate*. Senyawa *3-O-galloylepigallotechnin-3-O-gallate* memiliki rumus kimia $C_{44}H_{34}O_{22}$ dengan berat molekul (m/z) 914,1542 dan komposisi 1,92455. Golongan senyawa tanin yang diperoleh dengan total komposisi yaitu 11,4% dari 8 golongan senyawa tanin. *Mass-Spektrometry* senyawa *3-O-galloylepigallotechnin-3-O-gallate* dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

Mekanisme kerja tanin adalah bekerja sebagai antioksidan sekunder dengan menghentikan pembentukan radikal bebas dengan cara mengkelat logam. Tanin dapat menekan proses peroksidasi lipid sehingga akan mencegah terjadinya hiperkolestrolemia (Oktaviani dkk., 2021). *3-O-galloylepigallotechnin-3-O-gallate* mempunyai kemampuan dalam mengais ion radikal bebas dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan

4.4.4 Senyawa Golongan Saponin

Pada golongan senyawa saponin dari hasil LC-MS memiliki kadar tertinggi pada no peak 31 dengan waktu retensi 10,616 yaitu dengan nama *sambunigrin*. Senyawa *sambunigrin* dengan rumus kimia $C_{14}H_{17}NO_6$ dengan berat molekul (m/z) 295,1056 dan komposisi 1,12490%. Golongan senyawa saponin yang diperoleh dengan total komposisi yaitu 1,12% dari 1 senyawa golongan saponin. *Mass-Spektrometry* senyawa *sambunigrin* dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Mekanisme kerja *sambunigrin* memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena saponin ini mampu dalam meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida sehingga akan mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas (Hasan dkk., 2022). Saponin juga memiliki efek antioksidan melalui mekanisme peningkatan pembentukan SOD dan katalase (Anggraito dkk., 2018).

4.4.5 Senyawa Golongan Alkaloid

Pada golongan senyawa alkaloid dari hasil LC-MS memiliki kadar tertinggi tertinggi pada no peak 65 dengan waktu retensi 25,934 yaitu dengan nama *carpaine*. Senyawa *carpaine* dengan rumus kimia $C_{28}H_{50}N_2O_4$ dengan berat molekul (m/z) 478, 3771 dan komposisi 3,12924%. Golongan senyawa alkaloid yang diperoleh dengan total komposisi yaitu 10,38% dari 4 senyawa golongan alkaloid. *Mass-Spektrometry* senyawa *carpaine* dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Mekanisme *carpaine* sebagai antioksidan yang mengandung atom nitrogen dalam strukturnya maka atom tersebut mempunyai elektron bebas yang berfungsi dalam meredam aktivitas radikal bebas di dalam tubuh (Hasan dkk., 2022). Alkaloid memiliki efek antioksidan melalui aktivitasnya sebagai *scavenger*. Gugus indol pada senyawa alkaloid mampu dalam menghentikan reaksi berantai radikal bebas

secara efisien. Sebagai antioksidan, alkaloid juga mampu melindungi sel dari toksisitas dan kerusakan genetik akibat oksidan H_2O_2 (Anggraito dkk., 2018).

4.5 Kadar Malondialdehid (MDA) Ginjal Tikus

Pengujian aktivitas antioksidan biji pepaya pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur Malondialdehid (MDA) pada ginjal tikus. Malondialdehid merupakan produk akhir dari oksidasi lipid. (Widyaningsih dkk., 2015).

Pengukuran kadar MDA pada penelitian ini menggunakan pemeriksaan *ELISA READER* dengan untuk mengetahui kadar pada sampel yang diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

Tabel 4.8 Pengukuran kadar MDA

Kelompok	Kadar rata-rata ($\bar{X} \pm SD$)
Negatif	15,17 \pm 2,09 ^a
Normal	17,91 \pm 2,83
Positif	7,76 \pm 1,03 ^b
Perlakuan I (Dosis 150mg/kg BB)	14,73 \pm 5,70
Perlakuan II (Dosis 250 mg/kg BB)	7,59 \pm 1,84 ^b
Perlakuan III (Dosis 350 mg/kg BB)	3,48 \pm 1,27 ^b

Ket : (b) : 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. Pada perlakuan dilakukan sehari sekali karena merupakan pemberian yang paling umum sudah rutinitas dosis yang diberikan dan volume maksimal pemberian secara oral pada tikus yaitu 5 ml. Penginduksian tinggi lemak dilakukan selama 10 hari sehingga akan terjadinya inflamasi atau peningkatan kolesterol (Thrisnadia dkk.,2016). Hasil kadar MDA dengan rata-rata 17,91 nmol/mL, kelompok kontrol positif yang diberikan fruktosa memiliki kadar MDA rata-rata sebesar 7,76 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 menyebabkan dislipidemia, karena terjadinya perubahan konsentrasi lipid yang menyebabkan stress oksidatif dan berpengaruh dalam kadar MDA pada tikus (Octavia dkk., 2017). Pada kelompok kontrol negatif memiliki kadar 15,17 nmol/mL. Tingginya kadar rata-rata pada kontrol normal dibandingkan dengan kontrol negatif disebabkan karena tikus dalam keadaan kurang sehat. Berdasarkan (Yusika dkk., 2013) menyatakan bahwa tikus sakit karena adanya peradangan dan akan mengakibatkan peningkatan kadar MDA.

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 hasil kadar rata-rata MDA sebesar 14,73 nmol/mL dan pada kelompok dosis 250 mg/kgBB hasil kadar rata-rata MDA sebesar 7,59 nmol/mL dari kedua kelompok ini masih lebih tinggi dari kelompok dosis 350 mg/kgBB dengan hasil kadar rata-rata MDA sebesar 3,48 nmol/mL yang menandakan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol 70% biji pepaya terdapat adanya senyawa alkaloid yang aktif sebagai antioksidan yang diberikan akan mencegah radikal bebas yang dapat merusak organ ginjal pada hewan uji coba yaitu tikus. Senyawa antioksidan yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak (Maharani dkk., 2021).

Pengukuran kadar MDA dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan sistem komputerisasi menggunakan SPSS (*Statistical Product Service Solution*) dilakukan uji normalitas. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui suatu data yang akan dianalisis terdistribusi secara normal atau tidak (Ghozali, 2018). 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 0,848 kelompok KN, 0,522 kelompok K+, 0,996 kelompok K-, 0,071 kelompok P1, 0,255 kelompok P2, 0,347 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, 2022). 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 tersebut data Berdasarkan hasil uji homogenitas MDA ginjal homogen dengan nilai signifikan 0,098. Berdasarkan uji normalitas dan uji homogenitas maka dilakukan uji parametik yaitu uji *One Way Anova*. Pengujian ini digunakan untuk membandingkan dua rata-rata atau lebih yang akan digunakan untuk menguji kemampuan independent yang berarti setiap sampel tidak berhubungan dengan sampel lain (Rahayu, 2020). 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.

Pada uji Tukey kelompok P1 didapatkan nilai signifikan 14,7340, P2 didapatkan nilai signifikan 7,5960 dan P3 didapatkan nilai signifikan 3,4800. Pada kelompok K+ berada pada satu kolom dengan P2 dan P3 yang berarti tidak berbeda nyata. K+ dengan P1 tidak berada pada satu kolom dengan P3 dan P2. Pada P1 berarti berbeda nyata dengan perlakuan 2 dan perlakuan 3. Hasil statistik kadar MDA dapat dilihat pada **Lampiran 13**.

4.6 Kadar Superoxide Dismutase (SOD) Ginjal Tikus

Superoxide Dismutase (SOD) merupakan antioksidan endogen yang dapat mengkatalisis anion superoksid menjadi hidrogen peroksid dan radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh dapat dinetralisir. 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 ($\bar{X} \pm SD$)
Negatif	32,82 \pm 5,85
Normal	51,15 \pm 13,80
Positif	63,69 \pm 5,83 ^b
Perlakuan I (Dosis 150 mg/kg BB)	54,19 \pm 1,06 ^b
Perlakuan II (Dosis 250 mg/kg BB)	55,83 \pm 3,95 ^b
Perlakuan III (Dosis 350 mg/kg BB)	58,47 \pm 9,54 ^b

Ket : (b) : tidak berbeda signifikan dengan k+

Pengujian statistik menunjukkan bahwa aktivitas SOD semua kelompok hewan coba berbeda signifikan. Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok positif memiliki aktivitas tertinggi sebesar 63,69 unit/mL. Pada dosis 150 mg/kgBB dengan rata-rata sebesar 54,19 unit/mL tidak berbeda signifikan juga dengan dosis 250 mg/kgBB dengan rata-rata sebesar 55,83 unit/mL. Namun perlakuan kelompok negatif cenderung menurunkan aktivitas SOD sebesar 32,82 yang mengakibatkan peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelompok positif dan dosis 350 mg/kgBB lebih efektif 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.

Beberapa faktor endogen yang menyebabkan rendahnya kadar antioksidan dalam tubuh. Stressor psikologis seperti kecemasan, depresi dan kesulitan menyesuaikan diri serta berbagai psikologis yang disebabkan karena lingkungan pekerjaan dan ekonomi yang berkorelasi langsung dengan stress oksidatif yang dapat menyebabkan stress (Sheilaadji dkk., 2019).

Pada uji Tukey kelompok P1 didapatkan nilai signifikan 54,1880, P2 didapatkan nilai signifikan 55,8260 dan P3 didapatkan nilai signifikan 58,4680. Pada kelompok K+ berada pada satu kolom dengan P1, P2, dan P3. Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata antara K+ dengan P1, P2 dan P3. Hasil statistik kadar SOD dapat dilihat pada **Lampiran 14**.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

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

1. Ekstrak etanol biji pepaya terdapat senyawa aktif *carpaine* 3,12924%, *quercetin* 2,47910%, *3-O-galloylepigallocatechin (4 β →epigallocatechin-3-O-gallate)* 1,92455% dan *sambunigrin* 1,12490% setelah diidentifikasi menggunakan instrumen LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*).
2. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) berpengaruh terhadap kadar SOD (*Superoxidase Dismutase*) dan MDA (*Malondialdehida*) pada ginjal tikus jantan (*Sprague Dawley*).
3. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) pada kelompok positif dan dosis 350 mg/kgBB paling optimum sebagai antioksidan karena sebanding dengan kelompok positif sebagai antioksidan dengan parameter penurunan kadar MDA dan menghambat peningkatan SOD dibanding dengan dosis lainnya.

5.2 Saran

1. Perlunya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bagian buah pepaya (*Carica papaya L.*) yang memiliki kemampuan antioksidan.
2. Perlunya penelitian lebih lanjut dapat menggunakan induksi selain fruktosa untuk kontrol positif. Contohnya curcumin..
3. Perlunya pemastian terhadap hewan uji dalam keadaan sehat agar tidak berpengaruh terhadap peningkatan MDA pada kontrol normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, L. R. (2021). Pengaruh Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Kadar Trigliserida Dan Kolesterol Total Darah Pada Penderita Dislipidemia. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), 408–412. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.617>
- Agustina, D. (2013). *Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jnc* Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro CoA-cholesterol-o- Fisiologi Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universit. 2, 302–311.
- Aisyah, R. siimbolon, Halimatussakdiah, & Amna, U. (2021). Uji Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak Daun Jambu Biji. 3(April), 12–18.
- Alaydrus, S., Pagal, F. R. P. A., Dermiati T, & Ervianingsih. (2020). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Penurunan Kadar Kolesteroltotal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia Diabetes. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 405–412.
- Alfaridz, F., Amalia, R., Farmasi, F., Padjajaran, U., & Barat, J. (2015). *Farmaka Farmaka*. 16, 1–9.
- Almunawati, Budiman, H., & Aliza, D. (2017). Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinjeksi Formalin. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 1(3), 424–431.
- Anam, C., Agustini, T. ., & Romadhon. (2014). Pengaruh Pelarut yang berbeda Pada Ekstraksi *Spirulina platensis* Serbuk Sebagai Antioksidan dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi*, 3, 106–112. <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jpbhp>
- Andriani, M., Permana, i dewa gde mayun, & Widarta, i wayan rai. (2019). *PENGARUH SUHU DAN WAKTU EKSTRAKSI DAUN BELIMBING WULUH (Averrhoa bilimbi L .) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION (UAE)*. 8(3), 330–340.
- Andriyani, melda mery, Untari, eka kartika, & Wahdaningsih, S. (2014). *PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN BAWANG MEKAH (Eleutherine americana Merr .) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA) TIKUS (Rattus norvegicus) WISTAR JANTAN PASCA PAPANAN ASAP ROKOK NASKAH PUBLIKASI Oleh: Melda Mery Andiriyani PROGRAM STUDI FARMA*.
- Anggraito, yustinus ulung, Susanti, R., Iswari, retno sri, Yuniastuti, A., Lisdiana, & WH, N. (n.d.). *METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN* :
- Anitha B, Raghu N, Gopenath TS, Karthikeyen M, Gnanasekaran A, C. G. and B. K. (2018). Medicinal Uses of Carica Papaya *Journal of Natural & Ayurvedic Medicine*. *Journal of Natural & Ayurvedic Medicine*, 2(6), 1–11.
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi n- Heksana , Etil Asetat , dan Air Daun Bit (Beta

- vulgaris L.) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Stikes*, 1(1), 1–6.
- Arsa, A. K., & Achmad, Z. (2020). Ekstraksi minyak atsiri dari rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Rox) Dengan Pelarut etanol dan n-heksana. *Jurnal Teknologi Technoscintia*, 13(1), 83–94.
- Ayuningati, L. K., Murtiastutik, D., Hoetomo, M., Staf, D., Fungsional, M., Kesehatan, I., Kedokteran, F., Airlangga, U., Sakit, R., Daerah, U., & Surabaya, S. (n.d.). *Perbedaan Kadar Malondialdehid (MDA) pada Pasien Dermatitis Atopik dan Nondermatitis Atopik (Difference Level of Malondialdehyde [MDA] in Atopic Dermatitis and Non-atopic Dermatitis Patients)*.
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., & Lembang, S. A. R. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13941>
- Cahyanto, J., Zainul, M., & Herawati, L. (2020). *Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik*. 5, 57–63.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>
- Darma, W., & Marpaung, M. P. (2020). (*Fibraurea chloroleuca* Miers) SECARA GRAVIMETRI Analysis Of The Types And Levels Of Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Extract By Gravimetric. 3, 51–59.
- Dearta, A. S. (2020). Terapi dislipidemia Untuk Mencegah Resiko Penyakit Jantung Koroner. *Indonesian Journal of Nursing and Health Sciences*, 1, 15–24.
- Dewi, aptika oktaviana trisna, Hidayah, niken wahyu nur, & Aviv, adnan nur. (2020). *PENETAPAN KADAR VITAMIN C PADA EKSTRAK DAUN PEPAYA (Carica papaya L.) MUDA DAN TUA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS* Aptika. 4.
- Dharma, M. A., Nocianitri, K. A., & Yusasrini, N. L. A. (2020). Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9(1), 88. <https://doi.org/10.24843/itepa.2020.v09.i01.p11>
- Dhurhania, C. E., & Novianto, A. (2019). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 62. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v5i22018.62-68>
- Fabiana Meijon Fadul. (2019). *Uji Aktivitas Ekstrak Daun Samarinda (Carissa carandas L.) Terhadap Hispatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus novergicus L.) Hiperkolesterolemia*.
- Fahmi, D., Susilo, B., Nugroho, W. A., Keteknikan, J., Teknologi, P.-F., Brawijaya, P.-U., Veteran, J., & Korespondensi, P. (2014). Pemurnian Etanol Hasil Fermentasi Kulit Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dengan Menggunakan Distilasi Vakum. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 2(2), 131–137.

- Firdiyani, F., Agustini, tri winarni, & Ruff, widodo farid ma. (2015). *EKSTRAKSI SENYAWA BIOAKTIF SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI Spirulina platensis SEGAR DENGAN PELARUT YANG BERBEDA Extraction of Bioactive Compounds as Natural Antioxidants from Fresh Spirulina platensis using Different Solvents.* 18, 28–37. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.1.28>
- Gafur, A., & Rizki, M. I. (2021). Penerapan Teknologi Modified Sortation untuk Standarisasi Mutu Produk Kelompok Mitra “ Rumah Herbal ” Banjarbaru. *Pro Sejahtera*, 3(1), 9.
- Garnita, D., Setiawan, F., & Nurdianti, L. (2022). *Sediaan Bubble Mask Ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica papaya L .) sebagai Antibakteri terhadap Propionibacterium acnes.* 2, 344–354.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Halimatussakdiah, & Amna, U. (2016). Isolasi Senyawa Alkaloid Indol dari Ekstrak Akar Kopsia singapurensis Ridl. (Apocynaceae). *Jurnal Ilmiah Jurutera*, 3(1), 032–037.
- Hammado, N. I. I. (2020). Identifikasi Senyawa Bahan Aktif Alkaloid Pada Tanaman Lahuna (Eupatorium odoratum). *Jurnal Dinamika*, 04(2), 1–18.
- Handoyo, D. L. Y. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41.
- Hasan, H., Ain Thomas, N., Hiola, F., & Ibrahim, A. S. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (Pometia pinnata) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2 picrylhydrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(3), 67–73. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i1.10995>
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (Cucurbita moschata D.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 54–59.
- Hidayati, T. K., Susilawati, Y., & Muhtadi, A. (2020). *KEGIATAN FARMAKOLOGIS DARI BERBAGAI BAGIAN Carica PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF VARIOUS PARTS Carica AND ROOT.* 2(3).
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., & . V. (2021). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr). *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.24843/jfu.2021.v10.i01.p01>
- Indriaty, S., Firmansyah, D., Rachmany, Iani shela, & Ernawati. (2021). Pembuatan Teh Herbal Celup Dari Kombinasi Buah Jambu Biji Dan Buah Kurma Sebagai Anti Demam Berdarah Dengue. *BAKTIMU: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 1(1), 35–40. <https://doi.org/10.37874/bm.v1i1.204>
- Inorah., P. &. (2013). *Pengelolaan Tanaman Obat Bahan Simplisia* (p. 155).
- Insani, W. N., Lestari, K., Abdulah, R., & Ghassani, S. K. (2013). Pengaruh Pelayanan Informasi Obat terhadap Keberhasilan Terapi Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 2(4), 127–135.

- Intan, D., Dwiyantri, P., Duhitatrissari, F. P., Wahyuningsih, D., Studi, P., Dokter, P., Malang, U. I., & Timur, J. (n.d.). *PROSIDING KNaLSTech*.
- Jafar, W., Masriany, & Sukmawaty, E. (2020). 3) 1,2,3). 2019, 328–334.
- Komang, N., Trisna, N., Suhendra, L., Puta, G. P. G., Pertanian, F. T., Udayana, U., & Bukit, K. (2020). *Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Virgin Coconut Oil Wortel (Daucus carota L .) sebagai Pewarna Alami* . 8(3), 423–434.
- Konay, S. M., Pakan, P. D., Gita, D., & Kareri, R. (2019). Uji Potensi Anti Bakteri Ekstrak Etanol 70% Buah Lontar (*Borassus flabellifer*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Cendana Medical Journal*, 7(2), 164–177.
- Kurniawidjaja, L. M., Lestari, F., Tejamaya, M., & Ramdhan, D. H. (2021). Konsep Dasar Toksikologi Industri. In *Fkm Ui*.
- Lutfiah, L. (2022). Aplikasi Kamus Simplisia Dan Resep Obat Tradisional (Sidota) Berbasis Android. *Jurnal Sains Dan Informatika*, 8(1), 61–69. <https://doi.org/10.34128/jsi.v8i1.369>
- Made, N. I., Sandhiutami, D. W. I., Desmiaty, Y., & Anbar, A. (2016). *Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica papaya L .) terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Kadar Malondialdehid pada Mencit Stress Oksidatif dengan Perenangan (Antioxidant Effect of Ethanol Extract from Papaya Seed (Carica papay. 14(1), 26–32.*
- Maghfiroh, R. M., Hariani, D., & Khaleyra, F. (2021). Safira Wahyu Nurhardiyanti, Yeni Amalia, Dini Sri Damayanti. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 11(1), 89–100. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n1.p89-100>
- Maharani, A. I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K. A., Rahman, N. A., Ilahi, N. F., & Farma, S. A. (2021). Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal dalam Mencegah Efek Radikal Bebas. *Prosiding Seminar Nasional Bio*, 1(2), 390–399.
- Makatamba, V., & Rundengan, G. (2020). *Analisis Senyawa Tannin Dan Aktifitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih (Piper betle L) Terhadap Streptococcus mutans a Program*. 9(2), 75–80.
- Malangngi, L. P., Sangi, M. S., & Paendong, J. J. E. (2012). *Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill .) 1(1), 5–10.*
- Mappa, M. R. (2021). *Isolasi dan Identifikasi Asam Klorogenat Ekstrak Metanol Biji Kopi Pinogu (Coffea canephora var . Robusta) menggunakan Metode Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) 3(2), 38–42.*
- Mariam Ulfah, Like Efriani, & Malkhatul Aliyah. (2022). **AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ASETON KULIT PISANG TANDUK (Musa paradisiaca) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus DAN Escherichia coli**. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(4), 925–934. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i4.474>
- Marjuni, M., Minarto, O., & Wahyono, S. C. (2021). Modifikasi Sirkulasi Air Pendingin Alat Destilasi pada Proses Pembuatan Akuades. *Jurnal Fisika Flux: Jurnal Ilmiah Fisika FMIPA Universitas Lambung Mangkurat*, 18(1), 16. <https://doi.org/10.20527/flux.v18i1.8888>

- N.P.L, L., N.M.P, S., I.N.K, W., A. A. M. I., R., & IM. A. G., W. (2015). Pengembangan Metode Refluks untuk Ekstraksi Andrografolid dari Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees). *Jurnal Farmasi Udayana*, 4(2), 82–90.
- N.W.G, A., Astuti, K. ., & Warditiani, N. . (2012). *SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK METANOL RIMPANG BANGLE. 2009.*
- Nafi'atul Insani, R., Rukmi, M. G. I., & Utami, W. (2022). *UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL BIJI PEPAYA (Carica papaya L.) TERHADAP Escherichia coli SECARA IN VITRO Antibacterial Activity Test of Papaya Seed Methanol Extract (Carica papaya L.) Against Escherichia coli In Vitro.*
- Nahor, E. M., Rumagit, B. I., & Tou, H. Y. (n.d.). *Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (Cordyline fucifosa L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi Comparison of the Yield of Andong Leaf Ethanol Extract (Cordyline fruticosa L.) Using Maceration and Sokhletation Extraction . 40–44.*
- Nasution, A. A., Siregar, P. P., & Nasution, Y. A. (2021). Laporan Kunjungan Rumah Penderita Dislipidemia: pengalaman mahasiswa kedokteran stase Kesehatan Komunitas. *Jurnal Implementa Husada*, 2(3), 257–263. <https://doi.org/10.30596/jih.v2i3.11488>
- Nofita, D., & Dewangga. (2021). *Chimica et Natura Acta Optimasi Perbandingan Pelarut Etanol Air Terhadap Kadar Tanin pada. 9(3), 102–106.*
- Noviyanty, A., Salingkat, C. A., & Syamsiar, S. (2019). PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP EKSTRAKSI DARI KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 5(3), 271–279. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2019.v5.i3.14037>
- Nurlia Ahmad, Bandu, N., & Artha, D. E. (2018). *Gambaran dislipidemia pada penderita gagal ginjal kronik di rumah sakit dr. wahidin sudirohusodo makassar 1. 8.*
- Ode, W., & Mangurana, I. (2019). *Analisis LC-MS / MS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) dan Metabolit Sekunder serta Potensi Antibakteri Ekstrak n -Heksana Spons Callyspongia aerizusa yang diambil pada kondisi tutupan Terumbu Karang yang berbeda di Perairan Teluk Staring. https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1126*
- Padmawati, ida ayu gede, Suter, i ketut, & Arihantana, ni made indri hapsari. (2020). *PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN. 9(1), 81–87.*
- Pambudi, D. B., Slamet, & Mardiana, S. (2017). (*Foeniculum vulgare* Mill .) DENGAN METODE DPPH. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 8.
- Parfati, N., Rani, K. C., & Jayani, N. I. E. (2018). *Penyiapan Simplisia Kelor. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, 1–24.*
- Penerapan, P., Operasional, S., Dan, P., Artha, S., & Intan, R. (2021). Pengaruh Penerapan Standar Operasional Prosedur Dan Kompetensi Terhadap Produktivitas Kerja Karyawan Divisi Ekspor Pt. Dua Kuda Indonesia. *Jurnal Ilmiah M-Progress*, 11(1), 38–47. <https://doi.org/10.35968/m-pu.v11i1.600>
- PERKENI. (2019). *Pedoman Pengelolaan Dislipidemi di Indonesia 2019. PB.*

- Perkeni, 9.
- Pratiwi, D. N., Utami, N., & Pratimasari, D. (n.d.). *Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak , Fraksi Polar , Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (Carica papaya L .) Identification Flavonoids on Extract , Fraction Polar , Semi Polar and Non Polar of Male Papaya Flower (Carica papaya L .)*.
- Prihatini, I., & Dewi, ratna kumala. (2021). *Jurnal Tadris IPA Indonesia*. 1(3).
- Purnamaningsih, H., Nururrozi, A., & Indarjulianto, S. (2017). *Saponin : Dampak terhadap Ternak (Ulasan) Saponin : Impact on Livestock (A Review)*. 6(2), 79–90.
- Purwanti, N. U., Luliana, S., & Sari, N. (2018). *PENGARUH CARA PENGERINGAN SIMPLISIA DAUN PANDAN (Pandanus amaryllifolius) TERHADAP AKTIVITAS PENANGKAL*. 1(2), 63–72.
- Putri, A. E., Audina, M., & Safitri, C. (2020). *UJI ANTIBAKTERI GEL EKSTRAK BATANG PEPAYA (Carica Papaya Linn .) SECARA IN VITRO TERHADAP Escherichia coli*. 4(1), 13–20.
- Putri, N. M., Wiraningtyas, A., & Mutmainah, P. A. (2021). Perbandingan Metode Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Kelor (Moringa Oleifera): Metode Maserasi Dan Microwave-Assisted Extraction (Mae). *Dalton : Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 4(2), 25–33. <https://doi.org/10.31602/dl.v4i2.5931>
- Rahman, A. (2020). *Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L .)*. 1(1).
- Ramadhana, N., & Syukri, M. (n.d.). *IDENTIFIKASI POTENSI LOKAL PADA TUMBUHAN BIJI PEPAYA (CARICA PAPAYA) SEBAGAI OBAT TRADISIONAL MASYARAKAT DI KECAMATAN BANGGAE TIMUR*.
- Retnaningtyas, Y., Kristiningrum, N., Renggani, H. D., & Narindra, N. P. (2016). Karakteristik Simplisia dan Teh Herbal Daun Kopi Arabika (Coffea arabica). *Farmasi Jember*, 1(1), 46–54.
- Rimijuna, I., Yenie, E., & Elystia, S. (n.d.). 1), 2), 2) 1). 1–6.
- Risbandini, C. (2020). Pemanfaatan autoclave yang sudah tidak digunakan menjadi alat penghasil aquadest (aquabits) di laboratorium biosains dan teknologi tumbuhan departemen biologi fakultas sains ITS. *Jurnal Teknologi Dan Manajemen Pengelolaan Laboratorium (Temapela)*, 3(1), 19–24.
- Riyani, C., Purnamasari, N., & Dhiu, E. (2022). *Metode Pengerian Terhadap Proses Produksi Simplisia Akar Murbei (Morus Alba Radix) dan Akar Kuning (Arcangelisia Flava Radix)*. 5431, 95–102.
- Rizki, D. P., Suketi, K., Widodo, D., Agronomi, D., Pertanian, F., & Bogor, I. P. (2018). *Peningkatan Produktivitas Lahan Pertanaman Pepaya Sukma dengan Tanaman Sela Beberapa Jenis Sayuran*. 6(1), 10–20.
- Rosidah, I., Zainuddin, Z., Mufidah, R., Bahua, H., & Saprudin, M. (2017). Optimasi Kondisi Ekstraksi Senyawa Total Fenolik Buah Labu Siam (Sechium edule (Jacq.) Sw.) Menggunakan Response Surface Methodology. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 27(2), 79–88. <https://doi.org/10.22435/mpk.v27i2.5706.79-88>
- Ruth, M., Hutabarat, T., Hanifah, F. N., Hadijah, S., Winarso, D., Murwani, S., Hewan, F. K., Brawijaya, U., Hewan, F. K., Airlangga, U., Airlangga, U., Peternakan, D., Hewan, F. K., Brawijaya, U., Mikrobiologi, D., Hewan, F.

- K., & Brawijaya, U. (2020). Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) dalam Reduksi Kadar IL-6 dan Peningkatan Kadar SOD pada Mencit Fibrosis Hepar Mice with Liver Fibrosis induced by CCl₄. 38(1). <https://doi.org/10.22146/jvs.49070>
- Sadiyah, S., Subangkit, M., & Tanjung, J. S. (2022). Efektivitas Kombinasi Jus Hati Ayam Dan Serbuk Biji Melinjo Sebagai Bahan Penginduksi Hiperurisemia Pada Tikus. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(1), 136–144. <http://jurnal.stiksam.ac.id/index.php/jim/article/view/515>
- Sahi, M. R., Fatimawali, F., & Siampa, J. P. (2021). EKSTRAKSI DAN OPTIMASI ANTOSIANIN DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Pharmakon*, 10(1), 668. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32753>
- Salimi, Y. K., Hasan, A. S., & Botutihe, D. N. (2021). Sintesis dan Karakterisasi Carboxymethyl Cellulose Sodium (Na-CMC) dari Selulosa Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dengan Media Reaksi Etanol-Isobutanol. *Jambura Journal of Chemistry*, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.34312/jambchem.v3i1.9288>
- Santosa, H., Sari, W., & Abyorbhandayani, N. (2011). *Ekstraksi Saponin dari Daun ... (Herry Santosa., dkk). 1995.*
- Sapitri, A., Asfianti, V., & Marbun, E. D. (2022). Pengelolaan Tanaman Herbal Menjadi Simplisia Sebagai Obat Tradisional. *Farmasi, Fakultas Farmasi Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Sari Mutiara Indonesia*, 3, 94–102.
- Sayakti, P. indah, Anisa, N., & Ramadhan, H. (2022). Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menggunakan metode CUPRAC. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) Special Edition*, 2022, 97–106. <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
- Sembiring, A., Andryana, S., & Gunaryati, A. (2021). *Sistem pakar berbasis mobile untuk diagnosis penyakit ginjal menggunakan metode forward chaining*. 06, 139–148.
- Sheilaadji, M. U., Listiawan, M. Y., & Ervianti, E. (2019). Hubungan kadar antioksidan superoxide dismutase (SOD) dengan indeks bakterial (IB) pada pasien kusta baru tipe Multibasiler (MB) tanpada reaksi. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 31(3), 200–209.
- Shinta, A., & Kusuma, W. (2015). [ARTIKEL REVIEW] *The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (Annona muricata L .) to Decreased Levels of Malondialdehyde*. 4, 14–18.
- Simanjuntak, E., Setia, J., Pasar, B., & Tanjung, I. I. (2020). *SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) DAN RADIKAL BEBAS* Fakultas Kedokteran Methodist Indonesia. 2(2).
- Situmorang, N., Utara, U. S., & Utara, S. (2020). *Malondialdehyde (mda)*. 2(2).
- Sriwijaya, M. K., Pramadhan, T. A., R, K. Y., Oswari, L. D., Kedokteran, P. S., Kedokteran, F., & Sriwijaya, U. (2017). *Perbedaan Kadar Profil Lipid Pasien Penyakit Ginjal Diabetik dan Non-diabetik Pada kasus penyakit ginjal yang disebut dengan penyakit ginjal diabetik (PGD), Non-diabetik analitik dengan pendekatan desain potong kronikdan mempunyai hasil laboratorium obe*. 564(April).

- Sugitha, I. M., Putu, I. D., & Pratiwi, K. (2021). *Pengaruh Suhu dan Waktu Penyangraian Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Sifat Sensoris Kopi Tiruan Biji Pepaya (Carica papaya L.) Effect of Temperature and Roasting Time on the Antioxidant Activity and Sensory Properties of. 10(3).*
- Supriningrum, R., Sundu, R., Sentat, T., Niah, R., & Kumalasari, E. (2021). KARAKTERISASI SIMPLISIA DAN EKSTRAK KULIT BATANG SEKILANG (*Embelia borneensis* Scheff.). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 6(2), 196–205. <https://doi.org/10.36387/jiis.v6i2.677>
- Sutomo, S., Hasanah, N., Arnida, A., & Sriyono, A. (2021). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R Forst & G. Forst) Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 101. <https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.10275>
- Tarigan, D. M., Alqamari, M., & Alridiwersah. (2017). Budidaya Tanaman Obat & Rempah. In *Umsu Press*.
- Thrisnadia, S., Damayanti, D. S., Falyani, S. A., Fakultas, M., Universitas, K., Malang, I., Pengajar, S., Kedokteran, F., & Islam, U. (n.d.). EFEK EKSTRAK AIR DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP KADAR Superoxide Dismutase (SOD) DAN Malondialdehida (MDA) JARINGAN GINJAL KANAN TIKUS WISTARYANG DIINDUKSIDIET TINGGI LEMAK DAN TINGGI THE EFFECTS OF SOURSOP (*A nnona muricata L.*) LEAVES W.
- Tomini, V. I. T., & Hait, M. (2020). LIMBAH AIR AC SEBAGAI PELARUT MEDIA SABOURAUD DEXTROSE AGAR (SDA) PADA JAMUR *Candida Albicans*. *Masker Medika*, 8(1), 15–20. <https://doi.org/10.52523/maskermedika.v8i1.368>
- Utami, N. F., Nurdayanty, S. M., Sutanto, & Suhendar, U. (2020). PENGARUH BERBAGAI METODE EKSTRAKSI PADA PENENTUAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL DAUN ILER (*Plectranthus scutellarioides*) *Novi. 10(1)*, 76–83.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). *Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (Clerodendrum. 2(1)*, 32–39.
- Widyaningsih, W., Sativa, R., & Primardiana, I. (2015). Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva Lactuca L.*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Tikus Yang Diinduksi CCL4. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(2), 163. <https://doi.org/10.12928/mf.v12i2.3756>
- Wijaya, H., & Jubaidah, S. (2022). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokhletasi Terhadap Rendemen Ekstrak Batang Turi (*Sesbania Grandiflora L.*). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 05(01), 1–11. <http://jurnal.unw.ac.id/index.php/ijnp>
- Yasir, angga saputra, Marcellia, S., & Wijaya, lintang buwana. (2021). FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS GEL KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) DAN DAUN KEMANGI (*Ocinum sanctum L*) SEBAGAI ANTI JERAWAT TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis. 4(1)*, 70–86.
- Yusika, agnes ratna, Aulanni'am, & Prasetyawan, S. (2013). KADAR

MALONDIALDEHID (MDA) DAN GAMBARAN HISTOLOGI PADA GINJAL TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) PASCA INDUKSI Cylosporine-A. 1(2), 222–228.

Zakaria, M., Hendrawan, Y., & Djojowasito, G. (2017). Modelling of Turmeric (Curcuma Domestica Val.) Drying Using Machine Vision and Artificial Neural Network. *Agricultural Technology Journal*, 18(1), 11–20.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Ethical Clearance

	<p>Institutional Ethical Committee University of Surabaya Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya, 60293, Gedung FF 02.01 Telepon (031) 2981213, Faksimile (031) 2981256 Email : komite_etik@unit.usu.ac.id</p>
<p>No.: 106/KE/IV/2023</p>	
<p>ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE</p>	
<p>TO WHOM IT MAY CONCERN</p>	
<p>This is to certify that Sherly Ayuramasari has obtained the necessary ethics approvals for the research project entitled “Identification of Ethanol Extract of Papaya (<i>Carica papaya</i> 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 (<i>Sprague Dawley</i>) 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.</p>	
<p>Surabaya, 13.04.2023</p>	
	
<p>Dr. rer. nat. Suhstyo Emantoko Dwi Putra</p>	
<p>Head of Institutional Ethical Committee University of Surabaya</p>	

Lampiran 2. Surat Sertifikat Hewan Uji

76

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

SURAT KETERANGAN
No. 071/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 : Sherly Ayu Ramadasari
Program Studi : Farmasi
Institusi : Stikes Karya Putra Bangsa, Sumbergempol, Tulungagung
Alamat : Ds. Pandean Rt09/Rw02 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.co
www.satwasehatindonesia.co

Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian



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

SURAT KETERANGAN

Nomor : 066/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 : Sherly Ayuramadasari
Program Studi : Farmasi
Perguruan Tinggi : Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung
Alamat : Ds. Pandean Rt09/02 Kec. Durenan Kab. Trenggalek

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

"IDENTIFIKASI SENYAWA EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (CARICA PAPAYA L.) DENGAN LCMS (LIQUID CHROMATOGRAPHY MASS SPECTROMETRY) DAN PENGARUH PEMBERIAN TERHADAP SOD (SUPEROKSIDASE DISMUTASE) DAN MDA (MALONDIALDEHIDA) PADA GINJAL TIKUS JANTAN GALUR (SPRAGUE DAWLEY)"

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.co
www.satwasehatindonesia.co

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/ 162/ 102.20/ 2023
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SHERLY AYURAMADASARI
 NIM : 1913206043
 Fakultas : SI FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman pepaya
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 - Kelas : Dicotyledonae
 - Bangsa : Violales
 - Suku : Caricaceae
 - Marga : Carica
 - Jenis : *Carica papaya* L.
 - Nama Umum : Pepaya (Indonesia), Rente (Aceh), Pertek (Gayo), Pastela (Batak), Embelik (Karo), Gedang (Lampung), Gedang (Sunda), Kates (Jawa), Kates (Madura), Gedang (Bali), 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.
2. Morfologi : Habitus: Perdu, tinggi ±10 m. Batang: Tidak berkayu, silindris, berongga, putih kotor. Daun: Tunggal, bulat, ujung runcing, pangkal bertoreh, tepi, bergerigi, diameter 25-75 cm, pertulangan menjari, panjang tangkai 25-100 cm, hijau. Bunga: Tunggal, bentuk bintang, di ketiak daun, berkelamin satu atau berumah dua; bunga jantan terletak pada landan yang serupa malai, kelopak kecil, kepala sari berangkai pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompet, tepi bertaju lima, bertabung panjang, putih kekuningan; bunga betina berdiri sendiri, mahkota lepas, kepala putik lima, duduk, bakal buah beruang satu, putih kekuningan. Buah: Buni, bulat memanjang, berdaging, masih muda hijau setelah tua jingga. Biji: Bulat atau bulat panjang, kecil, bagian luar dibungkus selaput yang berisi cairan, masih muda putih setelah tua hitam. Akar: Tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan.
3. Bagian yang digunakan : Biji.
4. Penggunaan : Penelitian.
5. Daftar Pustaka
 - Van Steenis, CCGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 01 Februari 2023

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
 MATERIA MEDICA BATU



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

- 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 5. Hasil Kadar Air dan Kadar Abu



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
 - Instansi : Ramadhani, Pera Amelia, dan Sherly Ayuramadasari
 - Alamat : Farmasi STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
 - Telepon : Jl. Raya Tulungagung – Blitar KM 4 Tulungagung
 - Status : 082257878437
 - Keperluan Analisis : Mahasiswa S-1
 - 2. Sampling Dilakukan Oleh : Uji Kuantitas
 - 3. Identifikasi Sampel : Konsumen
 - 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,

 ITE oleh : YUNIAR PONCO PRANANTO
 02 Mei 2023 22:49
 Verifikasi melalui <http://f508.ub.ac.id>
 Yuniar Ponco Prananto, S.Si., M.Sc., Ph.D.
 NIP. 198106202005011002

 UJU 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 BDR-E

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

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



Biji pepaya kering Pengecilan ukuran partikel Pengayakan

3. Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya



Serbuk Biji Pepaya Penyaringan



Maserasi



Evaporasi



Ekstrak kental

4. Uji Bebas Etanol

a. Uji bebas etanol dilakukan mencium bau ester



Sebelum perlakuan



Sesudah perlakuan

b. Uji bebas etanol dilakukan perubahan warna



Sebelum perlakuan



Sesudah perlakuan

5. Kadar Abu



6. Skrining Fitokimia



Uji Flavonoid



Uji Saponin



Uji Tanin



Uji Alkaloid
(Drahenroff)



Uji Alkaloid
(Mayer)

7. Perlakuan Hewan Uji

7.1 Pengelompokan Hewan Coba



7.2 Penimbangan Berat Badan Hewan Coba



7.3 Persiapan Alat



Alat Sonde



Alat Pembedahan

7.4 Pemberian secara oral



Pemberian ekstrak biji pepaya



Pemberian Fruktosa

7.5 Anestesi dan Pembedahan



7.6 Pengambilan sampel



Pelaksanaan penelitian hewan uji di Klinik Hewan Satwa Sehat, Malang



Lampiran 7. 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

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

$$= 0,5 \text{ gram}$$

3. Jumlah volume pemberian anastesi

dosis x berat badan tikus

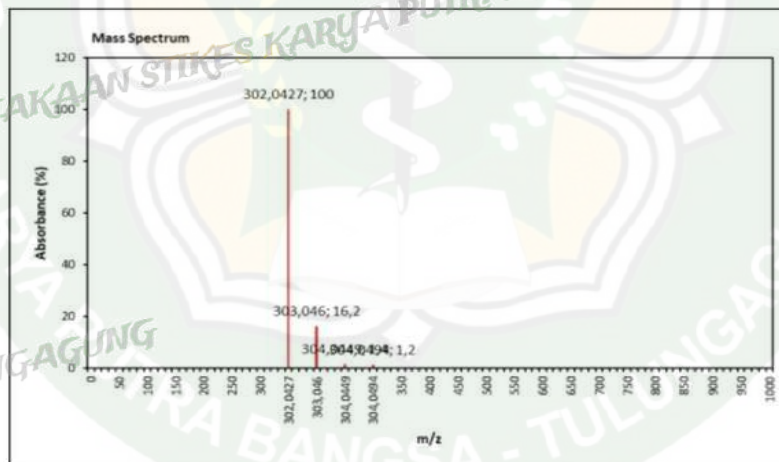
sediaan

$$\text{Ketamine : } \frac{10 \text{ mg} \times 2 \text{ kg}}{100 \text{ mg/ml}} = 0,2 \text{ ml}$$

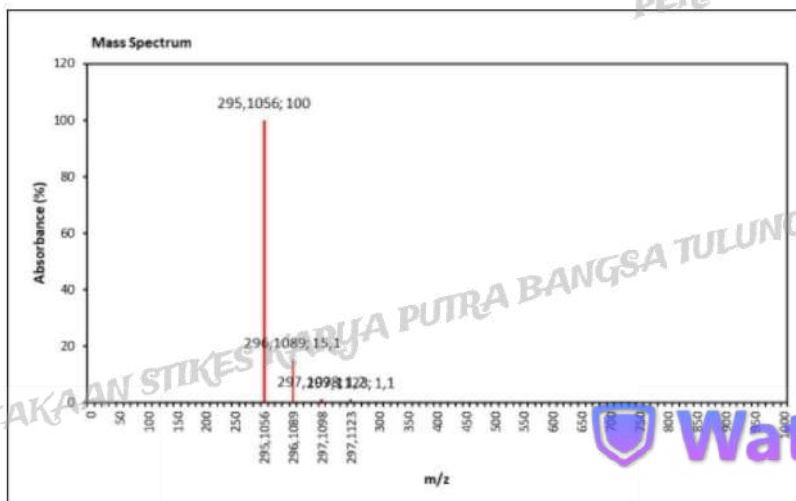
$$\text{Xylazine : } \frac{2 \text{ mg} \times 2 \text{ kg}}{20 \text{ mg/ml}} = 0,2 \text{ ml}$$

Lampiran 8. Hasil Mass-Spektrometry

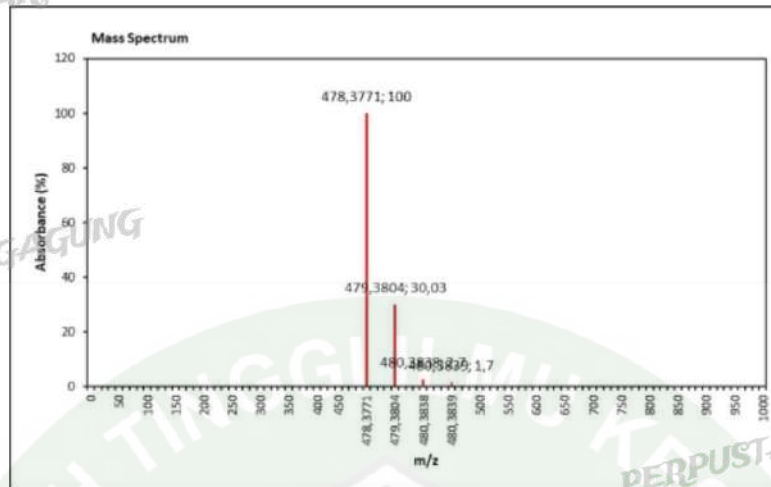
1. Mass-Spektrometry senyawa quercetin



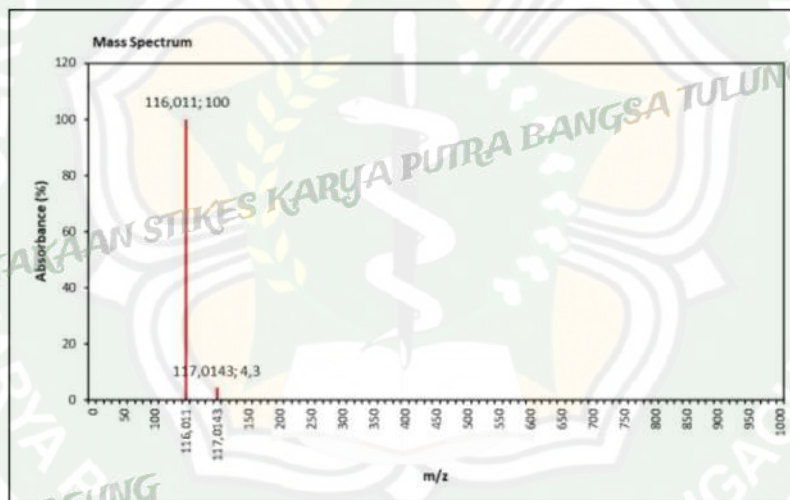
2. Mass-Spektrometry senyawa sambunigrin



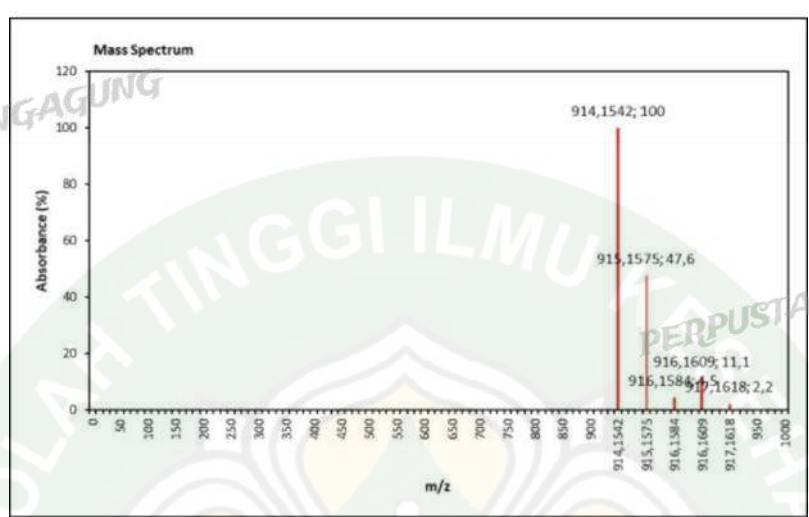
3. *Mass-Spektrometry senyawa carpaine*



4. *Mass-Spektrometry senyawa fumaric acid*

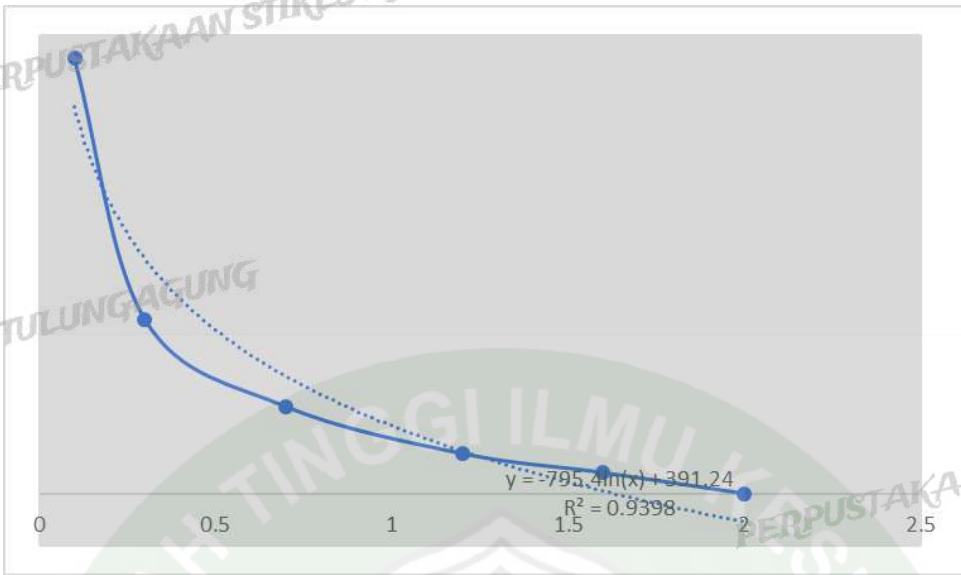


5. Mass-Spektrometry senyawa 3-O- galloylepigallocatechin-(4β→8) epigallocatechin- 3-O-gallate



Lampiran 9. Kurva Standart MDA

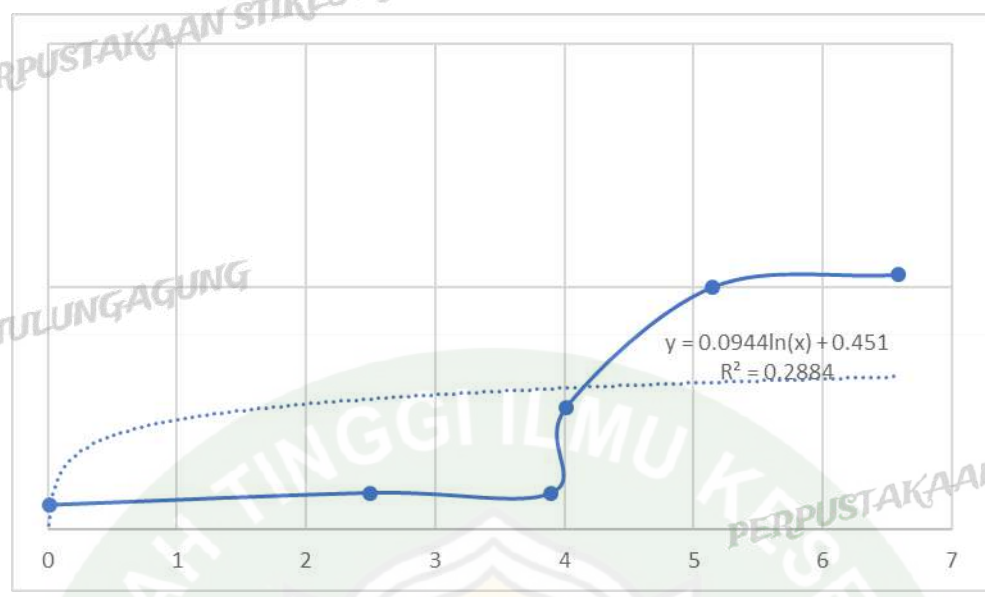
NO	KONSENTRASI MDA STANDART (mmol/L)	Nilai Optical Density (OD ₄₅₀)
1	2	0
2	1,6	120
3	1,2	230
4	0,7	500
5	0,3	1000
6	0,1	2500



Dari data kurva standar yang digunakan didapatkan persamaan garis: $Y = 795,4 \ln(x) + 391,24$ dengan nilai $r = 0,9398$

Lampiran 10. Kurva Standart SOD

NO	KONSENTRASI SOD STANDART (ng/100µL)	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



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

Lampiran 11. Hasil Pemeriksaan MDA

KODE SAMPEL	MDA (ng/100 μ L)		RERATA
	KN1.1	14,51	
KN1.2	18,92	18,98	18,95
KN1.3	17,20	17,12	17,16
KN1.4	22,34	21,95	22,15
KN1.5	16,53	16,95	16,74
K+1.1	6,80	7,12	6,96
K+1.2	9,23	9,36	9,30
K+1.3	8,23	8,29	8,26
K+1.4	7,33	7,64	7,49
K+1.5	6,70	6,88	6,79
K-1.1	17,69	17,98	17,84
K-1.2	16,14	16,52	16,33
K-1.3	15,04	15,13	15,09
K-1.4	12,23	12,36	12,30
K-1.5	14,02	14,55	14,29
P1.1	9,62	9,82	9,72
P1.2	24,12	24,99	24,56
P1.3	12,54	12,35	12,45
P1.4	13,30	13,22	13,26
P1.5	13,37	13,98	13,68
P2.1	9,51	10,02	9,77
P2.2	8,21	8,36	8,29
P2.3	8,64	8,54	8,59
P2.4	5,69	5,66	5,68
P2.5	5,31	5,98	5,65
P3.1	2,23	2,45	2,34
P3.2	3,56	3,69	3,63
P3.3	5,36	5,47	5,42
P3.4	2,02	2,56	2,29
P3.5	3,45	3,98	3,72

Lampiran 12. Hasil Pemeriksaan SOD

KODE SAMPEL	SOD		RERATA
	(unit/100 μ L)		
KN1.1	60,20	61,2	60,70
KN1.2	55,10	54,95	55,03
KN1.3	64,50	65,22	64,86
KN1.4	44,10	45,21	44,66
KN1.5	30,20	30,84	30,52
K+1.1	66,70	67,02	66,86
K+1.2	59,64	60,25	59,95
K+1.3	70,00	70,55	70,28
K+1.4	65,54	65,92	65,73
K+1.5	55,42	55,87	55,65
K-1.1	22,36	22,85	22,61
K-1.2	33,56	33,64	33,60
K-1.3	34,56	34,81	34,69
K-1.4	36,56	36,59	36,58
K-1.5	36,56	36,71	36,64
P1.1	54,60	54,99	54,80
P1.2	55,60	54,91	55,26
P1.3	52,65	52,68	52,67
P1.4	53,32	53,68	53,50
P1.5	54,50	54,92	54,71
P2.1	60,31	60,93	60,62
P2.2	57,95	57,13	57,54
P2.3	54,13	55,41	54,77
P2.4	56,31	56,31	56,31
P2.5	49,51	50,26	49,89
P3.1	47,11	47,22	47,17
P3.2	50,45	50,65	50,55
P3.3	70,17	70,36	70,27
P3.4	64,10	64,15	64,13
P3.5	60,35	60,09	60,22

Lampiran 13. Hasil Statistik Kadar MDA Ginjal

A. Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Kode Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai MDA Ginjal	Kelompok normal	,204	5	,200*	,966	5	,848
	Kelompok positif	,203	5	,200*	,919	5	,522
	Kelompok negatif	,137	5	,200*	,996	5	,996
	Perlakuan 1	,373	5	,022*	,793	5	,071
	Perlakuan 2	,250	5	,200*	,867	5	,255
	Perlakuan 3	,226	5	,200*	,888	5	,347

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

a. Lilliefors Significance Correction

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Nilai MDA Ginjal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,119	5	24	,098

C. Uji ANOVA

ANOVA

Nilai MDA Ginjal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	788,359	5	157,672	18,515	,000
Within Groups	204,385	24	8,516		
Total	992,744	29			

D. Uji Post Hock

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nilai MDA Ginjal

Tukey HSD

(I) Kode Sampel	(J) Kode Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok normal	Kelompok positif	10,15200*	1,84565	,000	4,4454	15,8586
	Kelompok negatif	2,74200	1,84565	,676	-2,9646	8,4486
	Perlakuan 1	3,17800	1,84565	,531	-2,5286	8,8846
	Perlakuan 2	10,31600*	1,84565	,000	4,6094	16,0226
	Perlakuan 3	14,43200*	1,84565	,000	8,7254	20,1386
Kelompok positif	Kelompok normal	-10,15200*	1,84565	,000	-15,8586	-4,4454
	Kelompok negatif	-7,41000*	1,84565	,006	-13,1166	-1,7034
	Perlakuan 1	-6,97400*	1,84565	,011	-12,6806	-1,2674
	Perlakuan 2	,16400	1,84565	1,000	-5,5426	5,8706
	Perlakuan 3	4,28000	1,84565	,225	-1,4266	9,9866
Kelompok negatif	Kelompok normal	-2,74200	1,84565	,676	-8,4486	2,9646
	Kelompok positif	7,41000*	1,84565	,006	1,7034	13,1166
	Perlakuan 1	,43600	1,84565	1,000	-5,2706	6,1426
	Perlakuan 2	7,57400*	1,84565	,005	1,8674	13,2806
	Perlakuan 3	11,69000*	1,84565	,000	5,9834	17,3966
Perlakuan 1	Kelompok normal	-3,17800	1,84565	,531	-8,8846	2,5286
	Kelompok positif	6,97400*	1,84565	,011	1,2674	12,6806
	Kelompok negatif	-,43600	1,84565	1,000	-6,1426	5,2706
	Perlakuan 2	7,13800*	1,84565	,009	1,4314	12,8446
	Perlakuan 3	11,25400*	1,84565	,000	5,5474	16,9606
Perlakuan 2	Kelompok normal	-10,31600*	1,84565	,000	-16,0226	-4,6094
	Kelompok positif	-,16400	1,84565	1,000	-5,8706	5,5426
	Kelompok negatif	-7,57400*	1,84565	,005	-13,2806	-1,8674
	Perlakuan 1	-7,13800*	1,84565	,009	-12,8446	-1,4314
	Perlakuan 3	4,11600	1,84565	,261	-1,5906	9,8226
Perlakuan 3	Kelompok normal	-14,43200*	1,84565	,000	-20,1386	-8,7254
	Kelompok positif	-4,28000	1,84565	,225	-9,9866	1,4266
	Kelompok negatif	-11,69000*	1,84565	,000	-17,3966	-5,9834
	Perlakuan 1	-11,25400*	1,84565	,000	-16,9606	-5,5474
	Perlakuan 2	-4,11600	1,84565	,261	-9,8226	1,5906

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

E. Uji Tukey

Nilai MDA Ginjal

Tukey HSD^a

Kode Sampel	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Perlakuan 3	5	3,4800	
Perlakuan 2	5	7,5960	
Kelompok positif	5	7,7600	
Perlakuan 1	5		14,7340
Kelompok negatif	5		15,1700
Kelompok normal	5		17,9120
Sig.		,225	,531

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 14. Hasil Statistik Kadar SOD Ginjal

A. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kode Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai SOD Ginjal	Kelompok normal	,211	5	,200 [*]	,935	5	,633
	Kelompok positif	,236	5	,200 [*]	,952	5	,753
	Kelompok negatif	,353	5	,041	,736	5	,022
	Perlakuan 1	,287	5	,200 [*]	,906	5	,441
	Perlakuan 2	,195	5	,200 [*]	,973	5	,897
	Perlakuan 3	,196	5	,200 [*]	,952	5	,749

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

a. Lilliefors Significance Correction

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Nilai SOD Ginjal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,448	5	24	,005

C. Uji ANOVA

ANOVA

Nilai SOD Ginjal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2817,845	5	563,569	9,219	,000
Within Groups	1467,119	24	61,130		
Total	4284,964	29			

D. Uji Post Hock

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nilai SOD Ginjal

Tukey HSD

(I) Kode Sampel	(J) Kode Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok normal	Kelompok positif	-12,54000	4,94489	,153	-27,8293	2,7493
	Kelompok negatif	18,33000*	4,94489	,012	3,0407	33,6193
	Perlakuan 1	-3,03400	4,94489	,989	-18,3233	12,2553
	Perlakuan 2	-4,67200	4,94489	,931	-19,9613	10,6173
	Perlakuan 3	-7,31400	4,94489	,680	-22,6033	7,9753
Kelompok positif	Kelompok normal	12,54000	4,94489	,153	-2,7493	27,8293
	Kelompok negatif	30,87000*	4,94489	,000	15,5807	46,1593
	Perlakuan 1	9,50600	4,94489	,414	-5,7833	24,7953
	Perlakuan 2	7,86800	4,94489	,612	-7,4213	23,1573
	Perlakuan 3	5,22600	4,94489	,893	-10,0633	20,5153
Kelompok negatif	Kelompok normal	-18,33000*	4,94489	,012	-33,6193	-3,0407
	Kelompok positif	-30,87000*	4,94489	,000	-46,1593	-15,5807
	Perlakuan 1	-21,36400*	4,94489	,003	-36,6533	-6,0747
	Perlakuan 2	-23,00200*	4,94489	,001	-38,2913	-7,7127
	Perlakuan 3	-25,64400*	4,94489	,000	-40,9333	-10,3547
Perlakuan 1	Kelompok normal	3,03400	4,94489	,989	-12,2553	18,3233
	Kelompok positif	-9,50600	4,94489	,414	-24,7953	5,7833
	Kelompok negatif	21,36400*	4,94489	,003	6,0747	36,6533
	Perlakuan 2	-1,63800	4,94489	,999	-16,9273	13,6513
	Perlakuan 3	-4,28000	4,94489	,951	-19,5693	11,0093
Perlakuan 2	Kelompok normal	4,67200	4,94489	,931	-10,6173	19,9613

	Kelompok positif	-7,86800	4,94489	,612	-23,1573	7,4213
	Kelompok negatif	23,00200*	4,94489	,001	7,7127	38,2913
	Perlakuan 1	1,63800	4,94489	,999	-13,6513	16,9273
	Perlakuan 3	-2,64200	4,94489	,994	-17,9313	12,6473
Perlakuan 3	Kelompok normal	7,31400	4,94489	,680	-7,9753	22,6033
	Kelompok positif	-5,22600	4,94489	,893	-20,5153	10,0633
	Kelompok negatif	25,64400*	4,94489	,000	10,3547	40,9333
	Perlakuan 1	4,28000	4,94489	,951	-11,0093	19,5693
	Perlakuan 2	2,64200	4,94489	,994	-12,6473	17,9313

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

E. Uji Tukey

Nilai SOD Ginjal

Tukey HSD^a

Kode Sampel	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kelompok negatif	5	32,8240	
Kelompok normal	5		51,1540
Perlakuan 1	5		54,1880
Perlakuan 2	5		55,8260
Perlakuan 3	5		58,4680
Kelompok positif	5		63,6940
Sig.		1,000	,153

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 15. Jadwal Penelitian

Tabel 3.1 Jadwal Penelitian

NO	Jadwal Penelitian	Tahun 2022 bulan ke-				Tahun 2023 bulan ke-							Tempat	
		9	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 <i>Ethical Clereance</i>					√								Komisi Etik Penelitian
5.	Pengambilan sampel					√								Desa Mirigambar
6.	Determinasi					√								UPT Materia Medika Batu, Malang
7.	Pembuatan simplisia					√								Lab. Botani STIKes Karya Putra Bangsa
8.	Proses maserasi					√								Lab. Botani STIKes Karya Putra Bangsa
9.	Proses ekstraksi					√								Lab. Botani STIKes Karya Putra Bangsa
10.	Analisis LCMS							√						Universitas Muhamadiyah Malang
11.	Perlakuan hewan uji							√	√					Kampus Stikes Kartasa

12	Pengukuran kadar SOD dan MDA									√				Lab. Klinik Satwa Sehat, Malang
13	Analisis data									√				STIKes Karya Putra Bangsa
14	Pengajuan seminar hasil									√	√			STIKes Karya Putra Bangsa
15.	Pengumpulan laporan akhir											√		STIKes Karya Putra Bangsa

