

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL, ETANOL DAN KLOROFORM
BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI
ULTRASONIK METODE BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*)**

SKRIPSI

**Oleh:
Umami Nurul Haqiqi
NIM 16630052**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL, ETANOL DAN KLOROFORM
BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI
ULTRASONIK METODE BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*)**

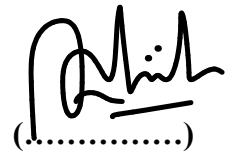
SKRIPSI

Oleh:

**UMMI NURUL HAQIQI
NIM. 16630052**

Telah disetujui oleh:


- 1. Pembimbing I : Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002**
- 2. Pembimbing II : Ahmad Hanapi, M. Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069**



(.....)



**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



**Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL, ETANOL DAN KLOROFORM
BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI
ULTRASONIK METODE BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*)**

SKRIPSI

**Oleh:
UMMI NURUL HAQIQI
NIM. 16630052**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Sains (S. Si)**

Pada Tanggal 27 Mei 2021

- 1. Penguji Utama : Suci Amalia, M. Sc
NIP. 19821104 200901 2 007**
- 2. Ketua Penguji : Dewi Yuliani, M. Si
NIP. 19880711 20160801 2 067**
- 3. Pembimbing I : Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002**
- 4. Pembimbing II : Ahmad Hanapi, M. Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069**


(.....)


(.....)


(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**



**Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ummi Nurul Haqiqi
NIM : 16630052
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Toksisitas Ekstrak Metanol, Etanol dan Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Menggunakan Ekstraksi Ultrasonik Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil pikiran atau karya saya, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Bontang, 30 April 2021
Yang Membuat Pernyataan,



Ummi Nurul Haqiqi
NIM. 16630052

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Hasil Penelitian dengan judul **“Uji Toksisitas Ekstrak Metanol, Etanol dan Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Menggunakan Ekstraksi Ultrasonik Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)”**. Sholawat dan salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang membuka jalan keselamatan untuk kita, serta untuk para keluarga, sahabat, dan ummatnya. Tujuan penyusunan laporan hasil penelitian ini untuk memenuhi salah satu syarat penyusunan skripsi di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Skripsi ini dapat disusun dan diselesaikan atas kontribusi, bantuan, doa, dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia dan dosen pembimbing penelitian dan Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasihat demi tersusunnya laporan hasil penelitian ini.
2. Bapak Abdillah selaku ayah biologis saya yang mendukung secara material maupun immaterial dalam terlaksananya penelitian ini.
3. Ibu Nur Samsiah yang telah memberikan doa dan kasih sayang kepada penulis dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian ini.
4. Teman-teman seperjuangan Kimia 2016 terutama Kimia B yang telah memberikan masukan dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian ini.
5. Kelompok penelitian uji toksisitas yang telah membantu suksesnya penelitian yang penulis lakukan dengan memberi saran dan tidak bosan untuk diajak diskusi mengenai hasil penelitian yang nilainya kadang tidak sesuai dengan harapan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan hasil penelitian ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran akan penulis terima dan mohon maaf kepada semua pihak apabila terdapat kesalahan selama penyusunan.

Bontang, 25 Maret 2021

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | iv |
| KATA PENGANTAR..... | v |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR..... | ix |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| ABSTRAK | xii |
| ABSTRACT | xiii |
| مستخلص البحث..... | xiv |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Batasan Masalah | 4 |
| 1.5 Manfaat penelitian..... | 5 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 6 |
| 2.1 Pemanfaatan Obat dalam Perspektif Islam | 6 |
| 2.2 Deskripsi Pepaya..... | 7 |
| 2.3 Senyawa Aktif Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L..... | 8 |
| 2.4 Ekstraksi Ultrasonik..... | 8 |
| 2.5 Identifikasi Senyawa Aktif Alkaloid..... | 10 |
| 2.5.1 Uji Kualitatif dengan Pereaksi | 10 |
| 2.5.2 Uji Kualitatif dengan Spektrofotometer UV-Vis..... | 11 |
| 2.6 Uji Total Alkaloid | 13 |
| 2.7 Uji Toksisitas Metode BSLT | 13 |
| | |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 17 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian | 17 |
| 3.2 Alat dan Bahan..... | 17 |
| 3.2.1 Alat..... | 17 |
| 3.2.2 Bahan | 17 |
| 3.3 Tahapan Penelitian..... | 18 |
| 3.4 Cara Kerja | 18 |
| 3.4.1 Preparasi Sampel..... | 18 |
| 3.4.2 Analisis Kadar Air | 19 |
| 3.4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Metode Ultrasonik..... | 19 |
| 3.4.4 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi | 20 |
| 3.4.5 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid dengan Spektrofotometer | 20 |
| 3.4.6 Uji Total Alkaloid Metode Pengendapan | 21 |
| 3.4.7 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT..... | 21 |
| 3.4.7.1 Penetasan Larva Udang <i>Artemia salina</i> L..... | 21 |

| | |
|---|-----------|
| 3.4.7.2 Pengukuran Toksisitas | 22 |
| 3.4.8 Analisis Data | 23 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 24 |
| 4.1 Preparasi Sampel..... | 24 |
| 4.2 Analisis Kadar Air | 25 |
| 4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Metode Ultrasonik..... | 25 |
| 4.4 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi..... | 27 |
| 4.5 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid dengan Spektrofotometer | 29 |
| 4.6 Uji Total Alkaloid Metode Pengendapan | 31 |
| 4.7 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT..... | 33 |
| 4.7.1 Penetasan Larva Udang Artemia salina L..... | 33 |
| 4.7.2 Pengukuran Toksisitas | 33 |
| 4.8 Integrasi Hasil Penelitian Terhadap Perspektif Islam | 37 |
| BAB V PENUTUP..... | 39 |
| 5.1 Kesimpulan | 39 |
| 5.2 Saran | 39 |
| DAFTAR PUSTAKA | 41 |
| LAMPIRAN..... | 49 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Biji Pepaya Matang | 7 |
| Gambar 2.2 Kerangka Dasar Alkaloid | 10 |
| Gambar 2.3 Reaksi Pembentukan Kompleks Alkaloid dan BCG..... | 12 |
| Gambar 4.1 Serbuk Biji Pepaya | 24 |
| Gambar 4.2 Hasil Positif Uji Alkaloid..... | 28 |
| Gambar 4.3 Reaksi Dugaan Senyawa Alkaloid Dengan Pereaksi <i>Mayer</i> | 28 |
| Gambar 4.4 Reaksi Dugaan Senyawa Alkaloid Dengan Pereaksi <i>Dragendorff</i> .. | 29 |
| Gambar 4.5 Hasil Identifikasi Dengan Spektrofotometer <i>UV-Visible</i> | 30 |
| Gambar 4.2 Reaksi Alkaloid Dengan Basa..... | 31 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 2.1 Hubungan Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi Terhadap Rendemen .. | 9 |
| Tabel 4.1 Perbandingan Nilai Rendemen Metode Ultrasonik dan Maserasi | 26 |
| Tabel 4.2 Kadar Total Alkaloid Metode Ultrasonik | 31 |
| Tabel 4.3 Kadar Total Alkaloid Metode Maserasi..... | 32 |
| Tabel 4.4 Hubungan Konsentrasi Sampel dan Angka Kematian Larva..... | 34 |
| Tabel 4.5 Nilai LC ₅₀ Metode Ultrasonik..... | 35 |
| Tabel 4.6 Nilai LC ₅₀ Metode Maserasi | 36 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Tahapan Penelitian | 49 |
| Lampiran 2. Diagram Alir..... | 50 |
| Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Reagen dan Larutan | 54 |
| Lampiran 4. Perhitungan Hasil Penelitian | 56 |
| Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian..... | 67 |

ABSTRAK

Haqiqi, U.N. 2021. **Uji Toksisitas Ekstrak Metanol, Etanol dan Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Menggunakan Ekstraksi Ultrasonik Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc.

Kata Kunci : Biji Pepaya, Alkaloid, Ultrasonik, *Artemia salina* L, Metode BSLT

Biji pepaya merupakan tumbuhan yang memiliki aktivitas antikanker karena mengandung berbagai macam metabolit sekunder, salah satunya adalah alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan. Alkaloid dapat diekstrak menggunakan bantuan gelombang ultrasonik pada berbagai macam variasi pelarut. Ekstraksi ultrasonik digunakan sebagai metode ekstraksi menggunakan pelarut methanol 80%, etanol 96% dan kloroform pada perbandingan 1:15 (b/v) dan lama waktu 20 menit. Hasil ekstraksi ini nantinya juga akan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui kandungan senyawa alkaloid yang terdapat dalam ekstrak kasar biji pepaya. Metode BSLT digunakan sebagai uji toksisitas berdasarkan nilai kematian larva udang *Artemia salina* L. Kemudian, dihitung prosentase sel mati tiap sampel dan dianalisis menggunakan SPSS probit, sehingga diketahui nilai LC₅₀. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa alkaloid yang terkandung dalam biji pepaya yang memiliki sifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L.

ABSTRACT

Haqiqi, U. N. 2021. **Toxicity Test of Methanol, Ethanol and Chloroform Extract of Papaya Seeds (*Carica papaya* L.) Using Ultrasonic Extraction with BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Method.** Thesis. Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II: Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc.

Keywords: Papaya Seeds, Alkaloids, Ultrasonic, *Artemia salina* L, BSLT Method

Papaya seeds are plants that have anticancer activity because of their secondary metabolites in it, such as alkaloid. Alkaloid is an organic group which almost derived from plants. Alkaloid can be extracted using ultrasonic waves with solvent variation. Ultrasonic extraction is used as an extraction method with 80% methanol, 96% ethanol and chloroform solvent at ratio 1:15 (w/v) in 20 minutes. The result will be analyzed using UV-Vis to determine the content of alkaloid in papaya seeds crude extracts. The BSLT method is used as a toxicity test based on mortality value of *Artemia salina* L. The percentage of dead cells in each sample is calculated and analyzed using SPSS Probit that will be known by the LC₅₀ value. The aim of this study is to determine the alkaloid compounds contained in papaya seeds that have toxic properties to *Artemia salina* L.

مستخلص البحث

حقيقي، و.ن. 2021. اختبار السمية لمستخلصات بذور الميثانول والإيثانول والكلوروفورم البابايا (*Carica papaya L.*) باستخدام الاستخراج بالموجات فوق الصوتية طريقة BSLT (اختبار قاتلة الجمبري الملحي). تقرير نتائج البحث. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك ابراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير؛ المشرف الثاني: أحمد حنافي، الماجستير.

الكلمات المفتاح: بذور البابايا، القلويات، الموجات فوق الصوتية، الأرتيميا سالينا ل.، طريقة BSLT

بذور البابايا هي نباتات لها نشاط مضاد للسرطان بسبب يحتوي على مجموعة متنوعة من المستقلبات الثانوية، أحدها قلويد. قلويدات عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية التي يتم اشتقاق معظم القلويدات منها أعشاب. يمكن استخراج قلويدات باستخدام الموجات فوق الصوتية في مجموعة متنوعة من المذيبات. يستخدم الاستخراج بالموجات فوق الصوتية كطريقة الاستخلاص باستخدام الميثانول 80% والإيثانول 96% والكلوروفورم عند نسبة 1:15 (وزن / حجم) ومدة 20 دقيقة. ستكون نتائج هذا الاستخراج أيضاً تم تحليلها باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-Vis لتحديد محتوى المركبات القلويات الموجودة في المستخلص الخام لبذور البابايا. يتم استخدام طريقة BSLT كمعلم اختبار السمية على أساس قيمة نفوق يرقات الجمبري الأرتيميا سالينا ل. ثم حسب النسبة المعوية للخلايا الميتة في كل عينة وتحليلها باستخدام اختبار SPSS، بحيث قيمة LC50 معروفة. يهدف هذا البحث إلى تحديد المركبات القلوية التي الموجودة في بذور البابايا التي لها خصائص سامة ضد يرقات الجمبري الأرتيميا سالينا ل.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berbagai negara di dunia saat ini telah banyak mengembangkan pengobatan alternatif, termasuk Indonesia. Pengobatan alternatif dari bahan alam telah menjadi pilihan terbaik bagi masyarakat. Selain itu, dibandingkan dengan obat sintetis, obat yang diperoleh dari bahan alam lebih aman jika dikonsumsi. Namun, jika dikonsumsi berlebih, obat dari bahan alam juga memiliki sifat toksik. Oleh karenanya, untuk mengetahui kadar toksisitasnya diperlukan penelitian lebih lanjut (Fadli, dkk, 2019). Uji toksisitas merupakan salah satu cara untuk mengetahui kemampuan potensial suatu senyawa untuk dijadikan obat alternatif. Prinsip uji toksisitas adalah bahwa suatu elemen bioaktif memiliki sifat obat bila diberi pada kadar rendah dan toksik bila diberikan berlebih (Agustini, 2017).

Setiap penyakit yang datang pada dasarnya telah Allah sediakan pula hal yang dapat menyembuhkannya. Namun, kesembuhan tersebut dicapai dengan adanya usaha dari manusia untuk memperoleh obatnya. Karena penyakit telah Allah datangkan bersama obatnya. Prinsip ini berbanding lurus terhadap hadist yang diriwayatkan oleh Bukhari yang berbunyi :

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “*Dari Abu Hurairah radhiyallahu ‘anhu dari Nabi sallallahu ‘alaihi wa sallam bersabda : Allah tidak menurunkan penyakit melainkan menurunkan pula obatnya.*” (HR. Bukhari: 5246).

Berdasarkan hadist yang diriwayatkan, Allah SWT telah memberikan pertanda mengenai pengobatan suatu penyakit. Ungkapan hadist ini memberikan penguatan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuhan untuk dapat diambil manfaatnya oleh manusia. Manusia hendaklah mencari pengetahuan agar menemukan tanaman-tanaman yang dapat dijadikan obat. Sifat toksik tanaman dapat dimaksimalkan untuk penyembuhan penyakit kanker, salah satunya biji pepaya yang berpotensi sebagai obat antikanker payudara pada menciit betina (Ulfa, dkk, 2018).

Toksisitas dari tumbuhan disebabkan karena di dalamnya terdapat senyawa aktif. Prasetya, dkk (2018) menyatakan bahwa ekstrak etanol biji pepaya mengandung metabolit sekunder, seperti tannin, steroid, alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Martiasih (2013) dan Mulyono (2014) juga menyatakan dalam ekstrak biji pepaya mengandung zat aktif metabolit sekunder alkaloid. Untuk mengesktrak senyawa aktif alkaloid dari tanaman pepaya, dibutuhkan pelarut yang tepat. Ikpeme, dkk (2011) menyebutkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa alkaloid melalui hasil identifikasi secara kualitatif. Ekstrak metanol dan kloroform daun *Carica pubescens* menggunakan LCMS juga positif alkaloid dengan persentase kadar 3,50% dan 4,51% (b/v) (Rahayu, dkk, 2019).

Metabolit sekunder golongan alkaloid diperoleh dengan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Pemilihan metode ekstraksi ini karena waktu yang diperlukan untuk mengekstrak suatu senyawa lebih singkat, penetrasi cairan menuju dinding sel meningkat (Kanifah, 2015), pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan laju perpindahan masa lebih cepat (Hartuti dan Supardan, 2013), jika

dibandingkan dengan metode konvensional. Hal ini dibuktikan pada penelitian Zhang, dkk (2019), yaitu ekstraksi minyak biji pepaya dengan metode ultrasonik selama 20 menit menghasilkan rendemen 32,27% yang lebih besar dari hasil rendemen menggunakan ekstraksi soklet selama 8-10 jam dengan persentase 25,27%. Penelitian Syarifah, dkk (2015) dan Roni, dkk (2018) menyatakan biji pepaya yang diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol selama 3 hari menghasilkan rendemen sebesar 10,59 dan 11,7%. Berdasarkan data tersebut, ekstraksi ultrasonik dengan waktu lebih singkat, dapat menghasilkan persentase rendemen paling besar untuk ekstraksi biji pepaya dibanding ekstraksi soklet dan maserasi. Analisis toksisitas dapat digunakan untuk menentukan efektivitas komponen senyawa aktif dalam biji pepaya sebagai obat herbal (Zuraida, 2018).

Pengujian toksisitas ekstrak kasar biji pepaya menggunakan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) sebagai metode analisis. Prinsip uji BSLT didasarkan pada efek yang diberikan oleh ekstrak uji terhadap tingkat kematian larva udang *Artemia salina* L. Perolehan jumlah kematian larva dihitung sebagai nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*), yaitu sejumlah 50% larva udang mengalami kematian pada masa inkubasi 24 jam disebabkan konsentrasi ekstrak. Suatu ekstrak dapat bersifat toksik jika mempunyai nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Kelebihan dari metode ini adalah perlakuannya mudah, biayanya murah, waktu pengujian relatif singkat dan akurat (Fadli, dkk, 2019). Berdasarkan keterangan di atas, uji toksisitas ekstrak metanol, etanol dan kloroform biji pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan ekstraksi ultrasonik metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) akan dilakukan dalam penelitian kali ini.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah senyawa alkaloid hasil ekstraksi ultrasonik terkandung dalam ekstrak metanol, etanol, dan klorofom biji pepaya (*Carica papaya* L.)?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa alkaloid pada biji pepaya menggunakan metode pengendapan?
3. Bagaimana toksisitas biji pepaya hasil ekstraksi ultrasonik dari pelarut metanol, etanol, dan klorofom pada larva udang *Artemia salina* L?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian pada penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui keberadaan senyawa alkaloid hasil ekstraksi ultrasonik dalam ekstrak metanol, etanol, dan klorofom biji pepaya (*Carica papaya* L.).
2. Untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa alkaloid pada biji pepaya menggunakan metode pengendapan.
3. Untuk mengetahui toksisitas biji pepaya hasil ekstraksi ultrasonik dari pelarut metanol, etanol, dan klorofom pada larva udang *Artemia salina* L.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Sampel uji yang digunakan adalah biji pepaya matang varietas Solo.
2. Pelarut yang digunakan adalah metanol, etanol, dan klorofom dengan perbandingan variasi konsentrasi pelarut terhadap sampel 1:15 (b/v).

3. Metode pemisahan yang digunakan adalah ultrasonik pada frekuensi 42 kHz dan lama waktu 20 menit.
4. Metode uji yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).
5. Hewan uji yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* L.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil yang diperoleh pada uji toksisitas ini diperlukan untuk memberi pengetahuan kepada masyarakat terkait senyawa aktif pada biji pepaya menggunakan pelarut metanol, etanol, dan klorofom yang bersifat toksik, sehingga dapat dikembangkan untuk penelitian lanjutan sebagai obat antikanker payudara.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Obat Dalam Perspektif Islam

Alam dan seluruh isi di dalamnya diciptakan oleh Allah dengan manfaat yang besar, terutama bagi manusia. Obat-obat alternatif dari tanaman di alam adalah salah satu contoh manfaat pada ciptaan Allah yang telah ditunjukkan pula oleh-Nya. Teori ini terdapat di al-Quran surat asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”* (Q.S. asy-Syu'ara : 7).

Al Qurthubi menafsirkan terkait ayat di atas bahwa memperhatikan tumbuh-tumbuhan baik yang telah Allah ciptakan adalah sebuah perintah kepada kita sebagai manusia. Tumbuhan baik yang dimaksud dalam ayat tersebut adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk pemanfaatannya sebagai pengobatan. Bunga, buah, rimpang, akar, batang, daun, dan biji merupakan bagian dari tubuh tumbuhan yang dapat diambil manfaatnya untuk bahan obat alternatif. Berbagai macam penyakit dapat disembuhkan dengan memanfaatkan tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya sebagai obat. Hal ini merupakan anugerah dari Allah SWT yang harus dimanfaatkan dan dipelajari. Salah satu contoh tumbuhan ciptaan-Nya di bumi dan dapat digunakan untuk obat alternatif, yaitu pepaya yang akan diambil manfaat dari bagian bijinya.

2.2 Deskripsi Biji Pepaya

Bentuk biji dari buah pepaya adalah bulat atau bulat panjang dan kecil. Biji pepaya memiliki jumlah yang cukup banyak dengan warna hitam keabuan dan umumnya ditutupi lendir untuk menjaga biji buahnya tetap lembab meski dalam kondisi kekurangan asupan air. Biji pepaya dapat ditanam secara langsung sebagai benih untuk memperbanyak populasinya (Sunarjono, 2000). Biji pepaya tercantum pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Biji pepaya matang (Devaki, dkk, 2015)

Biji pepaya termasuk ke dalam jenis limbah yang dihasilkan dari buah pepaya, namun jika diolah menjadi sesuatu, akan dapat diambil manfaat lebihnya. Biji pepaya hitam dapat dikonsumsi dan memiliki rasa pedas yang tajam. Biji pepaya memiliki sifat antibakteri dan efektif terhadap infeksi *E. coli*, *Salmonella* dan *Staphylococcus*, serta aktivitas antimikroba terhadap trofozoit *Trichomonas vaginalis*. Gagal ginjal yang disebabkan oleh toksin dapat dicegah dengan mengonsumsi biji pepaya. Biji pepaya juga dapat menghilangkan parasit usus dan membantu mendetoksifikasi hati (Bhowmik, 2013).

2.3 Senyawa Aktif Biji Pepaya (*Carica papaya* L.)

Keseluruhan buah pepaya mengandung sekitar 14,3% biji (Satriyasa dan Pangkahila, 2010). Kandungan yang terdapat di dalam biji buah pepaya adalah asam palmitat dan asam oleat yang merupakan asam lemak tak jenuh. Selain itu, dalam biji pepaya terdapat metabolit sekunder golongan saponin, terpenoid, alkaloid, dan fenol. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kental metanol biji pepaya, terkandung metabolit sekunder golongan saponin, triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Sukadana, 2008). Efek sitotoksik biji pepaya dapat dipengaruhi oleh zat-zat aktif yang terkandung di dalamnya, seperti efek estrogenik atau antiandrogen (Lohiya, dkk, 2002).

Efek dari metabolit sekunder pada tanaman bisa digunakan sebagai antiproliferasi, antikanker, antioksidan dan sitotoksitas (Astuti, 2013). Alkaloid yang merupakan salah satu golongan senyawa aktif dalam biji pepaya dapat memiliki efek sitotoksik (Ulfa, dkk, 2019). Muflihah dalam penelitiannya tahun 2015 membuktikan bahwa ekstrak alkaloid biji pepaya dengan pelarut etanol dan diujikan pada larva udang *Artemia salina* L memperoleh LC50 sebesar 410,875 µg/mL yang memiliki sifat toksik akut.

2.4 Ekstraksi Ultrasonik

Gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz adalah sebuah gelombang yang digunakan dalam metode ultrasonik (Suslick, 1988). Menurut Kuldiloke (2002), salah satu manfaat metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi. Terdapat efek ganda yang dihasilkan dari metode ekstraksi ultrasonik ini, yaitu peningkatan difusi ekstrak dari pemanasan

lokal pada cairan dan pembebasan kandungan senyawa yang terkandung dalam sampel oleh pengacauan dinding sel. Liu (2010) menyatakan dalam penelitiannya bahwa dinding sel yang dipecah secara mekanis oleh daya patah dihasilkan dari efek kavitasi pada ultrasonik yang dapat membuat transfer material meningkat.

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi ultrasonik pada penelitian ini, salah satunya adalah variasi jenis pelarut. Selain jenis pelarut, waktu yang dibutuhkan selama proses pengekstraksian juga menjadi faktor yang harus diperhitungkan terhadap persentase perolehan hasil ekstraksi. Hubungan jenis pelarut dan lama waktu ekstraksi pada berbagai macam sampel tercantum pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hubungan jenis pelarut dan lama waktu ekstraksi terhadap rendemen

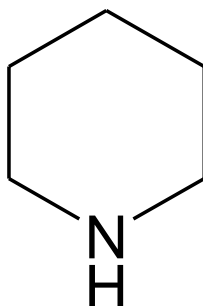
| Sampel | Pelarut | Deskripsi | Referensi |
|------------------|---------|---|-----------------------|
| Daun jambu biji | Etanol | Variasi suhu 40°C, 45°C dan 50°C, dengan waktu ekstraksi selama 10, 20 dan 30 menit. Nilai rendemen tertinggi dihasilkan dengan waktu ekstraksi 20 menit pada suhu 45°C diperoleh sebanyak 16,26%. | Sekarsari, dkk (2019) |
| Daun jati | Etanol | Waktu ekstraksi ultrasonik 10, 20 dan 30 menit dengan variasi rasio pelarut:bahan 5:1, 10:1, 15:1. Nilai rendemen paling tinggi dihasilkan dengan waktu ekstraksi 20 menit pada rasio pelarut:bahan 15:1 diperoleh sebanyak 15,21%. | Januarti, dkk, (2017) |
| Kulit buah lemon | Metanol | Variasi pelarut aquades, metanol, etanol dan aseton. Nilai rendemen paling tinggi dihasilkan pada pelarut metanol dengan persentase sebesar 40,61%. | Verdiana, dkk, (2018) |

Berdasarkan Tabel 2.1, bahwa lama waktu ekstraksi ultrasonik 20 menit menggunakan pelarut etanol dan metanol diperoleh rendemen yang lebih banyak dari waktu ekstraksi 10 dan 30 menit. Semakin banyak rendemen yang dihasilkan, maka semakin banyak pula perolehan persentase metabolit sekunder didapatkan. Oleh karena itu, lama waktu ekstraksi yang akan digunakan pada penelitian ini adalah 20 menit dengan perbandingan 1:15 (b/v).

2.5 Identifikasi Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya

2.5.1 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Pereaksi Mayer dan Dragendorff

Hampir seluruh senyawa alkaloid merupakan golongan senyawa organik yang berasal dari tumbuhan. Struktur senyawa aktif alkaloid merupakan bagian dari cincin heterosiklik pada sebagian besar atom nitrogen dan terdapat sedikitnya 1 atom nitrogen yang memiliki sifat basa (Lenny, 2006). Kandungan alkaloid terbanyak dalam biji pepaya adalah senyawa karpain (Burdick, 1971). Kerangka dasar alkaloid tercantum pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kerangka dasar alkaloid (Robinson, 1995)

Uji *Dragendorff* dan *Mayer* merupakan metode yang dapat dilakukan sebagai pendeteksiian senyawa alkaloid. Adanya alkaloid dalam sampel pada uji

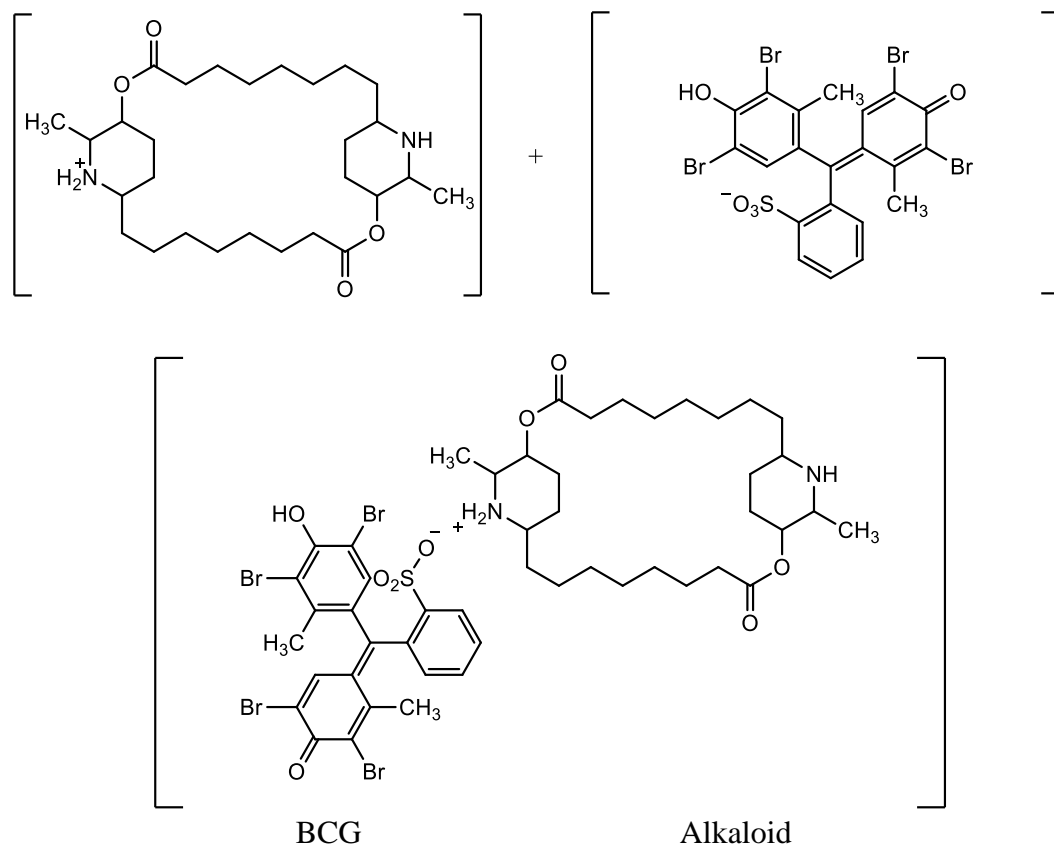
Dragendorff ditunjukkan dengan endapan coklat muda sampai kuning yang terbentuk setelah penambahan pereaksi (Lutfillah, 2008). Pereaksi *Mayer* juga dapat digunakan untuk membentuk endapan nyaris pada semua alkaloid (Robinson, 1995). Adanya alkaloid ditunjukkan dengan endapan yang terbentuk berwarna kekuningan setelah penambahan pereaksi *Mayer* (Lutfillah, 2008).

2.5.2 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Penentuan Panjang Gelombang Menggunakan Spektrofotometer

Pemanfaatan sinar pada panjang 180-780 nm digunakan oleh spektrofotometer ultraviolet-sinar tampak sebagai sumber energinya. Daerah ultraviolet (UV) berada pada *range* panjang gelombang 180-380 nm dan daerah *visible* atau sinar tampak berada pada *range* panjang gelombang 380-780 nm (Warono, 2013). Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis, yaitu apabila cahaya monokromatis melewati suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t). Puncak-puncak serapan suatu unsur dengan panjang gelombang tertentu yang dihasilkan dari sebuah spektrum dapat digunakan sebagai penentuan secara kualitatif, sedangkan suatu spektrum yang menghasilkan nilai absorbansi akan digunakan sebagai penentuan secara kuantitatif (Yanlinastuti, 2016).

Salah satu metode pendeteksian senyawa alkaloid adalah menggunakan spektrofotometri dengan mengekstraksi senyawa aktif alkaloid dari bagian tubuh tanaman menggunakan *bromocresol green* (BCG) sebagai pereaksi. Penggunaan larutan standar pada metode ini dibutuhkan untuk mendeteksi kandungan senyawa alkaloid suatu bahan. Larutan standar yang digunakan harus sesuai dengan

identifikasi senyawa alkaloid dalam tanaman obat itu sendiri. Metode ini didasari oleh reaksi *bromocresol green* dengan alkaloid membentuk senyawa berwarna kuning (Ajanal, dkk, 2012). Reaksi pembentukan kompleks alkaloid-BCG tercantum pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Reaksi pembentukan kompleks antara alkaloid dan BCG (Patel, dkk, 2015)

Deteksi alkaloid menggunakan spektrofotometer *uv-vis* merupakan suatu metode analisis kuantitatif. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah tertentu ekstrak sampel dengan *buffer* fosfat pH 4,7 agar terbentuk garam alkaloid yang kemudian ditambahkan BCG agar pH larutan menjadi basa. Penambahan pereaksi tersebut untuk membentuk basa bebas alkaloid berwarna kuning dari garam alkaloid yang akan dideteksi nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer *uv-visible* (Ajanal, dkk, 2012).

2.6 Uji Total Alkaloid menggunakan Metode Pengendapan

Salah satu metode penentuan total alkaloid adalah menggunakan metode pengendapan dengan cara mengekstrak senyawa alkaloid dari bagian tubuh suatu tanaman obat menggunakan asam asetat 10% (dalam etanol) dan NH_4OH 1% sebagai pereaksi pengendap. Besarnya kandungan alkaloid total pada suatu bahan dapat dideteksi dengan penentuan berat endapan. Metode ini didasari pada reaksi asam dengan alkaloid membentuk garam alkaloid yang larut air dan direaksikan dengan ammonium hidroksida untuk membentuk alkaloid kembali (Untoro, dkk, 2016).

Deteksi alkaloid menggunakan metode pengendapan merupakan suatu metode analisis kuantitatif. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah tertentu ekstrak sampel dengan asam agar terbentuk garam alkaloid yang kemudian ditambahkan NH_4OH agar pH larutan menjadi basa. Endapan berwarna kuning yang dihasilkan akan dihitung bobot konstannya menggunakan metode gravimetri (Untoro, dkk, 2016).

2.7 Uji Toksisitas Metode BSLT

Uji toksisitas adalah jenis pengujian yang mengutamakan penentuan efek sitotoksik. Zat kimia uji diberikan sebanyak 1 atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam pada pengujian ini (Lestari, dkk, 2019). *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah sebuah metode analisis pada uji sifat toksik suatu zat yang sering dilakukan. Tingkat ketoksikan ekstrak pada larva udang *Artemia salina* L dapat digambarkan melalui uji ini. Hasil dari pengujian digunakan untuk mengidentifikasi aktivitas biologi tanaman secara lebih luas (Zuraida, 2018). Untuk

mengetahui tingkat toksik dari suatu ekstrak, dapat dilakukan pengujian toksisitas metode BSLT, sehingga dapat ditentukan potensi senyawa tersebut sebagai racun. Penggunaan metode BSLT merupakan tahapan awal (skrining) dalam penapisan ekstrak bahan aktif karena proses kerjanya yang mudah, cepat, dan murah (Puspitasari, dkk, 2018). Penentuan nilai LC_{50} dalam tanaman adalah dengan mengukur aktivitas senyawanya pada larva udang *Artemia salina* L sebagai hasil dari uji toksisitas. Nilai LC_{50} adalah kematian 50% hewan uji dalam selang waktu tertentu yang disebabkan oleh jumlah kadar dalam sampel uji (Ningdyah, dkk, 2015). Senyawa kimia dikatakan non toksik jika mempunyai $LC_{50} > 1000$ ppm dan bersifat toksik jika $LC_{50} < 1000$ ppm (Meyer, dkk, 1982).

Artemia salina Leach digunakan dalam metode BSLT sebagai hewan uji. *Artemia salina* L adalah semacam udang air asin. Telur larva dapat bertahan dalam keadaan kering selama bertahun-tahun. Telurnya merupakan makanan ikan tropis dan dapat dijumpai di toko-toko yang menjual ikan hias tropis dengan nama *brine shrimp eggs*. Butuh waktu 48 jam bagi telur-telur larva untuk menetas. Sejumlah nauplii akan dihasilkan darinya jika dimasukkan dalam larutan air laut. Pendeteksian aktivitas biologi dari suatu senyawa dapat menggunakan nauplii *Artemia salina* L (McLaughlin dan Rogers, 1998). Kedudukan *Artemia salina* L dalam ilmu sistematik hewan adalah sebagai berikut (Singgih, dkk, 2013):

| | |
|----------|-------------------------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Arthropoda |
| Kelas | : Crustacea |
| Subkelas | : Branchiopoda |
| Ordo | : Anostraca |
| Famili | : Artemiidae |
| Genus | : Artemia |
| Spesies | : <i>Artemia salina</i> Leach |

Beberapa tingkatan hidup dialami oleh *Artemia salina* Leach, namun yang dapat dilihat secara jelas adalah 3 bentuk, yaitu bentuk telur, nauplius (larva) dan artemia dewasa. Ketika air danau atau laut mengalami penguapan secara berkala, partikel-partikel berwarna coklat dapat naik ke permukaan dengan diameter $\pm 0,2-0,3$ mm, dibawa hanyut sampai ke darat karena adanya angin. Partikel tersebut merupakan telur-telur yang tidak aktif atau tidur dari *Artemia salina* Leach yang memiliki ketahanan dan kestabilan bila disimpan lama jika tetap mengalami hidrasi dan dalam keadaan *dispauze*. Jika telur dalam keadaan *dispauze* didiamkan dalam larutan garam (air laut), maka larutan dapat diserap oleh telur hingga mengembang. Penyerapan ini diproses oleh telur tersebut secara hiperosmotik (Mudjiman, 1988).

Perlu waktu ± 15 jam untuk mendapatkan telur yang mengalami proses penyerapan hingga mengembang dan metabolisme terus berjalan. Suatu enzim penetasan pada pH lebih dari 8 membantu terjadinya pemecahan cangkang telur yang keras. Selaput tipis yang membungkus cangkang telur tersebut mengeluarkan embrio yang akan terus menerus tumbuh menghasilkan makhluk hidup baru setelah 19-36 jam. Metamorfosis banyak terjadi pada pengembangan selanjutnya. Kandungan energi masih cukup tinggi pada tingkatan instar I. Setelah 24 jam, instar II terbentuk dari instar I yang memiliki mulut, saluran cerna, serta anus. Karena mulai terbentuknya 3 hal tersebut, mereka berusaha mencari makanan. Hal itu berlangsung hingga terbentuk instar XV dan akan menjadi artemia dewasa. Pertumbuhan artemia tersebut berjalan sekitar 1-3 minggu (Mudjiman, 1988).

Bagian-bagian tubuh artemia terdiri dari 3, yaitu kepala, dada dan perut. Bagian kepala terbagi menjadi 2 antena, 2 antenula dan 2 tungkai mata. Kemudian,

pada bagian dada terdiri dari 11 bagian yang masing-masing memiliki 2 kaki untuk berenang, sedangkan pada bagian perut terdapat 8 bagian. *Artemia salina* dewasa memiliki bentuk yang sudah sempurna. *Artemia salina* bereproduksi dengan 2 cara, yaitu bertelur atau melahirkan. Cara reproduksi artemia ini tergantung dari faktor oksigen yang terdapat di lingkungan dan kadar klorofil yang terkandung pada makanan. Reproduksi dengan telur disebabkan oleh konsentrasi klorofil yang tinggi dalam makanan dan oksigen yang rendah, sementara reproduksi dengan melahirkan disebabkan karena keadaan yang berkebalikan (Mudjiman, 1988). Protein dan asam lemak yang tinggi merupakan golongan senyawa kimia aktif yang terdapat di tubuh *Artemia salina*. Jumlah protein yang terdapat dalam tubuh artemia dewasa yang telah kering meningkat dari sekitar 47% dalam bentuk nauplius menjadi 60% (Singgih, dkk, 2013).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada September-Oktober 2020 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk uji kadar air adalah oven, spatula, cawan penguap, desikator dan neraca analitik. Ekstraksi ultrasonik menggunakan corong *buchner*, *rotary evaporator vacuum*, seperangkat alat ekstraksi ultrasonik dan erlenmeyer. Uji kualitatif alkaloid menggunakan corong pisah, tabung reaksi, gelas kimia, pipet tetes, pipet ukur dan seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis. Uji toksisitas menggunakan vial dan pipet tetes. Uji total alkaloid menggunakan pipet ukur, kertas saring, corong gelas, gelas kimia, *stirrer* dan oven.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji toksisitas kali ini adalah biji pepaya matang (*Carica papaya* L.) varietas Solo yang didapatkan dari Kecamatan Sempu Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi ultrasonik adalah etanol 96%, metanol 80% dan kloroform 99,8%. Bahan uji kualitatif alkaloid dengan HCl 2%, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Mayer*, *buffer*

fosfat pH 4,7, BCG dan kloroform. Uji total alkaloid menggunakan asam asetat 10% (dalam etanol) dan NH_4OH 1%. Uji toksisitas dibutuhkan *Artemia salina* L, air laut, ragi dan larutan DMSO.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air sampel
3. Ekstraksi senyawa aktif menggunakan metode ultrasonik
4. Uji kualitatif senyawa alkaloid menggunakan reagen
5. Uji kualitatif senyawa alkaloid menggunakan spektrofotometer
6. Uji total alkaloid menggunakan metode pengendapan
7. Uji toksisitas metode BSLT
8. Analisis Data

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Preparasi Sampel

Pengotor yang terdapat pada biji pepaya dibersihkan dengan cara dicuci sampai bersih menggunakan air, ditiriskan dan dijemur dalam kurun waktu 4 hari di bawah sinar matahari untuk mengeringkannya. Setelah itu, dilakukan penghalusan terhadap sampel kering tersebut, serta disaring menggunakan saringan berukuran 90 *mesh*.

3.4.2 Analisis Kadar Air

Sampel kering hasil preparasi pada penelitian kali akan dianalisis kadar airnya menggunakan metode gravimetri. Pertama-tama, cawan porselen dalam keadaan bersih dioven selama ± 1 jam pada suhu 105°C , setelah itu, disimpan dalam desikator selama ± 30 menit, kemudian ditimbang. Sampel ($\pm 2,0$ g) dimasukkan ke cawan tersebut dan dioven pada suhu 105°C selama ± 3 jam, Selanjutnya, disimpan dalam desikator selama ± 30 menit, lalu dioven dan disimpan dalam desikator lagi hingga diperoleh berat konstan. Berikutnya, dihitung persentase kadar airnya (Standar AOAC, 2012). Prosedur ini diulangi hingga diperoleh berat konstan. Untuk menghitung kadar air dalam sampel kali ini digunakan Persamaan 3.1 dengan A sebagai berat konstan cawan kosong, kemudian B sebagai berat konstan cawan dan sampel sebelum dikeringkan, serta C sebagai berat konstan cawan dan sampel setelah dikeringkan.

$$\text{Kadar air} = \frac{(B-C)}{(B-A)} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

3.4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Metode Ultrasonik

Sebanyak 5 gram serbuk biji pepaya dimasukkan ke erlenmeyer dan ditambahkan pelarut metanol 80%, etanol 96% dan kloroform 99,8% dengan perbandingan sampel:pelarut (1:15 b/v). Selanjutnya, sampel diekstraksi menggunakan ekstraktor ultrasonik selama 20 menit pada suhu kamar dengan frekuensi 42 kHz. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan corong *buchner*. Hasil ekstraksi dipisahkan pada suhu 40°C menggunakan *rotary evaporator vacuum*, lalu dialiri gas N_2 . Ekstrak kasar disimpan pada suhu 4°C dalam wadah tertutup untuk mencegah kerusakan untuk selanjutnya dilakukan pengujian terhadap sifat

toksiknya pada larva udang *Artemia salina* Leach. Rendemen ditimbang, kemudian dihitung persentasenya menggunakan Persamaan 3.2 (Sekarsari, 2019).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.2)$$

3.4.4 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Pereaksi Mayer dan Dragendorff

Tabung reaksi berisi 2 mg sampel ekstrak biji pepaya ditambah HCl 2% sebanyak 0,5 mL dan larutan dibuat menjadi 2 bagian. Sejumlah 2-3 tetes pereaksi *Dragendorff* ditambahkan ke tabung pertama dan 2-3 tetes pereaksi *Mayer* pada tabung kedua. Terbentuknya endapan jingga dalam tabung 1, serta endapan kekuningan dalam tabung 2, menunjukkan sampel ekstrak mengandung alkaloid (Harborne, 1987).

3.4.5 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Penentuan Panjang Gelombang Menggunakan Spektrofotometer

Larutan sampel ekstrak sebanyak 100 mg dimasukkan ke corong pisah, setelah ditambah *buffer* fosfat pH 4,7 dan BCG masing-masing sebanyak 5 mL, selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali. Fase organik diambil, kemudian ditambah kloroform hingga volume 10 mL, setelah itu, ditentukan absorbansi larutan pada panjang gelombang 350-700 nm. Data yang tercatat akan dipakai untuk menentukan panjang gelombang maksimum pada absorbansi maksimum (Salamah dan Ningsih, 2017).

3.4.6 Uji Total Alkaloid Menggunakan Metode Pengendapan

Sebanyak 2,5 g ekstrak kental ditimbang dan ditambah larutan asam asetat 10% (dalam etanol) sejumlah 50 mL. Larutan diaduk selama ± 4 jam dengan *magnetic stirrer*, kemudian disaring. Setelah itu, filtrat dievaporasi dan ditetesi ammonium hidroksida hingga terbentuk endapan. Kertas saring yang akan digunakan harus ditimbang terlebih dahulu. Endapan yang diperoleh disaring, kemudian dicuci dengan NH_4OH 1%. Kertas saring yang mengandung endapan dikeringkan selama 30 menit pada suhu 60°C dalam oven, setelah itu, diletakkan selama ± 10 menit dalam desikator, kemudian ditimbang. Perlakuan tersebut diulang hingga didapatkan berat tetap. Rendemen alkaloid ditetapkan dari persentase berat endapan yang diperoleh terhadap berat sampel pada awal penimbangan. Pengujian diulang sebanyak 3 kali. Persentase kandungan total alkaloid dapat dihitung menggunakan Persamaan 3.3 (Saifudin, 2011) dengan A sebagai massa kertas saring, B sebagai massa kertas saring dan endapan alkaloid dan C sebagai massa ekstrak (Alasa, dkk, 2017).

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = \frac{B-A}{C} \times 100\% \dots\dots\dots (3.3)$$

3.4.7 Uji Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya Metode BSLT

3.4.7.1. Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L

Air laut dimasukkan ke tempat untuk menetas telur larva sejumlah 250 mL. Kemudian, sejumlah 2,5 mg telur *Artemia salina* L dimasukkan ke dalam air laut, setelah itu, dilakukan aerasi hingga telur menetas selama ± 48 jam dan siap dipakai menjadi target untuk pengujian toksisitas (Halimah, dkk, 2010).

3.4.7.2. Pengukuran Toksisitas Pada Sampel

Larutan stok dibuat dengan melarutkan 0,5 mg ekstrak kasar ke dalam 5 mL pelarutnya untuk memperoleh konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, dibuat 5 variasi konsentrasi, yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50 $\mu\text{g/mL}$, kemudian dimasukkan ke botol vial untuk diuapkan pelarutnya. Setelah itu, dilarutkan 3 mg ragi dengan air laut sejumlah 5 mL. Larutan ragi serta DMSO ditambahkan ke dalam vial berisi ekstrak masing-masing 1 tetes dan 100 μL , kemudian dikocok. Berikutnya, dimasukkan ke vial sebanyak 10 ekor larva dan ditambah air laut hingga volumenya 10 mL. Uji toksisitas dilakukan dalam 3 kali pengulangan untuk setiap konsentrasi. Selama 24 jam, lampu pijar diletakkan di atas vial-vial dan diamati kematian larva udang. Kematian larva udang dalam larutan ekstrak dibandingkan dengan 2 kontrol, yaitu DMSO dan pelarut.

Kontrol pelarut dibuat dengan memasukkan 100 μL pelarut ke vial dan diuapkan, air laut sebanyak 2 mL dan 1 tetes larutan ragi ditambahkan, kemudian dikocok. Selanjutnya, dimasukkan ke vial sebanyak 10 ekor larva, ditambah air laut hingga volumenya 10 mL. Selama 24 jam, lampu pijar diletakkan di atas vial-vial dan diamati kematian larva udang.

Kontrol DMSO dibuat dengan memasukkan 50 μL DMSO ke vial. Kemudian, dimasukkan ke vial larutan ragi sebanyak 1 tetes, serta 10 ekor larva udang *Artemia salina* L dan ditambah air laut hingga volumenya menjadi 10 mL. Selama 24 jam, lampu pijar diletakkan di atas vial-vial dan diamati kematian larva udang (Lestari, dkk, 2019).

3.4.8 Analisis Data

Toksisitas biji pepaya dapat diketahui dengan menentukan nilai LC_{50} menggunakan analisa regresi linear probit SPSS dengan persentase 95% pada konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Data absorbansi yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan persentase sel hidup. Hubungan antara larva dan sampel ekstrak adalah konsentrasi berbanding dengan kematian larva. Persentase larva hidup dihitung menggunakan Persamaan 3.4 dengan A sebagai larva mati pada sampel uji, B sebagai larva mati pada kontrol media dan C sebagai jumlah larva awal.

$$\text{Persentase mortalitas} = \frac{A-B}{C} \times 100\% \dots\dots\dots(3.4)$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Biji pepaya (*Carica papaya* L.) diperoleh dari Kecamatan Sempu Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur. Biji pepaya ini berbentuk bulat berwarna hitam dan diselimuti lendir serta selaput tipis. Preparasi sampel diawali dengan memisahkan biji pepaya dari buahnya. Biji pepaya dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel menggunakan air. Setelah itu, sampel biji pepaya bersih dikeringkan selama 4 hari di bawah sinar matahari untuk mengurangi kandungan kadar air di dalamnya.

Biji pepaya kering berwarna kecoklatan dengan tekstur permukaan kasar yang diperoleh dihaluskan dan disaring menggunakan saringan berukuran 90 *mesh*, kemudian diperoleh sampel serbuk berwarna kecoklatan seperti pada Gambar 4.1. Penghalusan bertujuan untuk memperluas permukaan partikel pada sampel agar interaksi sampel dan pelarut saat proses ekstraksi menjadi lebih efektif, sehingga dapat meningkatkan persentase rendemen hasil ekstraksi. Sampel serbuk biji pepaya disimpan dalam wadah bersih dan tertutup untuk menghindari terjadinya kontaminasi.



Gambar 4.1 Serbuk biji pepaya

4.2 Analisis Kadar Air

Kadar air merupakan salah satu metode uji untuk menentukan kualitas dan ketahanan suatu zat terhadap kerusakan yang mungkin terjadi dalam industri. Tingginya kadar air dalam suatu zat dapat mengakibatkan aktivitas biologis internal (metabolisme) terjadi maupun masuknya mikroba, sehingga menyebabkan kerusakan. Penetapan kadar air yang dilakukan pada penelitian kali ini menggunakan sampel biji pepaya merupakan penetapan kadar air metode gravimetri dengan cara pengeringan.

Berdasarkan uji kadar air yang dilakukan terhadap sampel kering biji pepaya, diperoleh nilai kadar air konstan dengan persentase 5,35%. Nilai ini lebih rendah dari batas kadar air yang ditetapkan oleh BPOM RI Nomor 12 tahun 2014, yaitu $\leq 10\%$. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel kering biji pepaya memiliki kadar air rendah, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama.

4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Metode Ultrasonik

Penelitian kali ini menggunakan metode ekstraksi jenis ultrasonik dengan prinsip merambatnya gelombang ultrasonik yang bergerak melalui pelarut (media) dengan adanya agitasi yang akan memecah dinding sel tumbuhan (Jitan, dkk, 2018). Pecahnya dinding sel pada serbuk biji pepaya dapat mempermudah kelarutan, sehingga jumlah senyawa aktif dalam biji pepaya yang melintasi membran sel ke dalam larutan juga meningkat.

Sampel kering biji pepaya diekstraksi selama 20 menit dengan pelarut metanol 80%, etanol 96% dan kloroform 99,8% dengan perbandingan 1:15 b/v. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan untuk menghilangkan pelarut serta memperoleh

nilai rendemen. Nilai rendemen ekstrak kasar sampel biji pepaya tercantum pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Perbandingan nilai rendemen metode ultrasonik dan maserasi

| No. | Pelarut | Sampel | Nilai Rendemen (%) | |
|-----|-----------|-------------|--------------------|---|
| | | | Ultrasonik | Maserasi |
| 1. | Metanol | Biji Pepaya | 14,14 | 9,021 ¹ |
| 2. | Etanol | Biji Pepaya | 18,55 | 6,572 ² 10,233 ³ |
| 3. | Kloroform | Biji Pepaya | 22,60 | 16,094 ⁴ |

Keterangan:

¹Prasetyaningrum, dkk, 2015; ²Zukhri, 2015; ³Ariani, dkk, 2019; ⁴Kanadi, dkk, 2019

Nilai rendemen dengan pelarut kloroform menghasilkan persentase paling besar diikuti etanol dan metanol. Hal ini dikarenakan adanya pengaruh sifat kepolaran pelarut dengan sifat kepolaran salah satu senyawa aktif diantaranya, yang diduga alkaloid, yaitu semi polar, sehingga dengan pelarut yang memiliki sifat kepolaran cenderung sama dengan zat terlarutnya, akan mempengaruhi kelarutan dari suatu bahan tersebut. Proses ini mengikuti prinsip *like dissolve like*, yaitu suatu senyawa akan larut pada pelarut yang sama derajat kepolarannya (Ansel, 1989).

Besarnya nilai rendemen yang didapatkan dari sampel biji pepaya pada penelitian ini juga dipengaruhi oleh getaran yang terjadi selama proses ekstraksi yang membantu kelarutan senyawa dalam pelarut metanol, etanol dan kloroform, sehingga dengan waktu ekstraksi 20 menit dapat diperoleh rendemen sebesar 14,14%, 18,55% dan 22,60% berturut-turut. Jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya menggunakan metode ekstraksi maserasi, persentase rendemen yang diperoleh dalam penelitian ini lebih tinggi. Prasetyaningrum (2015) mengekstraksi biji pepaya menggunakan pelarut metanol metode maserasi dengan rendemen sebesar 9,02%. Kemudian, Zukhri (2015) dan Ariani, dkk (2019) yang mengekstraksi biji pepaya dengan etanol 96% selama 4 hari menghasilkan 6,57%

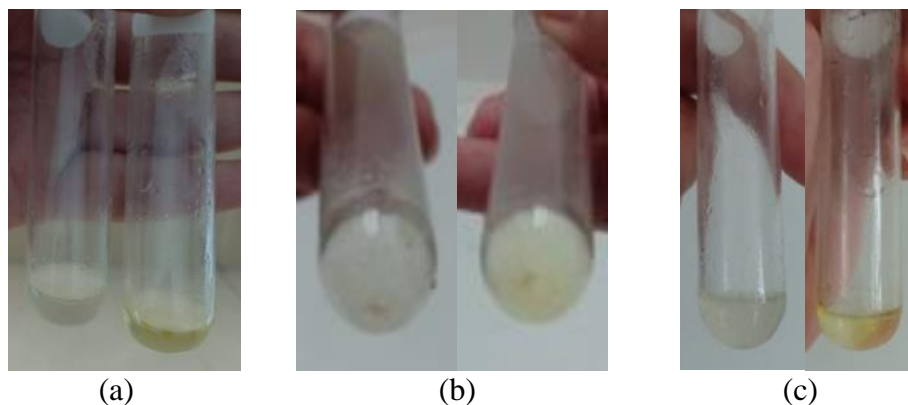
dan 10,23%. Kanadi, dkk (2019) juga melakukan pengujian terhadap ekstrak kasar kloroform biji pepaya menggunakan metode maserasi yang direndam selama 24 jam menghasilkan rendemen sebesar 16,09%.

Berdasarkan data tersebut, metode ekstraksi ultrasonik yang digunakan dalam penelitian ini mampu menghasilkan persentase rendemen lebih banyak jika dibandingkan dengan nilai rendemen hasil ekstraksi maserasi yang dilakukan oleh penelitian-penelitian sebelumnya. Hal ini karena adanya getaran yang terjadi selama proses ekstraksi ultrasonik yang meningkatkan kelarutan suatu zat, sehingga proses penetrasi pelarut ke dalam sel lebih cepat dan lebih baik dengan besarnya perolehan nilai rendemen. Efektivitas metode ekstraksi ultrasonik yang diperlukan untuk melarutkan suatu senyawa dapat dikatakan lebih baik dibanding metode maserasi dengan diperolehnya nilai rendemen lebih besar.

4.4 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Pereaksi Mayer dan Dragendorff

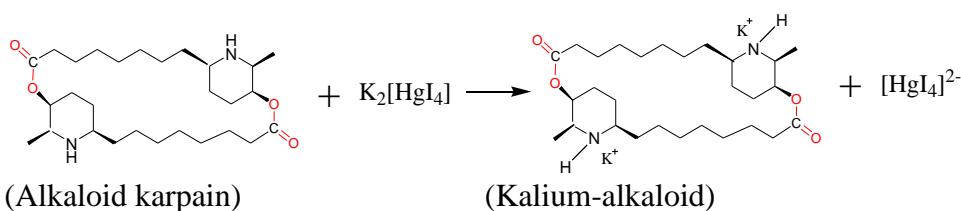
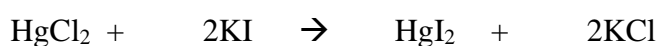
Uji kualitatif senyawa aktif alkaloid pada biji pepaya ini dilakukan dengan penambahan pereaksi spesifik untuk uji alkaloid, yaitu *Dragendorff* dan *Mayer* membentuk endapan berwarna sebagai indikasi adanya alkaloid dalam ekstrak. Hasil yang diperoleh dalam pengujian ini adalah ekstrak metanol, etanol dan kloroform positif mengandung alkaloid dengan terbentuknya endapan kuning pada penambahan pereaksi *Dragendorff* dan endapan putih pada penambahan pereaksi *Mayer*. Hasil ini mengikuti teori bahwa uji kualitatif senyawa alkaloid menggunakan pereaksi *Dragendorff* akan membentuk endapan dengan warna coklat hingga kuning dan menggunakan pereaksi *Mayer* akan membentuk endapan

dengan warna putih hingga putih kekuningan (Svehla, 1985). Hasil positif uji kualitatif alkaloid tercantum pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil positif uji alkaloid (a) pelarut kloroform; (b) pelarut metanol; (c) pelarut etanol

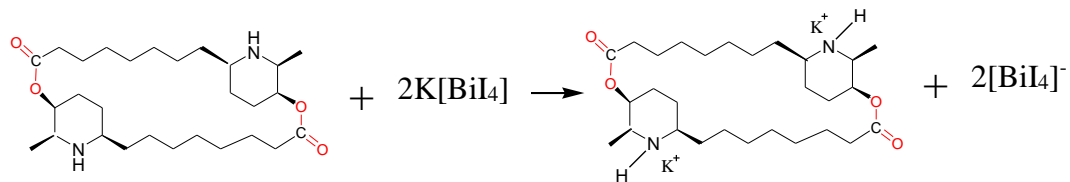
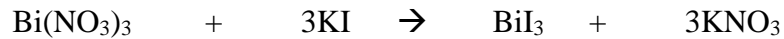
Terbentuknya endapan putih pada uji *Mayer* menunjukkan hasil positif alkaloid. Endapan tersebut merupakan kalium-alkaloid, yang terjadi akibat reaksi antara ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) dengan nitrogen pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinasi menghasilkan endapan kalium-alkaloid. Reaksi dugaan pada uji *Mayer* tercantum pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Reaksi dugaan antara pereaksi *Mayer* dengan senyawa alkaloid

Terbentuknya endapan kuning pada uji *Dragendorff* menunjukkan hasil positif alkaloid. Endapan tersebut merupakan kalium-alkaloid, yang terjadi akibat reaksi antara ion logam K^+ dari kalium tetraiodobismutat dengan nitrogen pada

alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinasi menghasilkan endapan kalium-alkaloid. Reaksi dugaan pada uji *Dragendorff* tercantum pada Gambar 4.4.



(Alkaloid karpain)

(Kalium-alkaloid)

Gambar 4.4 Reaksi dugaan antara pereaksi *Dragendorff* dengan senyawa alkaloid

4.5 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Penentuan Panjang Gelombang Menggunakan Spektrofotometer

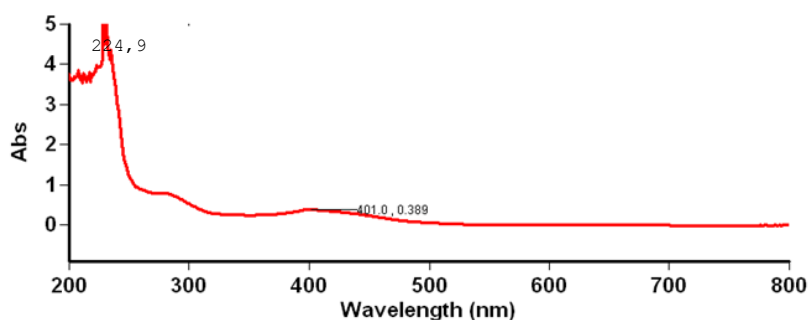
Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa alkaloid dalam ekstrak kasar biji pepaya. Penggunaan instrumen ini sebagai langkah awal untuk mengetahui jenis senyawa alkaloid yang diperoleh dari serapan panjang gelombang senyawa pada spektra. Uji kualitatif senyawa alkaloid dengan menentukan panjang gelombang maksimum menggunakan *bromocresol green* (BCG). Alkaloid tertentu yang memiliki atom N pada strukturnya dapat bereaksi dengan BCG, kecuali alkaloid amida dan amina.

Menurut Torar, dkk (2017), biji pepaya mengandung alkaloid karpain yang merupakan alkaloid bercincin laktonat dengan 7 kelompok rantai metilen. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi terhadap ekstrak kasar kloroform biji pepaya pada rentang 200-800 nm. Panjang gelombang maksimum yang ditunjukkan oleh spectra berada pada 401 nm seperti pada Gambar 4.5. Pita serapan pada panjang

gelombang 401 nm berada pada rentang 300-500 nm menunjukkan transisi elektron *nonbonding* ke orbital *antibonding* $n \rightarrow \pi^*$ akibat adanya gugus fungsi tak jenuh C=O (Suhartati, 2017). Devi, dkk (2020) melakukan pengujian kadar total alkaloid pada daun pepaya menghasilkan panjang gelombang maksimum pada 414 nm.

Pita serapan muncul pada panjang gelombang 224,9 nm akibat dari ikatan C-O dengan transisi elektron $n \rightarrow \sigma^*$. Data ini sejalan dengan penelitian yang dipublikasikan oleh Rusanti, dkk (2017) yang mengekstrak biji honje dan menghasilkan pita serapan pada 225,1 nm. Menurut Creswell, dkk (2005), adanya gugus N-H ditunjukkan oleh senyawa dengan transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan mengabsorpsi di daerah ultraviolet yang mengindikasikan adanya senyawa alkaloid.

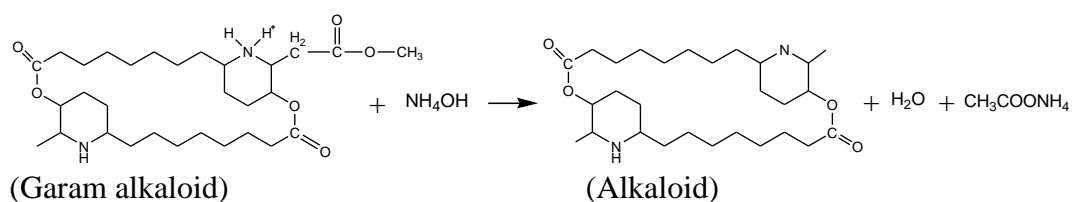
Panjang gelombang yang dihasilkan pada penelitian ini lebih kecil karena adanya pergeseran hipsokromik, yaitu pergeseran panjang gelombang ke daerah yang lebih pendek karena adanya substitusi atau efek pelarut. Puncak-puncak serapan akan bergeser ke arah yang lebih pendek jika polaritas pelarut yang digunakan lebih polar akibat adanya pengaruh dari transisi $n \rightarrow \pi^*$. Penelitian Devi, dkk (2020) menggunakan pelarut diklorometana pada proses fraksinasi sampel ekstrak yang memiliki indeks polaritas lebih kecil (3,1) dari kloroform (4,1) sebagai pelarut ekstraksi pada penelitian ini yang mengartikan bahwa kloroform lebih polar dari diklorometana, sehingga dihasilkan panjang gelombang yang lebih kecil.



Gambar 4.5 Hasil identifikasi senyawa alkaloid dengan spektrofotometer *uv-vis*

4.6 Uji Total Alkaloid Menggunakan Metode Pengendapan

Salah satu cara untuk mengisolasi senyawa aktif alkaloid adalah dengan metode pengendapan sederhana untuk mendeteksi jumlah total alkaloid yang terkandung dalam suatu bahan dengan menggunakan pereaksi pengendap. Larutan asam asetat 10% dalam etanol digunakan sebagai pereaksi pengendap untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa, sehingga terbentuk garam alkaloid. Garam alkaloid yang terbentuk dibasakan dengan ammonium hidroksida untuk melepaskan ikatan alkaloid dengan asam, sehingga terbentuk endapan alkaloid bebas dengan reaksi seperti pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Reaksi basa dengan alkaloid (Titis, dkk, 2013)

Pembentukan endapan yang terjadi karena penambahan sejumlah ammonium hidroksida menghasilkan endapan alkaloid dan basa bebas alkaloid ammonium asetat berwarna putih. Endapan ini dihitung sebagai besarnya kandungan total alkaloid dalam sampel ekstrak. Kadar total alkaloid ekstrak kasar biji pepaya tercantum pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Kadar total alkaloid metode ultrasonik

| No. | Pelarut | Bagian Pepaya | Kadar Total Alkaloid (%) |
|-----|-----------------|---------------|--------------------------|
| 1. | Metanol 80% | Biji Pepaya | 0,78 |
| 2. | Etanol 96% | Biji Pepaya | 20,79 |
| 3. | Kloroform 99,8% | Biji Pepaya | 26,31 |

Kadar total alkaloid biji pepaya yang diekstrak menggunakan pelarut kloroform menghasilkan kandungan total alkaloid paling banyak diikuti etanol dan metanol dengan persentase 26,31%, 20,79% dan 0,78% berturut-turut. Hal ini

menunjukkan bahwa senyawa aktif alkaloid ekstrak kasar biji pepaya lebih bersifat semi polar, sehingga kadarnya lebih banyak diperoleh dari pelarut kloroform. Jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya menggunakan metode ekstraksi maserasi bagian pepaya lain, kadar total alkaloid pada penelitian ini lebih tinggi dan tercantum dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Kadar total alkaloid metode maserasi

| No. | Pelarut | Bagian Pepaya | Kadar Total Alkaloid (%) | Referensi |
|-----|-----------|-------------------------|--------------------------|---|
| 1. | Metanol | Bunga | 0,002981 | Mukhaimin, dkk (2018) |
| 2. | Etanol | Daun | 0,2 1,8 | Vien dan Loc (2017) Rohmah dan Fickri (2020) |
| 3. | Kloroform | Daun dan Inti Batang | 0,025 dan 0,036 | Khuzhaev dan Aripova (2000) |

Kadar total alkaloid biji pepaya lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Mukhaimin, dkk (2018) yang menguji total alkaloid pada ekstrak maserasi metanol bunga pepaya menggunakan metode presipitasi dengan kadar 0,002981%. Kemudian, Rohmah dan Fickri (2020) mengekstrak daun pepaya menggunakan pelarut etanol 96% secara maserasi memperoleh kadar alkaloid total sebesar 1,8%, diperkuat dengan penelitian Vien dan Loc (2017) menyatakan uji total alkaloid ekstrak etanol daun pepaya menghasilkan kadar sebesar 0,2%. Khuzhaev dan Aripova (2000) meneliti ekstrak maserasi kloroform daun dan inti batang pepaya sebesar 0,025% dan 0,036%.

Berdasarkan data tersebut, diketahui bahwa proses yang terjadi selama ekstraksi ultrasonik berlangsung, tidak merusak senyawa aktif dalam sampel. Oleh sebab itu, kadar total alkaloid pada biji pepaya yang dihasilkan melalui ekstraksi ultrasonik masih lebih baik dari kadar total alkaloid bagian pepaya lain yang diekstrak menggunakan metode maserasi. Data-data tersebut juga menunjukkan

bahwa kandungan total alkaloid dalam biji pepaya lebih banyak dibanding kandungan total alkaloid pada bagian pepaya lain yang diekstrak menggunakan metode ekstraksi maserasi, sehingga kandungan senyawa alkaloid dalam biji pepaya akan memiliki sifat toksik yang lebih baik dibanding dengan sifat toksik kandungan alkaloid pada bagian pepaya lain.

4.7 Uji Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya Metode BSLT

4.7.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L

Artemia salina L merupakan sejenis udang air asin yang bentuk larvanya dapat digunakan untuk alat pendeteksian aktivitas biologi tinggi oleh suatu senyawa. Telur larva *Artemia salina* L harus ditetaskan terlebih dahulu dengan cara aerasi hingga menjadi nauplii (larva) yang siap digunakan sebagai bahan uji toksisitas.

4.7.2 Pengukuran Toksisitas Pada Sampel

Uji toksisitas metode BSLT membutuhkan waktu yang singkat untuk menentukan sifat toksik suatu senyawa, yaitu ± 24 jam. Penentuan LC_{50} dilakukan pada uji toksisitas aktivitas senyawa aktif dari tanaman obat pada larva udang *Artemia salina* L. Nilai LC_{50} adalah jumlah kadar yang menyebabkan kematian 50% hewan uji dalam selang waktu tertentu (Ningdyah, dkk, 2015). Senyawa kimia dapat dikatakan non toksik jika mempunyai $LC_{50} > 1000$ ppm dan bersifat toksik jika $LC_{50} < 1000$ ppm (Meyer, dkk, 1982).

Pengukuran toksisitas pada penelitian ini dibuat dalam 5 kali pengulangan agar diperoleh hasil yang akurat untuk masing-masing konsentrasi pelarut dan

kontrol dengan variasi konsentrasi, yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Kontrol dibuat untuk melihat adanya pengaruh yang menyebabkan kematian larva selain dari sampel ekstrak biji pepaya. Penambahan DMSO pada proses ini dilakukan untuk melarutkan sampel yang terkandung dalam setiap variasi konsentrasi. Gugus S=O yang bersifat polar pada DMSO akan melarutkan senyawa-senyawa bersifat polar, sementara gugus -CH₃ yang bersifat nonpolar akan melarutkan senyawa-senyawa nonpolar dalam campuran sampel penelitian. Kematian larva udang diamati dalam 24 jam dan dianalisis menggunakan aplikasi probit SPSS untuk memperoleh nilai LC₅₀. Hubungan konsentrasi dan kematian larva dalam penelitian ini tercantum pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hubungan konsentrasi sampel dan angka kematian larva

| Konsentrasi (ppm) | Ekstrak Metanol | | Ekstrak Etanol | | Ekstrak Kloroform | |
|-------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|
| | Larva mati (ekor) | Mortalitas (kematian) | Larva mati (ekor) | Mortalitas (kematian) | Larva mati (ekor) | Mortalitas (kematian) |
| 0* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0*** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 1 | 5 | 1 | 5 | 5 | 25 |
| 20 | 3 | 15 | 2 | 10 | 6 | 30 |
| 30 | 5 | 25 | 3 | 15 | 6 | 30 |
| 40 | 6 | 30 | 5 | 25 | 7 | 35 |
| 50 | 7 | 35 | 8 | 40 | 8 | 40 |

Keterangan:

0*: kontrol DMSO; 0**: kontrol pelarut; 0***: kontrol DMSO + pelarut

Berdasarkan tabel, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, tingkat kematian larva juga semakin besar. Mortalitas larva udang juga menerangkan jumlah total kematian untuk tiap konsentrasi dalam 5 kali ulangan yang dilakukan. Data ini sejalan dengan penelitian Alfarabi dan Fauziyuningtias (2017) yang membuktikan bahwa kematian larva udang meningkat sebanding

peningkatan konsentrasi ekstrak biji pepaya, yaitu jumlah kematian larva udang terendah pada 150 ppm dan tertinggi pada 400 ppm. Perhitungan LC_{50} dapat diperoleh menggunakan metode analisis probit SPSS. Nilai LC_{50} ekstrak kasar biji pepaya tercantum pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Nilai LC_{50} metode ultrasonik

| No. | Pelarut | Sampel | LC_{50} |
|-----|-----------------|-------------|------------|
| 1. | Metanol 80% | Biji Pepaya | 29,656 ppm |
| 2. | Etanol 96% | Biji Pepaya | 35,500 ppm |
| 3. | Kloroform 99,8% | Biji Pepaya | 11,526 ppm |

Hasil uji toksisitas menunjukkan nilai LC_{50} kloroform adalah yang paling kecil diikuti metanol dan etanol dengan nilai 11,526 ppm, 29,656 ppm dan 35,500 ppm berturut-turut. Ekstrak kloroform memiliki nilai LC_{50} paling kecil dan merupakan ekstrak yang paling toksik karena kadar total alkaloid yang diduga memiliki sifat toksik dalam ekstrak kloroform biji pepaya paling tinggi, sedangkan pada ekstrak metanol memiliki nilai LC_{50} lebih tinggi dari nilai LC_{50} ekstrak etanol dengan kadar total alkaloid lebih rendah, hal ini karena adanya faktor pelarut metanol. Metanol dapat menimbulkan kerusakan pada sel karena radikal bebas, formaldehid dan asam format. Formaldehid meningkatkan produk peroksidasi lipid yang dapat merusak sel membran dan kematian sel, sedangkan asam format dapat menghambat aktivitas oksidasi mitokondrial sitokrom, menghalangi metabolisme oksidatif dan mengakibatkan hipoksia jaringan (Parthasarathy, dkk, 2006), sehingga metanol mempengaruhi jumlah kematian larva yang berpengaruh juga terhadap nilai LC_{50} , semakin banyak jumlah larva yang mati, nilai LC_{50} akan semakin kecil.

Menurut Meyer, dkk (1982), senyawa kimia dapat dikatakan toksik jika $LC_{50} < 1000$ ppm, sehingga sifat toksik ekstrak kasar biji pepaya tergolong kuat.

Nilai LC_{50} ekstrak kasar biji pepaya dengan metode ekstraksi ultrasonik lebih kecil dibanding dengan nilai LC_{50} dari penelitian-penelitian sebelumnya yang mengekstrak bagian pepaya lain menggunakan metode ekstraksi maserasi yang tercantum dalam Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Nilai LC_{50} metode maserasi

| No. | Pelarut | Sampel | LC_{50} | Referensi |
|-----|-----------|-------------|-------------------------|---|
| 1. | Metanol | Biji Pepaya | >350 ppm | Khor dan Wong (2014) |
| 2. | Etanol | Daun Pepaya | 194,24 ppm 66,61 ppm | Sumarny, dkk (2013) Devitasari, dkk (2016) |
| 3. | Kloroform | Biji Pepaya | 246,4124 ppm | Rachmawati (2009) |

Nilai LC_{50} yang diperoleh pada penelitian ini lebih kecil dibanding dengan nilai LC_{50} Khor dan Wong (2014) pada ekstrak maserasi biji pepaya dengan pelarut metanol, yaitu lebih dari 350 ppm. Kemudian, Sumarny, dkk (2013) menguji ekstrak maserasi daun pepaya dengan pelarut etanol menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 194,24 ppm, diperkuat dengan penelitian Devitasari, dkk (2016) menghasilkan nilai LC_{50} lebih kecil, yaitu 66,61 ppm yang diduga sebagai efek toksik dari metabolit sekunder alkaloid daun pepaya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rachmawati (2009), menunjukkan nilai LC_{50} fraksi kloroform dari ekstrak maserasi biji pepaya dengan pelarut etanol sebesar 246,4124 ppm.

Berdasarkan data tersebut, dapat diketahui bahwa proses yang terjadi saat ekstraksi ultrasonik berlangsung mampu meningkatkan kelarutan, sehingga dapat menarik senyawa aktif alkaloid lebih banyak dan tidak merusak kandungan senyawa aktif di dalam sampel. Nilai LC_{50} ekstrak kasar biji pepaya pada penelitian ini lebih rendah dibanding nilai LC_{50} bagian pepaya lain dengan ekstraksi maserasi. Hal ini menandakan kemampuan toksik senyawa aktif biji pepaya pada metode

ekstraksi ultrasonik jauh lebih baik dari kemampuan toksik senyawa aktif bagian pepaya lain pada metode ekstraksi maserasi.

Ekstrak suatu bahan dapat dikatakan bersifat toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Semakin kecil LC_{50} , maka sifat toksiknya semakin besar. Nilai LC_{50} dari masing-masing ekstrak pada penelitian ini sangat berpotensi memiliki sifat sitotoksik pada larva udang *Artemia salina* L. Nilai LC_{50} tersebut dapat digunakan untuk uji lanjutan sebagai zat antikanker karena memiliki nilai LC_{50} sangat kecil. Alotaibi, dkk (2017) menjelaskan bahwa viabilitas sel ekstrak biji pepaya hitam (matang) pada konsentrasi 25 ppm terhadap kanker prostat PC-3 memiliki persentase sekitar 60%, kemudian menurut Hadadi, dkk (2018), viabilitas sel ekstrak biji pepaya pada konsentrasi 100 ppm terhadap sel kanker payudara MDA-MB-231 adalah sekitar 87%. Suatu ekstrak dikatakan aktif atau memiliki potensi sebagai antikanker apabila nilai $LC_{50} \leq 20$ ppm (Farida, dkk, 2009).

Mekanisme metabolit sekunder alkaloid dalam membunuh larva udang adalah dengan menghambat enzim RNA *polymerase*, sehingga DNA tidak dapat mensintesis RNA. Jika RNA tidak terbentuk, maka proses sintesis protein sebagai energi bagi larva udang pun terhambat, sehingga dapat mengganggu metabolisme sel. Terganggunya metabolisme sel tersebut akan menyebabkan kematian pada sel yang berarti kematian pada larva udang *Artemia salina* L dan diukur sebagai besarnya sifat ketoksikan suatu senyawa aktif (Cushnie, dkk, 2014).

4.8 Integrasi Hasil Penelitian Terhadap Perspektif Islam

Hasil uji toksisitas ekstrak biji pepaya pada larva udang *Artemia salina* L menunjukkan nilai LC_{50} berturut-turut pada pelarut metanol, etanol dan kloroform

sebesar 29,656 ppm, 35,500 ppm dan 11,526 ppm. Nilai LC₅₀ dapat digunakan untuk menunjukkan tingkat sifat toksik suatu bahan uji. Menurut Meyer, dkk (1982), suatu senyawa dapat diklasifikasikan sebagai non toksik jika mempunyai LC₅₀>1000 ppm dan bersifat toksik jika LC₅₀<1000 ppm. Hasil pengujian pada penelitian ini menunjukkan bahwa dengan nilai LC₅₀<1000 ppm, ekstrak biji pepaya memiliki sifat sitotoksik pada larva udang *Artemia salina* L dan bisa digunakan untuk diuji lebih lanjut sebagai zat antikanker. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa adanya penciptaan tanaman oleh Allah SWT dapat dimanfaatkan sebagai obat, sebagaimana dijelaskan dalam al-Quran surat Luqman ayat 10 yang berbunyi:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوْنَهَا وَالْأَرْضَ رَوَاسِيٍّ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “*Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung di bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu. Dan Dia mengembangbiakkan segala jenis binatang dan Kami juga menurunkan hujan dari langit, kemudian Kami menumbuhkan pada mereka (makhluk Allah SWT) bermacam-macam tumbuhan yang baik.*” (Q.S. Luqman : 10).

Menurut penafsiran Al Muyassar, dikatakan bahwa Allah menciptakan langit yang terangkat tanpa tiang dan menghamparkan di bumi ini gunung-gunung yang kokoh, sehingga bumi ini tidak menggoyangkan manusia, serta menyebarkan di atas bumi ini berbagai macam binatang, menurunkan air hujan dari langit yang dapat menumbuhkan tanaman yang baik untuk diambil manfaatnya. Tanaman baik yang dapat diambil manfaatnya dalam hal ini adalah pepaya yang biji buahnya memiliki kandungan metabolit sekunder alkaloid dan dapat digunakan sebagai tanaman obat karena bersifat toksik.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak metanol, etanol dan kloroform biji pepaya positif mengandung senyawa aktif golongan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan kompleks kalium-alkaloid berwarna putih setelah penambahan pereaksi *Mayer* dan terbentuk endapan kalium-alkaloid berwarna kuning setelah penambahan pereaksi *Dragendorff*.
2. Ekstrak metanol, etanol dan kloroform biji pepaya memiliki kadar total alkaloid berturut-turut sebesar 0,78%, 20,79%, dan 26,31% dengan metode pengendapan dan dihitung bobotnya sebagai nilai total alkaloid yang terkandung di dalam sampel ekstrak.
3. Ekstrak metanol, etanol dan kloroform biji pepaya memiliki nilai LC_{50} berturut-turut sebesar 11,526 ppm, 29,656 ppm dan 35,500 ppm yang dapat dikategorikan bersifat toksik karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm dan dapat digunakan untuk uji lanjutan sebagai obat antikanker.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah diharapkan melakukan pengujian menggunakan instrumentasi spektrofotometer UV-Vis secara kuantitatif atau FTIR untuk pengidentifikasian senyawa alkaloid yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya dengan persiapan larutan standar yang dibutuhkan. Selanjutnya, perlu dilakukan isolasi terhadap ekstrak kasar biji pepaya untuk memperoleh senyawa

alkaloid yang lebih spesifik dalam sifat toksiknya menggunakan metode pengendapan seperti pada penetapan kadar total alkaloid. Kemudian, karena nilai LC_{50} dari 3 ekstrak kasar biji pepaya pada penelitian ini cukup rendah dengan sifat toksik tinggi, maka dapat dilanjutkan untuk uji aktivitas antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N. W. S. 2017. Identifikasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Hayati Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat dan Etanol Mikroalga *Tetraselmis chuii* Secara *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT): *Journal of Agro-based Industry*. Vol. 34(1): 8-17.
- Ajanal, M., Gundkalle, M. B. and Nayak, S. U. 2012. Estimation of Total Alkaloid in *Chitrakadivati* by UV-Spectrophotometer: *Ancient Science of Life*. Vol. 31(4): 198-201.
- Alasa, A. N., Anam, S. dan Jamaluddin. 2017. Analisis Kadar Total Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Tamoenu (*Hibiscus surattensis* L.): *Jurnal Riset Kimia Kovalen*. Vol. 3(3): 258-268.
- Alfarabi, M. dan Fauziayuningtias, A. 2017. Analisis Nilai Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT): *Journal of Science and Technology*. Vol. 6(2): 153-158.
- Alotaibi, K. S., Li, H., Rafi, R. and Siddiqui, R. A. 2017. Papaya black seeds have beneficial anticancer effects on PC-3 prostate cancer cells: *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*. Vol. 3: 161-168.
- Anggrianti, P. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) Terhadap Sel HeLa. Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Skripsi*.
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi keempat*. Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Asmanizar dan Iis Aisyah. Jakarta: UI Press.
- AOAC. 2012. *Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemist 19th Edition*. USA: Gaithersburg, Md.
- Ariani, N., Monalisa dan Febrianti, D. R. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*: *Journal Current Pharmaceutical Sciences*. Vol. 2(2): 160-166.
- Astuti, M. S. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bungan dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis): *Jurnal Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan dan Fakultas Kejuteraan Kimia dan Sumber Asli (Bioproses)*. Indonesia-Malaysia, 1-13.

- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta: BPOM.
- Bhowmik, D., S., Duraivel, G., Harish and G., Aravind. 2013. Traditional and Medicinal Uses of *Carica papaya*: *Journal and Medicinal Plants Studies*. Vol. 1(1): 7-15.
- Creswell, J. W. 2005. *Educational Research, Planning, Conducting, and Evaluating Quantitative and Qualitative Research*. 2nd Edition. New Jersey: Pearson Merrill Prentice Hall.
- Cushniea, T. P. T., Cushnie, B., and Lamb, A.J. 2014. Alkaloids: An Overview of Their Antibacterial, Antibiotic-Enhancing and Antivirulence Activities: *International Journal of Antimicrobial Agents*. Vol. 44: 377-386.
- Devaki, C. S., Samreen, F. and Prakash, J. 2015. A Review on Composition, Processed Product and Medicinal Uses of Papaya (*Carica papaya* L.): *International Journal of Food, Nutrition and Dietetics*. Vol. 3(3): 98-118.
- Devi, S., Ropiqa, M., Murti, Y. B. and Nugroho, A. K. 2020. Screening of Extraction Process and The Estimation of Total Alkaloids in *Carica papaya* Linn. Leaf: *Traditional Medical Journal*. Vol. 25(2): 90-95.
- Devitasari, A., Fitriyaningsih, S. P. dan Suwendar. 2016. Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Prosiding Farmasi*. Vol. 2(2): 579-584.
- Fadli, Suhaimi, dan Idris, M. 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*): *Jurnal Medical Sains*. Vol. 4(1): 35-42.
- Farida, Y., Martati, T. dan Edward, B. 2009. *Uji Aktivitas Biologi Secara BSLT dan Uji Sitotoksik Dengan Metode MTT dari Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Daun Keladi Tikus (Typhonium divaricatum (L) Decne)*. Jakarta: Kongres Ilmiah ISFI XVII.
- Hadadi, Shrefa A., Li, H., Rafie, R., Kaseloo, P., Witiak, S. M. and Siddiqui, R. A. 2018. Anti-oxidation properties of leaves, skin, pulp, and seeds extracts from green papaya and their anticancer activities in breast cancer cells: *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*. Vol. 4(25): 6-11.

- Halimah, N. and Hayati, E. K. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.): *Journal Plant Extract Alchemy*. Vol. 1(2): 80-81.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi II*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro. Bandung: ITB.
- Hartuti, S. dan Supardan, M. D. 2013. Optimasi Gelombang Ultrasonik untuk Produksi Oleoresin Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) Menggunakan Respon Surface Methodology (RSM): *Jurnal Agritech*. Vol. 33(4): 415-423.
- Iffah, A. A. D., Rani, C. dan Samawi, M. F. 2018. Skrining Metabolit Sekunder Pada Sirip Ekor Hiu *Carcharhinus melanopterus*. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan V*. ISBN 978-602-71759-5-2.
- Ikpeme, E. V., Ekaluo, U. B., Kooffreh, M. E. and Udensi, O. 2011. Phytochemistry and Heamatological Potential of Seed, Leaf and Pulp Extract of *Carica papaya* (Linn): *Pakistan Journal of Biological Sciences*. Vol. 14(6): 408-411.
- Januarti, I. B., Santoso, A. dan Razak, A. S. 2017. Ekstraksi Senyawa Flavonoid Daun Jati (*Tectona grandis* L.) dengan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi): *Media Farmasi Indonesia*. Vol. 12(2): 1263.
- Jitan, S. A., Alkhoori, S. A. and Yousef, L. F. 2018. Phenolic Acids from Plants: Extraction and Application to Human Health: *Journal Studies in Natural Products Chemistry*. Vol. 58(13): 396.
- Kanadi, M. A., Alhassan, A. J., Ngwen, A. L., Yaradua, A. I., Nasir, A. and Wudil, A. M. 2019. Acute Toxicity Studies and Phytochemical Constituents of Different Solvents Extracts of *Carica papaya* Seeds: *Asian Journal of Research in Botany*. Vol. 2(3): 1-9.
- Kanifah, U., Lutfi, M. dan Susilo, B. 2015. Karakterisasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Dengan Metode Ekstraksi *Non-Thermal* Berbantuan Ultrasonik (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi): *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol. 3(1): 73-79.
- Khor, E. S. and Wong, N. K. 2014. Potential Antioxidant and Cytotoxic Properties Of Secondary Metabolite Extracts From *Carica papaya* Fruits and Seeds: *International Journal Pharm Pharm Sci*. Vol. 6(7): 220-224.
- Khuzhaev, V. U. and Aripova, S. F. 2000. Pseudocarpaine from *Carica papaya*: *Chenistry of Natural Compounds*. Vol. 36(4): 418.

- Kuldiloke, J. 2002. *Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. Dissertationder Technischen*. Berlin: Berlin University.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloid*. Medan: Departemen FMIPA Kimia, Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, D., Kartika, R. dan Marlina, E. 2019. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif: *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. Vol. 1(1): 1-10.
- Liu, Q. M., Yang, X. M., Zhang, L. and George, M. 2010. Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Chlorogenic Acid from *Folium eucommiae* and Evaluation of its Antioxidant Activity: *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 4 (23): 2503-2511.
- Lohiya, N. K., Manivannan, B., Mishra, P. K., Pathak, N., Sriram, S., Bhande, S. S. and Panerdoss, S. 2002 Chloroform Extract of *Carica papaya* Seeds Induces Long-Term Reversible Azoospermia in Langur Monkey: *Asian Journal of Andrology*. Vol. 4 (1): 17- 26.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulate* Beauv) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Secara *in vitro*. *Skripsi*.
- Martiasih, M., Sidharta, B. B. R. dan Atmojo, P. K. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*: *Jurnal Teknologi*. Vol. 4(1): 59-62.
- McLaughlin, J. L. and Rogers, L.L. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals: *Drug Information Journal*. Vol 32: 513-524.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N.R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. and McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituent: *Journal Planta Medica*. Vol. 45(5): 31-34.
- Mudjiman, A. 1988. *Makanan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Muflihah. 2015. Analisis Variasi Konsentrasi Terhadap Uji Toksisitas Akut Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Pada Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-1*. Universitas Mulawarman. Halaman 213-221.
- Mukhaimin, I., Latifahnya, A. N. dan Puspitasari, E. 2018. Penentuan Kadar Alkaloid Total pada Ekstrak Bunga Pepaya (*Carica papaya* L.) Dengan Metode Microwave Assisted Extraction: *Cheesa Journal*. Vol. 1(2): 66-73.

- Mulyono, L. M. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*: *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Surabaya*. Vol. 2(2): 23-34.
- Ningdyah, A. W., Alimuddin, A. H. dan Jayuska, A. 2015. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*): *JKK*. Vol. 4(1): 75-83.
- Parthasarathy, N. J., Kumar, R. S., Manikandan, S. and Devi, R. S. 2006. Methanol-Induced Oxidative Stress in Rat Lymphoid Organs: *Journal of Occupational Health*. Vol. 48: 20-27.
- Patel, R. K., Patel, J. B. and Trivedi, P. D. 2015. Spectrophotometric Method for The Estimation of Total Alkaloids in The *Tinospora cordifolia* M. and Its Herbal Formulations: *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 7(10): 249-251.
- Prasetya, A. T., Mursiti, S., Maryan, S. and Jati, N. K. 2018. Isolation and Identification of Active Compounds from Papaya Plants and Activities as Antimicrobial: *The 12th Joint Conference on Chemistry*. IOP Conf. Series: Material Science and Engineering 349. Page 1-6.
- Prasetyaningrum, N., Muslichah, S. dan Hidayat, M. A. 2015. Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksana dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus: *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 3(1): 39-43.
- Puspitasari, E., Rozirwan dan Hendri, M. 2018. Uji Toksisitas Dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Pada Ekstrak Mangrove (*Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *Sonneratia alba* dan *Xylocarpus granatum*) Yang Berasal Dari Banyuasin, Sumatera Selatan: *Jurnal Biologi Tropis*. Vol. 18(1): 91-103.
- Rachmawati, Dian. 2009. Toksisitas Fraksi Heksan, Fraksi Kloroform, Fraksi Air Sisa Dari Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Dengan Metode BSLT "*Brine Shrimp Lethality Test*". Universitas Surabaya. *Skripsi*.
- Rahayu, S. E., Sulisetidjono and Lestari, U. 2019. Phytochemical Screening, Antioxidant Activity, and Total Phenol Profile of *Carica pubescens* Leaves from Cagar, Batu-East Java, Indonesia: *International Conference on Life Scienced and Technology*. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 276. Page 1-7.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi VI*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.

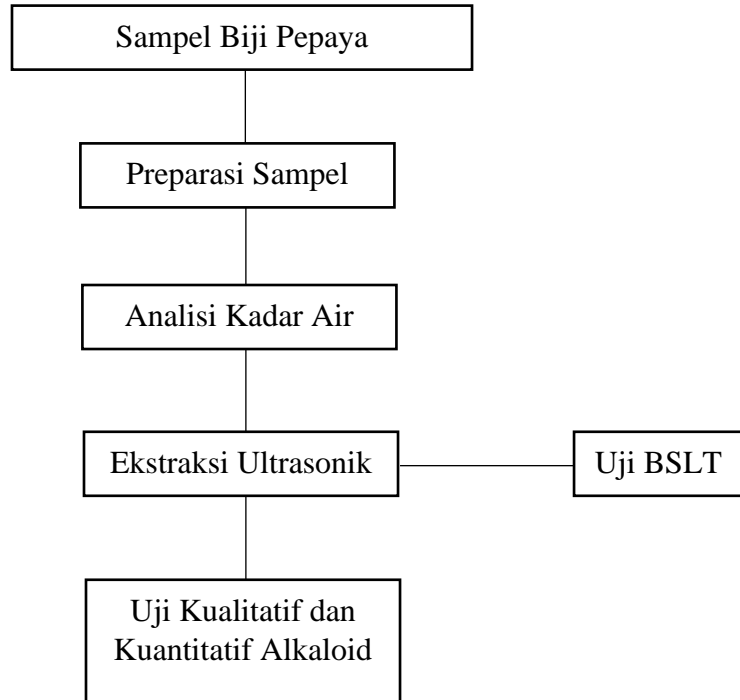
- Rohmah, K. R. dan Fickri, D. Z. 2020. Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolitik Alkaloid Total Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Secara *in vitro*: *Jurnal Farmasi dan Klinis*. Vol. 7(2): 115-125.
- Roni, A., Maesaroh dan Marliani, L. 2018. Aktivitas Antibakteri Biji, Kulit dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*: *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 6(1): 29-33.
- Rusanti, A., Sukandar, D., Rudiana, T. dan Adawiah. 2017. Profil Fraksi Sitotoksik Terhadap Sel Murine Leukemia P-388 dari Ekstrak Biji Honje (*Etilingera elatior*): *Jurnal Kimia Valensi*. Vol. 3(1): 79-87.
- Saifudin, A., Rahayu, V. dan Teruna, H. Y. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Salamah, N. and Ningsih, D. S. 2017. Total Alkaloid Content in Various Fractions of *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl. (Jembirit) Leaves: *IPCQuad2017*. IOP Conf. Series: Material Science and Engineering 259. Page 1-6.
- Satriyasa, B. K. dan Pangkahila, W. I. 2010. Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda Menghambat Spermatogonia Mencit (*Mus musculus*) Jantan: *Jurnal Veteriner*. Vol. 11(1): 36-40.
- Sekarsari, S., Widarta, I. W. R. dan Jambe, A. A. G. N. A. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji: *Jurnal Ilmu Teknologi dan Pangan*. Vol. 8(3): 270.
- Singgih, W., Utomo, B. S. B., Suryaningrum, D. Th. dan Syamdi. 2013. *Artemia Untuk Pakan Ikan dan Udang*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suhartati, Tati. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: Aura.
- Sukadana, I. M., Santi, S. R. dan Juliarti, N. K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.): *Jurnal Kimia*. Vol. 2(1): 15-18.
- Sumarny, R., Prisoeryanto, B. P. dan Candra, M. S. 2013. Pengembangan dan Pemanfaatan Bahan Alam Indonesia Untuk Meningkatkan Daya Saing Industri Farmasi Nasional. *Seminar Nasional Pengembangan dan Pemanfaatan Bahan Alam Indonesia untuk Meningkatkan Daya Saing Industri Farmasi Nasional*. Halaman 1-12.
- Sunarjono. 2000. *Prospek Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Suslick, K. S. 1988. *Ultrasound: Its Chemical, Physical, And Biological Effects*. New York: VCH.
- Svehla, G. 1985. *Vogel Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro Bagian II*. Diterjemahkan oleh L. Setiono. Jakarta: Kalman Medika Pusaka.
- Syarifah, F., Mulyanti, D. dan Priani, S. E. 2015. Formula *Edible Film* Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Uji Aktivitasnya Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus aureus*. *Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba (Kesehatan dan Farmasi)*. ISSN 2460-6472.
- Titis, M., Fachriyah, E. dan Kusriani, D. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis): *Chem Info*. Vol. 1(1): 196-201.
- Torar, G. M. J., Lolo, W. A. dan Citraningtyas, G. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*: *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 6(2): 14-22.
- Ulfa, N. M., Kusumo, G. G. dan Zulfa, I. M. 2018. Uji Aktivitas Antikanker Biji Pepaya (*Carica papaya semen* L) Pada Hewan Coba Mencit dengan *Carcinoma mammae*. *Seminar Nasional PPM*. Akademi Farmasi Surabaya. Halaman 646-657.
- Ulfa, N. M., Kusumo, G. G. dan Zulfa, I. M. 2019. Analisis Uji Pendahuluan Aktivitas Antikanker Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Dengan Metode BSLT: *Journal of Pharmacy and Science*. Vol. 4(1): 7-10.
- Untoro, M., Enny, F. dan Dewi, K. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid dari Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*): *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. Vol. 19(2): 58-62.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R. dan Permana, I. D. G. M. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.): *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 7(4): 215.
- Vien, D. T. H. and Loc, T. V. 2017. Extraction and Quantification of Carpaine From *Carica papaya* Leaves of Vietnam: *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*. Vol. 2(5): 2394-2397.
- Warono, D. dan Syamsudin. 2013. Untuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen: *Konversi*. Vol. 2(2): 57-65.

- Yanlinastuti dan Fatimah, S. 2016. *Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. ISSN 1979-2409.
- Zhang, W., Pan, Y., Huang, W., Chen, H. and Yong, H. 2019. Optimized Ultrasonic-Assisted Extraction of Papaya Seed Oil from Hainan/Exotica Variety: *Food Science and Nutrition*. DOI: 10.1002/fsn3.1125.
- Zukhri, Saifudin. 2015. Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*: *Jurnal Motorik*. Vol. 10(20): 21-30.
- Zuraida. 2018. Analisis Toksisitas Beberapa Tumbuhan Hutan Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT): *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. Vol. 36(3): 239-246.

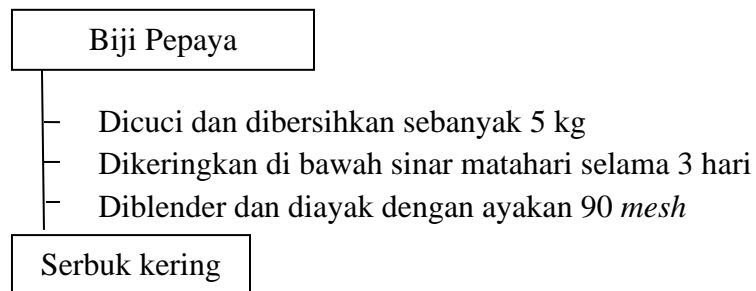
LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian

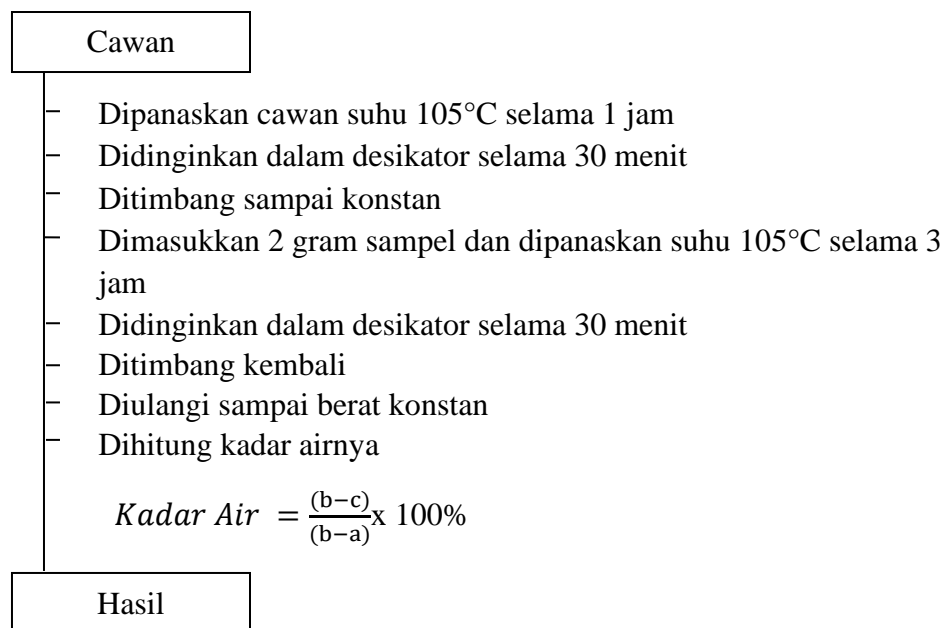


Lampiran 2. Diagram Alir

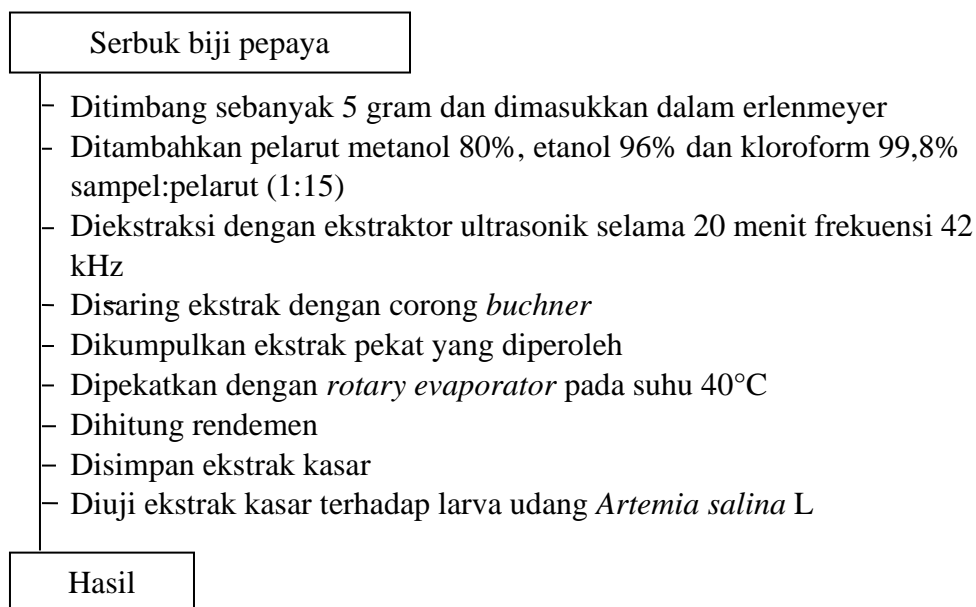
L.2.1 Preparasi Sampel



L.2.2 Analisis Kadar Air

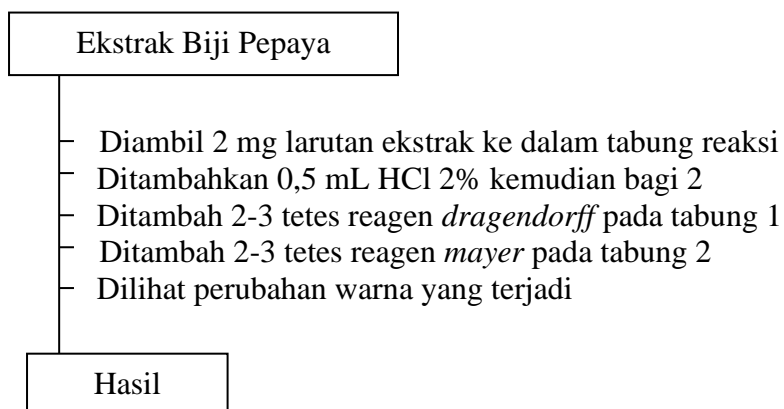


L.2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

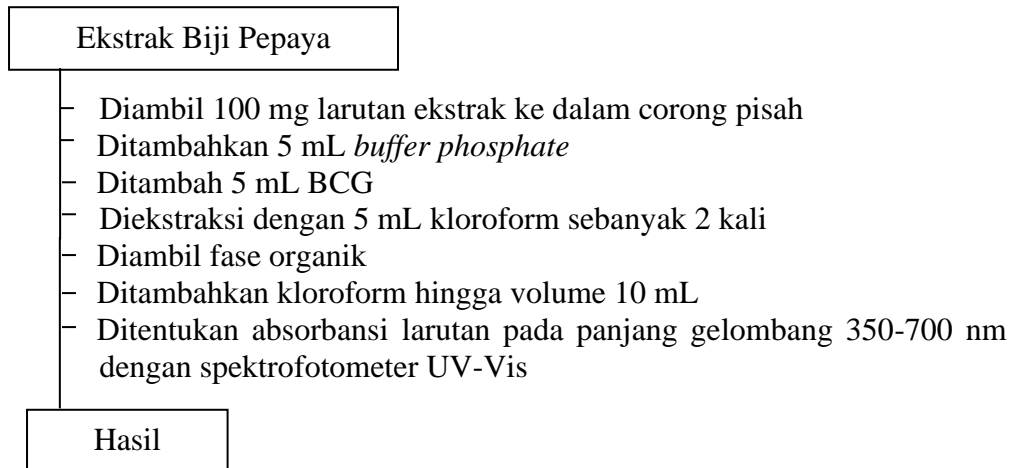


L.2.4 Uji Kualitatif

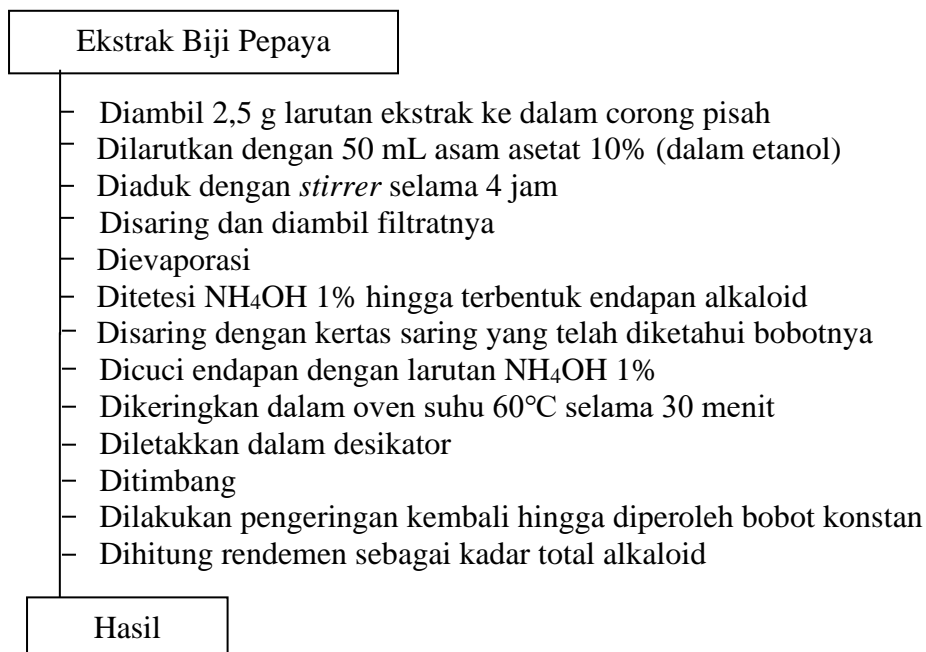
L.2.4.1 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Pereaksi *Mayer* dan *Dragendorff*



L.2.4.2 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Dengan Penentuan Panjang Gelombang Menggunakan Spektrofotometer



L.2.5 Uji Total Alkaloid Menggunakan Metode Pengendapan



L.2.6 Uji Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya Metode BSLT

L.2.6.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L

Telur larva *Artemia salina* L

- Dimasukkan 2,5 mg ke wadah berisi 250 mL air laut
- Disinari dengan lampu pijar
- Diaerasi selama \pm 48 jam

Hasil

L.2.6.2 Pengukuran Toksisitas pada Sampel

Larutan ekstrak metanol, etanol dan kloroform
10, 20, 30, 40 dan 50 ppm

- Dimasukkan dalam vial
- Diuapkan pelarutnya
- Ditambahkan 100 μ L DMSO
- Ditambahkan 1 tetes larutan ragi
- Dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* L
- Ditambahkan air laut hingga volume 10 mL
- Dibiarkan selama 24 jam
- Dihitung jumlah larva yang mati
- Ditentukan nilai LC_{50} dengan Probit SPSS
- Dibuat untuk 5 kali pengulangan

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Reagen dan Larutan

L.3.1 Pembuatan Larutan HCl 2%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Cara pembuatan HCl 2%, yaitu HCl pekat (37%) dipipet sebanyak 0,5 mL dengan pipet volume dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang sudah berisi akuades ± 5 mL. Kemudian, ditandabatkan dengan akuades dan dikocok hingga homogen. Pembuatan larutan ini dilakukan di dalam lemari asap.

L.3.2 Pembuatan Larutan Metanol 80%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,99\% \times V_1 = 80\% \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 80 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya, yakni metanol 99,99% dipipet sebanyak 80 mL menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian, ditandabatkan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

L.3.3 Pembuatan Larutan Asam Asetat 10% (dalam Etanol)

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,99\% \times V_1 = 10\% \times 250 \text{ mL}$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

Cara pembuatan larutan asam asetat 10% dalam etanol adalah dengan mengambil 25 mL asam asetat glasial dengan pipet volume dan dimasukkan ke labu ukur 250 mL. Kemudian, ditandabatkan dengan etanol pekat dan dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan Larutan NH₄OH 1%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$25\% \times V_1 = 1\% \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

Cara pembuatan larutan NH_4OH 1% adalah dengan mengambil 4 mL larutan NH_4OH 25% dengan pipet ukur dan dimasukkan ke labu ukur 100 mL. Kemudian, ditandabatkan dengan aquades dan dikocok hingga homogen.

Lampiran 4. Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Kadar Air

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

$$\text{Kadar air} = \frac{(51,9290 \text{ gram} - 51,82645 \text{ gram})}{(51,82645 \text{ gram} - 49,90925 \text{ gram})} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 5,35\%$$

L.4.2 Rendemen Hasil Ekstraksi Ultrasonik

L.4.2.1 Pelarut Metanol

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1,0607 \text{ gram}}{7,5039 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 14,14\%$$

L.4.2.2 Pelarut Etanol

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1,8562 \text{ gram}}{10,0088 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 18,55\%$$

L.4.2.3 Pelarut Kloroform

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1,1306 \text{ gram}}{5,0032 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 22,60\%$$

L.4.3 Uji Total Alkaloid Menggunakan Metode Pengendapan

L.4.3.1 Pelarut Metanol

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = \frac{B-A}{C} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = \frac{0,4456 \text{ gram} - 0,4417 \text{ gram}}{0,5007 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = 0,78\%$$

L.4.3.2 Pelarut Etanol

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = \frac{B-A}{C} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = \frac{0,5578 \text{ gram} - 0,4528 \text{ gram}}{0,5051 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = 20,79\%$$

L.4.3.3 Pelarut Kloroform

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = \frac{B-A}{C} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = \frac{0,57155 \text{ gram} - 0,4384 \text{ gram}}{0,506 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Total Alkaloid} = 26,31\%$$

L.4.4 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

$$\%Mortalitas = \frac{\text{modus}}{\text{jumlah larva}} \times 100\%$$

$$Mortalitas = \frac{\%mortalitas}{100} \times \text{jumlah larva total}$$

L.4.4.1 Pelarut Metanol

| Konsentrasi (ppm) | Jumlah larva mati (ekor) | | | | | | Mortalitas (%) | Mortalitas |
|----------------------|--------------------------|----|-----|----|---|-------|-------------------|------------|
| | I | II | III | IV | V | Modus | | |
| 0* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0** | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0*** | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 4 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 10 | 5 |
| 20 | 3 | 3 | 5 | 3 | 2 | 3 | 30 | 15 |
| 30 | 6 | 5 | 5 | 5 | 6 | 5 | 50 | 25 |
| 40 | 6 | 6 | 6 | 8 | 6 | 6 | 60 | 30 |
| 50 | 5 | 7 | 6 | 7 | 7 | 7 | 70 | 35 |

Confidence Limits

| 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | | |
|---------------------------------------|-------------|----------|-------------|-------------|
| | Probability | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | 2.064 | .511 | 4.096 |
| | .020 | 2.820 | .823 | 5.178 |
| | .030 | 3.438 | 1.113 | 6.010 |
| | .040 | 3.991 | 1.396 | 6.726 |
| | .050 | 4.505 | 1.678 | 7.371 |
| | .060 | 4.995 | 1.963 | 7.970 |
| | .070 | 5.468 | 2.251 | 8.537 |
| | .080 | 5.929 | 2.545 | 9.080 |
| | .090 | 6.383 | 2.844 | 9.605 |
| | .100 | 6.831 | 3.151 | 10.116 |
| | .150 | 9.045 | 4.806 | 12.562 |
| | .200 | 11.307 | 6.702 | 14.967 |
| | .250 | 13.694 | 8.880 | 17.460 |
| | .300 | 16.263 | 11.377 | 20.151 |
| | .350 | 19.072 | 14.213 | 23.175 |

| | | | |
|-------------|---------------|---------------|---------------|
| .400 | 22.185 | 17.382 | 26.727 |
| .450 | 25.680 | 20.840 | 31.092 |
| .500 | 29.656 | 24.525 | 36.655 |
| .550 | 34.248 | 28.420 | 43.886 |
| .600 | 39.643 | 32.597 | 53.367 |
| .650 | 46.113 | 37.213 | 65.933 |
| .700 | 54.079 | 42.506 | 82.932 |
| .750 | 64.225 | 48.836 | 106.731 |
| .800 | 77.778 | 56.794 | 141.860 |
| .850 | 97.227 | 67.520 | 198.235 |
| .900 | 128.749 | 83.710 | 302.849 |
| .910 | 137.785 | 88.143 | 335.594 |
| .920 | 148.321 | 93.214 | 375.233 |
| .930 | 160.838 | 99.117 | 424.290 |
| .940 | 176.070 | 106.140 | 486.759 |
| .950 | 195.212 | 114.742 | 569.387 |
| .960 | 220.375 | 125.724 | 684.665 |
| .970 | 255.798 | 140.646 | 859.017 |
| .980 | 311.854 | 163.215 | 1161.702 |
| .990 | 426.170 | 206.257 | 1870.382 |

a. Logarithm base = 10.

L.4.4.2 Pelarut Etanol

| Konsentrasi (ppm) | Jumlah larva mati (ekor) | | | | | | Mortalitas (%) | Mortalitas |
|----------------------|--------------------------|----|-----|----|---|-------|-------------------|------------|
| | I | II | III | IV | V | Modus | | |
| 0* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0*** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 1 | 4 | 3 | 1 | 1 | 1 | 10 | 5 |
| 20 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 20 | 10 |
| 30 | 5 | 3 | 6 | 3 | 3 | 3 | 30 | 15 |
| 40 | 5 | 7 | 5 | 5 | 3 | 5 | 50 | 25 |
| 50 | 8 | 8 | 8 | 4 | 7 | 8 | 80 | 40 |

Confidence Limits

| 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | | |
|---------------------------------------|-------------|----------|-------------|-------------|
| | Probability | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | 2.027 | .416 | 4.216 |
| | .020 | 2.835 | .709 | 5.397 |
| | .030 | 3.508 | .993 | 6.316 |
| | .040 | 4.117 | 1.281 | 7.111 |
| | .050 | 4.689 | 1.574 | 7.834 |
| | .060 | 5.239 | 1.875 | 8.508 |
| | .070 | 5.774 | 2.186 | 9.148 |
| | .080 | 6.299 | 2.508 | 9.765 |
| | .090 | 6.818 | 2.841 | 10.363 |
| | .100 | 7.333 | 3.186 | 10.948 |
| | .150 | 9.915 | 5.106 | 13.778 |
| | .200 | 12.601 | 7.394 | 16.618 |
| | .250 | 15.479 | 10.096 | 19.637 |
| | .300 | 18.619 | 13.239 | 23.013 |
| | .350 | 22.095 | 16.801 | 27.001 |

| | | | |
|-------------|---------------|---------------|---------------|
| .400 | 25.991 | 20.693 | 31.986 |
| .450 | 30.414 | 24.789 | 38.484 |
| .500 | 35.500 | 29.032 | 47.083 |
| .550 | 41.438 | 33.497 | 58.473 |
| .600 | 48.489 | 38.347 | 73.614 |
| .650 | 57.039 | 43.804 | 94.027 |
| .700 | 67.687 | 50.165 | 122.252 |
| .750 | 81.419 | 57.878 | 162.829 |
| .800 | 100.012 | 67.695 | 224.626 |
| .850 | 127.108 | 81.081 | 327.553 |
| .900 | 171.862 | 101.533 | 527.615 |
| .910 | 184.851 | 107.175 | 592.146 |
| .920 | 200.077 | 113.651 | 671.283 |
| .930 | 218.270 | 121.213 | 770.630 |
| .940 | 240.552 | 130.242 | 899.151 |
| .950 | 268.753 | 141.348 | 1072.211 |
| .960 | 306.138 | 155.590 | 1318.725 |
| .970 | 359.298 | 175.051 | 1701.044 |
| .980 | 444.523 | 204.693 | 2386.655 |
| .990 | 621.712 | 261.816 | 4071.752 |

a. Logarithm base = 10.

L.4.4.3 Pelarut Kloroform

| Konsentrasi (ppm) | Jumlah larva mati (ekor) | | | | | | Mortalitas (%) | Mortalitas |
|----------------------|--------------------------|----|-----|----|---|-------|-------------------|------------|
| | I | II | III | IV | V | Modus | | |
| 0* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0*** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 50 | 25 |
| 20 | 6 | 6 | 7 | 6 | 6 | 6 | 60 | 30 |
| 30 | 5 | 6 | 6 | 6 | 8 | 6 | 60 | 30 |
| 40 | 7 | 7 | 8 | 7 | 7 | 7 | 70 | 35 |
| 50 | 7 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 80 | 40 |

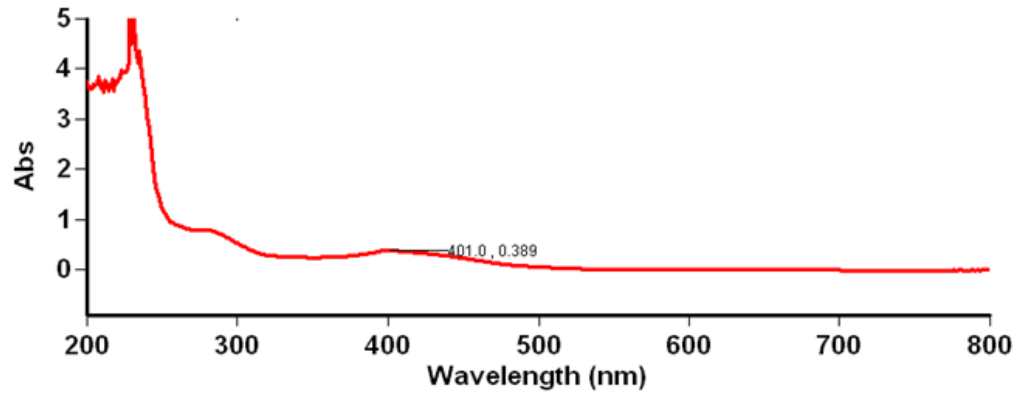
Confidence Limits

| 95% Confidence Limits for konsentrasi | | | | |
|---------------------------------------|-------------|----------|-------------|-------------|
| | Probability | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010 | .079 | .000 | .706 |
| | .020 | .142 | .000 | 1.018 |
| | .030 | .205 | .000 | 1.284 |
| | .040 | .271 | .000 | 1.530 |
| | .050 | .340 | .000 | 1.764 |
| | .060 | .413 | .001 | 1.991 |
| | .070 | .489 | .001 | 2.215 |
| | .080 | .569 | .002 | 2.436 |
| | .090 | .653 | .002 | 2.657 |
| | .100 | .741 | .003 | 2.878 |
| | .150 | 1.253 | .012 | 4.011 |
| | .200 | 1.901 | .035 | 5.228 |
| | .250 | 2.719 | .086 | 6.573 |
| | .300 | 3.750 | .193 | 8.089 |
| | .350 | 5.051 | .406 | 9.827 |

| | | | |
|-------------|---------------|--------------|---------------|
| .400 | 6.700 | .821 | 11.863 |
| .450 | 8.807 | 1.612 | 14.315 |
| .500 | 11.526 | 3.100 | 17.395 |
| .550 | 15.084 | 5.840 | 21.577 |
| .600 | 19.827 | 10.583 | 28.208 |
| .650 | 26.301 | 17.443 | 41.739 |
| .700 | 35.425 | 25.071 | 74.306 |
| .750 | 48.852 | 33.252 | 154.418 |
| .800 | 69.872 | 43.351 | 366.311 |
| .850 | 106.038 | 57.658 | 1026.894 |
| .900 | 179.226 | 81.363 | 3811.415 |
| .910 | 203.449 | 88.309 | 5238.394 |
| .920 | 233.488 | 96.493 | 7402.825 |
| .930 | 271.662 | 106.331 | 10832.012 |
| .940 | 321.718 | 118.464 | 16576.753 |
| .950 | 390.160 | 133.947 | 26941.745 |
| .960 | 489.394 | 154.676 | 47689.828 |
| .970 | 646.618 | 184.513 | 96278.885 |
| .980 | 936.446 | 233.114 | 245133.545 |
| .990 | 1678.718 | 336.618 | 1070483.534 |

a. Logarithm base = 10.

L.4.5 Identifikasi Senyawa Aktif Alkaloid Pada Biji Pepaya Gelombang Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



Sample Name: Karpain Biji Pepaya

Collection Time 3/22/2021 2:23:26 PM

Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 200.0nm

| Wavelength (nm) | Abs |
|-----------------|--------|
| 401.0 | 0.389 |
| 235.0 | 4.375 |
| 231.1 | 5.117 |
| 229.0 | 10.000 |
| 224.9 | 3.954 |
| 223.1 | 3.999 |
| 221.0 | 3.827 |
| 216.9 | 3.815 |
| 215.1 | 3.701 |
| 212.1 | 3.774 |
| 210.0 | 3.706 |
| 208.0 | 3.859 |
| 204.1 | 3.720 |

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

L.5.1 Preparasi Sampel Biji Pepaya (*Carica papaya* L.)



Pengeringan Biji Pepaya



Serbuk Biji Pepaya

L.5.2 Analisis Kadar Air



Penimbangan Serbuk Biji Pepaya

L.5.3 Ekstraksi Ultrasonik



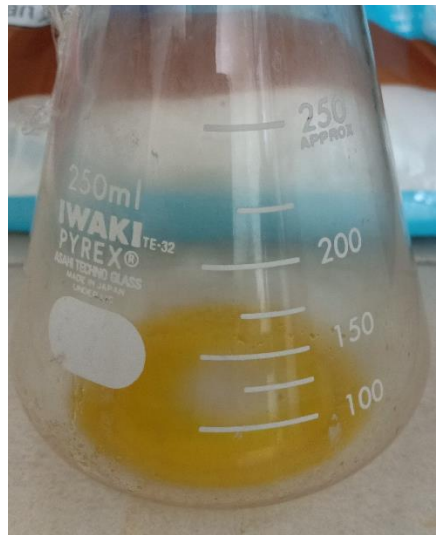
Proses Ekstraksi



Penyaringan Ekstrak



Proses Evaporasi Pelarut



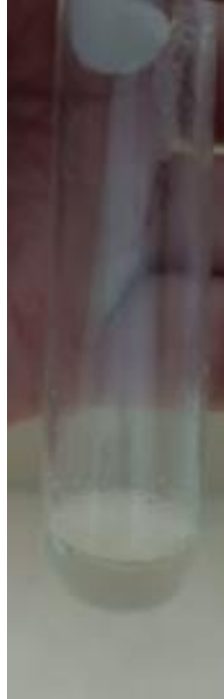
Ekstrak Kasar Biji Pepaya

L.5.4 Uji Kualitatif Senyawa Aktif Alkaloid Dengan Pereaksi

L.5.4.1 Pelarut Kloroform



Uji *Dragendorff* (+)



Uji *Mayer* (+)

L.5.4.2 Pelarut Metanol



Uji *Dragendorff* (+)



Uji *Mayer* (+)

L.5.4.3 Pelarut Etanol



Uji *Dragendorff* (+)



Uji *Mayer* (+)

L.5.5 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid Dengan Spektrofotometer



Ekstrak Kloroform



Spektrofotometer UV-Vis

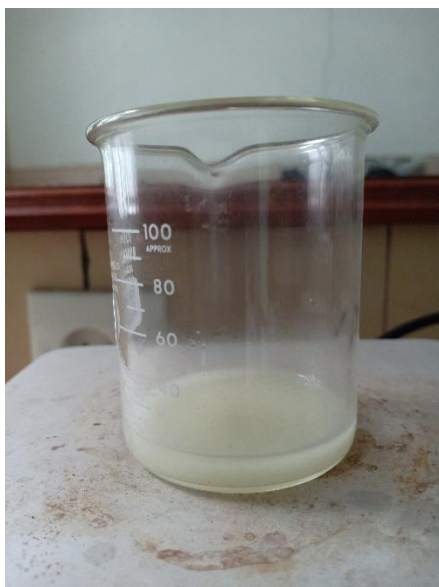
L.5.6 Uji Kuantitatif Senyawa Aktif Alkaloid



Penambahan CH_3COOH 10%



Pengadukan

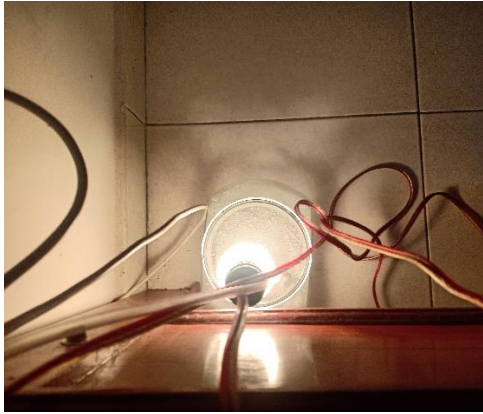


Penambahan NH_4OH 1%



Pengeringan

L.5.7 Uji Toksisitas



Penetasan Larva



Uji Toksisitas