

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
(*Carica Papaya L.*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL *High
Density Lipoprotein* (HDL) PADA TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley* (SD)**

SKRIPSI



Oleh :

SITI AINUN NURROHMAH

1913206044

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

2023

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
(*Carica Papaya L.*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL *High
Density Lipoprotein* (HDL) PADATIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley* (SD)**

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

SKRIPSI



Oleh :

SITI AINUN NURROHMAH

1913206044

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

2023

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
(*Carica Papaya L.*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL *High
Density Lipoprotein* (HDL) PADA TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley* (SD)**

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:


SITI AINUN NURROHMAH

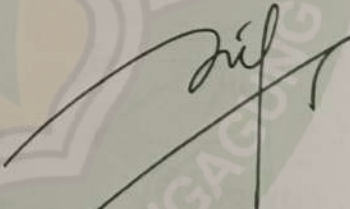
1913206044

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


apt. Choirul Huda, M. Farm
NIDN. 07. 26.03. 85. 02


apt. Arif Santoso, M. Farm
NIDN. 07. 28. 11. 86. 04

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

HALAMAN PENGESAHAN
SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA
(*Carica Papaya L.*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL *High
Density Lipoprotein* (HDL) PADA TIKUS JANTAN PUTIH
GALUR *Sprague Dawley* (SD)

Oleh :

SITI AINUN NURROHMAH

1913206044

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

Tanggal :

Ketua Penguji : apt. Choirul Huda, M. Farm

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

2. apt. Amalia Eka Putri, M. Farm

3. Afidatul Muadifah, M.Si

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

apt. Arif Santoso, M. Farm

PERNYATAAN

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

Tulungagung, Januari 2023

Siti Ainun Nurrohmah

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (*Carica Papaya L.*)
TERHADAP KADAR KOLESTEROL *High Density Lipoprotein* (HDL) PADA
TIKUS JANTAN PUTIH GALUR *Sprague Dawley* (SD)**

Siti Ainun Nurrohmah, apt. Choirul Huda M. Farm, apt. Arif Santoso M. Farm

Prodi S1 Farmasi

ABSTRAK

Kolesterol merupakan lemak yang terdapat didalam aliran darah atau sel tubuh yang sebenarnya dibutuhkan untuk pembentukan dinding sel dan sebagai bahan baku beberapa hormon. Salah satu jenis kolesterol yaitu kolesterol HDL yang merupakan jenis kolesterol yang bersifat positif atau baik yang dapat membersihkan pembuluh darah dari kolesterol LDL. Biji pepaya merupakan bahan alami yang mengandung zat fitokimia berupa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang bersifat sebagai antihiperkolesterol dan antioksidan. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk menguji efektivitas ekstrak biji pepaya dalam peningkatan kadar kolesterol HDL pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang di induksi tinggi lemak selama 14 hari. Penelitian ini menggunakan model *eksperimental* terhadap 30 tikus *Sprague Dawley* dengan usia \pm 8 minggu dengan berat badan rata-rata 200-250 gram. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok tikus yang diberi induksi tinggi lemak dan simvastatin 10 mg (K+), kelompok tikus yang diberi tinggi lemak (K-), kelompok tikus yang diberi tinggi lemak dan ekstrak biji pepaya 150 mg/kgBB (P₁), kelompok tikus yang diberi tinggi lemak dan ekstrak biji pepaya 300 mg/kgBB (P₂), dan Kelompok tikus yang diberi tinggi lemak dan ekstrak biji pepaya 450 mg/kgBB (P₃). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) kelompok K= 26.162 ± 13.741 , K+= 133.523 ± 25.389 , P₁= 34.560 ± 7.992 , P₂= 65.320 ± 23.164 , dan P₃= 117.338 ± 28.061 . Pada uji Tukey Lanjutan didapatkan nilai signifikansi $p < 0,210$ yang menunjukkan ada perbedaan nyata antara kelompok K+ dengan K-, P₁, dan P₂. Ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dapat berpengaruh terhadap kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dan hampir sama dengan pemberian simvastatin pada kelompok perlakuan kontrol positif (K+).

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

THE EFFECT OF GIVING PAPAYA (*Carica Papaya L.*) SEED ETHANOL EXTRACT ON High Density Lipoprotein (HDL) CHOLESTEROL LEVELS IN STRAIN WHITE MALE RATS Sprague Dawley (SD)

Siti Ainun Nurrohmah, apt. Choirul Huda. M. Farm, apt. Arif Santoso. M. Farm

Program Study SI-Pharmacy

ABSTRACT

Cholesterol is a fat found in the bloodstream or body cells that is actually needed for the formation of cell walls and as a raw material for several hormones. One type of cholesterol is HDL cholesterol which is a positive or good type of cholesterol that can clean blood vessels from LDL cholesterol. Papaya seeds are natural ingredients that contain phytochemicals in the form of flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids which act as antihypercholesterol and antioxidants. The purpose of this research is to test the effectiveness of papaya seed extract in increasing HDL cholesterol levels in high-fat induced Sprague Dawley male rats for 14 days. This study used an experimental model of 36 Sprague Dawley rats aged ± 8 weeks with an average body weight of 200-250 grams. The rats were divided into 5 groups, namely the group of mice given high fat and simvastatin 10 mg (K+), the group of mice given high fat (K-), the group of rats given high fat and papaya seed extract 150 mg/kgBB (P₁), the rat group was given high fat and papaya seed extract 300 mg/kgBB (P₂), and the rat group was given high fat and papaya seed extract 450 mg/kgBB (P₃). The results of this study showed that the mean of High Density Lipoprotein (HDL) cholesterol levels in the group K- = 26,162 \pm 13,741, K+ = 133,523 \pm 25.389, P₁ = 34,560 \pm 7.992, P₂ = 65,320 \pm 23.164, and P₃ = 117,338 \pm 28.061. In the Advanced Tukey test, a significance value of $p < 0,210$ was obtained which indicated that there was a significant difference between the K+ and K-, P₁, and P₂ groups. Papaya seed extract (*Carica Papaya L.*) can reduce High Density Lipoprotein (HDL) levels and is almost comparable to simvastatin administration in the positive control (K+) treatment group.

Keywords : HDL Cholesterol, Papaya Seed Extract, Sprague Dawley

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (*Carica Papaya L.*) TERHADAP KADAR KOLESTEROL *High Density Lipoprotein (HDL)* PADA TIKUS JANTAN PUTIH GALUR *Sprague Dawley (SD)*”** ini dengan lancar meskipun banyak kekurangan.

Proposal ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) pada Jurusan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa Tulungagung. Dalam penyusunan proposal ini tidak akan terselesaikan dengan baik dan lancar tanpa bantuan para pihak, baik secara moril maupun materil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak apt. Arif Santoso, M. Farm selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Ibu apt. Dara Pranindya Tilarso, M. Farm selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi .
3. Bapak apt. Choirul Huda M. Farm selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dalam penyelesaian penyusunan skripsi.
4. Bapak apt. Arif Santoso M. Farm selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberi masukan selama proses penyusunan skripsi.
5. Bapak atau ibu ketua laboran dan seluruh laboran yang ada di Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
6. Kakak tingkat angkatan 2018 terutama mbak Nurisma Tria Harwiyanti, Siti Anisa, Nungky, Niken Desi Wulandari yang telah memberikan semangat dalam penyusunan skripsi.
7. Dian Rahayu angkatan 2020 yang telah memberikan semangat dan dukungan dalam penyusunan skripsi.

8. Kedua temanku alumni se-angkatan dari SMK Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri yaitu Clarisa Ekatama Wilyanto Putri dan Devita Ragil Riyanti yang telah memberi dukungan dan semangat terhadap penyusunan tugas akhir.
9. Kedua orang tua saya yang memberikan dukungan dan do'a selama penyusunan skripsi.
10. Semua saudara saya yang telah mendukung dan memberikan semangat untuk menyusun skripsi ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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

Wassalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh.

Tulungagung, Januari 2023

Siti Ainun Nurrohmah

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
ABSTRAK.....	ivi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GRAFIK.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	3
1.5 Relevansi Penelitian.....	3
BAB II.....	4
2.1 Kolesterol.....	4
2.1.1 Definisi Kolesterol.....	4
2.1.2 Klasifikasi Kolesterol.....	4
2.1.3 Klasifikasi Kadar Kolesterol.....	7
2.1.4 Patofisiologi.....	7
2.1.5 Etiologi.....	8
2.1.6 Penatalaksanaan Terapi.....	9
2.2 Tanaman Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	13
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	13
2.2.2 Manfaat Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	15
2.2.3 Kandungan Senyawa Pada Biji Pepaya.....	16
2.3 Simplisia.....	18

2.3.1	Penggolongan Simplisia.....	18
2.3.2	Syarat Simplisia	19
2.3.3	Penyiapan Simplisia	19
2.4	Ekstrak.....	22
2.4.1	Definisi Ekstrak.....	22
2.4.2	Sifat Ekstrak	22
2.4.3	Teknik Evaporasi dan Pengeringan.....	23
2.5	Ekstraksi	25
2.5.1	Definisi Ekstraksi	25
2.5.2	Tujuan Ekstraksi.....	25
2.5.3	Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Ekstraksi.....	26
2.5.4	Jenis-Jenis Metode Ekstraksi	27
2.5.5	Pelarut Ekstraksi.....	29
2.6	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)</i>	31
2.7	Hewan Uji.....	33
2.7.1	Tikus.....	33
2.7.2	Klasifikasi Tikus	34
2.7.3	Penanganan dan Pengendalian Tikus	34
2.7.4	Pengambilan Sampel.....	35
2.7.5	Penanganan Sampel Darah Hewan Uji	36
2.7.6	Kontrol Positif.....	37
2.8	Anestesia	37
2.9	Hipotesis	38
BAB III	39
3.1	Alat dan Bahan	39
3.1.1	Alat.....	39
3.1.2	Bahan.....	39
3.2	Lokasi Penelitian.....	39
3.3	Populasi Penelitian	39
3.4	Sampel Penelitian	40
3.5	Variabel Penelitian	40

3.5.1	Variabel Bebas	40
3.5.2	Variabel Kontrol.....	40
3.5.3	Variabel Terikat	40
3.6	Jalannya Penelitian	40
3.6.1	<i>Ethical Clereance</i>	40
3.6.2	Determinasi Tanaman	41
3.6.3	Pembuatan Simplisia	41
3.6.4	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	41
3.6.5	Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	42
3.6.6	Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	42
3.6.7	Skrining Fitokimia	43
3.6.8	Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LC-MS.....	44
3.7	Uji Pra-Klinik pada Tikus	44
3.7.1	Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba	44
3.7.2	Pembuatan Pakan Tinggi Lemak	44
3.7.3	Pembuatan Larutan CMC-Na 0,5%	45
3.7.4	Pembuatan Suspensi Ekstrak Biji Pepaya.....	45
3.7.5	Pembuatan Kontrol Positif.....	45
3.7.6	Perlakuan Pada Hewan Coba	45
3.7.7	Pengambilan Sampel.....	47
3.7.8	Pengukuran Kadar HDL.....	47
3.7.9	Analisis Data	48
3.8	Kerangka Penelitian	50
3.8.1	Pembuatan Ekstrak.....	50
3.8.2	Perlakuan Hewan Uji	51
3.9	Jadwal Penelitian	52
BAB IV	53
4.1	Persetujuan <i>Ethical Clereance</i>	52
4.2	Determinasi Tanaman.....	52
4.3	Pembuatan Serbuk Biji Pepaya	52
4.3.1	Uji Susut Pengeringan.....	54

4.3.2	Uji Kadar Air.....	54
4.4	Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya	52
4.4.1	Rendemen Ekstrak	56
4.4.2	Uji Organoleptis	57
4.4.3	Uji Bebas Etanol	57
4.4.4	Skrining Fitokimia	58
4.5	Identifikasi <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i> (LC-MS)	62
4.6	Uji Efektivitas Terhadap Kadar Kolesterol HDL.....	75
4.7	Analisis Data	80
BAB V	81
5.1	Kesimpulan.....	81
5.2	Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN	90

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Kolesterol Berdasarkan Densitasnya	6
Tabel 2.2 Klasifikasi Kadar Kolesterol	7
Tabel 2.3 Obat dan Dosis Statin Maksimal Yang Direkomendasikan.....	10
Tabel 2.4 Obat Golongan Fibrat.....	11
Tabel 2.5 Obat Golongan Asam Nikotinat.....	11
Tabel 2.7 Penggunaan CMC-Na	31
Tabel 2.8 Jenis dan Dosis Anestesia Pada Tikus	38
Tabel 3.1 Jadwal Penelitian.....	52
Tabel 4.1 Hasil Uji Susut Pengerinan	54
Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air	55
Tabel 4.3 Hasil Rendemen Ekstrak.....	57
Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol.....	58
Tabel 4.5 Hasil Uji Skrining Fitokimia.....	59
Tabel 4.6 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid, Tanin, Saponin	65
Tabel 4.7 Analisis Data Uji Normalitas	77

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Profil HDLC (mg/dl)77



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Klasifikasi Kolesterol.....	6
Gambar 2. 2 (a) Tanaman Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>) dan (b) Biji Pepaya (<i>Carica Papaya L.</i>).....	13
Gambar 2.3 Hewan Uji Tikus	33
Gambar 2.4 Cara Memegang Tikus	35
Gambar 4.1 Hasil Uji Bebas Etanol	58
Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid	60
Gambar 4.3 Hasil Uji Tanin	61
Gambar 4.4 Hasil Uji Saponin	62
Gambar 4.5 Hasil <i>Chromatogram</i> LC-MS	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Dosis Ekstrak Biji Pepaya	93
Lampiran 2 Perhitungan Dosis Kontrol Positif	94
Lampiran 3 Perhitungan CMC-Na 0,5%	95
Lampiran 4 Perhitungan Lemak Babi	95
Lampiran 5 Persetujuan <i>Ethical Clearance</i>	96
Lampiran 6 Determinasi Tanaman	97
Lampiran 7 Surat Pernyataan Tempat Penelitian	98
Lampiran 8 Surat Pernyataan Pembelian Tikus	99
Lampiran 9 Hasil Pemeriksaan Profil Kimia Darah HDLC	100
Lampiran 10 Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus	102
Lampiran 11 Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya	104
Lampiran 12 Skrining Fitokimia	105
Lampiran 13 Uji Bebas Etanol	105
Lampiran 14 Perlakuan Hewan Coba	105
Lampiran 15 Pengolahan Data	110

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kolesterol merupakan lemak yang terdapat di dalam aliran darah atau sel tubuh yang sebenarnya dibutuhkan untuk pembentukan dinding sel dan sebagai bahan baku beberapa hormon (Penusa, 2014). Kolesterol merupakan gangguan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan kolesterol total, kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*), trigliserida (TG), dan penurunan kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*) dalam plasma (PERKENI, 2019).

High Density Lipoprotein (HDL) merupakan lipoprotein berdensitas tinggi, terutama mengandung protein. HDL disebut juga kolesterol baik, yang memiliki fungsi sebagai membersihkan pembuluh darah dari kolesterol LDL yang berlebihan. Kolesterol yang berlebihan dalam tubuh akan tertimbun dalam dinding pembuluh darah yang dapat menyebabkan terjadinya penyakit jantung dan stroke (Christalina *et al.*, 2013). Salah satu jenis profil lipid yang bersifat positif bagi pasien adalah *High Density Lipoprotein* (HDL), yang bekerja mengangkut kolesterol jahat dari endotel pembuluh darah kemudian diangkut oleh hepar dan kemudian dibuang melalui saluran pencernaan. Fungsi dari HDL selain mengangkut kolesterol jahat juga menyebabkan pembuluh darah bisa berdilatasi karena produksi Nitrit Oksida yang meningkat (Rafsanjani dkk., 2019).

Kelainan metabolisme lemak, erat kaitannya dengan gaya hidup yang tidak baik. Kurangnya aktivitas fisik dapat menyebabkan penumpukan lemak di dalam tubuh. Kadar lemak yang tidak normal lama kelamaan akan menumpuk di dinding arteri (Khoiriyah dkk., 2020), menerapkan pola makan yang mengandung lemak jenuh yang tinggi dan energi yang tinggi. Kelebihan berat badan akan mengakibatkan perubahan kadar lipid darah (Mulyani dkk., 2018). Menurut WHO 2008, prevalensi tertinggi kasus kolesterol berada di wilayah Eropa, diikuti Amerika untuk semua jenis kelamin. Kasus kolesterol di Indonesia sebesar 13,4% untuk wanita dan 11,4% untuk pria. Namun meningkat menjadi 16,2% untuk wanita dan 14% untuk pria (Nurmawati, 2016). Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) menemukan secara umum penduduk Indonesia memiliki kadar

kolesterol yang abnormal. Pada perempuan lebih tinggi sekitar 39,6% dibandingkan laki-laki 30,0%. Ditinjau dari sisi geografis, persebaran penyakit ini pada penduduk di daerah perkotaan lebih tinggi dibandingkan di pedesaan. Prevalensi hiperkolesterol Indonesia pada kelompok usia 25-34 tahun adalah 9,3% dan meningkat sesuai dengan pertumbuhannya usia hingga 15,5% pada kelompok usia 55-64 tahun (Lainsamputty & Gerungan, 2022).

Golongan obat yang sering digunakan untuk pengobatan kolesterol, seperti golongan obat statin, obat untuk penderita kolesterol harus dikonsumsi secara rutin dan teratur selama kondisinya terkontrol, dan dipantau 6-12 minggu setelah pengobatan (PERKENI, 2019). Untuk dapat mengendalikan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan HDL (*High Density Lipoprotein*). Selain menggunakan obat sintetik, pengobatan kolesterol dapat diberikan tanaman obat tradisional, eksplorasi sumber hayati dengan efek hiperkolesterol yang dianjurkan salah satunya yaitu biji pepaya (Angelia, 2018).

Biji pepaya merupakan bahan alami yang mengandung zat fitokimia berupa flavonoid, saponin, tanin yang bersifat sebagai hiperkolesterol dan antioksidan. Tanaman pepaya sangat mudah dijumpai di Indonesia dan sering dimanfaatkan mulai dari daun sampai akar, tetapi manfaat biji pepaya masih belum banyak diketahui oleh masyarakat, flavonoid dapat meningkatkan eksresi getah empedu melalui pengaktifan enzim sitokrom P-450 (Cahaya & Ayu, 2017). Saponin dapat menurunkan kolesterol hati, menurunkan kadar trigliserida, serta meningkatkan eksresi fekal dari kolesterol. Sedangkan tanin dalam biji pepaya dapat mengurangi absorpsi kolesterol di usus halus dan meningkatkan eksresi asam empedu dengan mekanisme yang sama seperti saponin serta dapat meningkatkan *reserve cholesterol transport* (Meirindasari dkk., 2013).

Hasil dari penelitian (Nwangwa & Ekhoje, 2013) menunjukkan bahwa pemberian biji pepaya secara bersamaan dengan dosis 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB menunjukkan penurunan yang signifikan pada semua parameter lipid dengan peningkatan yang signifikan pada tingkat HDL. Pemilihan tikus sebagai sampel penelitian dikarenakan tikus tidak dapat muntah, memiliki kemiripan fisiologis dengan manusia dibandingkan dengan hewan lain dan lebih mudah

dikontrol dari asupan makanan dan aktivitas fisik sehingga memperkecil terjadinya bias saat penelitian.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Bagaimanakah pengaruh pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar Kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

1.2.2 Berapakah konsentrasi dosis pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar Kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Untuk mengetahui pengaruh pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar Kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

1.3.2 Untuk mengetahui konsentrasi optimum pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar Kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

1.4 Batasan Masalah

1.4.1 Bagian tanaman pepaya (*Carica Papaya L.*) yang digunakan adalah bagian biji yang diambil dari Desa Mirigambar, RT. 01/RW. 06, Sumbergempol, Tulungagung, Jawa Timur.

1.5 Relevansi Penelitian

1.5.1 Penelitian Nwangwa and Ekhoye pada tahun 2013 yang berjudul “*Antihyperlipidemic Activity of Aqueous Extract of Papaya Seeds in Albino Rats Fed a High-fat diet*” Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian biji pepaya secara bersamaan dengan dosis 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB menunjukkan penurunan yang signifikan pada semua parameter lipid dengan peningkatan yang signifikan pada tingkat HDL.

1.5.2 Penelitian Agustina & Muwarni, 2013 yang berjudul “Pengaruh Pemberian Jus Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Rasio Kolesterol LDL:HDL Tikus *Sprague Dawley*” menyatakan bahwa pemberian biji pepaya selama 30 hari pada dosis 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB mampu menurunkan rasio kolesterol LDL:HDL tikus *Sprague Dawley*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

2.1.1 Definisi Kolesterol

Kolesterol merupakan salah satu komponen lemak atau zat lipid yang sangat diperlukan sekali oleh tubuh kita selain zat gizi lainnya, seperti karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral (Zuraida dkk., 2021). Kolesterol merupakan lemak yang berwarna kekuningan berbentuk seperti lilin yang diproduksi oleh tubuh manusia, terutama di dalam liver (hati). Dari segi ilmu kimia, kolesterol merupakan senyawa yang kompleks yang dihasilkan oleh tubuh dengan bermacam-macam fungsi antara lain untuk membuat hormon seks, hormon korteks adrenal, vitamin D, dan untuk membuat garam empedu yang membantu usus untuk menyerap lemak. Jika takarannya pas atau normal, kolesterol berperan penting dalam tubuh. Namun, jika terlalu banyak maka kolesterol dalam aliran darah justru berbahaya bagi tubuh (Penusa, 2014).

2.1.2 Klasifikasi Kolesterol

2.1.2.1 Kilomikron

Kilomikron merupakan lipoprotein plasma yang besar, dan kilomikron mewakili 98%-99% kandungan lemak, di mana 85% di antaranya adalah trigliserida dari suatu makanan. Kilomikron disintesis dari asam lemak, trigliserida, dan kolesterol dalam makanan yang diserap oleh sel epitel yang terdapat di usus halus (Siagian dkk., 2018). Kilomikron mempunyai partikel lipoprotein dengan diameter 80-1200 nm dan densitas $<0,95$ g/ml dan mengandung 90-95% trigliserida, 2-6% fosfolipid, 2-4% kolesterol, dan 1-2% protein. Kilomikron mengangkut lipid dari seluruh tubuh, terutama yang diangkut yaitu trigliserida. Kilomikron berperan mengangkut trigliserida yang berasal dari diet dari usus halus melalui limfa menuju plasma (Wahjuni, 2015).

2.1.2.2 Very Low Density Lipoprotein (VLDL)

Lipoprotein dengan berat jenis yang sangat amat rendah di dalam tubuh bertindak sebagai pembawa trigliserida ke dalam seluruh jaringan. Jenis lipoprotein *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) ini terdapat kandungan lipid yang tinggi. Di dalam tubuh senyawa ini berperan sebagai pembawa trigliserida

dari hati menuju ke seluruh jaringan yang terdapat di dalam tubuh. Dengan dibantu oleh lipoprotein lipase, kemudian sisa kolesterol yang tidak dikeluarkan melalui empedu akan bergabung dengan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) menjadi *Low Density Lipoprotein* (LDL). *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang merupakan hasil perubahan dari kilomikron di dalam hati yang berfungsi untuk mentransportasikan trigliserida ke jaringan (Susiwati dkk., 2018). VLDL berperan mengangkut kolesterol dan trigliserida yang dihasilkan secara endogen (Wahjuni, 2015).

2.1.2.3 Intermediate Density Lipoprotein (IDL)

Lipoprotein ini meningkat ukurannya dan menurunkan densitasnya dari *High Density Lipoprotein* (HDL) ke *Low Density Lipoprotein* (LDL) menjadi Intermediate Density Lipoprotein (IDL) hingga *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang sangat rendah ke kilomikron. *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) merupakan sisa-sisa dari *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) hasil dari penghapusan trigliserida dari *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) oleh otot dan jaringan adiposa menghasilkan pembentukan partikel *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) yang diperkaya dengan adanya kolesterol. Partikel ini memiliki kandungan apolipoprotein B-100 dan E partikel *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) ini pro aterogenik (Wahjuni, 2015).

2.1.2.4 Low Density Lipoprotein (LDL)

Low Density Lipoprotein (LDL) atau yang dikenal dengan kadar kolesterol jahat, kandungan lipoprotein densitas rendah yang sesuai dalam tubuh yaitu sekitar 60-70%. *Low Density Lipoprotein* (LDL) mengangkut kadar kolesterol melalui jaringan arteri ke seluruh tubuh menuju pada tempat yang membutuhkan, tetapi jika terlalu banyak *Low Density Lipoprotein* (LDL) maka terjadi penumpukan kolesterol di jaringan arteri dan dapat menyebabkan pembentukan plak (Siagian *et al.*, 2018). Terbentuk dalam sistem sirkulasi darah sebagai hasil degradasi VLDL. Pengambilan LDL oleh hati dari sirkulasi terutama melalui reseptor LDL dipermukaan sel. Hampir semua jaringan dalam tubuh dapat mensintesis reseptor LDL, untuk kemudian LDL dibawa keregioperinuklear dan berdifusi dengan lisosom (Wahjuni, 2015).

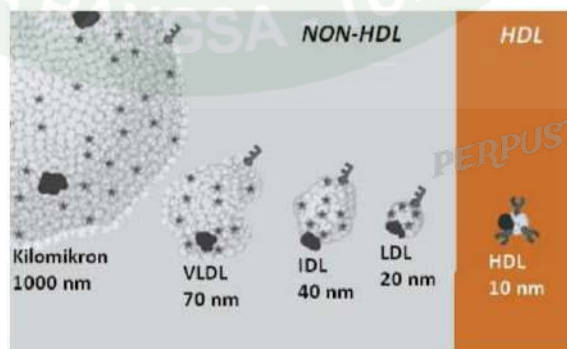
2.1.2.5 High Density Lipoprotein (HDL)

Kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) merupakan kolesterol baik dan aman bagi tubuh bahkan pada kadar yang tinggi. Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) tidak sebesar yang terdapat pada kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) tetapi banyak mengandung protein. *High Density Lipoprotein* (HDL) mampu mencegah kolesterol mengendap di arteri dan melindungi dari aterosklerosis (Siagian dkk., 2018). Berperan memediasi pengangkutan balik (*reverse transport*) kolesterol dari jaringan perifer ke hati, peningkatan lipoprotein kecuali *High Density Lipoprotein* (HDL) merupakan pemicu kemunculan dislipidemia (Wahjuni, 2015). Klasifikasi kolesterol berdasarkan densitasnya dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Klasifikasi Kolesterol Berdasarkan Densitasnya (Wahjuni, 2015).

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

Gambar klasifikasi kolesterol berdasarkan densitasnya dapat dilihat pada gambar 2.1



Gambar 2.1 Klasifikasi Kolesterol (Jim, 2014).

2.1.3 Klasifikasi Kadar Kolesterol

Klasifikasi kadar kolesterol menurut (PERKENI, 2019) terdapat pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Klasifikasi Kadar Kolesterol (PERKENI, 2019).

Klasifikasi Kadar Lipid	Mg/dl
Kolesterol Total	
Diinginkan	<200
Sedikit tinggi (<i>borderline</i>)	200-239
Tinggi	≥240
Kolesterol LDL	
Optimal	<100
Mendekati optimal	100-129
Sedikit tinggi (<i>borderline</i>)	130-159
Tinggi	160-189
Sangat tinggi	≥190
Kolesterol HDL	
Rendah	<40
Tinggi	≥60
Trigliserida	
Normal	<150
Sedikit tinggi (<i>borderline</i>)	150-199
Tinggi	200-499
Sangat tinggi	≥500

2.1.4 Patofisiologi

HDL dilepaskan sebagai partikel kecil yang minim kolesterol, terdiri atas apolipoprotein (apo) A, (apo) C, (apo) E, yang disebut dengan kolesterol HDL *nascent* (minim kolesterol). HDL *nascent* berasal dari usus halus dan hati, mempunyai bentuk gepeng dan mengandung apolipoprotein tipe A1. HDL *nascent* mendekati makrofag untuk mengambil kolesterol yang tersimpan. Setelah mengambil kolesterol dari makrofag, HDL *nascent* berubah menjadi HDL berisi kolesterol dan berbentuk bulat. Agar dapat diambil oleh HDL *nascent*, kolesterol di bagian dalam makrofag harus dibawa ke permukaan membran sel makrofag oleh suatu transporter yang disebut *adenosin triphosphate-binding cassette transporter-1* (ABC-1) (Wahjuni, 2015).

Setelah mengambil kolesterol bebas dari sel makrofag, kolesterol bebas akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester atau *lecithin cholesterol acyl*

transferase (LCAT). Selanjutnya, sebagian kolesterol ester yang dibawa oleh HDL akan mengambil dua jalur. Jalur pertama yaitu melalui hati kemudian ditangkap oleh *scavenger receptor class B type 1* (SR-B1). Jalur yang kedua dari VLDL dan IDL dengan bantuan *cholesterol ester transfer protein* (CETP). Dengan demikian, fungsi HDL sebagai penyiapan kolesterol dari makrofag mempunyai dua jalur, yaitu langsung ke hati dan jalur tidak langsung melalui VLDL dan IDL untuk membawa kolesterol kembali ke hati (Wahjuni, 2015).

Bila kadar HDL rendah, kondisi itu harus diimbangi dengan olah raga yang teratur. Olah raga membuat otot dan rangka tubuh bergerak, denyut jantung meningkat sehingga darah beserta oksigen dan nutrisi bisa disalurkan dengan baik keseluruh tubuh. Jarang berolah raga membuat distribusi oksigen ke seluruh tubuh terganggu. Dampaknya, otot tubuh akan kekurangan oksigen sehingga membuat badan tersa pegal-pegal dan kaku (Wahjuni, 2015).

2.1.5 Etiologi

Banyak faktor yang menyebabkan terjadinya kolesterol. Bisa disebabkan oleh faktor genetik seperti pada kolesterol familial dan kolesterol poligenik, juga dapat disebabkan oleh faktor sekunder akibat dari penyakit lain seperti diabetes milletus, sindrom nefrotik serta faktor kebiasaan diet lemak jenuh (*saturated fat*), kegemukan dan kurang olahraga (Sari, 2014). Penyebab kolesterol yang paling umum yaitu :

1. Berat Badan

Kondisi perut buncit tidak hanya mengganggu kehidupan sosial, sebab kelebihan berat badan dapat meningkatkan kadar trigliserida dan menurunkan kadar HDL dalam darah. Kehilangan gumpalan lemak disekitar pinggang selain menyehatkan, juga dapat membuat tubuh lebih menarik secara fisik (Sari, 2014).

2. Pola Diet

Mengonsumsi lemak jenuh terlalu banyak dapat menyebabkan kolesterol tinggi. Biasanya, lemak jenuh terkandung dalam makanan yang berasal dari produk olahan hewani seperti sapi, babi, susu, telur, mentega, dan keju. Makanan dalam kemasan dengan mengandung minyak kelapa, kelapa sawit, atau mentega coklat memiliki kandungan lemak jenuh didalamnya (Sari, 2014).

3. Tingkat Aktivitas

Kekurangan aktivitas gerak pada tubuh dapat meningkatkan kadar kolesterol LDL atau kolesterol jahat serta menurunkan kadar kolesterol HDL atau kolesterol baik. Kolesterol LDL merupakan kolesterol jahat yang melekat pada dinding arteri dan bisa menyebabkan perkembangan penutupan pembuluh darah nadi. Peranan kolesterol HDL merupakan pembawa kembali kolesterol jahat ke organ hati untuk pemrosesan secara lanjut (Sari, 2014).

4. Usia dan Jenis Kelamin

Ketika seseorang berusia 20 tahun, kadar kolesterolnya akan mulai mengalami kenaikan. Bagi pria, untuk tingkat kolesterol secara umum akan berhenti setelah usia 50 tahun. Sementara, bagi para wanita tingkat kolesterol berada didalam kondisi yang cukup rendah sampai masa menopause. Setelah masa menopause, kadar kolesterol akan merambat naik sampai kira-kira menyamai keadaan yang dialami oleh pria (Sari, 2014).

2.1.6 Penatalaksanaan Terapi

2.1.6.1 Terapi Farmakologi

1. Golongan Statin

Statin adalah obat menurunkan lipid yang paling efektif untuk menurunkan kolesterol LDL dan terbukti aman tanpa efek samping yang berarti. Selain berfungsi untuk menurunkan kolesterol LDL, statin juga mempunyai efek meningkatkan kolesterol HDL dan menurunkan TG. Berbagai jenis statin dapat menurunkan kolesterol LDL 18-55%, meningkatkan kolesterol HDL 5-15%, dan menurunkan TG 7-30%. Cara kerja statin adalah dengan menghambat kerja HMG-CoA reduktase. Efeknya dalam regulasi CETP menyebabkan penurunan konsentrasi kolesterol LDL dan VLDL. Di hepar, statin dapat meningkatkan regulasi reseptor kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) sehingga meningkatkan pembersihan kolesterol LDL. Studi awal yang menggunakan statin untuk menurunkan kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) menunjukkan penurunan laju PJK dan mortalitas total serta berkurangnya infark miokard, prosedur revaskularisasi, stroke, dan penyakit vaskular perifer (Erwinanto dkk., 2015). Obat-obatan dan dosis statin maksimal yang direkomendasikan dapat dilihat pada Tabel 2.3

Tabel 2.3 Obat dan Dosis Statin Maksimal Yang Direkomendasikan

Nama obat	Dosis maksimal (mg/hari)
Lovastatin	80
Pravastatin	80
Simvastatin	80
Fluvastatin	80
Atorvastatin	80
Rosuvastatin	40
Pitavastatin	4

2. Golongan Fibrat

Fibrat adalah agonis dari PPAR- α . Melalui reseptor ini, fibrat menurunkan regulasi apoC-III serta meningkatkan regulasi apoA-I dan apoA-II. Berkurangnya sintesis apoC-III menyebabkan peningkatan katabolisme TG oleh lipoprotein lipase, berkurangnya pembentukan kolesterol VLDL, dan meningkatnya pembersih kilomikron. Peningkatan regulasi apoA-I dan apoA-II menyebabkan meningkatnya konsentrasi kolesterol HDL.

Sebuah analisis meta menunjukkan golongan fibrat bermanfaat menurunkan kejadian kardiovaskular terutama jika diberikan pada pasien dengan konsentrasi TG diatas 200 mg/dl. Terapi kombinasi fibrat dengan statin pada pasien DM tidak lebih baik dari terapi statin saja dalam menurunkan laju kejadian kardiovaskular kecuali jika konsentrasi kolesterol TG lebih dari 200mg/dl, konsentrasi kolesterol LDL \leq 84 mg/dl, dan konsentrasi kolesterol HDL \leq 34 mg/dl. Penelitian ini memperkuat pendapat bahwa terapi penurunan konsentrasi TG ditujukan hanya pada pasien dengan risiko kardiovaskular tinggi yang konsentrasi kolesterol LDL-nya telah mencapai target dengan terapi statin dan konsentrasi TG-nya masih diatas 200 mg/dl.

Fibrat dapat menyebabkan miopati, peningkatan enzim hepar, dan kolelitiasis. Risiko miopati lebih besar pada pasien gagal ginjal kronik dan bervariasi menurut jenis fibrat. Gemfibrozil lebih beresiko menyebabkan miopati dibandingkan fenofibrat jika dikombinasikan dengan statin. Jika fibrat dikombinasikan dengan statin maka sebaiknya waktu pemberian dipisah untuk mengurangi konsentrasi dosis puncak (Erwinanto dkk., 2015). Contoh obat golongan fibrat dapat dilihat pada tabel 2.4

Tabel 2.4 Obat Golongan Fibrat

Nama obat	Dosis yang disarankan (mg/hari)
Fenofibrat	200
Gemfibrozil	1200

3. Golongan Asam Nikotinat

Asam nikotinat menghambat mobilisasi asam lemak bebas dari jaringan lemak perifer ke hepar sehingga sintesis TG dan sekresi kolesterol VLDL di hepar berkurang. Asam nikotinat juga mencegah konversi kolesterol VLDL menjadi kolesterol LDL, mengubah menjadi partikel kecil (*small dense*) dan menurunkan konsentrasi Lp(a). asam nikotinat meningkatkan kolesterol HDL melalui simulasi produksi apoA-I di hepar. Niasin yang digunakan saat ini terutama yang berbentuk *extended release* yang dianjurkan diminum sebelum tidur malam. Dosis awal yang direkomendasikan adalah 500 mg/hari selama 4 minggu dan dinaikkan setiap 4 minggu berikutnya sebesar 500 mg selama masih dapat ditoleransi sampai konsentrasi lipid yang dikehendaki tercapai. Dosis maksimum 2000 mg/hari menurunkan TG 20 – 40%, kolesterol LDL 15 – 18%, dan meningkatkan konsentrasi HDL 15 – 35% (Erwinanto dkk., 2013). Contoh obat golongan asam nikotinat dapat dilihat pada tabel 2.5

Tabel 2.5 Obat Golongan Asam Nikotinat

Nama Obat	Dosis (mg/dl)
Niasin	2000

2.1.6.2 Terapi Non Farmakologi

1. Aktivitas Fisik

Aktivitas fisik yang dapat disarankan yaitu meliputi program latihan yang mencakup setidaknya 30 menit aktivitas fisik dengan intensitas sedang (menurunkan 4-7 kkal/menit) 4 sampai 6 kali seminggu, dengan pengeluaran minimal 200 kkal/hari. Kegiatan yang dapat disarankan meliputi jalan cepat, bersepeda statis, atau berenang. Tujuan aktivitas fisik harian dapat dipenuhi dalam satu sesi atau beberapa sesi sepanjang rangkaian dalam sehari minimal 10 menit.

Bagi beberapa pasien, beristirahat selama beberapa saat di sela-sela aktivitas dapat meningkatkan kepatuhan terhadap program aktivitas fisik. Selain aerobik, aktivitas penguat otot direkomendasikan dilakukan minimal 2 hari dalam seminggu (PERKENI, 2019).

2. Terapi Nutrisi Medis

Bagi orang dewasa, disarankan untuk mengonsumsi diet rendah kalori yang terdiri dari buah-buahan dan sayuran (≥ 5 porsi/hari), biji-bijian (≥ 6 porsi/hari), ikan, dan daging tanpa lemak. Asupan lemak jenuh, lemak trans, dan kolesterol harus dibatasi, sedangkan makronutrien yang dapat menurunkan K-LDL harus mencakup tanaman stanol/sterol (2 gram/hari) dan serat larut air (10-25 gram/hari) (PERKENI, 2019).

3. Berhenti Merokok

Merokok merupakan faktor risiko kuat, terutama untuk penyakit jantung koroner, penyakit vaskular perifer, dan stroke. Merokok mempercepat pembentukan plak pada koroner dan dapat menyebabkan ruptur plak sehingga sangat berbahaya bagi orang dengan aterosklerosis koroner yang luas. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa merokok memiliki efek negatif yang besar pada K-HDL dan rasio K-LDL atau K-HDL. Merokok juga memiliki efek negatif pada lipid postprandial, termasuk trigliserida. Berhenti merokok minimal dalam 30 hari dapat meningkatkan K-HDL secara signifikan (PERKENI, 2019).

4. Penurunan Berat Badan

Pengaruh penurunan berat badan terhadap kolesterol total dan LDL hanya sedikit, untuk semua pasien dengan kelebihan berat badan direkomendasikan untuk mengurangi 10% berat badan, setiap penurunan 10 kg berat badan berhubungan dengan penurunan kolesterol LDL sebesar 8 mg/dl. Konsentrasi kolesterol HDL justru berkurang saat sedang aktif menurunkan berat badan dan akan meningkat ketika berat badan sudah stabil. Setiap penurunan 1 kg berat badan berhubungan dengan peningkatan kolesterol HDL sebesar 4 mg/dl dan penurunan konsentrasi TG sebesar 1,3 mg/dl (Erwinanto dkk., 2015).

2.2 Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L.*)



(a)

(b)

Gambar 2. 2 (a) Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L.*) dan (b) Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) (Dokumentasi Pribadi).

Tanaman pepaya memiliki nama lain pepaya (Indonesia), papita (India), tree melon (Belanda), papaya (Prancis), paw-paw (Australia), manau (Brazil), papaya dan paw-paw (UK) (Peristiowati & Puspitasari, 2018).

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

Klasifikasi botani dari tanaman pepaya (*Carica Papaya L.*) menurut (Peristiowati & Puspitasari, 2018) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Class	: Magnoliopsida
Sub Class	: Dilleniidae
Superdivision	: Spermatophyta
Phyllum	: Steptophyta
Ordo	: Brassicales
Family	: Caricaceae
Genus	: Carica
Botanical Name	: <i>Carica papaya Linn.</i>

Morfologi Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L.*) sebagai berikut :

1. Akar (*Radix*)

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

2. Batang (*Caulis*)

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

3. Daun (*Folium*)

Daun merupakan tumbuhan yang paling penting dan umumnya setiap tumbuhan mempunyai sejumlah besar daun. Daun pepaya merupakan daun tunggal, berukuran besar dan, bercangap, juga memiliki bagian-bagian daun lengkap (*falicum completum*) berupa pelepah atau upih daun (*vagina*), tangkai daun (*petiolus*) dan helaian daun (*lamina*). Daun pepaya dikatakan mempunyai bangun bulat (*orbicularis*), ujung daun yang runcing, tangkai daun yang panjang dan berongga. Dilihat dari susunan tulang daunnya, daun pepaya termasuk daun-daun yang bertulang menjari (*palmineruis*). Daun yang muda terbentuk dibagian tengah tanaman (Peristiowati & Puspitasari, 2018).

4. Bunga (*Flos*)

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

untuk keperluan hidupnya seperti pernafasan, pertumbuhan, dll). Pepaya termasuk tumbuhan poligam (*polygamus*), karena pada satu tumbuhan terdapat bunga jantan, bunga betina, dan bunga sempurna. Biasanya polygam dimaksud untuk menunjukkan sifat tumbuhan bertalian dengan sifat bunga tali yang memperlihatkan suatu kombinasi bukan berumah satu dan bukan juga berumah dua (Peristiowati & Puspitasari, 2018).

5. Buah (*Fructus*)

Pepaya termasuk dalam golongan bunga sungguh (buah sejati) tunggal. Buah sejati tunggal yaitu buah sejati yang terdiri dari bunga dengan satu bakal buah saja. Buah ini dapat berisi satu biji atau lebih, dapat pula tersusun dari satu atau banyak daun buah dengan satu atau banyak naungan. Dalam buah pepaya terjadi dari daun buah dengan satu ruang dan banyak biji. Pepaya termasuk dalam buah buni (*bacca*). Yang disebut dengan buah buni adalah buah yang dagingnya mempunyai dua lapisan yaitu lapisan luar yang tipis agak menjangat atau kaku seperti kulit (belulang) dan lapisan dalam yang tebal, lunak dan berair, seringkali dapat dimakan. Biji-biji terdapat bebas dalam bagian yang lunak itu. Buah buni dapat terjadi dari satu atau beberapa ruang. Pepaya termasuk buah buni yang berdinding tebal dan dapat dimakan. Buah pepaya juga bentuknya bulat sampai lonjong (Peristiowati & Puspitasari, 2018).

6. Biji (*Semen*)

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

2.2.2 Manfaat Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Tanaman pepaya ini mempunyai banyak sekali manfaat dan kegunaan dan telah digunakan secara tradisional untuk arthithis dan reumatik di Indonesia dan

Haiti, asma dan infeksi pernapasan di Mauritius, Meksiko, dan Filipina, kanker di Australia dan Meksiko, Konstipasi dan laksatif di Honduras, Panama, Trinidad, meningkatkan produksi susu di Indonesia dan Malaysia, tumor di Ghana, Indochina, dan Nigeria, dan sipilis di Afrika (Peristiowati & Puspitasari, 2018).

Biji carica pepaya mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri yang menghambat pertumbuhan gram positif dan gram negatif. Biji pepaya juga mempunyai efek antibakteri yang dapat bermanfaat untuk menyembuhkan penyakit kulit kronis, selain sebagai antibakteri biji pepaya juga dapat sebagai antimikroba terhadap *Trichomonas vaginalis*, biji ini juga bisa digunakan untuk gangguan urogenital seperti *tricomonirosis* dengan pemakaian yang hati-hati dapat mencegah toksisitas (Peristiowati & Puspitasari, 2018). Biji pepaya juga mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin polifenol dapat menurunkan kadar kolesterol HDL (Saputri dkk., 2017).

2.2.3 Kandungan Senyawa Pada Biji Pepaya

Berdasarkan teori dapat diketahui bahwa dalam ekstrak biji pepaya mengandung senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, (Saputri dkk., 2017).

2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena adanya jenis tingkat hidroksilasi, arkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C6-C3-C6. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan-tumbuhan telah diidentifikasi diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya berada diluar vakuola (Julianto, 2019). Flavonoid juga dilaporkan dapat digunakan untuk menurunkan oksidasi kolesterol, menurunkan peroksidasi lemak, dan menghambat perkembangan lesi aterosklerosis pada penyakit kardiovaskular. Efek antioksidan dalam ekstrak biji pepaya mengandung peranan penting dalam melawan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan produk peroksidasi lipid. Antioksidan bekerja dengan beberapa cara yang berbeda terhadap proses oksidatif yaitu *scavenging* radikal bebas secara enzimatik dan reaksi kimia secara langsung berkaitan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif (Santoso *et al.*, 2021).

2.2.3.2 Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan mengumpulkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid. Senyawa tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan. Senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsa oleh herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dalam metabolisme tumbuhan. Tanin memiliki berat molekul berkisar antara 500 sampai 3000 (ester asam galat) dan lebih besar dari 2000 (Prostaglandin) (Julianto, 2019). Tanin diketahui telah terbukti memiliki antiplatelet dan antihiperkolesterolemik yang kuat dengan cara mereduksi absorpsi kolesterol di usus. Selain itu tanin juga diketahui memiliki aksi mengikat asam empedu sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol di plasma. Menurut Saputri dkk., 2017, cara menurunkan kolesterol dalam darah adalah dengan memperbesar jumlah pengeluaran kolesterol sebagai asam empedu. Tanin membentuk gel dalam usus halus dan mengikat lemak, kolesterol dan asam empedu, sehingga asam empedu tidak bisa lagi diserap dalam usus halus melainkan terbuang melewati usus besar. Hasil penelitian experimental pada tikus hiperkolesterolemia menunjukkan bahwa suplementasi tanin dapat menurunkan 71% aktivitas HMG-COA reduktase kolesterol dan 23% kolesterol LDL serta meningkatkan kolesterol HDL secara bermakna (Agustina & Murwani, 2013).

2.2.3.3 Saponin

Saponin merupakan suatu glikosida yang memiliki aglikon berupa sapogenin, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air sehingga akan mengakibatkan terbentuknya buih pada permukaan air setelah dikocok. Sifat ini mempunyai kesamaan dengan surfaktan, penurunan tegangan permukaan disebabkan karena adanya senyawa sabun yang dapat merusak ikatan hidrogen pada air. Struktur kimia saponin merupakan glikosida yang tersusun atas glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula, bagian aglikon merupakan sapogenin. Sifat amfifilik ini dapat membuat bahan alam yang mengandung saponin bisa berfungsi sebagai surfaktan (Nurzaman dkk., 2018). Ekstrak biji pepaya juga diketahui mengandung saponin yang merupakan salah satu senyawa yang memiliki aksi hipolipidemik yang poten, saponin dapat menurunkan kadar

kolesterol diplasma melalui penghambatan absorpsi kolesterol di usus. Saponin diketahui memiliki aksi yang menyerupai resin, sehingga menurunkan sirkulasi enterohepatik dari asam empedu. Flavonoid dan tanin masing-masing memiliki efek antioksidan yang diketahui dapat memberikan efek protektif pada hati. Beberapa efek yang berhubungan dengan stres oksidatif terlibat dalam proses inflamasi. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat mengaktifkan ekspresi gen pro-inflamasi atau memulai reaksi berantai radikal bebas dalam merusak fungsi biomolekul dan menyebabkan cedera selular. Untuk efek antioksidan baik pada senyawa polifenol, flavonoid, dan tanin yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya yang digunakan dalam penelitian ini dapat memegang peranan penting dalam mengatasi proses inflamasi yang terjadi pada hepatosit (Saputri dkk., 2017).

2.3 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM RI, 2021). Serbuk simplisia merupakan suatu sediaan obat tradisional berupa butiran halus dan homogen, terbuat dari simplisia atau campuran ekstrak dimana cara penggunaannya diseduh dengan air panas (BPOM, 2014).

Simplisia merupakan suatu proses pengolahan tanaman obat yang paling sederhana dan tidak mengubah sifat alami dari suatu tanaman. Simplisia merupakan bagian tanaman obat yang diolah menjadi simplisia kering, tidak semua tanaman dapat digunakan secara langsung sehingga sisa saat panen dibiarkan dapat rusak dengan cepat selain itu, simplisia dapat membantu menyediakan sumber daya tanaman musiman dan non musiman yang tidak tersedia disepanjang musim. Contohnya, tanaman yang pertumbuhan vegetatif sulit digunakan dalam musim penghujan dalam bentuk rimpang basah (Wulandari, 2022).

2.3.1 Penggolongan Simplisia

Penggolongan simplisia dapat digolongkan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral atau pelikan.

2.3.1.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berbentuk utuh dari tanaman, bagian tanaman atau isi sel yang keluar secara langsung dari tanaman atau dikeluarkan dari sel ataupun dengan cara tertentu yaitu dipisahkan dari tanaman dan belum berupa zat kimia murni (eksudat tanaman). Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan atau diisolasi tanamannya (Mukhriani, 2014).

2.3.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang berfungsi dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Mukhriani, 2014).

2.3.1.3 Simplisia Mineral atau Pelikan

Simplisia mineral atau pelikan merupakan simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau sudah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Mukhriani, 2014).

2.3.2 Syarat Simplisia

Untuk mendapatkan simplisia yang baik dan memiliki kualitas yang bagus harus memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Syarat simplisia yang baik menurut (BPOM, 2014) meliputi :

2.3.2.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.

2.3.2.2 Kadar Air

Kadar air harus kurang dari 10%.

2.3.2.3 Adanya Keseragaman Bobot

Keseragaman bobot untuk serbuk simplisia, dari 10 kemasan primer tidak lebih dari 2 kemasan yang masing-masing bobot isinya menyimpang dan tidak satupun kemasan yang bobotnya juga menyimpang dua kali lipat.

2.3.3 Penyiapan Simplisia

Penyiapan simplisia merupakan proses memperoleh simplisia dari alam yang baik dan memenuhi syarat-syarat mutu yang dikehendaki. Dasar penyiapan simplisia meliputi beberapa tahapan yaitu meliputi:

Panen merupakan salah satu rangkaian tahapan dalam proses budidaya tanaman obat. Waktu, cara panen, dan penanganan bahan setelah panen merupakan periode kritis yang sangat menentukan kualitas dan kuantitas hasil tanaman. Setiap jenis tanaman memiliki waktu dan cara panen yang berbeda, panen dapat dilakukan dengan tangan atau menggunakan alat (mesin). Apabila pengambilan dilakukan secara langsung (pemetikan) maka harus memperhatikan keterampilan agar memperoleh tanaman yang dikehendaki, misalnya daun yang muda, maka daun yang tua jangan dipetik dan jangan merusak bagian tanaman lainnya (Mukhriani, 2014).

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

Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran dan mengurangi mikroba-mikroba yang melekat pada bahan. Pencucian harus segera dilakukan setelah panen karena dapat mempengaruhi mutu bahan. Pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir seperti air dari mata air, sumur atau PAM. Penggunaan air kotor menyebabkan jumlah mikroba pada bahan akan bertambah. Pada saat pencucian perhatikan air cucian dan air bilasnya, jika masih terlihat kotor ulangi pencucian sebanyak tiga kali. Perlu diperhatikan bahwa pencucian harus dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin untuk menghindari larut dan terbuangnya zat yang terkandung (Mukhriani, 2014).

Perajangan pada bahan dilakukan untuk mempermudah proses selanjutnya seperti pengeringan, pengemasan, penyulingan minyak atsiri, dan penyimpanan. Perajangan biasanya hanya dilakukan pada bahan yang ukurannya besar dan tidak lunak seperti akar, rimpang, batang, buah, dan lain-lain. Ukuran perajangan tergantung dari bahan yang digunakan dan berpengaruh terhadap kualitas simplisia yang dihasilkan. Perajangan terlalu tipis dapat mengurangi zat aktif yang terkandung dalam bahan. Sedangkan jika terlalu tebal maka pengurangan kadar air

dalam bahan agak sulit dan memerlukan waktu yang lama dalam penjemuran dan kemungkinan besar bahan akan mudah ditumbuhi jamur (Mukhriani, 2014).

Pengeringan setelah pencucian, bahan langsung ditiriskan di rak-rak pengering. Selesai pengeringan dilakukan kembali penyortiran apabila bahan langsung digunakan dalam bentuk segar sesuai dengan permintaan. Pengeringan merupakan suatu cara pengawetan atau pengolahan pada bahan dengan cara mengurangi kadar air, sehingga proses pembusukan dapat terhambat. Dengan demikian dapat dihasilkan simplisia terstandart, tidak mudah rusak dan tahan disimpan dalam waktu yang lama. Dalam proses ini, kadar air dan zat-zat aktif dalam bahan yang berkurang, sehingga suhu dan waktu pengeringan perlu diperhatikan. Suhu pengeringan tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. pada umumnya suhu pengeringan antara 40-60°C, pengeringan hasil rajangan dari temu-temuan dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari, oven, blower, dan fresh dryer pada suhu 30-50°C. Disamping menggunakan sinar matahari langsung, penjemuran juga dapat dilakukan dengan menggunakan blower pada suhu 40-50°C, dan hasil yang baik dari proses pengeringan adalah simplisia yang mengandung kadar air 10%. Pengeringan dapat menyebabkan perubahan hidrolisa enzimatis, pencoklatan, fermentasi, dan oksidasi. Ciri-ciri waktu pengeringan sudah berakhir apabila daun ataupun temu-temuan sudah dapat dipatahkan dengan mudah (Mukhriani, 2014).

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

Pengemasan dapat dilakukan terhadap simplisia yang sudah dikeringkan. Jenis kemasan yang digunakan dapat berupa plastik, kertas maupun karung goni. Persyaratan jenis kemasan yaitu dapat menjamin mutu produk yang dikemas, mudah dipakai, tidak mempersulit penanganan, dapat melindungi isi pada waktu pengangkutan, tidak beracun, dan tidak bereaksi dengan isi dan kalau boleh

mempunyai bentuk dan rupa yang menarik. Berikan label yang jelas pada kemasan tersebut yang isinya menuliskan nama bahan, bagian dari tanaman yang digunakan, tanggal pengemasan, kode produksi, alamat penghasil, berat bersih, dan metode penyimpanan (Mukhriani, 2014).

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

2.4 Ekstrak

2.4.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan yang berbentuk pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani yang menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat (Hutadjulu dkk., 2020).

2.4.2 Sifat Ekstrak

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer (*Extractum tenue*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang mudah mengalir. Ekstrak kental (*Extractum Spissum*) merupakan sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang, kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%. Ekstrak kering (*Extractum Siccum*) merupakan sediaan yang memiliki konsentrasi kering dan mudah dihancurkan dengan tangan, melalui penguapan dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk, yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%. Ekstrak cair (*Extractum Fluidum*) merupakan sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi setiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 gram simplisia yang memenuhi syarat (Hutadjulu dkk., 2020).

2.4.3 Teknik Evaporasi dan Pengerinan

Menurut Hujjatusnaini dkk (2021) penguapan dan pengerinan merupakan teknik yang terdapat pada proses ekstraksi. Kedua teknik tersebut dilakukan bertujuan untuk agar mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang berkualitas bagus sebagai bahan pengobatan, kedua teknik tersebut meliputi proses evaporasi yaitu suatu perpindahan kalor ke zat cair mendidih yang sering ditemukan sehingga biasanya dilakukan secara khusus, tujuan dari evaporasi sendiri yaitu digunakan untuk memekatkan suatu larutan yang terdiri dari zat yang terlarut yang tidak mudah menguap dan terdiri dari pelarut yang mudah menguap. Evaporasi dilakukan dengan cara menguapkan sebagian dari pelarut sehingga didapatkan larutan yang cair disertai pekat yang berkonsentrasi lebih tinggi. Kemudian proses dari teknik pengerinan yaitu salah satu proses dari yang ada didalam tahapan suatu ekstraksi dan memiliki tujuan dari pengerinan adalah agar mendapatkan ekstrak yang stabil dan terjamin.

2.4.3.1 Evaporasi

Menurut (Hujjatusnaini dkk., 2021) Evaporasi merupakan suatu tahap yang terdapat pada suatu proses ekstraksi. Proses evaporasi ini dilakukan dengan memberi kalor ke zat cair agar dapat melakukan penguapan dari sebagian pelarut dan menghasilkan larutan cair pekat yang konsentrasinya lebih tinggi, dimana zat tersebut terdiri dari zat terlarut mudah menguap dan zat yang tidak mudah untuk menguap sehingga jika dilakukan pemanasan maka akan terjadi penyusutan pada ekstrak dan menguapkan pada zat yang mudah menguap dan menghasilkan ekstrak yang lebih pekat dengan konsentrasi senyawa yang besar dan mudah untuk proses penyimpanan. Penguapan dilakukan sebelum menjadi ekstrak diproses lebih lanjut, yaitu pemisahan atau fraksinasi. Proses evaporasi dapat dilakukan dengan cara yaitu :

1. Metode Pemanasan Air

Metode yang paling mudah dari sekian banyak metode yaitu dengan cara penangas air, dimana dengan cara menyimpan ekstrak didalam wadah kemudian diletakkan di atas pemanas air dan memerlukan waktu yang cukup lama dan terjadinya senyawa yang terurai.

2. Metode Oven

Metode menggunakan oven merupakan metode yang sangat cocok untuk penguapan kadar cairnya tidak terlalu banyak. Penguapan oven memiliki kelebihan yaitu suhu dapat diatur dan disesuaikan dengan titik didih cairan penyari.

3. Metode Hot Plate

Metode menggunakan hot plate merupakan metode yang mudah digunakan dan metode ini sama seperti metode penangas air. Penggunaan metode hot plate ini dapat dilakukan dengan cara ekstrak ditaruh didalam wadah gelas kimia yang steril dan metode ini memiliki kelebihan yaitu suhu dapat terkontrol menggunakan termometer yang dimasukkan kedalam ekstrak dan digantung agar termometer tidak menyentuh dasar gelas kimia, hal tersebut dilakukan agar suhu akurat.

4. Metode Evaprator Tabung

Evaporator tabung ini merupakan alat modern yang berbentuk seperti tabung. Alat ini bekerja dengan suhu rendah yaitu sekitar 40-50°C dan dibantu dengan alat vakum udara sehingga titik didih pelarut sangat rendah. Penguapan ini bekerja dengan sangat cepat sehingga terjadi penguraian senyawa yang termolabil dapat dihindari sehingga senyawa tetap optimal.

2.4.3.2 Pengerinan

Ekstrak kental yang didapat dari proses penguapan dimana dapat dilanjutkan kembali ke tahap selanjutnya yaitu tahap pengerinan. Tahap pengerinan ini dapat dilakukan dengan cara sederhana dan dapat dilakukan dengan cara modern, cara sederhana dapat dilakukan dengan menggunakan penangas air dan aliran udara panas, akan tetapi cara ini sulit dilakukan apabila larutan penyaringnya adalah air (Hujjatusnaini dkk., 2021). Sedangkan cara modern bisa menggunakan alat modern dimana pengerinan modern terdiri dari 2 macam yaitu pengerinan beku (*Freeze Dryer*), Pengerinan beku ini bekerja pada suhu rendah atau beku, pada saat proses pengerinan beku ini memerlukan waktu yang lebih lama. Senyawa fenolik sangat cocok dengan pengerinan beku ini karena sifatnya yang tidak stabil dan rentang terjadi degradasi, faktor degradasi yang paling utama adalah suhu, kandungan oksigen dan cahaya. Sedangkan, pengerinan semprot (*Spray Dryer*), metode pengerinan semprot ini bekerja pada

suhu yang tinggi, pengeringan ini biasa digunakan pada senyawa yang stabil di suhu tinggi (Hujjatusnaini dkk., 2021).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang dapat digunakan dalam sebuah proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah pelarut yang digunakan sebagai cairan pemisah (Aprillah, 2016). Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia yang digunakan untuk memisahkan atau menarik suatu atau lebih senyawa dari suatu tanaman dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Leba, 2017). Pada umumnya ekstraksi akan semakin membaik apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan suatu pelarut semakin luas, dengan demikian semakin serbuk simplisia halus semakin baik serbuk simplisianya (Febriana & Oktavia, 2019).

Terdapat berbagai cara dalam melakukan proses ekstraksi, dapat diketahui masing-masing cara memiliki kelebihan dan kekurangan. Untuk memilih suatu metode dapat dilakukan dengan memperhatikan seperti senyawa, pelarut yang akan digunakan, dan alat yang tersedia dan memadai. Struktur untuk senyawa, suhu dan tekanan merupakan faktor yang dapat diperhatikan dalam melakukan ekstraksi (Hanan, 2015). Ada beberapa istilah yang digunakan dalam proses ekstraksi, meliputi ekstrak (pelarut yang digunakan), rafinat (larutan senyawa atau bahan yang akan dilakukan proses ekstraksi), dan linarut (zat atau senyawa yang diinginkan terlarut dalam rafinat).

2.5.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi yaitu menarik atau memisahkan suatu senyawa dari campuran atau tanaman simplisia. Metode penyarian atau pemisahan, bahkan sampai pada pemurnian kandungan senyawa yang dimaksud merupakan urutan pekerjaan yang dilakukan sebelum melakukan analisis struktural, semakin banyak jenis senyawa kimia dalam suatu tumbuhan yang dapat ditemukan, semakin diperlukan suatu pemisahan yang lebih detail yang dapat dilakukan proses penyarian senyawa dalam jumlah kecil. Proses pemisahan merupakan langkah awal yang sangat penting, karena keberhasilan proses berikutnya baik meliputi analisis

ataupun penentuan struktur suatu senyawa hasil isolasi, sangat penting dipengaruhi oleh proses pemisahan (Hanan, 2015).

2.5.3 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Ekstraksi

Menurut (Christalina dkk., 2013) faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pada saat proses ekstraksi berlangsung adalah sebagai berikut :

2.5.3.1 Ukuran Partikel

Semakin ukuran partikel kecil semakin besar luas permukaan kontak antara padatan dan pelarut, kemudian semakin pendek jarak difusi solut sehingga kecepatan ekstraksi lebih besar. Proses penghalusan menjadi -40/+60 mesh bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga akan berpengaruh pada bertambahnya kecepatan ekstraksi.

2.5.3.2 Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sebaiknya memiliki sifat-sifat meliputi mampu memberikan solute yang tinggi, stabil tetapi inert, mempunyai viskositas dan titik beku yang rendah, tidak beracun dan tidak mudah terbakar, tidak merugikan dari segi ekonomis dan tetap memberikan hasil yang baik.

2.5.3.3 Temperatur

Kelarutan dari material yang diekstraksi akan bertambah dengan meningkatnya suhu. Selain itu, koefisien difusivitas juga semakin meningkat sehingga dapat meningkatkan laju reaksi. Hal ini bertujuan agar mengurangi jumlah pelarut yang teruapkan pada proses ekstraksi, juga menjaga agar kandungan fenolik dan antioksidan dalam ekstrak tidak rusak.

2.5.3.4 Agitasi

Adanya pengadukan dalam ekstraksi dapat meningkatkan perpindahan solut dari permukaan partikel atau padatan ke cairan pelarut. Selain itu, pengadukan akan mencegah terjadinya pengendapan padatan.

2.5.3.5 Waktu Ekstraksi

Waktu ekstraksi memiliki waktu yang optimum, yaitu waktu dimana pelarut belum menjadi jenuh. Pelarut yang telah jenuh tidak dapat mengekstraksi lagi atau mengalami suatu penurunan dalam kemampuan untuk mengekstraksi karena gaya dorong semakin lama semakin kecil.

2.5.4 Jenis-Jenis Metode Ekstraksi

Pemilihan metode dilakukan dengan memperhatikan meliputi sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang memadai. Struktur setiap senyawa, suhu, dan tekanan merupakan faktor yang dapat perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi. Metode ekstraksi didasarkan ada atau tidaknya suatu proses pemanasan dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi dengan cara dingin dan cara panas (Safitri dkk., 2018).

2.5.4.1 Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi dengan cara dingin prinsipnya tidak memerlukan pemanasan selama proses ekstraksi berjalan dan bertujuan agar senyawa yang diharapkan tidak rusak.

1. Maserasi

Merupakan teknik ekstraksi simplisia yang dikerjakan untuk bahan atau suatu simplisia yang tidak tahan panas dengan cara direndam didalam pelarut tertentu dan pada waktu yang tertentu. Maserasi dilakukan pada suhu 20-30°C agar dapat mencegah penguapan suatu pelarut secara berlebihan karena dipengaruhi oleh faktor suhu dan melakukan pengadukan selama 15 menit agar bahan dan pelarut tercampur secara merata (Yennie & Elystia, 2013).

Maserasi dikerjakan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari, cairan penyari tersebut akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang terdapat zat aktif, zat aktif tersebut akan larut karena adanya suatu perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang pekat didesak keluar (Rochani, 2009).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses ketika simplisia yang sudah halus, diekstraksi dengan pelarut yang cocok dengan proses dilewatkan atau dialirkan secara perlahan-lahan pada suatu kolom (Febriana & Oktavia, 2019) Perkolasi merupakan suatu ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang baru yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prinsip dari perkolasi yaitu menempatkan serbuk simplisia di bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori (Perdana, 2018). Metode ini memerlukan waktu yang lebih lama dan pelarut yang digunakan lebih banyak, untuk meyakinkan proses perkolasi sudah

sempurna, perkolat dapat diuji adanya metabolit dengan pereaksi yang spesifik. Perkolator adalah suatu wadah yang berbentuk kerucut terbuka dikedua ujungnya. Sampel tumbuhan padat dibahasi dengan pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kurang lebih 4 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya bagian atas perkolator ditutup, pelarut ditambahkan sehingga membasahi sampel, campuran sampel dan pelarut dapat dimaserasi dalam wadah perkolator tertutup selama 24 jam, saluran perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung didalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut dapat ditambahkan sesuai dengan kebutuhan sampai ukuran perkolasi sekitar tiga seperempat dari volume yang diperlukan dari produk jadi. Perkolasi merupakan prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam tumbuhan (Hujjatusnaini dkk., 2021).

2.5.4.2 Ekstraksi Cara Panas

Ekstraksi dengan cara panas melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung agar proses ekstraksi cepat.

1. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih suatu pelarut tersebut, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendingin balik, agar hasil penyarian lebih baik dan sempurna, refluks umumnya dilakukan secara berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama kali. Cara ini dapat memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas (Nirwana, 2019).

2. Soxhletasi

Soxhlet adalah metode ekstraksi dengan cara menggunakan pelarut yang baru, biasanya dilakukan dengan menggunakan alat khusus sehingga terjadinya ekstraksi yang konstan dengan adanya pendingin balik (Hanan, 2015). Adanya pemanasan dapat menyebabkan pelarut ke atas kemudian setelah di atasakan diembunkan oleh pendingin udara menjadi tetesan yang terkumpul kembali dan jika melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan menyebabkan terjadinya sirkulasi yang berulang-ulang akan menghasilkan penyarian yang baik. Dalam proses ekstraksi ini harus tepat memilih pelarut yang akan digunakan. Pelarut yang baik untuk proses ekstraksi yaitu pelarut yang memiliki daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan dapat

berhubungan dengan suatu kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi (Yurleni, 2018).

2.5.5 Pelarut Ekstraksi

Ada beberapa syarat agar pelarut dapat digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu pelarut tersebut merupakan pelarut yang baik untuk tanaman yang akan dilakukan proses ekstraksi dan bahan pelarut harus dapat terpisah dengan cara cepat setelah pengocokan. Dalam memilih pelarut yang harus dilakukan antara lain toksisitas, ketersediaan, harga, sifat tidak mudah terbakar, rendahnya suhu kritis dan tekanan kritis. Menurut (Hujjatusnaini dkk., 2021) beberapa macam pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi yaitu :

2.5.5.1 Pelarut Polar

1. Metanol

Metanol merupakan senyawa yang struktur molekulnya CH_3OH , bersifat polar karena memiliki suatu gugus hidroksil ($-\text{OH}$) dan juga bersifat non polar karena memiliki gugus metil ($-\text{CH}_3$). Walaupun demikian metanol merupakan senyawa yang bersifat non polar, metanol juga dikenal dengan nama metil alkohol, hidroksimetana, metilhidrat, alkohol kayu atau spiritus merupakan alkohol alifatik paling sederhana. Pada tekanan atmosfer, metanol berbentuk cairan yang ringan tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar. Metanol mempunyai berat molekul 32,04 gr/mol, titik didih $64,7^\circ\text{C}$, berat jenis pada 20°C sebesar $0,792 \text{ gr/cm}^3$, metanol tergolong pelarut polar dengan konstanta dielektrik sebesar 33,26 pada 25°C dan momen dipol sebesar 1,69 D (gas) (Ramdani dkk., 2017).

2. Etanol

Etanol merupakan pelarut terbaik dalam ekstraksi senyawa fenolik pada hampir semua spesies, bila dibandingkan dengan pelarut lainnya karena memiliki tingkat kepolaran yang mengekstraksi senyawa fenol. Etanol juga mampu menyari senyawa kimia lebih banyak dibandingkan dengan air dan metanol (Riwanti dkk., 2018). Etanol sering disebut dengan alkohol merupakan suatu cairan transparan, mudah terbakar, tidak berwarna, mudah menguap, dapat bercampur dengan air, eter, dan kloroform. Etanol mempunyai kelarutan yang lebih tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya, etanol memiliki massa

jenis 0,7893 g/ml, titik didih etanol pada tekanan atmosfer adalah 78,32°C (Arsa & Achmad, 2020).

3. Air (Aquadest)

Air merupakan pelarut universal yang sering digunakan, biasanya digunakan untuk menyari produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Walaupun pengobatan secara tradisional menggunakan air sebagai pelarut, tetapi ekstrak tumbuhan dari pelarut organik telah ditemukan memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air. Air juga dapat melarutkan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan (Wulandari, 2022). Air merupakan senyawa yang tidak berbau, tidak berasa, dan tidak berwarna dengan satu molekul air terdiri dari dua atom hidrogen yang terikat secara kovalen (ikatan yang terjadi akibat adanya pemakaian bersama pasangan elektron) pada satu atom oksigen. Atom oksigen memiliki keelektronegatifan yang sangat besar sedangkan atom hidrogen memiliki keelektronegatifan yang paling kecil diantara unsur-unsur bukan logam. Hal tersebut menyebabkan sifat kepolaran air sangat besar (Arsa & Achmad, 2020).

2.5.5.2 Pelarut Non Polar

1. N-heksana

Heksana merupakan senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Pelarut n-heksana bersifat non polar karena memiliki kemampuan untuk mengikat gugus non polar (OH) yang terdapat pada zat warna flavonoid dan tanin. Umumnya senyawa ini merupakan cairan yang tidak berwarna yang tidak larut dalam air (Hujjatusnaini dkk., 2021). N-Heksana adalah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul C_6H_{14} . Isomer n-heksana tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena n-heksana bersifat non polar, N-Heksana didapatkan dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70°C (Arsa & Achmad, 2020).

2.5.5.3 Pelarut Semi Polar

1. Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar dan tidak mampu menarik senyawa yang polar maupun senyawa non polar, namun pada pelarut ini

baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak terhidrokopis, dan memiliki toksisitas yang rendah. Etil asetat merupakan cairan tidak berwarna, transparan, bau harum, segar dan sedikit seperti aseton. Etil asetat dapat bercampur dengan eter, alkohol, minyak atsiri, dan minyak lemak (Hujjatusnaini dkk., 2021). Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak hidroskopis, dan memiliki toksisitas rendah, etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon (Putri dkk., 2013).

2.5.5.4 CMC-Na

Aplikasi dalam formulasi atau teknologi farmasi Natrium Karbosi Metilselulosa banyak digunakan dalam sediaan farmasi oral dan topikal, terutama karena sifatnya yang meningkatkan viskositas. Larutan berair kental digunakan untuk menanggihkan serbuk yang dimasukkan untuk aplikasi topikal atau pemberian oral dan parenteral. Penggunaan CMC-Na dapat dilihat pada tabel 2.7

Tabel 2.7 Penggunaan CMC-Na (Rowe *et al.*, 2009).

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

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

2.6 *Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)*

Liquid Chromatography Mas Spectrometry (LC-MS) adalah teknik yang banyak digunakan untuk berbagai aplikasi yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas sangat tinggi. LC-MS menggabungkan kemampuan pemisahan kimia dari LC dengan kemampuan dari spektroskopi massa untuk menyeleksi temuan dan mengkonfirmasi identitas molekuler. MS merupakan salah satu metode yang selektif dan sensitif untuk menganalisis molekuler, serta menyediakan informasi

pada berat molekul pada fragmentasi dari molekul analit (Afriani & Nurulita, 2020).

Kelebihan dari teknologi LC-MS yaitu hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spectrometer massa sebagai detektor, aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis karena penerapan LC-MS tidak terbatas untuk molekul volatil (biasanya dengan berat molekul dibawah 500 Da), mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang sangat tinggi dan waktu yang singkat (Susiana, 2014).

Prinsip dari metode *Liquid Chromatography Mass Spectroscopy* adalah teknik kimia analisis yang mengkombinasikan kemampuan pemisahan fisik dari *Liquid Chromatography* (HPLC) dengan kemampuan analisis massa dari *Mass Spectrometry* (MS). Deteksi secara umum dan identifikasi potensial dari massa kimia atau partikular kimia yang mengandung zat kimia lain (campuran kompleks), seperti produk alam dari ekstrak produk alam, dan substansi murni dari campuran kimia lanjutan. Sistem LC-MS dapat digunakan untuk pemurnian penentuan massa substansi spesifik yang cepat dari campuran tertentu yang penting dalam penelitian dasar, dan farmasi, agrikimia, pangan dan industri (Susiana, 2014).

Pada LC-MS, sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasikan sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z) yang selanjutnya dideteksi secara elektrik. Beberapa metode ionisasi yang banyak diaplikasikan untuk identifikasi yaitu *electrospray ionization* (ESI). ESI menghasilkan spectrum massa yang baik dengan fragmentasi yang sesuai dengan struktur senyawa. Selektivitas LC-MS yang tinggi, identifikasi dan kuantifikasi dapat dilakukan dengan jumlah sampel yang sedikit dan tahapan preparasi yang minimal (Susiana, 2014).

2.7 Hewan Uji

2.7.1 Tikus

Tikus merupakan binatang percobaan yang umum dipakai dalam penelitian ilmiah. Hewan ini sudah di ketahui sebagian besar sifat-sifatnya, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif cocok untuk berbagai penelitian. Tikus digunakan untuk uji coba tentang makanan dan defisiensi zat makanan pada semua jenis hewan termasuk manusia. Lama hidup tikus dapat mencapai umur 3,5 tahun, dengan kecepatan tumbuh 5 gram per hari. Dibanding dengan tikus lain, tikus laboratorium lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan lebih cepat berkembang biak. Berat badan tikus dewasa mencapai 450 gram (Rejeki dkk., 2019).

Tikus berukuran lebih besar dan lebih cerdas dari pada mencit. Tikus yang sering digunakan adalah tikus putih, yang bersifat lebih tenang, dan mudah di kerjakan beberapa intervensi, tidak terlalu takut dengan cahaya, serta tidak terlalu berkumpul dengan sesama jenis. Tikus memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit, dan kecemasannya (Rejeki dkk., 2019). Gambar hewan uji tikus dapat dilihat pada gambar 2.3



Gambar 2.3 Hewan Uji Tikus (Astuti, 2015)

2.7.2 Klasifikasi Tikus

Klasifikasi tikus dapat diuraikan sistem ordo tikus (Rejeki dkk., 2019) dapat dilihat sebagai berikut :

Kingdom	: <i>animalia</i>
Filum	: <i>chordate</i>
Kelas	: <i>mamalia</i>
Ordo	: <i>rodentia</i>
Familia	: <i>murinane</i>
Genus	: <i>ratus</i>
Spesies	: <i>rattus norvegicus</i>

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian. Tikus putih tersertifikasi diharapkan lebih mempermudah para peneliti dalam mendapatkan hewan percobaan yang sesuai dengan kriteria yang dibutuhkan. Kriteria yang dibutuhkan oleh peneliti dalam menentukan tikus putih sebagai hewan percobaan, antara lain kontrol (*recording*) pakan, kontrol (*recording*) kesehatan, recording perkawinan, jenis (strain), umur, bobot badan, jenis kelamin, silsilah genetik. Terdapat tiga galur tikus putih yang memiliki kekhususan untuk digunakan sebagai hewan percobaan antara lain Wistar, long evans, dan *Sprague dawley* (Widiartini dkk., 2015).

Dalam penelitian ini menggunakan galur *Sprague Dawley* dengan ciri-ciri berwarna putih, berkepala kecil, dan ekornya lebih panjang daripada badannya. Tikus ini pertama kali diproduksi oleh peternakan *Sprague Dawley*. Tikus *Sprague Dawley* merupakan jenis outbred tikus albino serbaguna secara ekstensif dalam riset medis. Keuntungan utamanya adalah ketenangan dan kemudahan penanganannya (Maula, 2014).

2.7.3 Penanganan dan Pengendalian Tikus

Penanganan dan pengendalian merupakan prosedur yang penting bagi petugas yang bekerja dengan tikus. Petugas kandang harus memahami bagaimana cara yang benar dalam menangani hewan, meminimalisasi rasa takut dan tertekan, karena spesies tikus bernapas hanya melalui hidung, maka penanganan dan

pengendalian harus diupayakan sedemikian rupa supaya tidak menyumbat lubang hidung (Susan, 2016).

Tikus dipegang dengan lembut dengan memegang seluruh tubuh secara tegas serta meminimalkan gerakan hewan. Memegang tikus terlalu kuat maka akan mengganggu pernapasan dan akan menyebabkan sianosis (Susan, 2016). Cara memegang tikus harus tepat dan tegas tetapi tidak terlalu ketat karena hal ini akan menghambat respirasi hewan. Cara memegang tikus dapat dilihat pada gambar 2.4



Gambar 2.4 Cara Memegang Tikus (Susan, 2016).

2.7.4 Pengambilan Sampel

Pengambilan darah pada hewan pengerat harus dilakukan oleh personil yang terlatih agar meminimalkan terjadinya sakit dan stress. Dalam semua kasus pengambilan darah tanpa cairan pengganti hanya diperbolehkan 10% dari total volume sirkulasi darah dari hewan yang sehat selama periode 2 minggu kecuali dinyatakan dan disetujui oleh kode etik. Rata-rata volume sirkulasi darah sama dengan 6-8% dari berat tubuh hewan atau 6-8 ml 100 gram bobot badan. Jika jumlah yang lebih besar diperlukan, maka hingga 15% dari total volume sirkulasi darah dapat dilakukan dan cairan pengganti harus diberikan pada saat pengambilan darah. Pengambilan sampel darah pada hewan coba tikus dapat melalui berbagai cara dan tempat untuk proses pengambilan sampel diantaranya yaitu:

2.7.4.1 Vena Submandibular atau Vena Wajah Tikus

Pengambilan darah dari vena wajah submandibularis adalah teknik yang aman dan sepat pada tikus yang membutuhkan handling dengan tangan. Sebanyak

200 μ l darah dapat diperoleh dengan mudah dari tikus dewasa yang sehat. Pengulangan pengambilan sampel darah dimungkinkan bergantian pada sisi wajah lainnya. Metode ini, harus dilakukan dengan hati-hati dan disarankan tidak mengambil darah terlalu banyak. Sebelum prosedur ini dilakukan perlu dilakukan pelatihan (Susan, 2016).

2.7.4.2 Vena Lateral atau Arteri Ventral Ekor

Sampel darah dapat diperoleh dengan mudah pada saluran perpendikularis pada permukaan ekor. Pengambilan sampel darah melalui vena lateral atau arteri ventral ekor mudah dilakukan tetapi sampel yang dihasilkan kualitasnya akan bervariasi kemungkinan dapat terkontaminasi dengan produk jaringan dan kulit namun dengan teknik ini pengulangan pengambilan darah sangat dimungkinkan. Bahan yang dibutuhkan untuk pengambilan darah adalah jarum suntik steril hypodermic, tabung darah dan kasa, hemostasis yang baik terutama jika pengambilan darah dilakukan pada pembuluh arteri (Susan, 2016).

2.7.4.3 Intrakardium

Teknik ini dilakukan pada hewan terbius sebagai metode terminasi dan umumnya jika darah yang dibutuhkan banyak dan tikus yang diambil darahnya ini akan dikorbankan lalu dinekropsi untuk diambil organnya. Setelah dilakukan anestesi kemudian dilakukan pembedahan dan tusukan jarum suntik langsung ke jantung dan tarik perlahan (BPOM, 2022).

2.7.5 Penanganan Sampel Darah Hewan Uji

Penanganan sampel darah pada hewan uji untuk memperoleh serum, darah total (*whole blood*) dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian dipindahkan ke dalam es tidak lebih 20 menit dan segera disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan segera dalam lemari beku (-20°C) untuk *assay* (BPOM, 2021).

Jika yang diinginkan plasma, maka darah total (*whole blood*) diberikan Garam Etilen Diamin Tetraasetat (Na_2EDTA , K_2EDTA atau K_3EDTA) atau natrium sitrat atau heparin (antikoagulan). Garam EDTA paling banyak digunakan karena jarang berinterferensi dengan *assay* yang dilakukan. Umumnya digunakan

kadar garam EDTA sebesar 1,5 mg/ml atau 5 mm pada konsentrasi akhir (BPOM, 2021).

2.7.6 Kontrol Positif

Salah satu pilihan obat untuk penderita kolesterol adalah obat golongan statin. Statin bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase dan merupakan obat pilihan yang efektif untuk menurunkan kadar kolesterol LDL. Obat golongan statin yang biasa digunakan untuk pasien kolesterol adalah simvastatin. Simvastatin merupakan golongan obat keras yang harus tepat dalam penggunaannya untuk menurunkan risiko efek samping dan meningkatkan efektivitas obat (Hariadini dkk., 2020).

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

Berdasarkan penelitian (Saputri dkk., 2013), mekanisme kerja simvastatin sama dengan mekanisme kerja dari senyawa fenolik meliputi Flavonoid, Tanin, Saponin yaitu dengan menghambat proses sintesis kolesterol dihati. Simvastatin digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki mekanisme kerja yang sama dengan mekanisme dari senyawa fenolik ekstrak biji pepaya.

2.8 Anestesia

Tikus dapat di anestesia dengan inhalasi gas atau obat suntik. Penggunaan gas inhalasia merupakan metode anestesia yang disukai. Selama dalam kondisi teranestesi tikus akan kehilangan panas secara cepat sehingga badan tikus perlu dibuat hangat dengan menutupi memakai kasa pad atau handuk dan menyediakan sumber panas sampai hewan telah pulih dari anestesia, anestesia harus diberikan kepada hewan pengerat yang menjalani operasi untuk mengoptimalkan perawatan. Banyak obat yang digunakan untuk mengobati nyeri memiliki waktu paruh pendek untuk spesies tikus, sehingga hewan harus dimonitor untuk indeks perilaku nyeri dan stress (Susan, 2016). Jenis dan dosis anestesia pada tikus dapat dilihat pada tabel 2.8

Tabel 2.8 Jenis dan Dosis Anestesia Pada Tikus

Jenis Anestesia	Dosis	Durasi Anestesia
Ketamine/xylazine	Ketamin 40-100 mg/kg IP Xylazine 5-13 mg/kg IP	60-80 menit
Ketamine/xylazine *cocktail	KX cocktail 0,1 ml/ 100g BB IP Terdiri dari : 91 mg/kg ketamine 91 mg/kg xylazine	60-80 menit
Ketamine/xylazine/acepromazine	Ketamine 20-50 mg/kg IP Xylazine 2-10 mg/kg IP Acepromazine 0,5-1,5 mg/kg IP	60-120 menit
Phentobarbital	30-50 mg/kg IP	90-120 menit

2.9 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara yang diambil dari penelitian, dugaan, patokan yang akan dibuktikan kebenarannya dalam suatu penelitian. Pembuktian dapat dilakukan melalui hasil penelitian sehingga dapat diambil kesimpulan hipotesis benar atau salah, dapat diterima atau ditolak (Wulandari, 2022). Berdasarkan pada masalah yang ada, maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

2.8.1 Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki aktivitas terhadap kadar kolesterol HDL.

2.8.2 Konsentrasi dosis 300 mg/kgBB pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki pengaruh terhadap kadar kolesterol HDL.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (kenko), seperangkat alat gelas (Pyrex), kain, sarung tangan *latex*, sarung tangan kain, botol maserasi, blender (National), aluminium foil, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, pipet tetes, ayakan mesh 80, penangas air, thermometer (one med), lemari pendingin (Sharp), kertas saring, cawan porselin, spuit (one med), tabung heparin (one med), micropipet, botol sirup, bak, desikator, *rotary evaporator* (Heidolph), LC-MS (Shimadzu), Spectrofotometer UV-Visible (*Blood Chemistry Analyzer IUBIO-ICHEM 535*).

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pepaya (*Carica Papaya L.*), simvastatin 10 mg (Hexpharm Jaya), Tikus jantan galur SD, CMC-Na (Sigma), lemak babi, *aquadest* (Water One), etanol 70% (One Med), serbuk magnesium, asam klorida, besi III klorida, air panas, 511, air, asam asetat glasial, asam sulfat pekat, kolesterol esterase, kolesterol oxidase, catalase, N-(2-hydroxy3-sulfopropyl)-3,5-Dimethoxyaniline (HDAOS) peroxidase, 4-Aminoantipyrin (4-AA), sodium azide 0,05% dan detergents.

3.2 Lokasi Penelitian

Penelitian terhadap hewan coba ini dilakukan di Laboratorium Riset & Diagnostik Satwa Sehat Indonesia, Jl. Dako No. 52 Tidar Malang, Jawa Timur. Penelitian terhadap simplisia dan ekstrak dilakukan di Laboratorium Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD) yang diperoleh dari Laboratorium Riset & Diagnostik Satwa Sehat Indonesia, Jl. Dako No. 52 Tidar Malang, selaku tempat yang digunakan untuk penelitian terhadap hewan coba.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji pepaya (*Carica Papaya L.*), untuk membuat serbuk simplisia, yang diperoleh dari Ds. Mirigambar, RT. 01/RW. 06, Sumbergempol, Tulungagung, Jawa Timur.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan segala sesuatu yang berupa bentuk apapun yang dapat ditetapkan peneliti sebagai hal yang dapat digunakan untuk dipelajari sehingga dapat diperoleh informasi mengenai hal tersebut untuk diambil kesimpulan (Wulandari, 2022). Dalam penelitian ini terdapat tiga jenis variabel yaitu variabel bebas, variabel kontrol, dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat dijadikan penyebab atau yang dapat mempengaruhi perubahan atau munculnya variabel terikat (Wulandari, 2022). Variabel bebas yang terdapat pada penelitian ini variasi konsentrasi optimum dosis 150 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 450 mg/kgBB ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap peningkatan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Wulandari, 2022). Dalam penelitian ini yang termasuk variabel kontrol yaitu metode maserasi dan tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD).

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang menjadi akibat atau yang dapat dipengaruhi oleh adanya suatu variabel bebas (Wulandari, 2022). Dalam penelitian ini yang termasuk variabel terikat adalah peningkatan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL).

3.6 Jalannya Penelitian

3.6.1 Ethical Clearance

Ethical Clearance merupakan suatu persetujuan etik untuk penelitian yang mengikut sertakan manusia sebagai subjek penelitian atau penelitian yang

menggunakan hewan coba. Rekomendasi *Ethical Clearance* untuk menjamin bahwa penelitian kedokteran atau kesehatan dilaksanakan oleh, di atau bersama dengan lembaga yang memenuhi kriteria etik penelitian. Martabat, privasi, kesehatan, keselamatan, kesejahteraan subjek percobaan dihormati dan dilindungi (Darwin, 2014). Pengajuan *Ethical Clearance* dilakukan di Universitas Surabaya, Jawa Timur.

3.6.2 Determinasi Tanaman

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

3.6.3 Pembuatan Simplisia

Menurut Farmakope Herbal Indonesia dan Keputusan Menteri Kesehatan RI tentang persyaratan Obat Tradisional, standart simplisia memiliki kandungan kadar air kurang dari 10%. Pembuatan simplisia biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dilakukan dengan cara biji pepaya yang telah dikumpulkan dan dibersihkan dari kulit arinya, kemudian dicuci dibawah air yang mengalir sampai bersih, ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara di angin-anginkan. Sampel yang sudah kering diserbukkan dengan cara menggunakan blender, serbuk yang dihasilkan diayak menggunakan pengayak nomor mesh 100 hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam. Hasilnya dimasukkan kedalam wadah gelas yang tertutup rapat (Torar dkk., 2017).

3.6.4 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.6.4.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Susut pengeringan merupakan presentase senyawa yang menghilang selama proses pemanasan (tidak hanya menggambarkan air yang hilang, tetapi juga senyawa menguap) (Handayani dkk., 2017).

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

Keterangan :

A : Bobot biji basah

B : Bobot biji kering

3.6.4.2 Uji Kadar Air

Sampel ditimbang sebanyak 1 gram didalam cawan yang telah diketahui beratnya. Kemudian dikeringkan didalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit, setelah itu didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga bobot tetap (Syamsul dkk., 2020). Kadar air dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Kadar air} = \frac{A-B}{B} \times 100\% \quad \text{(Persamaan 3.2)}$$

Keterangan :

A : Bobot sebelum dioven

B : Bobot setelah dioven

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

Pada penelitian ini ekstrak biji pepaya diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, yaitu sebanyak 500 gram serbuk biji pepaya yang diperoleh, kemudian dimasukkan ke dalam botol maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 2500 mL, ditutup dan dibiarkan terendam selama 3 hari terlindungi dari cahaya dan sesekali digojok. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga mendapatkan maserat (Filtrat I) dan risedunya diremaserasi dengan etanol 70 % sebanyak 1500 mL menggunakan prosedur yang sama, remaserasi dilakukan selama 2 hari sampai diperoleh maserat yang jernih (Filtrat II). Selanjutnya semua maserat etanol digabungkan (Filtrat I + Filtrat II) dan diuapkan dengan menggunakan alat penguap *rotary evaporator* pada temperatur suhu 40°C sampai volumenya menjadi ¼ dari volume awal (Isnania, 2014).

3.6.6 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

3.6.6.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku. Perhitungan rendemen ekstrak diperoleh dengan presentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan (Nahor dkk., 2020). Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus :

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

3.6.6.2 Uji Organoleptis

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

3.6.6.3 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat ditambahkan kedalam sampel ekstrak kemudian dihomogenkan. Tabung disumbat dengan kapas lalu dipanaskan. Selain cara tersebut, uji bebas etanol juga dapat dilakukan dengan cara 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 ml kalium dikromat ditambahkan ke dalam sampel ekstrak, jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan maka sampel dapat dikatakan bebas etanol (Mauti dkk., 2018).

3.6.7 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) meliputi senyawa Flavonoid, Tanin, Saponin.

3.6.7.1 Flavonoid

Ekstrak diambil sebanyak ± 1 ml dicampurkan dengan 3 ml etanol 70%, lalu dikocok, panaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambahkan Mg 0,1 gram dan 2 tetes HCL pekat. Terbentuknya warna merah, orange, hijau menunjukkan adanya flavonoid (Huda dkk., 2019).

3.6.7.2 Tanin

Ekstrak diambil sebanyak 2 gram ditambahkan dengan etanol 70% sampai semua sampel terendam. Kemudian sampel ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau menunjukkan hasil positif (Huda dkk., 2019).

3.6.7.3 Saponin

Ekstrak diambil sebanyak ± 1 ml dididihkan dengan 10 ml *aquadestilata* dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (Huda dkk., 2019).

3.6.8 Identifikasi Ekstrak Biji Pepaya Menggunakan LC-MS

Hasil analisis dari LC-MS akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat diketahui jumlah senyawa yang dikandung setiap sampel. Data LC-MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kualitas komponen sampel tertentu, senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) (Mangurana *et al.*, 2019). Identifikasi ekstrak biji pepaya menggunakan LC-MS dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang, Jawa Timur.

3.7 Uji Pra-Klinik pada Tikus

3.7.1 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Coba

Pemilihan dan penyiapan hewan coba harus sehat dan diperoleh dari pemasok resmi yang memiliki sertifikat, transportasi hewan coba harus sesuai dengan ketahanan hewan dan jarak tempuh, sebelum perlakuan penelitian dimulai perlu diperhatikan aspek psikologi sebelum dimulainya perlakuan, makanan harus sesuai jenis pakan dan spesies yang memiliki kandungan nutrisi yang lengkap, pakan dan air minum yang diberikan harus mudah diambil oleh hewan coba, kandang harus bersih dan terdapat aliran untuk proses pembersihan (Handajani, 2021).

Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD) yang berumur 8 minggu dengan berat badan rata-rata 200-250 gram. (Agustina & Murwani, 2013). Sebelum perlakuan tikus di aklimatisasi agar untuk beradaptasi dengan lingkungan penelitian. Dalam penelitian ini menggunakan sebanyak 30 ekor tikus. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dimana 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

3.7.2 Pembuatan Pakan Tinggi Lemak

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

3.7.3 Pembuatan Larutan CMC-Na 0,5%

Natrium Karboksilmetil Selulosa (CMC-Na) ditimbang sebanyak 0,5 gram ditaburkan dalam mortir yang berisi 10 ml aquadest yang telah dipanaskan, didiamkan selama 15 menit hingga memperoleh masa transparan, lalu dicampur sampai homogen. Larutan CMC-Na dipindahkan ke labu ukur 100 ml. Volumennya dicukupkan dengan aquadest hingga 100 ml (Alaydrus dkk., 2020).

3.7.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak Biji Pepaya

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

3.7.5 Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif dalam penelitian ini adalah simvastatin yang memiliki dosis lazim 10 mg. Perhitungan konversi dosis untuk manusia dengan BB 70 kg pada tikus dengan BB 200 gram adalah 0,018. Volume pemberian secara oral 5 ml. Dosis dari tikus ke manusia diperoleh dari konversi yang dilakukan yaitu dosis lazim 10 mg dikalikan dengan faktor konversi 0,018 sehingga memperoleh hasil 0,18 mg/hari. Pembuatan suspensi simvastatin dilakukan menimbang simvastatin sebanyak 1,08 mg kemudian disuspensikan dengan larutan CMC Na 0,5%, diaduk hingga homogen lalu di tuang dalam labu ukur dan di tambahkan *aquadest* ad 30 ml. Untuk volume pemberian dapat diberikan sebanyak 5,7 ml.

3.7.6 Perlakuan Pada Hewan Coba

Perlu diperhatikan bahwa untuk memperoleh hewan coba yang baik, peneliti harus memperhatikan kondisi tikus, pemberian pakan, pemberian air minum, sanitasi, kebersihan ruang. Hewan coba yang diperoleh dari luar laboratorium penelitian harus dilakukan adaptasi sampai menjelang perlakuan penelitian. Proses adaptasi ini harus dilakukan selama waktu tertentu sesuai dengan spesies hewan coba yang digunakan dan perbedaan keadaan yang terjadi.

Perbedaan keadaan yang mungkin timbul adalah akibat perbedaan suhu, kelembaban, suara, kebisingan, pencahayaan luar, tekanan udara, dan perbedaan keadaan yang terjadi (Handajani, 2021).

Pada penelitian ini menggunakan hewan uji yaitu tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* (SD) sebanyak 30 tikus. Tikus dalam penelitian ini di bagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, setiap perlakuan terdiri dari 6 tikus. Sebelum perlakuan semua tikus diaklimatisasi selama 1 minggu agar dapat beradaptasi dengan lingkungan penelitian. Sebelum melakukan penelitian semua tikus di timbang satu per satu untuk mengetahui masing-masing berat badan tikus. Kelompok tersebut dilakukan perlakuan yang berbeda dan terdiri dari :

K+ = Pakan standart (511) + Induksi lemak + Simvastatin 10 mg

K- = Pakan standart (511) + Induksi lemak

P1 = Pakan standart (511) + Induksi lemak + Dosis ekstrak biji papaya
150 mg/kgBB

P2 = Pakan standart (511) + Induksi lemak + Dosis ekstrak biji papaya
300 mg/kgBB

P3 = Pakan standart (511) + Induksi lemak + Dosis ekstrak biji papaya
450 mg/kgBB

Perlakuan yang tertera diatas untuk pemberian pakan standart dan penginduksian lemak babi secara oral dilakukan selama 14 hari untuk pembentukan hiperkolesterolemia, kemudian perlakuan pemberian pengobatan dilakukan selama 14 hari untuk meningkatkan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL). Pemberian dosis perlakuan terhadap tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* dengan variasi dosis 150 mg/KgBB, 300 mg/KgBB dan 450 mg/KgBB, menurut penelitian (Nwangwa and Ekhoje, 2013) dosis 300 mg/KgBB dapat meningkatkan kolesterol HDL. Setelah waktu penginduksian dan pengobatan dilakukan tikus di puasakan setelah tikus tidak di beri pakan melakukan proses pengambilan sampel, pengambilan sampel dilakukan setelah percobaan atau penelitian.

3.7.7 Pengambilan Sampel

Metode pengumpulan spesimen darah berhubungan dengan berapa jumlah volume darah yang diperlukan untuk tujuan penelitian. Ada beberapa metode pengambilan darah tikus yang bisa dilakukan dengan hewan coba tetap hidup dan ada beberapa metode yang mengakibatkan hewan coba mati. Sampel darah tikus diambil sebanyak 2% dari volume darah tikus. Pengambilan sampel yang di ambil dari darah melalui jantung tikus (*Intracardia*) metode ini merupakan metode pengambilan darah dengan hewan coba yang dapat dikorbankan sampai proses pembedahan. Metode ini hewan coba dapat dilakukan anestesi umum dan anestesi lokal menggunakan ketamine dan xylazine melalui *intraperitoneal* (IP) dengan dosis 0,01 mL (Handajani, 2021).

Pengambilan sampel darah diambil sebanyak 3 ml melalui *intracardia* (jantung) menggunakan tabung heparin, kemudian di sentrifugasi untuk mendapatkan serumnya (Agustina & Murwani, 2013).

3.7.8 Pengukuran Kadar HDL

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

1. Melakukan sentrifuge terhadap sampel darah pada tabung heparin dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dan memindahkan serum ke effendorf yang telah diberikan kode sampel sesuai perlakuan.
2. Nyalakan *Blood Chemistry Analyzer*, dan biarkan 10 menit sebelum menu "*Home*".
3. Membuat larutan BLANK : Siapkan masing-masing 1 tabung reaksi tiap sampel dan masukkan 100 μ L reagen HDL.
4. Membuat larutan sampel : Siapkan masing-masing 1 tabung reaksi tiap sampel dan masukkan 100 μ L sampel (Serum/Plasma/Urine).
5. Tekan menu *flowcytometer* dan pilih jenis uji yaitu HDLC.

6. Tunggu hingga mesin berbunyi “**Beep**” yang berarti alat sudah siap pada suhu ruang 37°C.
7. Tekan *zero setting* hingga muncul “*please aspirate zero water*” dan masukkan aquadest dengan menekan tombol aspirator.
8. Tunggu hingga mesin berbunyi “**Beep**” dan lanjutkan dengan tekan menu reagen blank dan masukkan larutan blank dengan menekan tombol aspirator.
9. Tunggu hingga mesin berbunyi “**Beep**” dan lanjutkan dengan tekan menu “**Test**” dan masukkan sample dengan menekan tombol aspirator, dan masukkan larutan blank dengan menekan tombol aspirator.
10. Tunggu selama 30 detik.
11. Kemudian baca hasil berupa kadar (IU/L) di layar dengan panjang panjang gelombang 560 nm. Kadar normal kolesterol HDL pada hewan coba tikus yaitu ≥ 35 mg/dl (Gani dkk., 2013)

3.7.9 Analisis Data

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

3.7.9.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas merupakan uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji *Paired – test*.

Pengambilan keputusan bermakna apabila:

1. Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
2. Jika $p < 0,05$; maka H_1 ditolak

3.7.9.2 Uji Homogenitas

Uji Homogenitas merupakan uji untuk mengetahui apakah varian populasi memiliki varian sama atau tidak. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

Pengambilan keputusan bermakna apabila:

1. Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2. Jika $p < 0,05$; maka H_1 ditolak

3.7.9.3 Uji *One Way Anova*

Uji *One Way Anova* merupakan uji untuk membandingkan dua rata-rata atau lebih yang akan digunakan untuk menguji kemampuan independent yang berarti setiap sampel tidak berhubungan dengan sampel lain. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji lanjutan uji Tukey Lanjutan.

Pengambilan keputusan bermakna apabila:

1. Jika $p > 0,05$; maka H_0 ditolak
2. Jika $p < 0,05$; maka H_1 diterima

3.7.9.4 Uji Lanjut Tukey

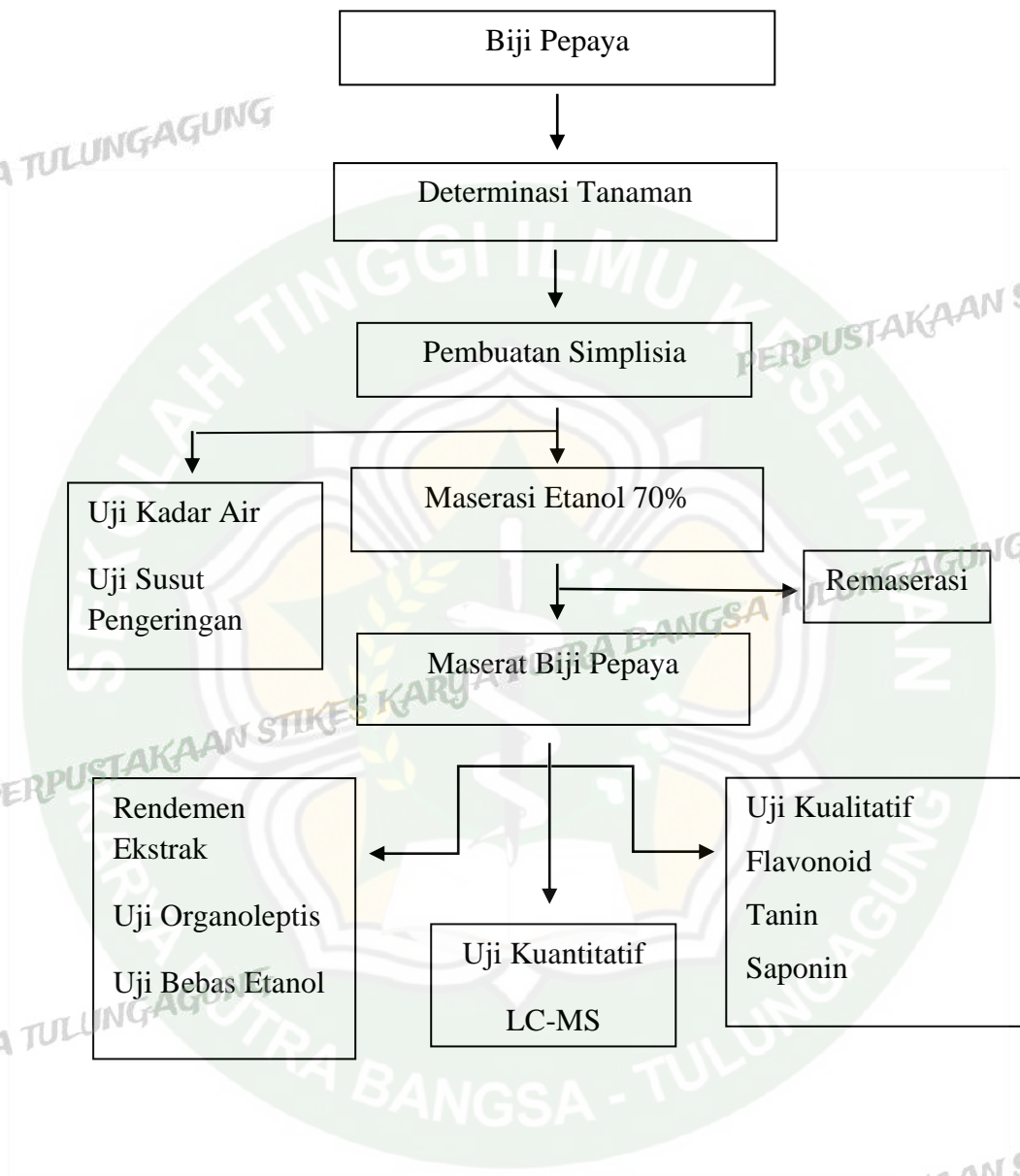
Uji lanjut tukey uji ini untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah pengujian analisis varian dilakukan, pengujian dengan uji tukey biasanya digunakan jika analisis data dalam penelitian dilakukan dengan cara membandingkan data dua kelompok sampel yang jumlahnya sama.

Pengambilan keputusan bermakna apabila :

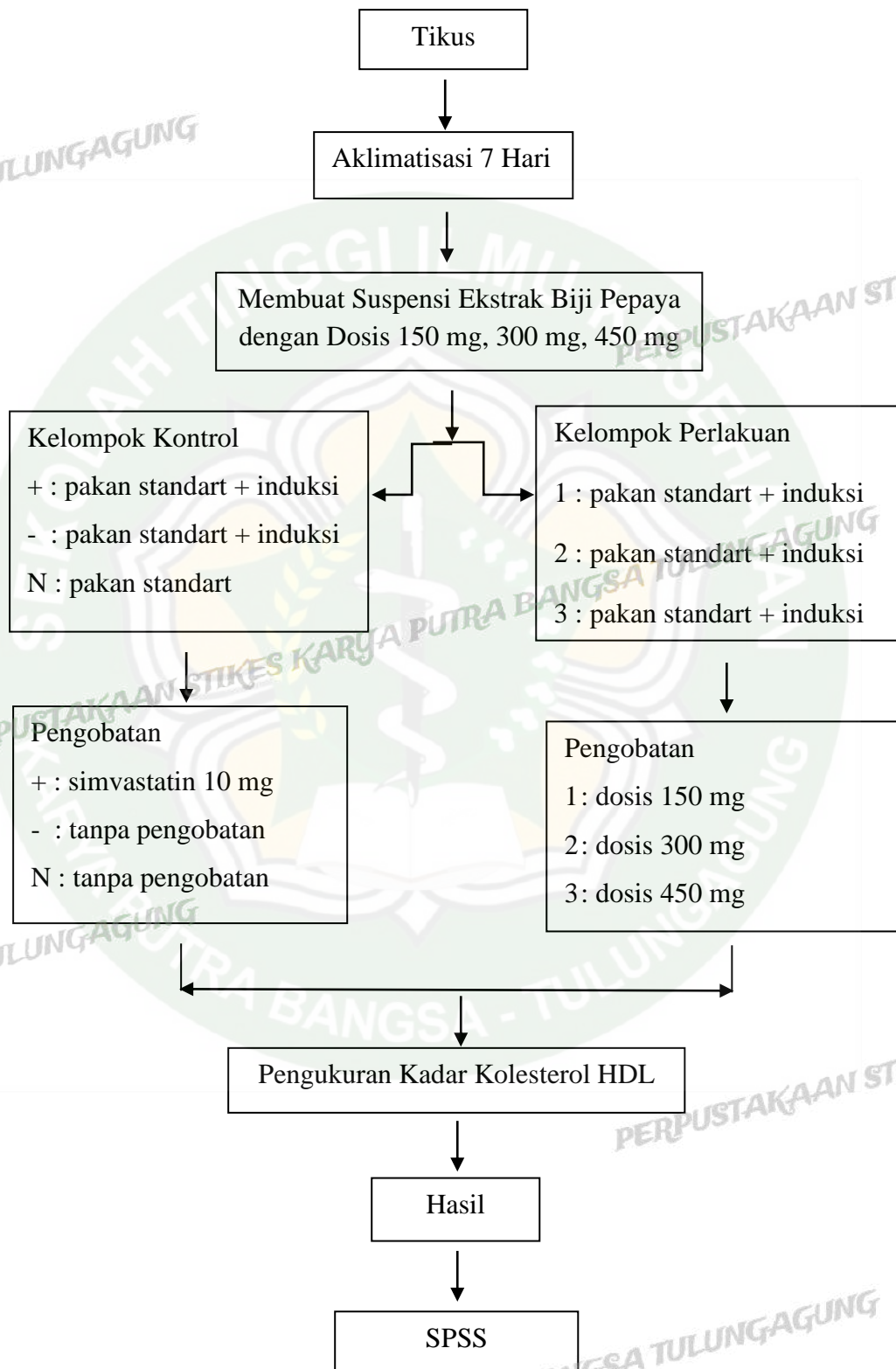
1. Jika $p > 0,05$; maka H_0 ditolak
2. Jika $p < 0,05$; maka H_1 diterima

3.8 Kerangka Penelitian

3.8.1 Pembuatan Ekstrak



3.8.2 Perlakuan Hewan Uji



3.9 Jadwal Penelitian

Tabel 3.1 Jadwal Penelitian

Jadwal Kegiatan	Bulan ke -							Tempat
	1	2	3	4	5	6	7	
1. Tahap Persiapan								
a. Pesiapan Bahan	√							Kampus Stikes KPB
b. Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	√							Komisi Penelitian Etik Universitas Ubaya
2. Tahap Penelitian								
a. Determinasi Tanaman	√							UPT Materia Medica
b. Pembuatan Ekstrak		√						Laboratorium KPB
c. Identifikasi senyawa kualitatif			√					Laboratorium KPB
d. Pengujian Pada Tikus			√					Laboratorium Satwa Sehat
3. Tahap Penyelesaian								
a. Analisis dan Pengolahan Data				√				Laboratorium KPB
b. Penyusunan Laporan Akhir					√			Laboratorium KPB
c. Pengumpulan Laporan Akhir						√		Prodi S1-Farmasi

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persetujuan *Ethical Clereance*

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

4.2 Determinasi Tanaman

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

4.3 Pembuatan Simplisia Serbuk Biji Pepaya

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

Simplisia yang telah dikeringkan selanjutnya dilakukan proses sortasi kering. Sortasi kering dilakukan dengan cara memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Wahyuni dkk., 2014). Biji pepaya yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender untuk memperkecil ukuran partikel, setelah proses penghalusan serbuk diayak menggunakan dengan ayakan ukuran nomor mesh 80 agar serbuk biji pepaya memiliki ukuran yang seragam (Tiara dkk., 2022). Pengayakan menggunakan ayakan nomor mesh 80 dapat menghasilkan serbuk ayakan simplisia tampak berbeda baik dari segi warna serta memiliki aroma yang lebih kuat (Pranoto dkk., 2019).

4.3.1 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Uji susut pengerinan dilakukan untuk mengetahui senyawa yang hilang selama proses pemanasan atau pengerinan (Handayani dkk., 2017). Proses pengerinan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada biji pepaya (*Carica Papaya L.*) sehingga bahan dapat disimpan lebih lama, menghentikan pembusukkan, serta volume bahan dan berat biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menjadi lebih kecil sehingga mempermudah dan menghemat ruang (Martunis, 2012). Hasil susut pengerinan dapat dipengaruhi oleh kadar air, suhu, dan lama waktu saat pengerinan. Hasil uji susut pengerinan dapat dilihat pada tabel 4.1. Hasil diperoleh 14% sehingga mengalami penyusutan dari berat biji basah 14 kg menjadi 2 kg biji kering.

Rumus perhitungan : $\frac{\text{Bobot biji kering}}{\text{Bobot biji basah}} \times 100\%$.

Tabel 4.1 Hasil Uji Susut Pengerinan Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

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

4.3.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air simplisia digunakan untuk salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia dan menentukan residu air setelah proses pengerinan biji pepaya (*Carica Papaya L.*). Penetapan kadar air simplisia dilakukan secara

gravimetri, tujuannya yaitu untuk mengetahui besarnya kandungan air pada simplisia terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Huda dkk., 2019). Kadar air simplisia tergantung pada waktu yang digunakan untuk pengeringan simplisia, semakin kering maka semakin kecil juga kadar airnya, prinsipnya yaitu sampel ditimbang sebanyak 1 gram didalam cawan yang telah diketahui beratnya, kemudian dikeringkan didalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit, setelah itu didinginkan selama 15 menit dan ditimbang hingga bobot tetap (Syamsul dkk., 2020).

Menurut BPOM (2014), kandungan air simplisia adalah kurang dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari pertumbuhan jamur dalam simplisia karena reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air dalam simplisia <10% (Huda dkk., 2019). Hasil penelitian menunjukkan presentase kadar air simplisia biji pepaya (*Carica Papaya L.*) sebesar 8,6% sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar air simplisia biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memenuhi standart mutu. Hasil uji kadar air dapat dilihat pada tabel 4.2.

Rumus perhitungan :
$$\frac{\text{Bobot sebelum di oven} - \text{Bobot setelah di oven}}{\text{Bobot setelah di oven}} \times 100\%$$

Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

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

4.4 Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya

Pembuatan ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menggunakan metode maserasi. Berdasarkan penelitian Yuniwati dkk., (2021) maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil tanpa pemanasan atau pemanasan dengan suhu yang rendah. Metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang di ekstrak tidak akan rusak. Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa dkk., 2019). Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia 500 gram dalam pelarut etanol 70% sebanyak 2500 mL, pelarut yang digunakan

akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut (Isnania, 2014).

Pemilihan pelarut etanol karena etanol merupakan pelarut yang baik diantara pelarut yang baik, etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan atau menarik senyawa fenolik dan memiliki titik didih yang rendah cenderung amam, tidak beracun, dan tidak berbahaya (Azis dkk., 2014). Selama proses perendaman dilakukan penggojokkan atau diaduk selama ± 10 menit untuk mempercepat kontak antara serbuk simplisia dan pelarut, cairan pelarut akan masuk kedalam sel melewati dinding sel dan isi sel akan larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan yang ada didalam dan diluar sel serta pelarut dengan konsentrasi yang tinggi akan terdesak keluar diganti dengan pelarut konsentrasi rendah (Wulandari, 2022). Filtrat yang terbentuk disaring menggunakan kain rangkap 2 dan dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring yang berfungsi untuk menyaring serbuk yang mengendap saat dilakukan ekstraksi cara dingin (Huda dkk., 2019) selanjutnya dilakukan proses remaserasi atau maserasi bertingkat bertujuan untuk menarik senyawa yang masih terdapat pada sel dan tertinggal pada saat maserasi pertama.

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

4.4.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku yang digunakan (Nahor dkk., 2020). Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Selain itu, data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif

yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak, bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan (Hasnaeni dkk., 2019). Menurut penelitian (Senduk dkk., 2020) bahwa nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung didalamnya, nilai rendemen semakin tinggi maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku. Hasil rendemen ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) setelah dilakukan proses pemekatan dengan *rotary evaporator* diperoleh sebanyak 67,5 %. Hasil dapat dilihat pada tabel 4.3.

Rumus perhitungan $\frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100\%$.

Tabel 4.3 Hasil Rendemen Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

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

4.4.2 Uji Organoleptis

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

4.4.3 Uji Bebas Etanol

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

Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

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

Keterangan : (+) tidak terdapat kandungan etanol 70%

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

**Gambar 4.1 Hasil Uji Bebas Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)**

4.4.4 Skrining Fitokimia

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

Tabel 4.5 Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Pepaya

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	C ₂ H ₆ O 70% + Mg 24% + HCL Pekat 36%	Jingga kehijauan	+
Tanin	C ₂ H ₆ O 70% + FeCl ₃ 1%	Hijau kehitaman	+
Saponin	H ₂ O panas	Busa Stabil	+

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

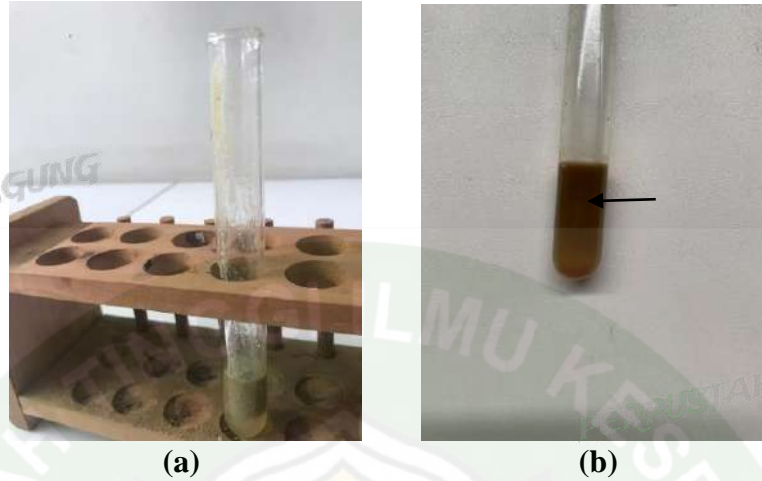
Hasil uji skrining fitokimia ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil skrining fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian Agustina dan Murwani (2013), yang menyatakan jika biji pepaya (*Carica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

4.4.4.1 Uji Flavonoid

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

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antihiperkolesterol yaitu dapat menurunkan oksidasi kolesterol *Low Density Lipoprotein*, menurunkan peroksidasi lemak, dan menghambat perkembangan lesi aterosklerosis pada penyakit kardiovaskular. Efek antioksidan yang terdapat dalam biji pepaya memiliki peranan penting dalam melawan produksi *reactive oxygen species*

(ROS) dan produk peroksidasi lipid (Saputri dkk., 2017). Hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid dapat dilihat pada gambar 4.2



Keterangan : Positif mengandung flavonoid terjadinya pembentukan warna jingga kehijauan

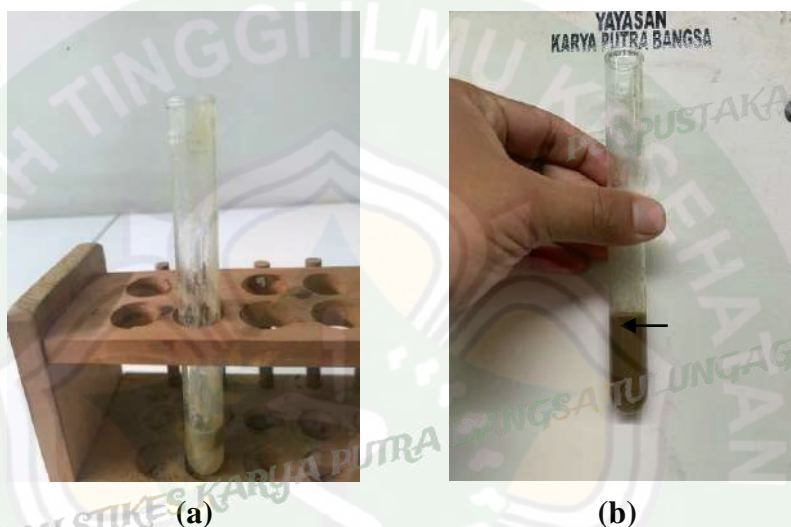
Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid (a) Sebelum Direaksikan (b) Hasil Setelah Direaksikan

4.4.4.2 Uji Tanin

Pengujian tanin dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya senyawa tanin didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*). hasil pengujian skrining fitokimia tanin didapatkan hasil positif (+) terdapat warna hijau kehitaman. Pengujian senyawa tanin dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan etanol sampai ekstrak terendam, kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1% (Huda dkk., 2019). Terbentuknya warna hijau kehitaman yang menandakan terjadinya pembentukan senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang tua. Pengujian skrining fitokimia menggunakan FeCl_3 karena dapat menentukan bahwa sampel tersebut mengandung gugus fenol, adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 1% memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel tersebut terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya yaitu tanin (Kholifah, 2022).

Tanin diketahui telah terbukti memiliki efek antiplatelet dan antihiperkolesterolemik yang kuat dengan cara mereduksi absorpsi kolesterol di

usus. Selain itu, tanin juga memiliki aksi mengikat asam empedu sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol di plasma, cara menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan cara memperbesar jumlah pengeluaran kolesterol sebagai asam empedu. Tanin memebentuk gel didalam usus halus dan mengikat lemak, kolesterol dan asam empedu sehingga asam empedu tidak bisa diserap dalam usus halus (Saputri dkk., 2017). Hasil uji skrining fitokimia senyawa tanin dapat dilihat pada gambar 4.3



Keterangan : Positif mengandung tanin terjadinya pembentukan warna hijau kehitaman

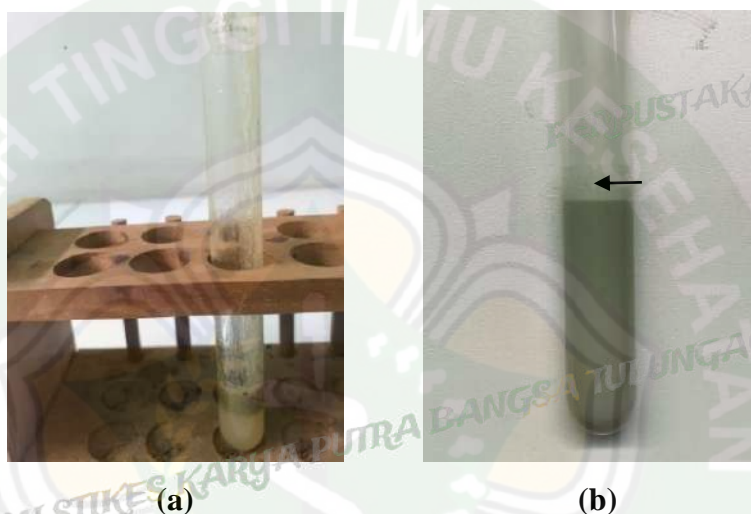
Gambar 4.3 Hasil Uji Tanin (a) Sebelum Direaksikan (b) Hasil Setelah Direaksikan

4.4.4.3 Uji Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya senyawa saponin didalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*). hasil pengujian skrining fitokimia saponin didapatkan hasil positif (+) terbentuknya busa yang stabil. Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan cara Ekstrak diambil sebanyak ± 1 ml dididihkan dengan 10 ml *aquadestilata* dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (Huda dkk., 2019). Busa terbentuk karena adanya glikosida yang dapat memebentuk busa dalam air dan kemudian terhidrolisis menjadi glukosa. Senyawa saponin merupakan senyawa yang aktif permukaan yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa.

Komponen ikatan glikosida yang terdapat didalam saponin menyebabkan senyawa cenderung bersifat polar (Kholifah, 2022).

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



Keterangan : Positif mengandung saponin terjadinya pembentukan busa stabil
Gambar 4.4 Hasil Uji Saponin (a) Sebelum Direaksikan (b) Hasil Setelah Direaksikan

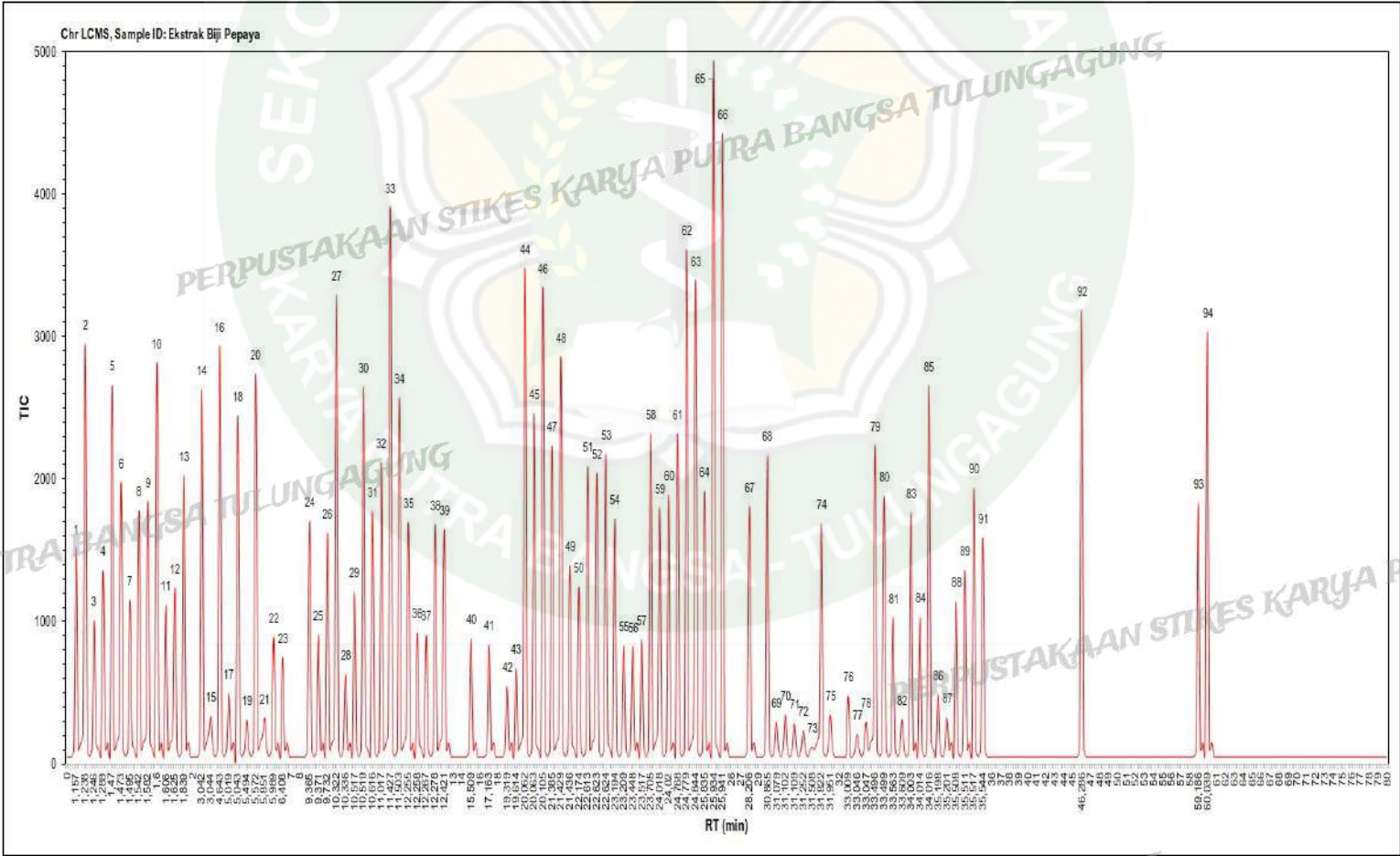
4.5 Identifikasi *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS)

Prinsip *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) akan didapatkan kromatogram berupa alur tinggi puncak dan akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat diketahui jumlah senyawa yang dikandung setiap sampel. Data *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) dapat digunakan untuk mengetahui informasi mengenai berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu, senyawa dipisahkan atas dasar interaksi senyawa aktif terhadap fase diam dan fase gerak (Mangurana dkk., 2019).

Hasil uji *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dari *Chromatogram* dapat digunakan untuk melihat kandungan senyawa dan berat molekul yang ditemukan dalam ekstrak.

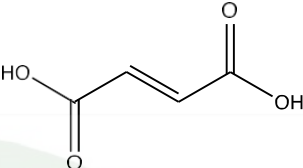
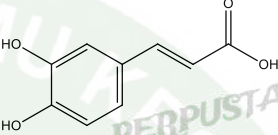
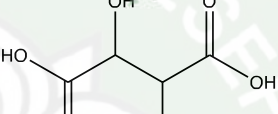
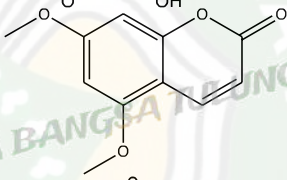
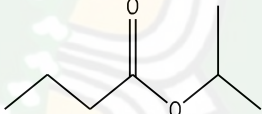
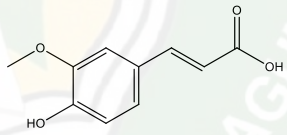
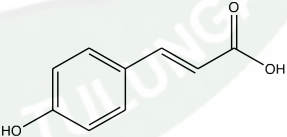
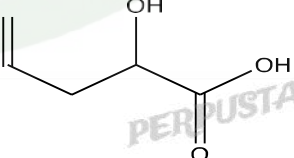
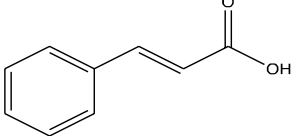
Puncak *Chromatogram* dapat dilihat pada **Gambar 4.5**. Identifikasi menggunakan LC-MS bahwa ekstrak etanol biji pepaya mengandung golongan fenol, flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid yang terdeteksi dapat dilihat pada **Tabel 4.6**. Hasil data (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) dapat digunakan untuk mengetahui 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) dari properti LC-MS meliputi kolom Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2 mm x 150 mm, 3 μ m), volume injeksi 1 μ l, tegangan kapiler 3,0 kV, suhu kolom 35°C, mode fase gerak isocratic, laju aliran 0,5 ml/min, dan pelarut etanol 95%.

LCMS CHROMATOGRAM RESULT, SAMPLE ID: EKSTRAK BIJI PEPAYA

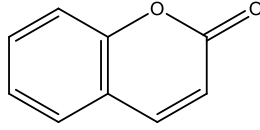
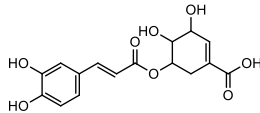
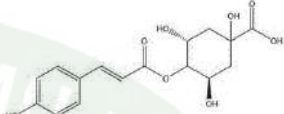
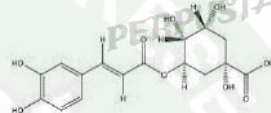
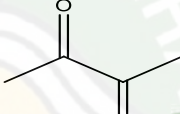
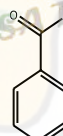
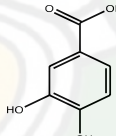
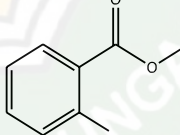
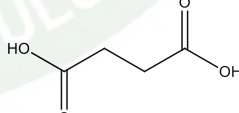
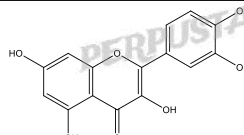
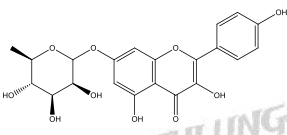


Gambar 4.5 Hasil Chromatogram LC-MS

Tabel 4.6 Deteksi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*)

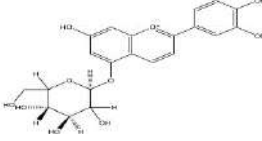
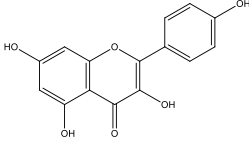
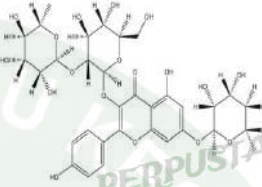
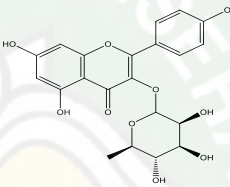
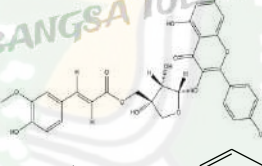
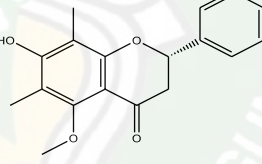
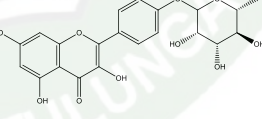
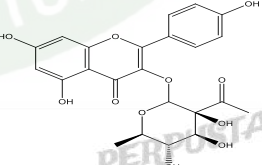
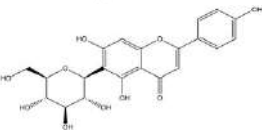
No. Peak	Retensi Waktu (Rt)	Analisis	Struktur Kimia	Golongan
2	1,238	Fumaric Acid Rumus Kimia : C ₄ H ₄ O ₄ Komposisi : 1,86869 Berat Molekul : 116,0720		Fenol
16	4,643	Caffeic Acid Rumus Kimia : C ₉ H ₈ O ₄ Komposisi : 1,86183 Berat Molekul : 180,1590		
10	1,6	Tartaric Acid Rumus Kimia : C ₄ H ₆ O ₆ Komposisi : 1,78727 Berat Molekul : 150,0860		
20	5,572	5,7-dimethoxycoumarin Rumus Kimia : C ₁₁ H ₁₀ O ₄ Komposisi : 1,78727 Berat Molekul : 150,0860		
5	1,47	Isopropyl Butyrate Rumus Kimia : C ₇ H ₁₄ O ₂ Komposisi : 1,68662 Berat Molekul : 130,1870		
18	5,043	Ferulic Acid Rumus Kimia : C ₁₀ H ₁₀ O ₄ Komposisi : 1,55093 Berat Molekul : 194,1860		
13	1,839	P-Coumaric Acid Rumus Kimia : C ₉ H ₈ O ₃ Komposisi : 1,28619 Berat Molekul : 164,1600		
6	1,473	Malic Acid Rumus Kimia : C ₄ H ₆ O ₅ Komposisi : 1,25444 Berat Molekul : 134,0870		
9	1,582	Cinammic Acid Rumus Kimia : C ₉ H ₈ O ₂ Komposisi : 1,16907 Berat Molekul : 148,1610		

Tabel 4.6 Lanjutan

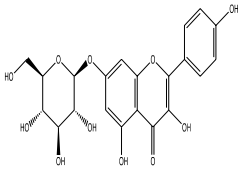
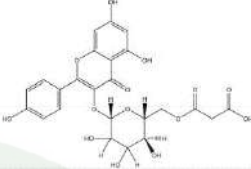
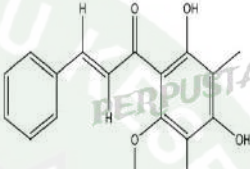
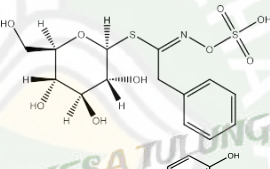
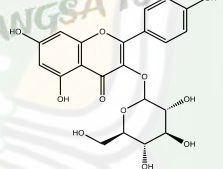
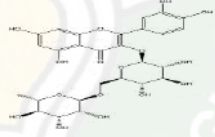
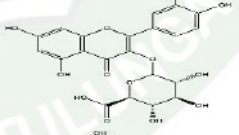
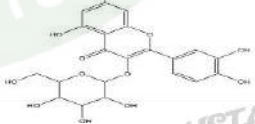
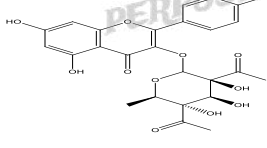
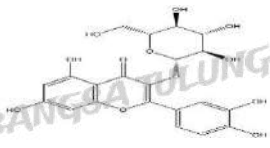
8	1,542	Coumarin	
		Rumus Kimia : $C_9H_6O_2$	
		Komposisi : 1,12871	
		Berat Molekul : 148,1610	
35	12,155	5-O-caffeoylshikimic acid	
		Rumus Kimia : $C_{16}H_{16}O_8$	
		Komposisi : 1,07635	
		Berat Molekul : 336,2960	
38	12,278	4p-coumaroylquinic acid	
		Rumus Kimia : $C_{16}H_{18}O_8$	
		Komposisi : 1,06677	
		Berat Molekul : 338,3120	
39	12,421	Chlorogenic Acid	
		Rumus Kimia : $C_{16}H_{18}O_9$	
		Komposisi : 1,04310	
		Berat Molekul : 354,3110	
1	1,157	2,3-butanedione	
		Rumus Kimia : $C_4H_6O_3$	
		Komposisi : 1,04310	
		Berat Molekul : 354,3110	
4	1,289	Benzoic Acid	
		Rumus Kimia : $C_7H_6O_2$	
		Komposisi : 0,86031	
		Berat Molekul : 122,1230	
12	1,625	3,4 dihydroxybenzoic acid	
		Rumus Kimia : $C_7H_6O_4$	
		Komposisi : 0,78433	
		Berat Molekul : 154,1210	
11	1,606	Methyl Salicylate	
		Rumus Kimia : $C_8H_8O_3$	
		Komposisi : 0,70736	
		Berat Molekul : 152,1490	
3	1,246	Succinic Acid	
		Rumus Kimia : $C_4H_6O_4$	
		Komposisi : 0,63951	
		Berat Molekul : 118,0880	
33	11,427	Quercetin	
		Rumus Kimia : $C_{15}H_{10}O_7$	
		Komposisi : 2,47910	
		Berat Molekul : 302,2380	
44	20,062	Kaempferol-7 rhamnoside	
		Rumus Kimia : $C_{21}H_{20}O_{10}$	
		Komposisi : 2,20798	
		Berat Molekul : 432,3810	

Flavonoid

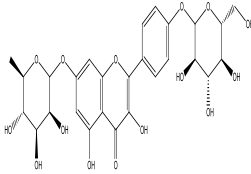
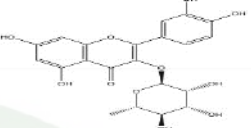
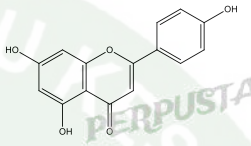
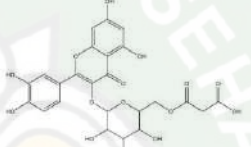
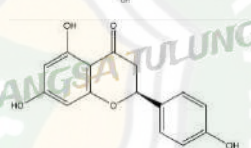
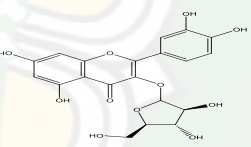
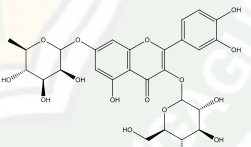
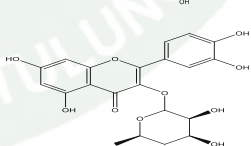
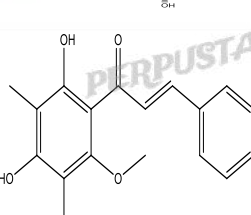

Tabel 4.6 Lanjutan

46	20,105	Luteolinidin-5-glucoside Rumus Kimia : $C_{21}H_{21}O_{10}$ Komposisi : 2,12122 Berat Molekul : 433,3885	
27	10,322	Kaempferol Rumus Kimia : $C_{15}H_{10}O_6$ Komposisi : 2,08820 Berat Molekul : 286,2390	
92	46,286	Kaempferol-3-glucoside- 2"-rhamnoside-7- rhamnoside Rumus Kimia : $C_{33}H_{40}O_{19}$ Komposisi : 2,01980 Berat Molekul : 740,6640	
48	21,429	Kaempferol-3-O- rhamnoside Rumus Kimia : $C_{21}H_{20}O_{10}$ Komposisi : 1,81343 Berat Molekul : 432,1056	
85	34,016	Kaempferol-3-(5"- feruloylapioside) Rumus Kimia : $C_{30}H_{26}O_{13}$ Komposisi : 1,68520 Berat Molekul : 594,1373	
30	10,519	7-hydroxy-5-methoxy- 6,8-dimethylflavanone Rumus Kimia : $C_{18}H_{18}O_4$ Komposisi : 1,68012 Berat Molekul : 298,1205	
45	20,063	Kaempferol-4'-rhamnoside Rumus Kimia : $C_{30}H_{26}O_{13}$ Komposisi : 1,68520 Berat Molekul : 298,1205	
61	24,768	Kaempferol-3-(2"- acetyl)rhamnoside) Rumus Kimia : $C_{23}H_{22}O_{11}$ Komposisi : 1,47105 Berat Molekul : 474,1162	
47	21,385	Isovitexin Rumus Kimia : $C_{21}H_{20}O_{10}$ Komposisi : 1,41615 Berat Molekul : 432,3810	

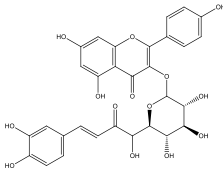
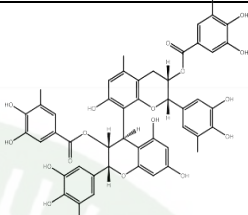
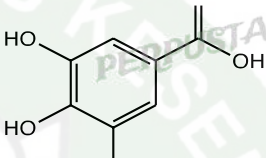
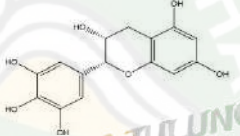
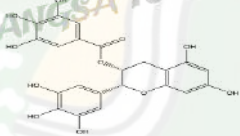
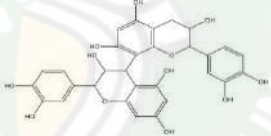

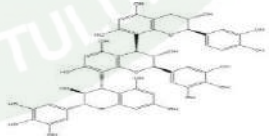
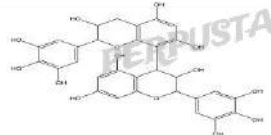
Tabel 4.6 Lanjutan

53	22,624	Kaempferol-7-O- β -D-glucoside	
		Rumus Kimia : C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	
		Komposisi : 1,38104	
		Berat Molekul : 448,3800	
68	30,865	Kaempferol-3-O-(6-malonylglucoside)	
		Rumus Kimia : C ₂₄ H ₂₂ O ₁₄	
		Komposisi : 1,37295	
		Berat Molekul : 534,1010	
32	11,017	2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone	
		Rumus Kimia : C ₂₄ H ₂₂ O ₁₄	
		Komposisi : 1,37295	
		Berat Molekul : 534,1010	
51	22,613	Glucotropaeolin	
		Rumus Kimia : C ₁₄ H ₁₉ NO ₉ S ₂	
		Komposisi : 1,32580	
		Berat Molekul : 409,4240	
52	22,623	Kaempferol-3-O-D-glucoside	
		Rumus Kimia : C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	
		Komposisi : 1,29601	
		Berat Molekul : 448,3800	
90	35,517	Rutin	
		Rumus Kimia : C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	
		Komposisi : 1,22810	
		Berat Molekul : 610,5210	
64	25,385	Quercituron	
		Rumus Kimia : C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	
		Komposisi : 1,21438	
		Berat Molekul : 478,3620	
60	24,02	Hyperoside	
		Rumus Kimia : C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	
		Komposisi : 1,19651	
		Berat Molekul : 464,3790	
67	28,206	Kaempferol-3-(2'',4''-diacetylramnoside)	
		Rumus Kimia : C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	
		Komposisi : 1,14672	
		Berat Molekul : 4516,4550	
59	24,018	Isoquercitrin	
		Rumus Kimia : C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	
		Komposisi : 1,14172	
		Berat Molekul : 464,3790	

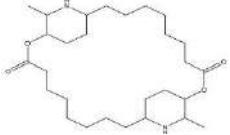
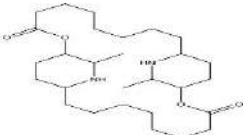
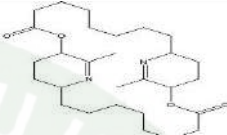

Tabel 4.6 Lanjutan

83	34,003	Kaempferol-7-rhamnoside-4'-glucoside	
		Rumus Kimia : $C_{27}H_{30}O_{15}$	
		Komposisi : 1,11993	
		Berat Molekul : 594,5220	
54	23,194	Quercitrin	
		Rumus Kimia : $C_{21}H_{20}O_{11}$	
		Komposisi : 1,09142	
		Berat Molekul : 448,1006	
24	9,365	Apigenin	
		Rumus Kimia : $C_{15}H_{10}O_5$	
		Komposisi : 1,08171	
		Berat Molekul : 270,2400	
74	31,822	Quercetin-3-O-(6-malonyl-glucoside)	
		Rumus Kimia : $C_{24}H_{22}O_{15}$	
		Komposisi : 1,06805	
		Berat Molekul : 550,4250	
26	9,732	Narigenin	
		Rumus Kimia : $C_{15}H_{12}O_5$	
		Komposisi : 1,02958	
		Berat Molekul : 272,2560	
49	21,436	Quercetin-3-arabinoside	
		Rumus Kimia : $C_{20}H_{18}O_{11}$	
		Komposisi : 0,88290	
		Berat Molekul : 434,3530	
89	35,511	Quercetin-3-glucoside-7-rhamnoside	
		Rumus Kimia : $C_{27}H_{30}O_{16}$	
		Komposisi : 0,86183	
		Berat Molekul : 610,5210	
50	22,174	Quercetin-3-O-rhamnoside	
		Rumus Kimia : $C_{21}H_{20}O_{11}$	
		Komposisi : 0,78791	
		Berat Molekul : 448,3800	
29	10,517	4',6'-dihydroxy-3',5'-dimethyl-2'-methoxychalcone	
		Rumus Kimia : $C_{20}H_{18}O_{11}$	
		Komposisi : 0,88290	
		Berat Molekul : 434,3530	
7	1,495	α -phellandrene	
		Rumus Kimia : $C_{20}H_{16}$	
		Komposisi : 0,72916	
		Berat Molekul : 136,2380	

Tabel 4.6 Lanjutan

88	35,508	Kaempferol-3-(6''-caffeylglucoside)		
		Rumus Kimia : $C_{30}H_{26}O_{14}$		
		Komposisi : 0,72255		
		Berat Molekul : 610,1323		
94	60,039	3-O-galloylepigallocatechin-(4 β →8) epigallocatechin-3-O-gallate		Tanin
		Rumus Kimia : $C_{44}H_{34}O_{22}$		
		Komposisi : 01,92455		
		Berat Molekul : 914,1542		
14	3,042	Gallic acid		
		Rumus Kimia : $C_7H_6O_5$		
		Komposisi : 1,66821		
		Berat Molekul : 170,1200		
34	11,503	Epigallocatechin		
		Rumus Kimia : $C_{15}H_{14}O_7$		
		Komposisi : 1,63103		
		Berat Molekul : 306,2700		
58	23,705	Epigallocatechin Gallate		
		Rumus Kimia : $C_{22}H_{18}O_{11}$		
		Komposisi : 1,47219		
		Berat Molekul : 458,0849		
79	33,496	Procyanidin B1		
		Rumus Kimia : $C_{30}H_{26}O_{12}$		
		Komposisi : 1,41969		
		Berat Molekul : 578,5260		
80	33,499	Procyanidin B3		
		Rumus Kimia : $C_{30}H_{26}O_{12}$		
		Komposisi : 1,19118		
		Berat Molekul : 578,5260		
93	59,186	Prodelfhinidin C2		
		Rumus Kimia : $C_{45}H_{38}O_{20}$		
		Komposisi : 1,16178		
		Berat Molekul : 898,7790		
91	35,544	Prodelfhinidin B		
		Rumus Kimia : $C_{30}H_{26}O_{14}$		
		Komposisi : 1,00792		
		Berat Molekul : 610,5240		
31	10,616	Sambunigrin		Saponin
		Rumus Kimia : $C_{14}H_{17}NO_6$		
		Komposisi : 1,12490		
		Berat Molekul : 295,2910		

Tabel 4.6 Lanjutan

65	25,394	Carpaine	Alkaloid
		Rumus Kimia : $C_{28}H_{50}N_2O_4$	
		Komposisi : 3,12924	
		Berat Molekul : 478,7180	
66	25,941	Pseudocarpaine	
		Rumus Kimia : $C_{28}H_{50}N_2O_4$	
		Komposisi : 2,80637	
		Berat Molekul : 478,7180	
62	24,779	Dehydrocarpaine II	
		Rumus Kimia : $C_{28}H_{46}N_2O_4$	
		Komposisi : 2,29121	
		Berat Molekul : 474,6860	
63	24,844	Dehydrocarpaine I	
		Rumus Kimia : $C_{28}H_{48}N_2O_4$	
		Komposisi : 2,15438	
		Berat Molekul : 476,3620	

Tabel 4.6 memaparkan hasil dengan metode LC-MS pada *Total Ion Current* diatas 1000 dalam ekstrak biji pepaya terdeteksi dan teridentifikasi adanya golongan senyawa fenol, flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid dimana golongan tersebut yang berpengaruh sebagai antihiperkolesterol dan antioksidan. Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan fenol yaitu sebanyak 22,46% dari 18 senyawa fenol. Senyawa fenol yang terdeteksi memiliki kandungan tertinggi adalah *fumaric acid* dengan komposisi 1,86869%. Fenol merupakan senyawa yang menempel pada cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas memiliki kemampuan membentuk radikal fenoksi yang stabil pada reaksi oksidasi sehingga fenol sangat potensial sebagai antioksidan (Putri, 2021).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat digunakan untuk menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak (Parwata, 2016). Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal

bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Potensinya sebagai antioksidan menyebabkan fenol memungkinkan dapat mencegah teroksidasinya kolesterol LDL sebagai tahap awal terjadinya aterosklerosis (Yunarto dkk., 2019).

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan flavonoid yaitu 43,33% dari 32 senyawa flavonoid, golongan tersebut merupakan golongan senyawa terbanyak yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya yang dapat berpengaruh besar terhadap antihiperkolesterol. Senyawa flavonoid salah satu jenis kelompok senyawa terbesar yang terdapat pada tanaman, kelompok flavonoid ada sekitar 10.000 jenis flavonoid yang teridentifikasi dalam tanaman, flavonoid merupakan senyawa yang penting bagi tanaman yaitu untuk melindungi tanaman dari serangan jamur parasit, patogen dan melindungi tanaman dari cahaya tampak yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif (Fatimah dkk., 2020). Golongan flavonoid dari hasil LC-MS memiliki kandungan senyawa tertinggi yaitu *quercetin* dengan komposisi sebesar 2,4791 %. *Quercetin* merupakan salah satu zat aktif golongan flavonoid yang memiliki aktivitas biologis yang kuat, senyawa *quercetin* ini berfungsi sebagai menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara mengoksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL) sehingga membentuk sel busa dan tidak terjadi kerusakan lipid (Rustanti dkk., 2021).

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

contohnya yaitu melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 releates factor 2* (Nrf2) (Shinta & Kusuma, 2015).

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya terhadap golongan tanin yaitu 11,47% dari 8 senyawa tanin. Tanin merupakan salah satu senyawa golongan polifenol yang banyak dijumpai pada tanaman. Tanin dapat didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000 g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein, senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Tanin memiliki peranan biologis karena berfungsi sebagai pengendap protein dan pengelut logam (Hidayah, 2016). Tanin memiliki kemampuan dalam mengendapkan suatu protein, karena tanin dan molekul protein mengandung banyak gugus ikatan fungsional yang kuat, yang menimbulkan ikatan silang yang besar dan kompleks, tanin secara alami dapat larut dalam air dan dapat memberi warna yang bervariasi dari warna terang sampai merah tua atau warna coklat, karena setiap turunan tanin memiliki warna yang berbeda tergantung dari sumbernya (Kurniawan & Zahra, 2021).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer *gallic* dan *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul glukosa, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa catechin dan gallocatechin (Noer dkk., 2018). Golongan tanin dari hasil LC-MS memiliki kandungan senyawa tertinggi yaitu *3-O-galloylepigallocatechin-(4 β →8) epigallocatechin-3-O-gallate* dengan komposisi 1,92455%. Mekanisme kerja tanin sebagai antihiperkolesterol yaitu bekerja menghambat penyerapan lemak di usus dengan cara bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus. Selain itu, tanin dapat mengendapkan mukosa protein di permukaan usus halus sehingga mengurangi efektivitas penyerapan kolesterol dan lemak (Artha dkk., 2017).

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan saponin yaitu 1,12% dari 1 senyawa saponin. Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman bagian akar, kulit, daun, biji, dan buah yang dapat berfungsi sebagai pertahanan.

Keberadaan senyawa saponin identik dengan rasa pahit, pembentukan busa yang stabil pada larutan cair dan mampu membentuk molekul dengan kolesterol. Tanaman yang belum masak memiliki kandungan tanin yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang sudah masak. Saponin terdiri dari gula yang biasanya mengandung glukosa, galaktosa, asam glukuronat, xylosa, rhamnosa, atau methylpentosa yang berikatan dengan hydrophobic aglycone (sapogenin) yaitu steroid atau triterpenoid membentuk glikosida (Hidayah, 2016).

Biji pepaya teridentifikasi mengandung senyawa saponin yang merupakan salah satu senyawa yang poten memiliki aksi hipolipodemi. Golongan saponin yang teridentifikasi memiliki kandungan yang tinggi yaitu senyawa sambunigrin dengan komposisi 1,12490%, mekanisme kerja saponin (*sambunigrin*) sebagai antihiperkolesterol yaitu bekerja dengan menurunkan kadar kolesterol di plasma melalui proses penghambatan absorpsi kolesterol di usus. Saponin diketahui dapat memiliki aksi yang mirip dengan resin, sehingga dapat menurunkan sirkulasi enterohepatik dari asam empedu (Saputri dkk., 2017).

Total komposisi yang diperoleh dari deteksi dan identifikasi ekstrak biji pepaya pada golongan alkaloid yaitu 10,38% dari 4 senyawa alkaloid. Golongan alkaloid yang teridentifikasi dengan komposisi tertinggi yaitu carpaine sebesar 3,12924%. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Senyawa alkaloid sebagian besar bersumber dari tumbuhan terutama tumbuhan dengan spesies *angiosperm*. Spesies *angiosperm* mengandung senyawa alkaloid lebih dari 20%, senyawa alkaloid dapat ditemukan pada tanaman seperti bunga, daun, biji, ranting, akar, dan kulit batang. Alkaloid yang terdapat pada tanaman berfungsi sebagai racun yang dapat melindungi dari serangga dan herbivora, faktor pengatur pertumbuhan, dan senyawa simpanan yang menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan oleh tanaman (Ningrum dkk., 2016).

Mekanisme kerja alkaloid (*carpaine*) sebagai antihiperkolesterol yaitu bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen seperti senyawa flavonoid. Senyawa tersebut dapat menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses. Berkurangnya enzim lipase pankreas dapat mengurangi deposit trigliserida yang masuk dari usus halus karena

enzim tersebut mengubah trigliserida menjadi dua monogliserid dan dua asam lemak bebas sehingga dapat masuk ke dalam pembuluh darah (Artha dkk., 2017).

4.6 Uji Efektivitas Terhadap Kadar Kolesterol HDL

Pengujian *in vivo* dilakukan dengan hewan coba tikus galur *Sprague Dawley* dengan pertimbangan, tikus memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit, dan kecemasannya (Rejeki dkk., 2019). Tikus galur *Sprague Dawley* ini merupakan jenis outbred tikus albino serbaguna secara ekstensif dalam riset medis. Keuntungan utamanya adalah ketenangan dan kemudahan penanganannya (Maula, 2014). Hewan coba yang digunakan telah memepertimbangkan etika hewan yang harus memenuhi prinsip 3R yaitu *Replacement*, *Reduction*, dan *Refinement* (Kholifah, 2022). Perlakuan terhadap tikus yaitu dilakukan proses aklimatisasi selama ± 7 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan tempat penelitian. Tikus diberikan pakan standart 511 sebanyak 20 gram dan air minum *aquadest ad libitum*. Setelah masa aklimatisasi, tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol positif, kontrol negatif, uji dosis 150 mg/kgBB, uji dosis 300 mg/kgBB, dan 450 mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

Metode yang digunakan untuk pengujian peningkatan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus yaitu dengan cara tikus dibuat hiperkolesterol yang diinduksi dengan pemberian makanan tinggi lemak dengan menggunakan lemak babi 5% dan pakan standart 95% dengan cara lemak babi di cairkan terlebih dahulu kemudian diberikan pakan standart, pemberian pakan tinggi lemak dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung sampai tikus mengalami hiperkolesterol (Wulandari dkk., 2015). Komposisi makanan hiperkolesterol tersebut dipilih karena mengandung lemak yang tinggi sehingga dapat meningkatkan kadar kolesterol. Fauzana (2015), menyebutkan pada penelitian sebelumnya, bahwa penambahan lemak pada proses penginduksian dapat meningkatkan kadar kolesterol, lemak babi memiliki kandungan asam lemak jenuh sekitar 38-43%. Tikus diinduksi dengan makanan hiperkolesterol selama 14 hari terhadap semua kelompok, jika pemberian lemak babi dalam waktu jangka panjang dapat menyebabkan kematian terhadap hewan coba (Witosari, 2014). Setelah 14 hari proses penginduksian, tikus diberikan suspensi

simvastatin untuk kelompok kontrol positif dan suspensi ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) pada kelompok uji berbagai dosis selama 14 hari.

Setelah dilakukannya perlakuan penginduksian dan pengobatan terhadap tikus, dilanjutkan dengan proses pengambilan sampel darah tikus. Sebelum proses pengambilan sampel darah tikus dan dilakukan proses anestesi menggunakan ketamine dan xylazine melalui *intraperitoneal* (IP) karena tidak menyebabkan peradangan peritonium dan kerusakan hati meskipun masih ditemukan nekrosis otot akut di tempat injeksi. Rute pemberian *intraperitoneal* direkomendasikan pada tikus karena dapat memberikan penyerapan yang cepat sehingga memungkinkan induksi anestesi yang cepat (Krissanti dkk., 2023). Tikus sebelum di anestesi dan diambil sampel darah dipuaskan terlebih dahulu selama \pm 12 jam hal ini dilakukan untuk menghindari reflek muntah yang disebabkan oleh penggunaan obat anestesi (Yudaniayanti dkk., 2010).

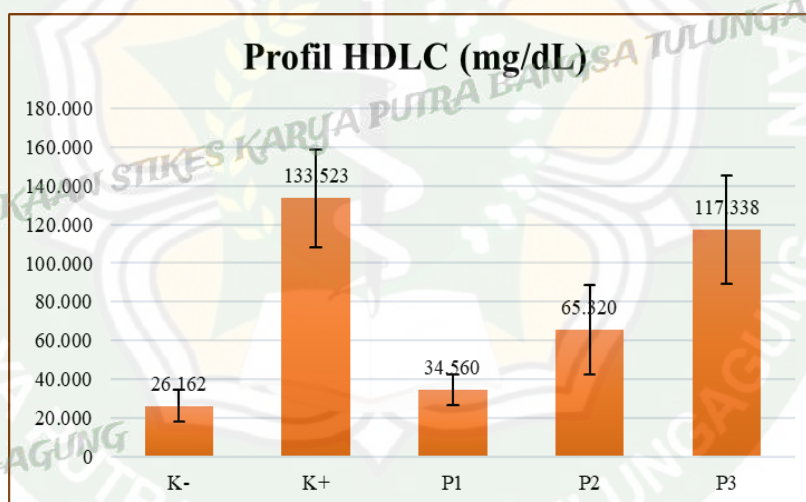
Ketamine merupakan salah satu jenis obat anestesi yang dapat digunakan pada hampir semua jenis hewan. Ketamine dapat menimbulkan efek yang membahayakan yaitu takikardia, hipersalivasi, meningkatkan kejang otot, nyeri pada tempat penyuntikan, dan bila dosis berlebih maka akan menyebabkan pemulihan berjalan lambat dan membahayakan. Efek samping tersebut yang tidak diinginkan dapat diatasi dengan mengkombinasi obat-obatan dan mengambil kelebihan masing-masing sifat (Yudaniayanti dkk, 2010). Kombinasi yang paling sering digunakan untuk anestesi terhadap hewan coba yaitu ketamine dan xylazine, kedua obat anestesi ini merupakan agen kombinasi yang saling melengkapi antara efek analgesik dan relaksasi otot yang baik. Penggunaan xylazine dapat mengurangi sekresi saliva dan peningkatan tekanan darah yang diakibatkan oleh penggunaan ketamine. Penggunaan kombinasi ketamine dan xylazine sebagai anestesi umum memiliki banyak keuntungan yaitu mudah dalam pemberian, ekonomis, induksinya cepat begitu pula dengan pemulihannya, mempunyai pengaruh relaksasi yang baik dan jarang menimbulkan komplikasi klinis (Krissanti dkk., 2023).

Setelah proses anestesi dilakukan proses pengambilan sampel darah tikus melalui *intracardia* atau melalui jantung tikus dan dilanjutkan dengan proses pengukuran kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL). Pengukuran kadar

kolesterol darah tikus dilakukan dengan proses metode *Direct Enzymatic Colorimetric Test* dengan alat spektrofotometer UV-Visible yang diperoleh berupa kadar. Pengukuran kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) dilakukan satu kali yaitu pada hari ke-29 yang diperoleh berupa kadar. Hasil pengukuran kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* dapat dilihat pada **Tabel 4.7**. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan selama 28 hari dapat memberikan efek terhadap kadar kolesterol HDL yang disajikan pada **Grafik 4.1**

Tabel 4.7 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol HDL

Kode Sample	Profil HDLC (mg/dl)						Rerata
	1	2	3	4	5	6	
K-	16.17	27.56	17.96	26.61	52.24	14.43	26.162
K+	141.69	152.28	149.68	154.54	96.6	106.35	133.523
P1	28.17	34.18	43.54	38.93	22.41	40.13	34.560
P2	91.75	81.55	32.24	81.4	56.9	48.08	65.320
P3	156.61	133.41	86.75	89.62	104.19	133.45	117.338



Keterangan :

- K- = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi
- K+ = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Simvastatin 10 mg
- P1 = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Ekstrak Biji Pepaya 150 mg/KgBB
- P2 = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Ekstrak Biji Pepaya 300 mg/KgBB
- P3 = Pakan Standart (511) + Induksi Lemak Babi + Ekstrak Biji Pepaya 450 mg/KgBB

Grafik 4.1 Rerata Kadar HDLC Setelah Perlakuan

Berdasarkan pemeriksaan patologi klinik yang dimaksudkan untuk mengetahui gambaran kimia darah dari hewan percobaan yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, perlakuan variasi dosis 150 mg/KgBB, dosis 300 mg/KgBB, dan 450 mg/KgBB. kelompok tikus diberikan perlakuan penginduksian lemak babi selama 14 hari dan pemberian pengobatan simvastatin pada kelompok kontrol positif dan pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan variasi dosis 150 mg/KgBB, 300 mg/KgBB, dan 450 mg/KgBB pada kelompok perlakuan selama 14 hari. Kelompok kontrol negatif yang terdapat pada penelitian ini diperoleh rerata 26.162 mg/dl. Hasil kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) diperoleh masih rendah dibandingkan dengan semua kelompok. Hal ini terjadi karena kelompok kontrol negatif hanya diberikan induksi lemak babi dan tidak ada aktivitas farmakologi seperti kelompok perlakuan lainnya.

Kelompok kontrol positif digunakan untuk membandingkan efektivitas peningkatan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) antara obat sintesis simvastatin dengan ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan variasi dosis yang digunakan. Hasil rerata kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) yaitu sebesar 133.523 mg/dl. Pemberian simvastatin pada kelompok kontrol positif memiliki efek lebih tinggi dan menunjukkan peningkatan yang paling tinggi yaitu rata-rata sebesar 133.523 mg/dl dibandingkan dengan 3 kelompok perlakuan variasi dosis uji yaitu perlakuan dosis 150 mg/KgBB (34.560 mg/dl), dosis 300 mg/KgBB (65.320 mg/KgBB), dan dosis 450 mg/KgBB (117.338 mg/dl). Simvastatin merupakan obat antihiperkolesterol yang telah terbukti khasiatnya bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase dan merupakan obat pilihan yang efektif untuk menurunkan kadar kolesterol LDL sehingga kadar HDL meningkat (Hariadini dkk., 2020). Selain pemberian obat sintesis dapat dilakukan dengan pengobatan herbal yaitu pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kelompok perlakuan 1 dosis 150 mg/KgBB, perlakuan 2 dosis 300 mg/KgBB, dan perlakuan 3 dosis 450 mg/KgBB.

Kelompok perlakuan variasi dosis ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) berdasarkan data rerata kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) diperoleh rerata kadar kolesterol dengan perlakuan dosis 150 mg/KgBB (34.560

mg/dl), perlakuan dosis 300 mg/KgBB (65.320 mg/KgBB), dan perlakuan dosis 450 mg/KgBB (117.338 mg/dl). Peningkatan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) setelah pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terjadi karena dalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang mengandung golongan senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang memberikan efek sebagai antihiperkolesterol (Alaydrus dkk., 2020).

Flavonoid bekerja sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase sehingga sintesis kolesterol menurun, pada saat kolesterol ditranspor dari usus ke hati maka HMG-CoA reduktase yang bertugas mengubah asetil-koA menjadi mevalonat dalam sintesis kolesterol akan terhambat sehingga produk sintesis kolesterol oleh hati berkurang (Artha dkk., 2017). Tanin memiliki efek antihiperkolesterol yang kuat yaitu bekerja dengan cara mereduksi absorpsi kolesterol di usus. Selain itu tanin memiliki aksi mengikat asam empedu sehingga dapat menurunkan kolesterol di plasma, tanin membentuk gel dalam usus halus dan mengikat lemak, kolesterol, dan asam empedu, sehingga asam empedu tidak bisa diserap dalam usus halus sehingga terbuang melalui usus besar (Saputri dkk., 2017). Saponin berkaitan dengan kolesterol pada lumen intestinal dapat reabsorpsi kolesterol. Saponin dapat berikatan dengan asam empedu sehingga dapat menurunkan absorpsi kolesterol dalam tubuh dan dapat mempengaruhi biosintesis kolesterol dihati (Alaydrus dkk., 2020). Alkaloid dapat bekerja dengan menghambat aktivitas enzim lipase pankreas sehingga meningkatkan sekresi lemak melalui feses yang mengakibatkan penyerapan lemak dihati terhambat sehingga tidak dapat diubah menjadi kolesterol (Artha dkk., 2017).

Hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki aktivitas terhadap kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) yang dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang memiliki efek sebagai antihiperkolesterol. Dosis ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) 450 mg/KgBB pada perlakuan 3 dengan rerata 117.338 mg/dl menunjukkan dosis yang efektif untuk meningkatkan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) dibandingkan dengan dosis perlakuan 1 (150 mg/KgBB) dengan rerata

34.560 mg/dl dan dosis perlakuan 2 (300 mg/KgBB) dengan rerata 65.320 mg/dl. Hal ini dapat dijelaskan bahwa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) pada perlakuan 3 dengan dosis 450 mg/KgBB memiliki efektivitas yang hampir sama dengan pemberian simvastatin yang terdapat pada kelompok kontrol positif, perbedaan hasil yang didapatkan pada setiap kelompok dapat dipengaruhi oleh respon hewan coba, asupan pakan, dan kekebalan tubuh hewan.

4.7 Analisis Data

Hasil pengukuran kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan sistem komputerisasi menggunakan program SPSS (*Statistical Product Service Solution*). Uji normalitas digunakan untuk mengetahui suatu data yang akan dianalisis terdistribusi secara normal atau tidak (Ginting & Silitonga, 2019) hasil uji normalitas dapat dilihat pada **Lampiran 15**. Berdasarkan tabel output SPSS tersebut, diketahui bahwa nilai signifikansi Asymp.Sig (2-tailed) diperoleh nilai $p=0,155$ ($p \geq 0,05$). Maka sesuai dengan dasar pengambilan keputusan dalam uji normalitas *kolmogorov-spirnov* di atas, dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal. Dengan demikian, asumsi atau persyaratan normalitas dalam model regresi sudah terpenuhi. Pengujian ini dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk mengetahui apakah varian populasi memiliki varian sama atau tidak (Usmadi, 2020). Hasil uji homogenitas diperoleh nilai $p=0,012$ ($p \geq 0,05$) yang berarti data tidak memiliki varian populasi yang sama, pengujian ini dilanjutkan pada uji non parametrik yaitu *Kruskal Wallis* yang digunakan untuk pengujian analisis perbandingan untuk menguji lebih dari dua kelompok sampel (Quraissy & Hasni, 2021). Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p=0,000$ ($p \leq 0,05$) yang berarti ada perbedaan yang bermakna. Pengujian ini dilanjutkan dengan uji Tukey Lanjutan yang digunakan untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah pengujian analisis varian dilakukan (Usmadi, 2020). Hasil uji Tukey Lanjutan didapatkan kelompok kontrol positif simvastatin dengan perlakuan dosis 150 mg/KgBB dan 300 mg/Kg/BB diperoleh nilai $p=0,000$ ($p \leq 0,005$) maka menunjukkan ada perbedaan yang bermakna, kelompok kontrol positif simvastatin dengan perlakuan dosis 450 mg/KgBB diperoleh nilai $p=0,706$ ($p \leq 0,05$) maka tidak ada perbedaan yang bermakna.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

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

1. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki aktivitas terhadap kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) pada tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* dilihat pada rerata kelompok perlakuan P₁ 34.560 mg/dl, P₂ 65.350 mg/dl, P₃ 117.338 mg/dl.
2. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan dosis 450 mg/kgBB (P₃) dengan rerata 117.338 mg/dl merupakan dosis yang efektif meningkatkan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL) dan hampir sebanding dengan dengan penggunaan simvastatin 10 mg pada kelompok perlakuan kontrol positif (K+) dengan hasil rerata 133.523 mg/dl.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu adanya dilakukan pengujian uji kualitatif lengkap terhadap kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*).
2. Perlu dilakukan orientasi dosis uji ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL).
3. Perlu dilakukan pengukuran kadar kolesterol hari ke-0,7,14,28 untuk mengetahui peningkatan kadar kolesterol yang tinggi.
4. Perlu dilakukan inovasi obat jadi yang digunakan sebagai pengobatan herbal untuk dijadikan suatu produk yang bermanfaat serta dilakukan pengujian terhadap manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani¹, A. P., & Nurulita, Y. (2020). Pola TIC (Total Ion Current) LCMS-MS Ekstrak Etilasetat dari Produksi Metabolit Sekunder *Penicillium* sp. LBKURCC34 dengan Variasi Konsentrasi Glukosa. *Repository Universitas Riau, Ekstrak C*, 1–8.
- Agustina, D., & Murwani, H. (2013). Pengaruh Pemberian Jus Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Rasio Kolesterol Ldl:Hdl Tikus Sprague Dawley Dislipidemia. *Journal of Nutrition*, 2(3), 302–311.
- Alaydrus, S., Pagal, F. R. P. A., Dermiati T, & Ervianingsih. (2020). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Penurunan Kadar Kolesteroltotal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia Diabetes. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 405–412.
- Angelia, I., O. (2018). Uji Karakteristik Kopi Non Kafein Dari Biji Pepaya Dengan Variasi Lama Penyinaran. *Journal of Agritech SelenceAgritech Selence*, 2(1), 16–29.
- 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.
- Artha, C., Mustika, A., & Sulistyawati, S. W. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Singawalang Terhadap Kadar LDL Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia. *EJournal Kedokteran Indonesia*, 5(2), 105–109. <https://doi.org/10.23886/ejki.5.7151>.
- Astuti, D. A. (2015). Diet untuk hewan model. *Bogor. IPB Press., Edisi 1. J*(3), 1–37.
- Azis, T., Febrizky, S., & Mario, A. D. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yieldalkaloiddari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*). *Teknik Kimia*, 20(2), 1–6.
- BPOM. (2014). Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan*, 1–25.
- BPOM. (2021). Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 18 Tahun 2021 Tentang Pedoman Uji Farmakodinamik Praktikum Obat Tradisional. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI*, 1, 15–24.
- BPOM RI. (2021). Persyaratan Keamanan Dan Mutu Obat Tradisional. *Bpom Ri*, 11, 1–16.
- Cahaya, G., & Ayu, P. R. (2017). Pengaruh Jus Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap Kadar Kolesterol Darah pada Dislipidemia The Effect of Papaya Seed (*Carica papaya L.*) Juice to Blood Cholesterol Levels on Dyslipidemia Rats. *Majority*, 7(1), 77–82.
- 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>
- Christalina, I., Susanto, T. E., Ayucitra, A., & Setiyadi. (2013). Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Alami Ekstrak Fenolik Biji Pepaya. *Jurnal*

- Ilmiah Widya Teknik*, 12(2), 18–25.
- Darwin, E. (2014). Etik Penelitian Kedokteran/Kesehatan. *Suplemen Majalah Kedokteran Andalas*, 37(1), 26–38.
- Erwinanto, Santoso, A., Putranto, J. N., Tedjasukmana, P., Suryawan, R., Rifqi, S., & Kasiman, S. (2015). Pedoman Tatalaksana Dislipidemia PERKI 2013. *Indonesian Journal of Cardiology*, 34(4), 245–270. <https://doi.org/10.30701/ijc.v34i4.385>
- Erwinanto, Santoso, A., Putranto, N. E., Tedjasukmana, P., Suryawan, R., Rifqi, S., & Kasiman, S. (2013). Pedoman Tatalaksana Dislipidemia. In *Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia*. <https://doi.org/10.1136/bcr.09.2008.0970>
- Fatimah, Martha, R. D., & Kusumawati, A. (2020). Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete*) dengan LCMS. *Cheesa : Chemical Engineering Research Articles*, 3(2), 88. <http://e-journal.unipma.ac.id/index.php/cheesa>
- Fauzana, D. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Pada Tikus Jantan Yang Diinduksi Pakan Hiperkolesterol. *Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi*.
- Febriana, F., & Oktavia, A. I. (2019). *Perbedaan Kadar Flavonoid Total Dari Ekstrak Daun Kejibeling (Strobilantus Crispa L. Blume) Hasil Metode Maserasi Dan Perkolasi*. 1–8.
- Gani, N., Moumat, L., & Pitoi, M. (2013). Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal MIPA*, 2(1), 44. <https://doi.org/10.35799/jm.2.1.2013.765>
- Ginting, M. C., & Silitonga, Ivo maelina. (2019). Pengaruh Pendanaan Dari Luar Perusahaan dan Modal Sendiri Terhadap Tingkat Profitabilitas pada Perusahaan Property And Real Estate Yang Terdaftar di Bursa Efek Indonesia. *Jurnal Manajemen*, 5(2), 195–204. <http://ejournal.lmiimedan.net/index.php/jm/article/view/69>
- Handajani, F. (2021). *Metode Pemilihan dan pembuatan hewan model beberapa penyakit pada penelitian eksperimental*.
- Handayani, S., Wirasutisna, K. R., & Insanu, M. (2017). *Penapisan Fitokimia Dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar*. 5(3), 10.
- Hariadini, A. L., Sidharta, B., Ebtavanny, T. gusti, & Minanga, E. putri. (2020). Hubungan Tingkat Pengetahuan Dan Ketepatan Penggunaan Obat Simvastatin Pada Pasien Hiperkolesterolemia Di Apotek Kota Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 005(02), 91–96. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.4>
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2), 166–174. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Utilization of Plant Secondary Metabolites Compounds (Tannin and Saponin) to Reduce Methane Emissions from Ruminant

- Livestock, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Bengkulu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2), 89–98.
- Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat *Zibethinus folium* Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*, 3(1), 7. <https://doi.org/10.51804/jsh.v3i1.333.7-14>
- Hujjatusnaini, N., Ardiansyah, Indah, B., Afritri, E., & Widyastuti, R. (2021). *Buku Referensi Ekstraksi* (Vol. 4, Issue 1).
- Hutadjulu, D. T., Panjaitan, D. R., Sitanggang, D. M. L., Anaya, drg A., Anggraini, R., & Irawati, D. R. (2020). *Farmakope Indonesia edisi VI. In Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Isnania, I. (2014). Aktivitas Diuretik Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus. Pharmacon*, 3(3), 188–195. <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/viewFile/5416/4923>
- Jim, E. L. (2014). Metabolisme Lipoprotein. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 5(3). <https://doi.org/10.35790/jbm.5.3.2013.4335>
- Kartika. (2015). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1), 1–5. <https://doi.org/10.26874/kjif.v3i1.90>
- Khoiriyah, D., Maryusman, T., & Herlina, S. (2020). Pengaruh Sinbiotik Kefir Pisang Batu Terhadap Kadar Kolesterol-Ldl Dan Kolesterol-Hdl Tikus Model Sindrom Metabolik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 7(2), 280–288. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v7i2.3781>
- Kholifah, N. (2022). Efektivitas Dan Formulasi Sediaan Facialwash Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*) Terhadap Variasi Gelling Agent Secara In Vivi. In *Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung*.
- Krissanti, I., Hanifa, R., & Dwiwina, R. G. (2023). *Efektivitas dan Pengaruh Kombinasi Anestesi Ketamine-Xylazine pada Tikus (Rattus norvegicus)*. 18, 245–252.
- Kumalasari, E., Yugo, Susanto, Rahmi, M. Y., Febrianty, & Febrianty, D. R. (2019). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Ramania* (*Bouea macrophylla* Griffith) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Mencit Putih (*Mus muscullus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Journal Current Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 2598–2095.
- Kurniawan, I., & Zahra, H. (2021). Review: Gallotannins; Biosynthesis, Structure Activity Relationship, Anti-inflammatory and Antibacterial Activity. *Current Biochemistry*, 8(1), 1–16. <https://doi.org/10.29244/cb.8.1.1>
- Kurniawati, E. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193–199.
- Lainsamputty, F., & Gerungan, N. (2022). Korelasi Gaya Hidup dan Stres Pada Penderita Hiperkolesterolemia. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11, 138–146. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.719>
- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, Y., & Sahidin, S. (2019). Analisis Lc-Ms/Ms (Liquid Chromatograph Mass Spectrometry) Dan Metabolit Sekunder Serta Potensi Antibakteri Ekstrak N-Heksana Spons *Callyspongia Aerizusa* Yang

- Diambil Pada Kondisi Tutupan Terumbu Karang Yang Berbeda Di Perairan Teluk Staring. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 131–141. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1126>
- Martunis. (2012). Pengaruh Suhu Dan Lama Pengeringan Terhadap Kuantitas Dan Kualitas Pati Kentang Varietas Granola. *Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 4(3), 26–30.
- Maula, I. F. (2014). Uji Antifertilisasi Ekstrak N-Heksan Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Secara In Vivo. In *Skripsi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Mauti, I. M., R, R. D., & T, R. S. D. (2018). Uji in Vitro Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70 % Biji Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Universitas Nusaa Cendana*, 15, 317–326.
- Meirindasari, N., Murwani R, H., & Tjahjono, K. (2013). Pengaruh Pemberian Jus Biji Pepaya (*Carica Papaya* Linn.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Sprague Dawly Dislipidemia. *Journal of Nutrition College*, 2(3), 330–338. <https://doi.org/10.14710/jnc.v2i3.3434>
- Mukhriani. (2014). Farmaknosi analisis. *Universitas Islam Negeri (IUN) ALuddin*, 1–188. <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/438>
- Mulyani, N. S., Al Rahmad, A. H., & Jannah, R. (2018). Faktor resiko kadar kolesterol darah pada pasien rawat jalan penderita jantung koroner di RSUD Meuraxa. *Action: Aceh Nutrition Journal*, 3(2), 132. <https://doi.org/10.30867/action.v3i2.113>
- Muthmainah. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi Poltekkes Makassar*, XIII(2), 1–14.
- Nahor, E. M., Rumagit, B. I., & Tou, H. Y. (2020). Comparison of the Yield of Andong Leaf Ethanol Extract (*Cordyline fruticosa* L.) Using Maceration and Sokhletation Extraction Methods. *Journal Poltekkes Manado*, 1(1), 40–44.
- Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono. (2016). Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Sebagai Bahan Ajar Biologi Untuk SMA Kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3), 231–236.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19–29. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3>
- Nurmawati, T. (2016). Hubungan Berat Badan dan Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) setelah diberikan Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Ners Dan Kebidanan (Journal of Ners and Midwifery)*, 3(3), 202–206. <https://doi.org/10.26699/jnk.v3i3.art.p202-206>
- Nurzaman, F., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2018). Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 85–93. <https://doi.org/10.22435/jki.v8i2.325>
- Nwangwa, E. K., & Ekhoeye, E. I. (2013). Anti-Hyperlipidemic Activity of Aqueous Extract of *Carica Papaya* Seed in Albino Rats fed with High Fat Diet. *Current Trends in Technology and Science*, II(III), 262–266.

- Parwata, M. O. A. (2016). Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana, April*, 1–54.
- Penusa, H. S. (2014). Sistem pakar mendiagnosa penyakit kolesterol pada remaja dengan metode certainty factor (Cf) berbasis web. *E-Jurnal Manitik Penusa*, 15(1), 16–23. <https://e-jurnal.pelitanusantara.ac.id/index.php/mantik/article/view/161/0>
- Perdana, I. Y. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* Lam.) Dan Penetapan Kadar Flavonoid Totalnya. *Bitkom Research*, 63(2), 1–3. http://forschungsunion.de/pdf/industrie_4_0_umsetzungsempfehlungen.pdf%0Ahttps://www.dfki.de/fileadmin/user_upload/import/9744_171012-KI-Gipfelpapier-online.pdf%0Ahttps://www.bitkom.org/sites/default/files/pdf/Presse/Anhaenge-an-PIs/2018/180607-Bitkom
- Peristiwati, D. Y., & Puspitasari, Y. (2018). POTENSI DAUN PEPAYA dalam Menjaga Kesehatan Reproduksi Wanita. In *Indomedia Pustaka* (Vol. 4, Issue 1).
- Pranoto, E., Lady, D., & Handoyo, Y. (2019). Pengaruh Ukuran Serbuk Terhadap Karakteristik Rendaman Serbuk Daun *Azadirachta Indica* Dalam Minyak Zaitun *Effect Of Powder Size On Characteristic Azadirachta Indica Leaves Of Immersion On Olive Oil*. 1(1), 14–20.
- Putri, N. (2021). Penetapan Kadar Total Fenolik, Flavonoid, dan Karotenoid Ekstrak Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus Littolaris* Hassk.). In *Skripsi UIN Alauddin Makasar*.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etik asetat kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* L.). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56–59.
- Quraisy, A., & Hasni, N. (2021). Analisis Kruskal-Wallis Terhadap Kemampuan Numerik Siswa. *VARIANSI: Journal of Statistics and Its Application on Teaching and Research*, 3(3), 156–161. <https://doi.org/10.35580/variansiunm29957>
- Rafsanjani, M. S., Asriati, A., Kholidha, A. N., & Alifariki, L. O. (2019). Hubungan Kadar High Density Lipoprotein (HDL) Dengan Kejadian Hipertensi. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 13(2), 74–81. <https://doi.org/10.33533/jpm.v13i2.1274>
- Ramdani, D., majuki, marjuki, & Chuzaeami, S. (2017). Pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada pakan terhadap viabilitas protozoa dan produksi gas in-vitro. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 27(2), 54–62. <https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2017.027.02.07>
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah, A. (2018). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*, 2(2), 35–48. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.1>
- Rochani, nita U. M. 2019. (2009). *Uji aktivitas antijamur ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) terhadap Candida albicans serta skrining*. 1–17.
- Rustanti, E., Puspita, E., Puspita, S., & Rohmani, S. (2021). Pemanfaatan

- Tanaman Herbal Daun Alpukat Dan Pemeriksaan Kolesterol Darah Pada Lansia. *Frontiers in Neuroscience*, 14(1), 1–13.
- Santoso, A., Hidayati, T., Akrom, A., & Nurani, L. H. (2021). The Effect of Black Cumin Seed Oil on Alanine Aminotransferase Levels which are Influenced by Nutritional Status in Active Smokers. *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 18(2), 432. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v18i2.13256>
- Saputri, L. O., Satriyasa, B. K., Putu, W., & Yasa, S. (2017). Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica Papaya*) Dapat Menurunkan Kadar Kolesterol Total dan Kadar Serumglutamat Piruvat Transaminase (SGPT) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Hiperkolesterolemia. 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.22225/WMJ.2.1.73.1>
- Sari, D. K. (2014). Tanda gejala dan bahaya hiperkolesterolemia. *Tanda Gejala Dan Bahaya Hiperkolesterolemia*, Vol.3(1988), 1–8.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9. <https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659>
- Shinta, A., & Kusuma, W. (2015). The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde. *J Majority*, 4(3), 14.
- Siagian, D. F. E., Wiyanto, D. M., Alfarabi, D. M., Manalu, D. E., & Marlina, D. (2018). *A to Z Hypertension*. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Susan, N. (2016). Penggunaan Dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan. In *Pusat Penelitian Dan Pengembangan Peternakan*.
- Susiana. (2014). Isolasi Dan Identifikasi Klorofil A Dengan Liquid Chromatography Mass Spektroscopy (Lc-Ms) Pada Alga Coklat (*Sargassum filipendula*).
- Susiwati, RS, S., & Farizal, J. (2018). Analisis Kolesterol Low Density Lipoprotein (Ldl) Pada Pengkonsumsi Produk Minuman Herbal “X”• Kota Bengkulu Tahun 2017. *Journal of Nursing and Public Health*, 6(2), 95–99. <https://doi.org/10.37676/jnph.v6i2.661>
- Syamsul, E. S., Anugerah, O., & Supriningrum, R. (2020). Penetapan Rendemen Ekstrak Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* L. Alston) Berdasarkan Variasi Konsentrasi Etanol Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 147–157. <https://doi.org/10.33759/jrki.v2i3.98>
- Tiara, A., Zannah, K., Cundari, L., Miftahul, A., & Santoso, D. (2022). Pengaruh Dosis Biokoagulan Biji Pepaya (*Carica Papaya* L.) Dan Waktu Pengadukan Terhadap Nilai Ph Dan Turbiditas Pada Pengolahan Limbah Cair Tempe.
- Torar, G. M. J., Lolo, W. A., & Citraningtyas, G. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(2), 14–22.
- Usmadi. (2020a). Pengujian Persyaratan Analisis (Uji Homogenitas Dan Uji Normalitas). *Inovasi Pendidikan*, 7(1), 50–62.

- <https://doi.org/10.31869/ip.v7i1.2281>
- Usmadi. (2020b). Uji Tukey dan Uji Scheffee : Uji Lanjut (Post Hoc Test). *Jurnal of Information and Computer Technology Education*, 3(2), 1–9.
- Wahyuni, R., Guswandi, & Rivai, H. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. *Fakultas Farmasi Universitas Andalas (UNAND) Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang*, 6(2), 126–133.
- Wardani, V. K., & Saryanti, D. (2021). Formulasi Transdermal Patch Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) dengan Basis Hydroxypropil Metilcellulose (HPMC). *Smart Medical Journal*, 4(1), 38. <https://doi.org/10.13057/smj.v4i1.43613>
- Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I. M., & Prastyo, E. (2015). Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) tersertifikasi dalam memenuhi kebutuhan dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratoris Malole dan kewirausahaan. *S-1 Peternakan, Fakultas Peternakan Dan Pertanian, Universitas Diponegoro*, 1–8.
- Witosari, N. (2014). Pengaruh Pemberian Jus Daun Ubi Jalar terhadap Kadar Trigliserida Tikus Wistar Jantan yang diberi Pakan Tinggi Lemak. *Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro*, 3(2008), 473–481.
- Wulandari, L., Susilowati, S., & Amelya, S. (2015). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak dan Gemfibrozil Terhadap Kadar Trigliserida dan HDL Tikus yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*, 1(1), 78–84.
- Wulandari, N. D. (2022). Uji Aktivitas Bakteri Fraksi Daun Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Terhadap Bakteri *Escheria Coli* Atcc 25922 Secara In-Vitro. In *Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung*.
- Wulandari, R. L., Susilowati, S., & Asih, M. (2015). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Dan Simvastatin Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Low Density Lipoprotein (LDL) Tikus Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim Semarang*, 24–32.
- Yennie, E., & Elystia, S. (2013). Pembuatan Pestisida Organik Menggunakan Metode Ekstraksi Dari Sampah Daun Pepaya Dan Umbi Bawang Putih. *Jurnal Dampak*, 10(1), 46. <https://doi.org/10.25077/dampak.10.1.46-59.2013>
- Yunarto, N., Aini, N., Oktoberia, I. S., Sulistyowati, I., & Kurniatri, A. A. (2019). Aktivitas Antioksidan serta Penghambatan HMG CoA dan Lipase dari Kombinasi Ekstrak Daun Binahong-Rimpang Temu Lawak. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 89–96. <https://doi.org/10.22435/jki.v9i2.1930>
- Yuniwati, M., Pratiwi, W., Kusmartono, B., & Sunarsih, S. (2021). Pengaruh Waktu Proses dan Ukuran Bahan terhadap Efektivitas Proses Maserasi Daun *Strobilantes Cusia*. *Jurnal Teknologi*, 15(1), 61–67. <https://doi.org/10.34151/jurtek.v15i1.3570>
- Yurleni. (2018). Penggunaan Beberapa Metode Ekstrak Pada Rimpang Curcuma Untuk Memperoleh Komponen Aktif Secara Kualitatif. *Bitkom Research*, 63(2), 1–3.

http://forschungsunion.de/pdf/industrie_4_0_umsetzungsempfehlungen.pdf
https://www.dfki.de/fileadmin/user_upload/import/9744_171012-KI-Gipfpapier-online.pdf
[https://www.bitkom.org/sites/default/files/pdf/Presse/Anhaenge-an-PIs/2018/180607 -Bitkom](https://www.bitkom.org/sites/default/files/pdf/Presse/Anhaenge-an-PIs/2018/180607-Bitkom)

Zuraida, Z., Candra, A., & Wahab, A. (2021). Hubungan Kadar Kolesterol Total Dan Hipertensi Pada Orang Yang Melakukan Olahraga Senam Jantung Sehat Di Kecamatan Glumpang Tiga. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 26(2), 173–180. <http://www.ufrgs.br/actavet/31-1/artigo552.pdf>



LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Dosis Ekstrak Biji Pepaya

1. Pembuatan Dosis Ekstrak 150 mg

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

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

Pembuatan larutan stok

$$: \text{Vol. maks pemberian} \times \text{jumlah tikus}$$

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

Ekstrak yang ditimbang

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

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

CMC Na 0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus :

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

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

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

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

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

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

3. Pembuatan Dosis Ekstrak 300 mg

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

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

Pembuatan larutan stok

$$: \text{Vol. maks pemberian} \times \text{jumlah tikus}$$

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

Ekstrak yang ditimbang

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

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

CMC Na 0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus :

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

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

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

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

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

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

4. Pembuatan Dosis Ekstrak 450 mg

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

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

Pembuatan larutan stok

$$: \text{Vol. maks pemberian} \times \text{jumlah tikus}$$

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

Ekstrak yang ditimbang

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

Jadi menimbang 48,6 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 30 ml pelarut CMC Na 0,5%.

Volume pemberian berdasarkan berat badan tikus :

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

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

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

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

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

$$f. \frac{205 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 8,1 \text{ ml} = 8,3 \text{ mg}$$

Lampiran 2. Perhitungan Kontrol Positif

Dosis lazim simvastatin : 10 mg

Konversi dosis manusia ke tikus

: dosis lazim x faktor konversi

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

Dosis rata – rata tikus

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

Vol. maks pemberian oral

: 5 ml

Pembuatan larutan stok : vol. maks pemberian x jumlah tikus
 : 5 ml x 6 = 30 ml
 Jumlah simvastatin yang ditimbang : $\frac{30 \text{ mg}}{5 \text{ ml}} \times 0,18$
 : 1,08 mg

Menimbang simvastatin sebanyak 1,08 mg kemudian dilarutkan dalam 30 ml pelarut CMC Na 0,5%.

Jika menggunakan tablet simvastatin maka zat aktif yang ditimbang adalah :

Berat 1 tablet simvastatin 750 mg, maka tablet simvastatin yang ditimbang yaitu $\frac{1,08 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 750 \text{ mg} = 81 \text{ mg}$

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

Volume pemberian :

a. $\frac{211 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 5 \text{ ml} = 5,7 \text{ mg}$

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

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

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

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

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

Lampiran 3. Perhitungan CMC Na 0,5%

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





Lampiran 4. Perhitungan Lemak Babi 5%

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

Lampiran 5. Persetujuan *Ethical Clearance*

	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.usabaya.ac.id
No.: 110/KE/IV/2023	
ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE	
TO WHOM IT MAY CONCERN	
This is to certify that Inang Mahendra has obtained the necessary ethics approvals for the research project entitled “The Effect of Ethanol Extract Papaya Seeds (<i>Carica papaya</i> L.) on Total Cholesterol, Triglyceride, LDL, and HDL Levels in <i>Sprague Dawley</i> Strain White Male Mice (SD)” for the time period March 20, 2023—April 20, 2023. The Ethics Committee expects to be informed about, any serious adverse event occurring in the course of the study or any revision in the protocol.	
Surabaya, 13.04.2023	
	
Dr. rer. nat. Suhisty Emantoko Dwi Putra	
Head of Institutional Ethical Committee University of Surabaya	

Lampiran 6. Determinasi Tanaman

	<p>PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU</p> <p>Jl. Lahor 87 Kota Batu Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id</p>																													
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;">Nomor</td> <td>: 067/ 350/ 102.20/ 2023</td> </tr> <tr> <td>Sifat</td> <td>: Biasa</td> </tr> <tr> <td>Perihal</td> <td>: Determinasi Tanaman Pepaya</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">Memenuhi permohonan saudara :</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;">Nama</td> <td>:</td> </tr> <tr> <td>NIM</td> <td>:</td> </tr> <tr> <td>Fakultas</td> <td>: FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG</td> </tr> </table> <p>1. Perihal determinasi tanaman pepaya</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;">Kingdom</td> <td>: Plantae (Tumbuhan)</td> </tr> <tr> <td>Divisi</td> <td>: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)</td> </tr> <tr> <td>Kelas</td> <td>: Dicotyledonae</td> </tr> <tr> <td>Bangsa</td> <td>: Violales</td> </tr> <tr> <td>Suku</td> <td>: Caricaceae</td> </tr> <tr> <td>Marga</td> <td>: Carica</td> </tr> <tr> <td>Jenis</td> <td>: <i>Carica papaya</i> L.</td> </tr> <tr> <td>Nama Umum</td> <td>: Pepaya (Indonesia), Rente (Aceh), Pertek (Gayo), Pastela (Batak), Embelik (Karo), Gedang (Lampung), Gedang (Sunda), Kates (Jawa), Kates (Madura), Gedang (Bali), Kustela (Banjar).</td> </tr> </table> <p>Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a:Caricaceae-I:<i>C.papaya</i>.</p> <p>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 berlandkai pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompet, tepi bertaju lima, bertabung panjang, putih kekuningan; bunga betina berdiri sendiri, mahkota lepas, kepala putik lima, duduk, bakal buah beruang satu, putih kekuningan. Buah: Buni, bulat memanjang, berdaging, masih muda hijau setelah tua jingga. Biji: Bulat atau bulat panjang, kecil, bagian luar dibungkus selaput yang berisi cairan, masih muda putih setelah tua hitam. Akar: Tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan.</p> <p>3. Bagian yang digunakan : Biji.</p> <p>4. Penggunaan : Penelitian.</p> <p>5. Daftar Pustaka</p> <p>• Van Steenis, CGGJ. 2008. <i>FLORA: untuk Sekolah di Indonesia</i>. Pradnya Paramita, Jakarta.</p> <p>Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.</p> <p style="text-align: right;">Batu, 16 Februari 2023</p> <p style="text-align: center;">KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes. PEMBINA NIP. 19680203 199203 1 004</p> <hr/> <p style="font-size: small;">- UU ITE No 11 Tahun 2008 Pasal 5 Ayat 1 " Informasi Elektronik dan/atau Dokumen Elektronik dan/atau hasil cetaknya merupakan alat bukti hukum yang sah. " - Dokumen ini telah ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat elektronik yang diterbitkan BSR</p> <div style="text-align: right;">  <p>Balai Sertifikasi Elektronik</p> </div>			Nomor	: 067/ 350/ 102.20/ 2023	Sifat	: Biasa	Perihal	: Determinasi Tanaman Pepaya	Nama	:	NIM	:	Fakultas	: FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG	Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)	Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)	Kelas	: Dicotyledonae	Bangsa	: Violales	Suku	: Caricaceae	Marga	: Carica	Jenis	: <i>Carica papaya</i> 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).
Nomor	: 067/ 350/ 102.20/ 2023																													
Sifat	: Biasa																													
Perihal	: Determinasi Tanaman Pepaya																													
Nama	:																													
NIM	:																													
Fakultas	: FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG																													
Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)																													
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)																													
Kelas	: Dicotyledonae																													
Bangsa	: Violales																													
Suku	: Caricaceae																													
Marga	: Carica																													
Jenis	: <i>Carica papaya</i> 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).																													

Lampiran 7. Surat Pernyataan Tempat Penelitian



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

SURAT KETERANGAN

Nomor : 061/SSI/SPN/II/2023
Perihal : Surat Keterangan Peneliti

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

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

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

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

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

Malang, 22/04/2023
Penanggung Jawab Laboratorium,



(drh. Dewi Mariyam)
SIP. 520.11/0005/35.73.406/2023

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

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

laboratorium@satwasehatindonesia.co
www.satwasehatindonesia.co

Lampiran 8. Surat Pernyataan Pembelian Tikus



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

SURAT KETERANGAN

No. 075/SSI/SPN/IV/2023

Yang bertandatangan di bawah ini :

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

Menerangkanbahwa :

Nama : Siti Ainun Nurrohmah
Program Studi : Farmasi
Institusi : Stikes Karya Putra Bangsa, Sumbergempol, Tulungagung
Alamat : Ds. Sumberingin Kidul Kec. Ngunut Kab. Tulungagung

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

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

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

Malang, 12 April 2023
Kepala Laboratorium,




drh. Dewi Mariyam

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

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

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com

Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Profil Kimia Darah HDLC

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

Profil Kimia Darah

Kode Sampel	HDLC (mg/dl)	Normal Range
KN.1	24.37	
KN.2	18.81	
KN.3	15.56	
KN.4	28.78	
KN.5	26.56	
KN.6	39.43	
RERATA	25.585	
K-1	16.17	
K-2	27.56	
K-3	17.96	
K-4	26.61	
K-5	52.24	
K-6	16.43	
RERATA	26.162	
K+1	141.69	≥35 mg / dL
K+2	152.28	
K+3	149.68	
K+4	154.54	
K+5	96.6	
K+6	106.35	
RERATA	133.523	
P1.1	28.17	
P1.2	34.18	
P1.3	43.54	
P1.4	38.93	
P1.5	22.41	
P1.6	40.13	
RERATA	34.560	
P2.1	91.75	
P2.2	81.55	
P2.3	32.24	

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

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

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

P2.4	81.4
P2.5	56.9
P2.6	48.08
RERATA	65.320
P3.1	156.61
P3.2	133.41
P3.3	86.75
P3.4	89.62
P3.5	104.19
P3.6	133.45
RERATA	117.338

	INCREASE
	DECREASE

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

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

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com

Lampiran 10. Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

Pemeriksaan Berat Badan Hewan Coba Tikus

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

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

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

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com



Laboratorium Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat

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

Nomor Surat Ijin Veteriner : 128 10000 340951 0001

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

laboratorium@satwasehatindonesia.com
www.satwasehatindonesia.com

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



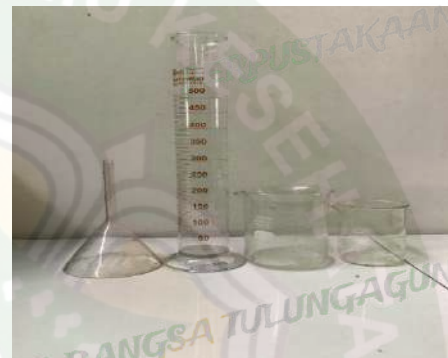
Biji Pepaya



Serbuk Biji Pepaya



Penimbangan Sebuk Simplisia



Alat



Proses Perendaman Simplisia



Proses Pemekatan Rotary Evaporator



Ekstrak Biji Pepaya

Lampiran 12. Skrining Fitokimia



Flavonoid



Tanin



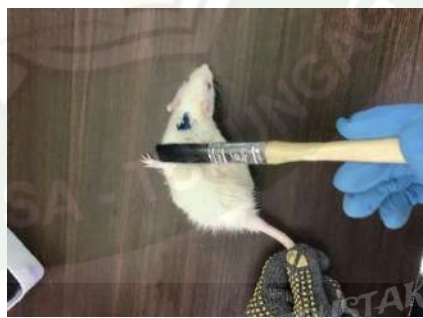
Saponin

Lampiran 13. Uji Bebas Etanol



Lampiran 14. Perlakuan Hewan Coba

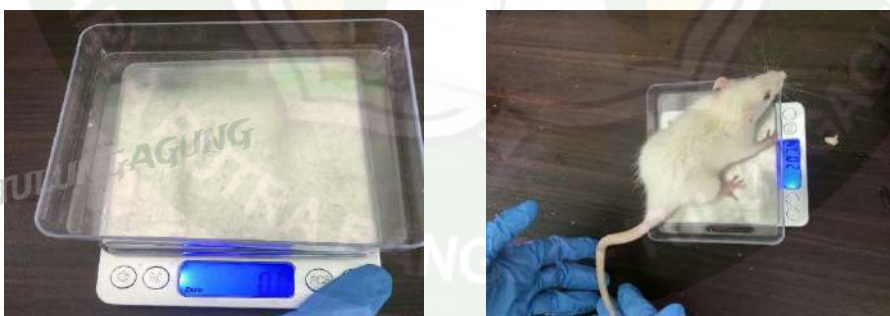
14.1 Penandaan Hewan Coba



14.2 Pengelompokan Hewan Coba



14.3 Penimbangan Berat Badan Hewan Coba



14.4 Pakan 511



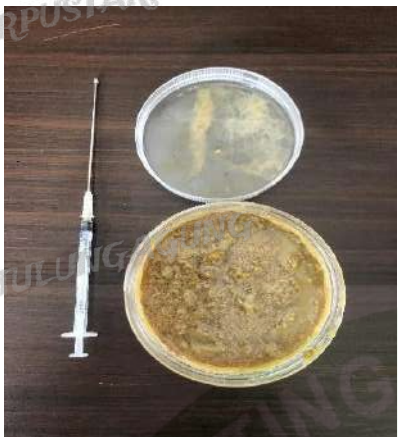
14.5 Pemberian Lemak Babi



14.6 Pemberian Suspensi Simvastatin



14.7 Pemberian Ekstrak Biji Pepaya



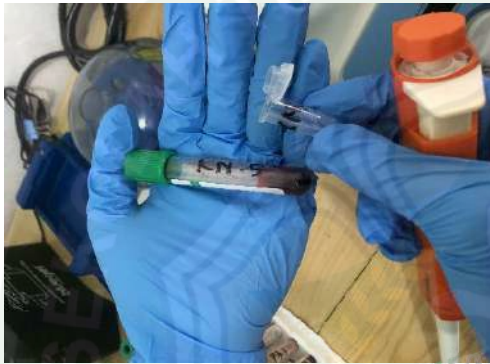
14.8 Anestesia Hewan Coba



14.9 Pengambilan Sampel



14.10 Pemeriksaan Sampel



15. Lampiran Pengolahan Data

15.1 Uji Normalitas

UJI NORMALITAS

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	0E-7
	Std. Deviation	41,51288962
Most Extreme Differences	Absolute Positive	,188
	Negative	-,091
Kolmogorov-Smirnov Z		1,130
Asymp. Sig. (2-tailed)		,155

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

$P \geq 0.05$ yang berarti signifikan (H_1 diterima)

15.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

HDLC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,538	5	30	,012

$P \geq 0.05$ yang berarti signifikan (H_1 diterima)

15.3 Uji Kruskal-Wallis

Ranks			
	Sampel	N	Mean Rank
HDLC	K-	6	8.00
	K+	6	31.67
	P1	6	13.50
	P2	6	20.67
	P3	6	29.00
	Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	HDLC
Kruskal-Wallis	28.667
H	
df	5
Asymp. Sig.	.000
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: Sampel	

$P \leq 0.05$ yang berarti signifikan (H_1 diterima)

15.4 Uji Tukey Lanjutan

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
HDLC	K-	K+	107,36167*	11,27685	,000	141,6613	73,0621
		P1	-8,56333	11,27685	,972	-42,8629	25,7363
		P2	39,15833*	11,27685	,018	-73,4579	4,8587
		P3	91,17667*	11,27685	,000	125,4763	56,8771
	K+	K-	107,36167*	11,27685	,000	73,0621	141,6613
		P1	98,79833*	11,27685	,000	64,4987	133,0979
		P2	68,20333*	11,27685	,000	33,9037	102,5029
		P3	16,18500	11,27685	,706	-18,1146	50,4846
	P1	K-	8,56333	11,27685	,972	-25,7363	42,8629
		K+	98,79833*	11,27685	,000	133,0979	64,4987
		P2	-30,59500	11,27685	,102	-64,8946	3,7046
		P3	82,61333*	11,27685	,000	116,9129	48,3137
	P2	K-	39,15833*	11,27685	,018	4,8587	73,4579
		K+	68,20333*	11,27685	,000	102,5029	33,9037
		P1	30,59500	11,27685	,102	-3,7046	64,8946
		P3	52,01833*	11,27685	,001	-86,3179	17,7187

P3	K-	91,17667*	11,2768 5	,000	56,8771	125,47 63
	K+	-16,18500	11,2768 5	,706	-50,4846	18,114 6
	P1	82,61333*	11,2768 5	,000	48,3137	116,91 29
	P2	52,01833*	11,2768 5	,001	17,7187	86,317 9

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

HDLC

Tukey HSD

KODE SAMPEL	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2,00	6	52.1700
4,00	6	60.2667
5,00	6	68.7550
6,00	6	141.8333
3,00	6	163.2150

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.