

**ISOLASI, UJI TOKSISITAS, DAN IDENTIFIKASI FRAKSI ALKALOID
PADA BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L)**

SKRIPSI

**Oleh :
SELLA MARTSELIA
NIM. 17630024**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAUALANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**ISOLASI, UJI TOKSISITAS, DAN IDENTIFIKASI FRAKSI ALKALOID
PADA BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L)**

SKRIPSI

**Oleh :
SELLA MARTSELIA
NIM. 17630024**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Skripsi**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAUALANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI TOKSISITAS FRAKSI ALKALOID
PADA BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L)**

SKRIPSI

**Oleh :
SELLA MARTSELIA
NIM. 17630024**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 15 Juni 2022**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Oky Bagas Prasetyo, M.Pd
NIDT. 19890113 20180201 1 244**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Wingsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI TOKSISITAS FRAKSI ALKALOID
PADA BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L)**

SKRIPSI

**Oleh :
SELLA MARTSELIA
NIM. 17630024**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 15 Juni 2022**

**Penguji Utama : Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 19770720 200321 2 001**


(.....)

**Anggota Penguji 1 : Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech
LB. 63033**


(.....)

**Anggota Penguji II : Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**


(.....)

**Anggota Penguji III : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd
NIDT. 19851225 20160801 1 069**


(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Wingsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sella Martselia

NIM : 17630024

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi, Identifikasi, Dan Uji Toksisitas Fraksi Alkaloid Pada Biji Pepaya (*Carica papaya L*)

menyatakan dengan sebenarnya-benarnya bahwa skripsi ini hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 15 Juni 2022
Yang membuat pernyataan,



Sella Martselia
NIM. 17630024

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk orang yang sangat saya sayangi

BAPAK DAN MAMAK TERCINTA

Karena kalian berdua, hidup terasa begitu mudah dan penuh kebahagiaan. Terima kasih karena selalu menjaga saya dalam doa-doa. Terima kasih telah melalui banyak perjuangan dan rasa sakit untuk membiarkan saya mengejar impian saya.

Terima kasih kepada Adik saya, Adrian Ahmad Maytalata sebagai adik yang telah memberikan berbagai macam warna dalam kehidupan saya, semoga saya bisa memberi segala yang kau butuhkan di masa depan.

Saya persembahkan skripsi ini kepada Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si dan Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd selaku dosen pembimbing. Terima kasih kepada Ibu dan Bapak yang telah rela meluangkan waktu membimbing saya dalam proses merampungkan skripsi ini.

Terima kasih juga kepada Wyna sahabatku, tanpa inspirasi, dorongan, dan dukungan yang kau berikan mungkin saya akan kesepian dan bukan apa-apa saat ini. Kepada Analitik Squad dan kawan-kawan Kos Bu Satinah, sejujurnya saya tidak tahu apa yang harus saya lakukan dalam penelitian maupun penulisan skripsi ini, terima kasih selalu senantiasa membantu dan berada disisi saya. Kemudian ucapan terima kasih saya ucapkan kepada sahabat-sahabat sasel tersayang yang selalu menghibur, memberikan dukungan, dan yang selalu mengajak saya untuk *healing*. Terima kasih kepada Vivin dan Novi sudah begitu baik dan simpatik yang telah berjasa meredakan *stress* yang saya alami. Tak lupa saya mengucapkan terima kasih kepada Rico Aprilian seseorang dengan hati emas yang sulit ditemukan, terima kasih telah menyediakan pundak untuk menangis dan memberi bantuan saat saya membutuhkannya.

MOTTO

- DON'T WORRY ABOUT THINGS YOU CAN'T CONTROL -

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan seminar hasil yang berjudul “Isolasi, Uji Toksisitas, dan Identifikasi Fraksi Alkaloid pada Biji Pepaya (*Carica papaya* L.)” dengan baik.

Skripsi ini disusun untuk melengkapi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan kewajiban kuliah bagi mahasiswa Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Selain itu juga untuk menambah wawasan, pengetahuan, dan praktik secara konkrit bagi penulis tentang “Isolasi, Uji Toksisitas, dan Identifikasi Fraksi Alkaloid pada Biji Pepaya (*Carica papaya* L.)”.

Selanjutnya, penulis haturkan terima kasih seiring doa dan harapan jazakumullah ahsanal jaza’ kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Winarko, Ibu Nani Suryani, Adik Adrian Ahmad Maytalata serta semua keluarga dan saudara yang telah memberi semangat, nasihat, dukungan, dan doa.
2. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dewan Fakultas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberi arahan dan nasihat mengenai skripsi penelitian kepada penulis.
6. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd selaku dosen pembimbing agama yang telah memberi arahan dan nasihat mengenai integrasi kimia dan Al-Qur'an pada penelitian penulis.
7. Teman-teman satu bimbingan: Salma, Arni, Dwi Ayu, Farikha, Lifa, Mirtha, dan Soy yang senantiasa menemani, membantu, dan memberi semangat kepada penulis.
8. Sahabat-sahabat: Mbak Wywyn, Raniwir, Elza, Iim Adaw, Sisi, Krista yang menemani dan memberi motivasi kepada penulis.
9. *Last but not least. I wanna thank me for believing in me, for doing all this hard work, for having no days off, for never quitting, for always being a giver and tryna give more than I receive, for just being me at all times.*

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca dan khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Malang, 15 Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT.....	xv
مستخلص البحث	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tumbuhan Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	7
2.1.1 Morfologi dan Klarifikasi	7
2.1.2 Manfaat Tumbuhan Pepaya	8
2.1.3 Kandungan Senyawa Aktif Tumbuhan Pepaya	8
2.2 Senyawa Alkaloid pada Biji Pepaya.....	11
2.3 Teknik Pemisahan Senyawa Alkaloid Biji Pepaya.....	15
2.3.1 Ekstraksi Ultrasonik.....	15
2.3.2 Ekstraksi Cair-Cair dengan Etil Asetat.....	17
2.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	19
2.4 Larva Udang <i>Artemia salina</i> L	22
2.5 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT	24
2.6 LC-MS/MS	27
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Waktu dan Tempat	31
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	31
3.3 Rancangan Penelitian	31
3.4 Tahapan Penelitian	32
3.5 Cara Kerja.....	33
3.5.1 Preparasi Sampel	33
3.5.2 Analisis Kadar Air	33
3.5.3 Ekstraksi Biji Pepaya secara Ultrasonik	34
3.5.4 Fraksinasi Ekstrak Kloroform dengan Etil Asetat	34

3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Alkaloid	35
3.5.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif	35
3.5.7 Uji Toksisitas dengan Larva Udang <i>Artemia salina</i> L	36
3.5.7.1 Penetasan Larva Udang	36
3.5.7.2 Uj Toksisitas.....	36
3.5.8 Identifikasi dengan LC-MS	38
BAB IV PEMBAHASAN DAN HASIL	39
4.1 Preparasi SAmPel	39
4.2 Analisis Kadar Air	39
4.3 Ekstraksi Biji Pepaya secara Ultrasonik.....	40
4.4 Fraksinasi Ekstrak Kloroform dengan Etil Asetat.....	41
4.5 Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid	44
4.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif.....	45
4.7 Uji Toksisitas dengan Larva Udang <i>Artemia salina</i> L	47
4.8 Identifikasi dengan LC-MS	50
BAB V PENUTUP	65
5.1 Kesimpulan	65
5.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	72

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Uji Aktivitas Ekstrak Biji, Kulit, dan Daun Pepaya	10
Tabel 2.2 Fitokimia pada Ekstrak Etanol, Kloroform, dan Aseton.....	14
Tabel 2.3 Pengaruh Metode Ultrasonik terhadap Randemen.....	17
Tabel 2.4 Fitokimia pada Fraksi n-heksana, Etil Asetat, dan Air	19
Tabel 2.5 Kategori Toksisitas	25
Tabel 2.6 Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap LC ₅₀	27
Tabel 2.7 Identifikasi Senyawa pada Daun Pepaya	29
Tabel 3.1 Kondisi Instrumen LC-MS	39
Tabel 4.1 Nilai Randemen dari Berbagai Metode Ekstraksi.....	41
Tabel 4.2 Hasil Fitokimia Fraksi Etil Asetat.....	45
Tabel 4.3 Nilai Rf Isolat Hasil Alkaloid	47
Tabel 4.4 Hasil Nilai LC ₅₀ Fraksi Etil Asetat dan Isolat hasil KLTP.....	49
Tabel 4.5 Senyawa Alkaloid yang Dominan pada Isolat 1 Biji Pepaya.....	61
Tabel L.4.1 Data Analisis Kadar Air	82
Tabel L.5.1 Data Hasil KLTP	84
Tabel L.6.1 Hasil Uji Toksisitas Fraksi dan Isolat.....	84
Tabel L.6.2 Nilai LC ₅₀ Sampel Uj	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan Pepaya.....	7
Gambar 2.2 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya Matang dan Muda.....	11
Gambar 2.3 Struktur Senyawa Alkaloid.....	11
Gambar 2.4 Contoh Perkiraan Reaksi Alkaloid Uji Meyer.....	13
Gambar 2.5 Contoh Perkiraan Reaksi Alkaloid Uji Dragendroff.....	13
Gambar 2.6 Perbandingan Hasil KLT ekstrak Kasar Biji Pepaya.....	21
Gambar 2.7 Hasil Deteksi Alkaloid.....	22
Gambar 2.8 <i>Artemia salina</i> L.....	23
Gambar 2.9 Hasil Spektrum Massa Senyawa Alkaloid Daun Pepaya.....	28
Gambar 2.10 Hasil Kromatogram LC-MS Daun Pepaya.....	29
Gambar 4.1 Ekstrak Kloroform Biji Pepaya.....	42
Gambar 4.2 Fraksi Etil Asetat.....	43
Gambar 4.3 Hasil Uji Reagen Meyer dan Dragendroff.....	44
Gambar 4.4 Hasil Pemisahan KLTP Fraksi Etil Asetat.....	46
Gambar 4.5 Kromatogram LC-MS/MS Isolat 1.....	51
Gambar 4.6 Spektra Massa Senyawa pada tR 15,17 menit.....	52
Gambar 4.7 Kemungkinan Pola Fragmentasi Senyawa Norushinsunine.....	53
Gambar 4.8 Spektra Massa Senyawa pada tR 17,16 menit.....	53
Gambar 4.9 Kemungkinan Pola Fragmentasi Senyawa Dihydroberberine.....	54
Gambar 4.10 Spektra Massa Senyawa pada tR 7,78 menit.....	55
Gambar 4.11 Kemungkinan Pola Fragmentasi Senyawa Tomatidine.....	55
Gambar 4.12 Spektra Massa Senyawa pada tR 9,89 menit.....	56
Gambar 4.13 Kemungkinan Pola Fragmentasi Senyawa Liriodenine.....	57
Gambar 4.14 Spektra Massa Senyawa pada tR 10,75 menit.....	57
Gambar 4.15 Kemungkinan Pola Fragmentasi Senyawa Norushinsunine.....	58
Gambar 4.16 Spektra Massa Senyawa pada tR 14,82 menit.....	58
Gambar 4.17 Kemungkinan Pola Fragmentasi Senyawa Magnoflorine.....	59
Gambar 4.18 Spektra Massa Senyawa pada tR 11,27 menit.....	59
Gambar 4.19 Struktur Senyawa Hyosine.....	60
Gambar 4.20 Spektra Massa Senyawa pada tR 14,70 menit.....	60
Gambar 4.21 Struktur Senyawa Piperidine.....	61
Gambar L.6.1 Plot Probabilitas Mortalitas Fraksi EA.....	86
Gambar L.6.2 Plot Probabilitas Mortalitas Isolat 1.....	88
Gambar L.6.3 Plot Probabilitas Mortalitas Isolat 2.....	91
Gambar L.8.1 Preparasi Sampel.....	94
Gambar L.8.2 Analisis Kadar Air.....	94
Gambar L.8.3 Ekstraksi Biji Pepaya secara Ultrasonik.....	95
Gambar L.8.4 Fraksinasi Ekstrak Kloroform dengan EA.....	95
Gambar L.8.5 Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid.....	96
Gambar L.8.6 KLTP.....	96
Gambar L.8.7 Uji Tingkat Toksisitas.....	97

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tahapan Penelitian	72
Lampiran 2 Diagram Alir	73
Lampiran 3 Perhitungan	77
Lampiran 4 Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan.....	82
Lampiran 5 Data Hasil KLTP	84
Lampiran 6 Data Hasil Toksisitas	84
Lampiran 7 Identifikasi Isolat 1 dengan LC-MS/MS	91
Lampiran 8 Dokumentasi	94

ABSTRAK

Martselia, Sella. 2022. **Isolasi, Uji Toksisitas, dan Identification Fraksi Alkaloid pada Biji Pepaya (*Carica papaya* L).** *Skripsi*. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I : Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd

Kata Kunci : biji pepaya, alkaloid, *Artemia salina* L, BSLT, LC-MS.

Biji pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan bagian dari buah pepaya yang diketahui memiliki berbagai khasiat bagi kesehatan tubuh manusia karena mengandung banyak senyawa polifenol salah satunya adalah Alkaloid. Tujuan dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui tingkat toksisitas fraksi alkaloid dan isolatnya pada biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstraksi senyawa aktif dari serbuk biji pepaya dilakukan dengan metode ultrasonik dengan pelarut pelarut kloroform. Kemudian dilakukan penarikan senyawa alkaloid dengan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Pemisahan senyawa aktif dilakukan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) menggunakan eluen metanol : kloroform (1 : 9). Hasil fraksi etil asetat dan isolat hasil KLTP diuji toksisitas menggunakan metode BSLT pada *Artemia salina* L. Jenis-jenis senyawa alkaloid dan kelimpahannya akan diidentifikasi dengan instrumen LC-MS.

Ekstrak kloroform didapat sebanyak 4,4945 gram dengan persen *yield* yang diperoleh adalah 22,4725%. Ekstrak kloroform kemudian difraksinasi dengan etil asetat dan didapat berat rendemen 0,2792 gram dengan persen *yield* yaitu 6,212%. Fraksi etil asetat ini dilakukan KLTP dan didapat isolat 1 dan isolat 2. Kemudian fraksi etil asetat, isolat 1, dan isolat 2 diuji toksisitas dengan nilai LC_{50} berturut-turut adalah 5,152 ppm, 5,394 ppm, dan 6,008 ppm. Identifikasi isolat 1 hasil KLTP dilakukan dengan instrumen LC-MS/MS menunjukkan adanya keberadaan senyawa Alkaloid dengan % area kelimpahan sebesar 73,9%. Dalam penelitian ini perlu dilakukan fraksinasi berulang dan KLTP berulang dengan cara isolat yang didapat dipisahkan kembali menggunakan metode lain untuk mengurangi senyawa non-alkaloid dalam sampel. Selanjutnya dapat dilakukan penelitian lanjutan yang mengembangkan sifat toksisitas isolat alkaloid pada biji pepaya agar bisa dimanfaatkan secara maksimal.

ABSTRACT

Martselia, Sella. 2022. **Isolation, Identification, and Toxicity Test of Alkaloid Fraction from Papaya seeds (*Carica papaya* L).** *Undergraduate Thesis.* Departmen of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I : Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd

Keywords : papaya seeds, alkaloid, *Artemia salina* L, BSLT, LCMS.

Papaya seeds (*Carica papaya* L.) are part of papaya fruit that well known of its benefits for human body because it contains numerous polyphenolic compounds, one of them is Alkaloid. The purpose of this study is determine the level of toxicity of alkaloid fraction from papaya seeds (*Carica papaya* L.) to *Artemia salina* L shrimp larvae using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) methode. Extraction of active compounds from the powder of papaya seeds was carried out by ultrasonic methode with chloroform. After that, alkaloid will be fractinated by ethyl acetate. Partition of active compounds was carried out by preparative thin layer chromatography (TLC) using eluent of methanol : chloroform (1 : 9) as a mixing solvent. The result of isolates are tested of it's toxicity using the BSLT methode on *Artemia salina* L. The allegation of alkaloid compund will be identified by LC-MS.

The chloroformic extract obtained 4.4945 and the percent *yield* is 22.4725%. The chloroformic extract fractionated with ethyl acetate and obtained weight of 0.2792 grams with a percent yield is 6.212%. The ethyl acetate fraction carried out by P-TLC and obtained isolates 1 and 2. Then, the ethyl acetate fraction, isolate 1, and isolate 2 tested for toxicity value with LC_{50} are 5.152 ppm, 5.394 ppm, and 6.008 ppm. Identification of isolate 1 from P-TLC using LC-MS/MS instrument, produced alkaloid compounds with % area of Alkaloid is 73.9%. In this research, it is necessary to repeated fractionation and repeated P-TLC by separating the isolates using other methods to reduce non-alkaloid compounds in the sample. Furthermore, the next research can be carried out that develops the toxicity properties of the alkaloid isolates in papaya seeds to be utilized optimally.

مستخلص البحث

مارسيليا، سيلا. ٢٠٢٢. العزل واختبار السمية وتحديد الجزء القلوي في بذور البابايا (*Carica papaya*) (L). البحث الجامعي. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي الماجستير، المشرف الثاني: أوكي باغس فراستيو الماجستير.

الكلمات الإشارية: بذور البابايا، قلويدات، *Artemia salina* L، BSLT، LC-MS.

بذور البابايا (*Carica papaya* L.) هي جزء من فاكهة البابايا المعروفة بفوائدها الصحية المختلفة لجسم الإنسان لاحتوائها على العديد من مركبات البوليفينول، أحدها القلويدات. الهدف من هذا البحث هو تحديد مستوى سمية الجزء القلوي وعزلاته في بذور البابايا (*Carica papaya* L.) ليرقة الجمبري *Artemia salina* L. بطريقة اختبار فتق الأرتيميا (BSLT). أما استخلاص المركبات الفعالة من مسحوق بذور البابايا بطريقة الصوت العالي مع مذيب الكلوروفورم. ثم استخلصت الباحثة المركبات القلوية عن التجزئة باستخدام مذيب أسيتات الإيثيل. وأما فصل المركبات النشطة عن طريق الكروماتوغرافي للطبقة الرقيقة (TLC) باستخدام الميثانول: الكلوروفورم (١: ٩). ونتائج إجراءات جزء أسيتات الإيثيل والعزلات من KLTP باستخدام طريقة BSLT على *Artemia salina* L. ثم تعرفت الباحثة أنواع المركبات القلوية ووفرة هذه المركبات باستخدام أداة LC-MS.

حصل على مستخلص الكلوروفورم بقدر ٤٩٤٥،٤ غرام مع نسبة إنتاجية التي حصل عليها ٤٧٢٥،٢٢%. ثم جزءاً مستخلص الكلوروفورم باستخدام أسيتات الإيثيل وحصل على الوزن الحميد قدره ٠،٢٧٩٢ غرام مع نسبة إنتاجية قدرها ٢١٢،٦%. أما إجراء جزء أسيتات الإيثيل بواسطة KLTP حصلت على العزل 1 و العزل 2. ثم أجري جزء أسيتات الإيثيل والعزل 1 والعزل 2 من أجل السمية باستخدام قيم LC₅₀ المستمر هي ١٥٢،٥ ppm و ٣٩٤،٥ ppm و ٦،٠٠٨ ppm. إن أما تحديد العزلة 1 الناتجة عن KLTP الذي أجره باستخدام أداة LC-MS/MS يدل على وجود مركبات قلويد بقدر المئوية تبلغ إلى ٧٣،٩%. تحتاج الباحثة في هذا البحث إجراء تجزئة متكررة و KLTP المتكرر بفصل العزلات باستخدام طرق أخرى لتقليل المركبات غير القلوية في العينة. وللباحث الأخرى يمكن إجراء المزيد من الأبحاث لتطوير خصائص السمية لعزلات قلويد في بذور البابايا بحيث لأخذ الاستفادة أكثر منه.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keanekaragaman flora di Indonesia sangat mendukung kemajuan teknologi dalam bidang kesehatan, namun hanya sebagian kecil yang telah diketahui manfaatnya. Salah satunya adalah tanaman pepaya yang tumbuh subur di daerah tropis dan sub tropis. Masyarakat Indonesia sendiri sudah banyak yang membudidayakan tanaman ini dengan memanfaatkan daun dan buahnya untuk dikonsumsi, namun masih belum banyak yang memanfaatkan biji pepaya untuk kesehatan dan pengobatan alternatif karena masyarakat hanya memanfaatkannya untuk budidaya saja atau bahkan menganggap biji pepaya hanyalah limbah untuk dibuang.

Banyak sekali nikmat yang telah Allah berikan kepada kita, termasuk adanya tanaman pepaya yang tumbuh subur di Indonesia. Maka dari itu, kita harus lebih bersyukur serta memanfaatkan nikmat ini dengan baik. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Al-Quran surah an-Nahl ayat 11 :

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: *"Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan"*

Ayat diatas telah menjelaskan tanda kekuasaan Allah dengan diciptakannya berbagai macam buah-buahan dengan manfaatnya yang melimpah

untuk manusia dan generasi-generasi selanjutnya, kemudian ayat ini juga ingin menggaris bawahi bahwa ada suatu nikmat yang terkadang manusia lupakan yaitu air, tanpa air kehidupan tidak dapat terjadi. Alam raya ini dianugerahkan Allah kepada kita agar kita bersyukur dan memanfaatkannya sesuai dengan yang telah digariskan oleh Allah SWT seperti tanaman pepaya (*Carica papaya L.*) yang merupakan tumbuhan tropis yang dikenal luas karena nilai gizinya. Buah pepaya kaya akan polifenol, karotenoid, dan vitamin C (Salla,2015). Tanaman pepaya memiliki kandungan-kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi seperti palmitat dan asam oleat dan juga memiliki kandungan senyawa kimia golongan alkaloid, fenol, saponin, dan terpenoid. Bahkan Allah menciptakan biji pepaya yang didalamnya terdapat zat-zat aktif berefek toksisitas, anti androgen atau berefek entrogenik (Pangesti, 2013).

Adanya senyawa alkaloid yang terkandung dalam biji buah pepaya didukung oleh peneliti sebelumnya yaitu Haqiqi (2021) dan Febri (2021) yang melakukan ekstraksi senyawa alkaloid pada biji pepaya. Kemudian data ini diperkuat oleh Roshan (2014) yang menyebutkan bahwa tanaman pepaya dari daun, batang, buah, dan biji nya mengandung senyawa kimia seperti alkaloid karpain, pseudokarpain, dehydrokarpain I dan II, koline, karposida, vitamin C dan E. Kemudian Roni (2018) menyatakan bahwa dari data aktivitas antibakteri ekstrak biji, kulit dan daun miliknya aktivitas antibakteri pada biji pepaya adalah yang terbesar daripada ekstrak kulit pepaya dan daun pepaya.

Senyawa alkaloid yang terkandung dalam biji pepaya dapat di ekstraksi menggunakan pelarut kloroform secara ultrasonik dan hal ini didukung dari penelitian Haqiqi (2021) tentang uji toksisitas ekstrak ultrasonik biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) selama 20 menit menggunakan pelarut kloroform didapatkan

rendemen sebesar 22,60%. Data lain didukung dari penelitian oleh Onyeyirichi (2015) yang melakukan ekstraksi biji pepaya menggunakan pelarut kloroform secara soxhlet didapat rendemen sebesar 15,7%, Guttiereze (2011) melakukan ekstraksi biji pepaya menggunakan pelarut kloroform secara reflux didapat rendemen sebesar 7,2%.

Ekstraksi cair-cair atau fraksinasi ekstrak kloroform dilakukan menggunakan pelarut etil asetat pada corong pisah. Hal ini didukung penelitian oleh Hidayati (2019) yang melakukan fraksinasi dengan variasi larutan yaitu n-heksana, etil asetat, dan air kemudian masing-masing dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan hasil menunjukkan bahwa alkaloid terdapat pada fraksi etil asetat dan n-heksana. Isolasi senyawa aktif dari fraksi alkaloid etil asetat yang telah didapat kemudian dilakukan dengan KLTP dan eluen terbaik menurut penelitian Febri (2021) adalah metanol : kloroform (1 : 9) hal ini dikarenakan hasil KLT sesuai dengan Rf senyawa targetnya.

Uji toksisitas ekstrak biji pepaya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didukung oleh penelitian Haqiqi (2021) yang memperoleh nilai LC_{50} sebesar 11,526 ppm. Data lainnya juga didukung oleh penelitian Alfarabi (2017) yang memperoleh nilai LC_{50} dari ekstrak biji pepaya matang sebesar 302 ppm dan ekstrak biji buah pepaya muda sebesar 1256 ppm. Perbedaan nilai LC_{50} dari kedua sampel buah pepaya matang dan muda ini menunjukkan bahwa ekstrak biji buah pepaya matang lebih toksik daripada biji buah pepaya muda, sebab tumbuhan yang masih berumur muda proses metabolisme akan lebih mengarah ke biosintesis metabolit primer untuk pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan tersebut, sedangkan senyawa aktif tumbuhan yang berkhasiat dibidang kesehatan umumnya merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang dibiosintesis

ketika umur tumbuhan sudah dewasa sehingga ekstrak biji pepaya matang lebih berpotensi untuk dijadikan fitofarmaka (Hans dan Heltd, 2005). Selanjutnya beberapa peneliti berikut melakukan uji aktivitas menggunakan metode BSLT pada ekstrak biji pepaya secara maserasi memperoleh nilai LC_{50} yang tidak lebih baik data hasil penelitian Haqiqi (2021) yaitu Rachmawati (2009) pada ekstrak maserasi dengan pelarut kloroform menunjukkan LC_{50} sebesar 246,4124 ppm dan Khor dan Wang (2014) pada ekstrak maserasi dengan pelarut metanol mendapat nilai LC_{50} sebesar 350 ppm.

Meninjau dari penelitian-penelitian sebelumnya, maka penelitian ini melakukan pembaruan metodologi penelitian yaitu melakukan ekstraksi cair-cari (fraksinasi) senyawa alkaloid dari biji pepaya menggunakan pelarut etil asetat dan diharapkan fraksi etil asetat memiliki tingkat toksisitas lebih baik daripada ekstrak kasar biji pepaya. Serta isolat-isolat hasil pemisahan secara KLTP dengan eluen metanol:kloroform (1:9) akan diuji tingkat toksisitas juga untuk mendapatkan isolat dugaan alkaloid yang terbaik dengan metode BSLT. Menurut Meyer, dkk (1982) Uji toksisitas dengan menggunakan metode ini memiliki korelasi dengan daya toksisitas senyawa antikanker, mudah dikerjakan, cepat, membutuhkan sedikit dana, dan cukup akurat. Tujuan dari melakukan uji toksisitas ini adalah untuk pengobatan alternatif, serta mengetahui tingkat toksisitas fraksi etil asetat dan isolat alkaloid pada biji pepaya terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Sehingga gambaran selanjutnya ketika nilai toksisitas fraksi alkaloid lebih tinggi daripada ekstrak kasar alkaloid maka penelitian dapat dilanjutkan dengan uji lain pengembangan sifat toksisitas isolat alkaloid biji buah pepaya agar bisa dimanfaatkan secara maksimal.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Bagaimana tingkat toksisitas fraksi etil asetat dan isolat alkaloid pada biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) ?
2. Bagaimana identifikasi isolat alkaloid biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan instrumen LC-MS?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini berdasarkan rumusan masalah adalah:

1. Mengetahui tingkat toksisitas fraksi etil asetat dan isolat alkaloid pada biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).
2. Mengetahui identifikasi isolat alkaloid biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan instrumen LC-MS.

1.4 Batasan Masalah

1. Fraksi etil asetat dan isolat alkaloid yang dianalisis dan diidentifikasi berasal dari biji buah pepaya matang (*Carica papaya* L.).
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ultrasonik dengan pelarut kloroform selama 20 menit dan metode penarikan senyawa alkaloid adalah ekstraksi cair-cair dengan pelarut etil asetat.
3. Metode yang digunakan untuk uji tingkat toksisitas fraksi etil asetat dan isolat alkaloid biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap larva udang *Artemia salina* L. adalah metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

4. Instrumen yang digunakan untuk identifikasi isolat alkaloid adalah LC-MS.

1.5 Manfaat

Memberikan informasi mengenai tingkat toksisitas fraksi etil asetat dan isolat alkaloid pada biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta identifikasinya guna dapat dikembangkan lebih lanjut pada penelitian selanjutnya seperti uji antikanker, antitumor, dan lainnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Pepaya (*Carica papaya L.*)

2.1.1 Morfologi dan Klarifikasi

Tumbuhan pepaya dikenal dengan nama daerah yang berbeda-beda. Menurut Putra (2012), nama daerah dari pepaya diantaranya kates, gandul (Jawa); gedang (Sunda); paw paw, papaya (Inggris); betik, ketelah, kepaya (Melayu); dudu (Vietnam); mala kaw (Thailand); kapaya, lapaya (Filipina); fan mu ga (China). Penampang pohon buah pepaya disajikan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tumbuhan Pepaya (Dokumentasi Pribadi)

Pepaya merupakan tumbuhan yang berbatang tegak dan basah. Pepaya menyerupai palma, bunganya berwarna putih dan buahnya yang masak berwarna kuning kemerahan (Wijoyo, 2008). Pepaya merupakan tanaman buah menahun, asli dari Amerika. Tumbuhnya pada ketinggian 1-1.000 mdpl. Semak berbentuk pohon ini bergetah dan tumbuh tegak dengan tinggi 2,5-10 m. Bentuk batang bulat, berongga, dibagian atas kadang bercabang. Kulit batang terdapat tanda bekas tangkai daun yang telah lepas. Ujung daun bulat silindris, berongga,

panjang 25-100 cm. Helai daun bulat telur, berdiameter 25-75 cm, berbagai menjari ujung runcing, pangkal berbentuk jantung, warna permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Tulang daun menonjol di permukaan bawah, cuping-cuping daun berlekuk sampai bergerigi tidak beraturan. Bunga jantan berkumpul dalam tandan, mahkota berbentuk terompet berwarna putih kekuningan, buahnya biasa bermacam-macam, baik warna, bentuk, dan rasa dagingnya. Biji banyak, bulat, dan berwarna hitam setelah masak (Hernani dan Rahardjo, 2006). Menurut Putra (2012) klasifikasi tanaman pepaya adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Sub Divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotylidone*
Ordo : *Caricales*
Famili : *Caricaceae*
Spesies : *Carica papaya* L

2.1.2 Manfaat Tumbuhan Pepaya

Tumbuhan pepaya diketahui memiliki berbagai khasiatnya bagi kesehatan tubuh kita, diantaranya adalah menambah nafsu makan, pelangsing tubuh, memperlancar pencernaan, mengurangi gangguan jantung, obat antiamuba, obat peluruh kencing, mencerahkan kulit, detoksifikasi racun dalam tubuh, peluruh empedu, penguat lambung, dan sakit maag (Putra, 2012).

2.1.3 Kandungan Senyawa Aktif Tumbuhan Pepaya

Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, triterpenoid, dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya

mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

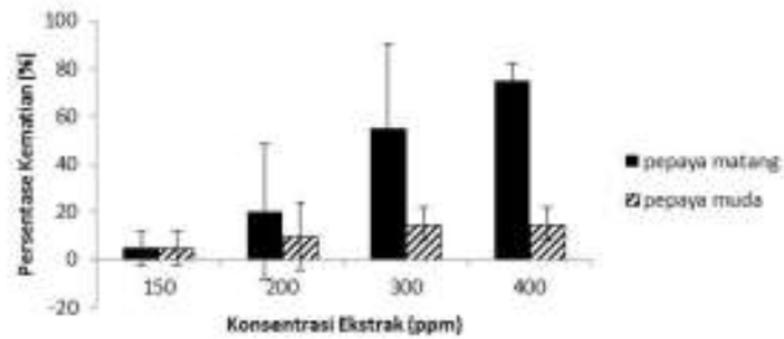
Berdasarkan jurnal penelitian yang ditulis oleh Roshan (2014), tanaman pepaya dari daun, batang, buah, dan biji nya mengandung senyawa kimia yang berbeda-beda yaitu Tanaman pepaya menunjukkan bahwa daun, batang, buah dan bijinya juga mengandung senyawa kimia seperti alkaloid karpain, pseudokarpain, dehidrokarpain I dan II, koline, karposida, vitamin C dan E. Karposida dan enzim myrosin, sinigrin, karpain, benzyliothiocyanate, benzyl glukosinolat, glukotropakolin, benzylthiourea, hentriacontane, β -sitosterol, caricin, alkaloid terkait daun, flavonoid, saponin, tanin, glikosida jantung, antrakuinon dan kardinoloda dll. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol dan ekstrak air dari biji pepaya milik Sandhiutami (2016) mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, antharquinon, anthasianosid, dan minyak yang terkandung dalam biji pepaya terkandung asam lemak oleat yang tinggi yaitu 71,30% dan kandungan tokoferol 74,71 mg/kg serta karotenoid 7,05 mg/kg diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan di dalam metabolit sekunder.

Biji pepaya dipilih sebagai sampel dan hal ini didukung penelitian oleh Roni (2018) yang menyatakan bahwa dari data aktivitas antibakteri ekstrak biji, kulit dan daun terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* miliknya aktivitas antibakteri pada biji pepaya adalah yang terbesar daripada ekstrak kulit pepaya dan daun pepaya. Berikut tabel hasil uji aktivitasnya.

Tabel 2.1 Uji aktivitas ekstrak biji, kulit, dan daun pepaya

Ekstrak Biji Pepaya %	<i>S.aureus</i> (mm)	<i>E.coli</i> (mm)
30	17,3±1,5	16,6±0,6
20	12,6±1,2	14,3±1,5
10	11,3±0,6	12,3±0,6
Ekstrak Kulit Pepaya %	<i>S.aureus</i> (mm)	<i>E.coli</i> (mm)
30	12,6±0,6	14,0±1
20	11,3±1	12,3±0,6
10	10,6±0,6	11,3±0,6
Ekstrak Daun Pepaya %	<i>S.aureus</i> (mm)	<i>E.coli</i> (mm)
30	16,3±2	15,3±0,6
20	12,4±0,6	12,6±0,6
10	11,3±0,6	10,3±1,5
Kontrol (+)	12,6±1,8	12,7±1,0
Kontrol (-)	0	0

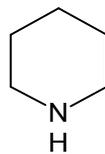
Data diatas didukung oleh penelitian Alfarabi (2017) yang memperoleh nilai LC₅₀ dari ekstrak biji pepaya matang sebesar 302 ppm dan ekstrak biji buah pepaya muda sebesar 1256 ppm. Adanya perbedaan nilai LC₅₀ pada kedua ekstrak disebabkan perbedaan umur buah pepaya yang mana ekstrak biji pepaya matang memiliki bioaktivitas dan efek toksik yang lebih tinggi daripada ekstrak biji pepaya muda karena umur dari tumbuhan mempengaruhi komposisi, konsentrasi, dan aktivitas senyawa aktif tumbuhan tersebut. Pada tumbuhan yang berumur muda cenderung memiliki konsentrasi yang lebih rendah sehingga menunjukkan efek toksik yang lemah karena aktivitas senyawa aktif terdeteksi rendah. Menurut Hans dan Heldt (2005) tumbuhan yang masih berumur muda, proses metabolisme lebih mengarah ke biosintesis metabolit primer untuk pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan tersebut, sedangkan senyawa aktif tumbuhan yang berkhasiat dibidang kesehatan umumnya merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang dibiosintesis ketika umur tumbuhan sudah dewasa dan memiliki fungsi sebagai senyawa pertahanan bagi tumbuhan tersebut.



Gambar 2.2 Hasil uji toksisitas ekstrak biji pepaya matang dan muda

2.2 Senyawa Alkaloid pada Biji Pepaya

Alkaloid adalah golongan senyawa organik yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit 1 atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).



Gambar 2.3 Struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Umumnya, alkaloid terdapat dalam 2 bentuk yaitu bentuk bebas (bentuk basa) dan dalam bentuk garamnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid yaitu karbon, hydrogen, nitrogen, dan oksigen. Adanya unsur nitrogen dalam lingkaran pada struktur alkaloid menyebabkan alkaloid bersifat alkali (basa). Alkaloid dalam bentuk basa akan mudah larut dalam pelarut organik seperti eter dan kloroform. Sedangkan dalam bentuk garamnya, alkaloid lebih mudah larut dalam air. Bagi tanaman, senyawa alkaloid dapat digunakan sebagai zat racun untuk melawan serangga atau hewan herbivora, produk akhir dari reaksi detoksifikasi dalam

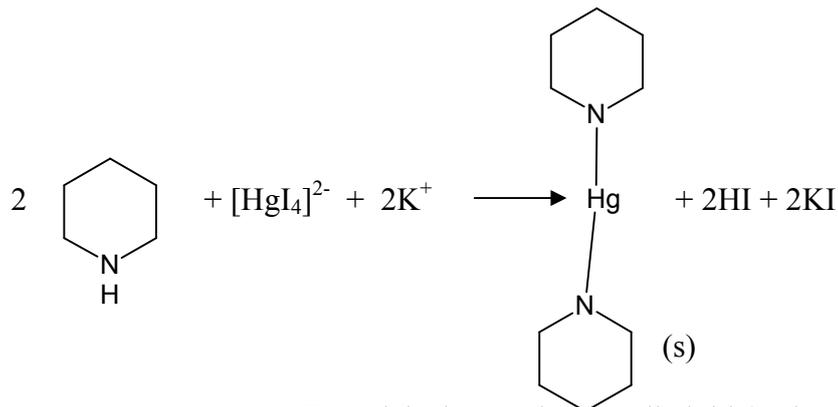
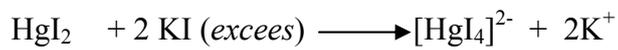
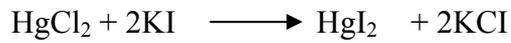
metabolisme tanaman, regulasi faktor pertumbuhan, dan sebagai cadangan unsur nitrogen (Sukardiman, dkk., 2014)

Sebagian besar alkaloid tidak larut dalam petroleum eter, sehingga untuk mengetahui adanya alkaloid harus menggunakan pereaksi pengendap alkaloid berdasarkan kesanggupan alkaloid berikatan dengan logam yang memiliki berat atom seperti merkuri, bismut, tungsten, atau iod. Pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan merkuri klorida dalam asam nitrit berair, peraksi Meyer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida (Rizqiyah, 2014). Adanya senyawa alkaloid pada uji dragendroff ditunjukkan dengan adanya endapan coklat hingga kuning yang terbentuk setelah penambahan pereaksi sedangkan adanya senyawa alkaloid pada uji Meyer ditandai dengan adanya endapan berwarna kekuningan (Lutfillah, 2008). Pereaksi Meyer dapat digunakan untuk membentuk endapan nyaris pada semua jenis alkaloid (Robinson, 1995).

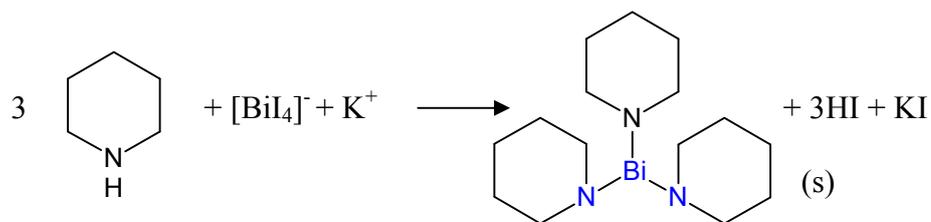
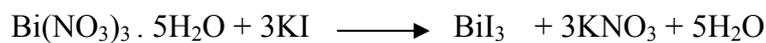
Prinsip dari metode ini adalah pengendapan yang terjadi karena adanya pergantian ligan. Reagen meyer melibatkan reaksi antara garam kalium-raksa-iodida yang direaksikan dengan senyawa alkaloid akan membentuk endapan berwarna putih yaitu merupakan kompleks kalium-alkaloid. Endapan putih ini terbentuk akibat adanya atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion Iodo dalam reagen dragendroff dan meyer, serta membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II).

Reagen dragendroff mengandung bismut-kalium iodida dan ketika direaksikan dengan senyawa alkaloid akan membentuk endapan berwarna merah-jingga yang merupakan kalium-alkaloid. Endapan kuning-jingga dapat terbentuk

karena nitrogen pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodobismutat (Marliana, 2005)



Gambar 2.4 Contoh perkiraan reaksi Alkaloid uji Meyer (Rahmah, 2014)



Gambar 2.5 Contoh perkiraan reaksi Alkaloid uji Dragendorff (Rahmah, 2014)

Berdasarkan penelitian EK Neethu, *et.al* (2018) yang dilakukan untuk mengetahui konstituen fitokimia dan biokimia dalam biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan berbagai macam pelarut ekstraksi yaitu etanol,

kloroform, dan aseton diperoleh hasil pada tabel dibawah ini.

Tabel 2.2 Fitokimia pada ekstrak etanol, kloroform, dan aseton

Fitokimia	Ekstrak Etanol	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Aseton
Alkaloid	+	+	+
Flavonoid	+	-	-
Karbohidrat	+	+	+
Protein	+	+	+
Pati	+	+	-
Asam amino	-	+	+
Steroid	+	-	-
Tanin	-	+	+
Saponin	+	+	-
Terpenoid	+	-	-
Glikosida	+	-	-
Gum	-	-	-

Dari tabel hasil penelitian EK Neethu, *et.al* (2018) diatas diketahui bahwa alkaloid terkandung dalam ekstrak etanol, ekstrak kloroform, maupun ekstrak aseton biji buah pepaya. Data diatas didukung oleh penelitian Mulyono (2013) melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) tua dan muda pada pertumbuhan beberapa bakteri menunjukkan hasil bahwa ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut karena salah satu kandungan yang dimiliki biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki aktivitas antibakteri yaitu karpain. Karpain adalah alkaloid bercincin laktonat dengan 7 golongan rantai metilen sehingga efektif mencegah pertumbuhan beberapa mikroorganismen karena karpain mencerna protein mikroorganismen dan mengubahnya menjadi senyawa turunan yang disebut pepton.

2.3 Teknik Pemisahan Senyawa Alkaloid Biji Pepaya (*Carica papaya* L.)

2.3.1 Ekstraksi Ultrasonik

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi ultrasonik. Teknik ini dikenal dengan sonokimia yaitu pemanfaatan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses kimia. Ekstraksi ultrasonik merupakan ekstraksi dengan perambatan energi melalui gelombang ultrasonik dengan menggunakan cairan sebagai media perambatan yang dapat meningkatkan intensitas perpindahan energi, sehingga proses ekstraksi lebih maksimal. Menurut Torres (2017), proses dari ekstraksi ultrasonik yaitu gelombang ultrasonik mengenai sampel menyebabkan tegangan mekanik, sehingga sampel menjadi partikel dengan ruang-ruang kecil dan gelombang ini menimbulkan efek kavitasi. Efek kavitasi merupakan proses pembentukan gelembung-gelembung mikro yang dikarenakan meningkatnya tekanan pada ekstraksi akibat gelombang ultrasonik. Gelembung kavitasi tersebut akan memecah dinding sel dan pelarut akan berdifusi dalam sel, sehingga senyawa aktif yang ada didalam sel akan keluar dan tereksitasi.

Prinsip kerja ekstraksi ultrasonik adalah perambatan gelombang ultrasonik dari sumber getaran sonikator dalam medium pelarut secara longitudinal. Gelombang tersebut jika merambat melalui medium cair menyebabkan molekul air mengalami peregangan dan membentuk gelembung-gelembung mikro yang jika terus menerus menerima energi dari gelombang ultrasonik akan pecah sambil melepaskan energi yang besar yang disebut kavitasi. Kavitasi dengan energi besar akan menumbuk dinding sel bahan yang akan diekstrak dan memperbesar diameter pori. Akibat dari pori bahan yang membesar, pelarut akan dengan mudah melarutkan senyawa yang terdapat pada bahan dengan proses difusi. Namun, efek

lain dari gelombang ultrasonik yaitu terjadi proses pemanasan pada pelarut dan bahan akibat gelombang ultrasonik yang dihasilkan (Alupului, 2009). Menurut Santos et al (2009), meningkatnya suhu pada proses sonikasi dapat membantu memutus interaksi yang kuat dari molekul air yang meliputi gaya Van der Waals, ikatan hidrogen, daya tarik menarik dipol antara molekul zat terlarut, dan bagian aktif dalam molekul air. Walaupun energi gelombang ultrasonik mampu meningkatkan suhu medium, namun peningkatannya hanya sedikit sehingga metode ini masih tergolong kedalam metode non termal.

Keuntungannya dari metode ini adalah efisiensi lebih besar, waktu operasi lebih singkat, dan biasanya laju perpindahan masa lebih cepat jika dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan soxhlet (Garcia, 2004). Keuntungan utama dari ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan soxhlet yaitu efisiensi lebih besar dan waktu operasinya lebih singkat. Proses ekstraksi konvensional dengan menggunakan pelarut organik umumnya membutuhkan waktu yang cukup lama karena laju perpindahan massanya yang rendah (Supardan, 2011). Kekurangan metode ini yaitu sel biologis dapat terganggu oleh daya ultrasonik yang memfasilitasi pelepasan isi sel (Brennan, 2006).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Haqiqi (2021) tentang uji toksisitas ekstrak ultrasonik biji pepaya (*Papaya carica* L.) dengan metode BSLT, penelitian olehnya menemukan pelarut terbaik, metode ekstraksi terbaik, beserta lama waktu ekstraksi terbaik untuk mengambil senyawa alkaloid pada biji pepaya. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan terbaik dari ekstrak

antitoksisitas biji pepaya adalah dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut kloroform dan lama ekstraksi 20 menit didapat rendemen sebesar 22,60%.

Tabel 2.3 Pengaruh metode ultrasonik terhadap rendemen

Sampel	Metode Ekstraksi	Pelarut	Lama Ekstraksi	Rendemen (%)	Referensi
Biji pepaya	Ultrasonik	Kloroform	20 menit	22,60	Haqiqi (2021)
Biji pepaya	Soxhlet	Kloroform	4 jam	15,7	Onyeyirichi (2015)
Biji pepaya	Reflux	Kloroform	4 jam	7,2	Guttiereze (2011)

Hal ini didukung oleh Onyeyirichi (2015) yang melakukan ekstraksi biji pepaya menggunakan pelarut kloroform secara soxhlet selama 4 jam didapat rendemen sebesar 15,7%, Guttiereze (2011) melakukan ekstraksi biji pepaya menggunakan pelarut kloroform secara reflux didapat rendemen sebesar 7,2%. Pada proses ekstraksi, mengetahui hasil rendemen suatu sampel sangat diperlukan karena data rendemen ada hubungannya dengan banyak kandungan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila rendemen semakin banyak maka dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa aktifnya banyak sebagaimana dikatakan oleh Sayuti (2017) bahwa tingginya bioaktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya nilai rendemen yang dihasilkan.

2.3.2 Ekstraksi Cair-Cair dengan Etil Asetat

Di antara berbagai jenis metode pemisahan, ekstraksi pelarut atau disebut juga ekstraksi air merupakan metode pemisahan yang paling baik dan populer, alasan utamanya adalah bahwa pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro maupun mikro. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur,

seperti benzene, karbon tetraklorida atau kloroform. Batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam keadaan dua fase pelarut. Teknik ini dapat digunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja (Khopkar, 2008). Ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan zat terlarut didalam 2 macam zat pelarut yang tidak saling bercampur atau dengan kata lain perbandingan konsentrasi zat terlarut dalam pelarut organik, dan pelarut air. Hal tersebut memungkinkan karena adanya sifat senyawa yang dapat terlarut dalam air dan adapula senyawa yang dapat larut dalam pelarut organik.

Ekstraksi cair-cair (corong pisah) merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak dapat saling bercampur dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagiannya lagi larut pada fase kedua. Kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase zat cair. Komponen kimia akan terpisah ke dalam dua fasa tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Sudjadi, 1986). Pemisahan senyawa metanbolit sekunder ini berdasarkan kepolarannya. Hasil fraksinasi terjadi dari pelarut nonpolar ke polar untuk mendapatkan senyawa polar dan nonpolar tertentu dengan polaritas pelarut yang sama.

Penelitian oleh Hidayati (2019) melakukan fraksinasi dengan variasi larutan yaitu n-heksana, etil asetat, dan air kemudian masing-masing dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Hasil rendemen yang diperoleh dari masing-masing pelarut adalah 4,92%, 5,1%, dan 87,07%. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksana ekstrak biji buah pepaya mengandung alkaloid dan terpenoid, fraksi etil

asetat mengandung alkaloid dan flavonoid, dan fraksi air mengandung flavonoid dan saponin. Deteksi alkaloid melibatkan penambahan reagen Mayer dan Dragendroff. Hasil positif menunjukkan adanya endapan yang didapat karena adanya ion logam dalam atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas tergantikan dan membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Berikut merupakan tabel analisis fitokimia fraksi ekstrak etanol biji buah pepaya:

Tabel 2.4 Fitokimia pada fraksi n-heksana, etil asetat, dan air

Fraksi	Fitokimia	Hasil	
n-heksana	Alkaloid	Merah dan orange	+
	Flavonoid	Kuning	-
	Terpenoid	Merah kuning	+
	Saponin	-	-
Etil asetat	Alkaloid	Putih dan merah	+
	Flavonoid	Merah ke orange	+
	Saponin	-	-
Air	Flavonoid	Orange dan coklat	+
	Saponin	-	+

2.3.3 Kromatografi Lapsi Tipis (KLT)

Kromatografi lapisan tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah pengaruh gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur. Pemilihan pelarut pengembang sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat-zat kimia yang dipisahkan (Mulya, M. dan Suharman, 1995). Fasa diam yang terdiri dari bahan berbutir-butir ditempatkan dalam penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan yang berupa larutan kemudian ditotolkan pada pelat KLT (fasa diam). Kemudian pelat diletakkan dalam bejana tertutup yang telah terisi larutan eluen (fasa gerak). Pemisahan terjadi berdasarkan perbedaan laju alir dari senyawa terhadap fasa diamnya. Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakan dengan

disinari UV atau disemprotkan larutan kromium sulfat (Stahl, 1985).

KLT merupakan salah satu bentuk/model dari kromatografi cair dimana sampel diaplikasikan sebagai noda atau goresan pada lapisan penjerap tipis yang dilaburkan diatas lempeng plastik, gelas, atau logam (Fried, B. and Sherma, J., 1994). Beberapa alasan digunakannya KLT diantaranya adalah penggunaan yang mudah, dapat digunakan secara luas pada sampel yang berbeda, sensitivitasnya tinggi, kecepatan pemisahan dan biaya yang relatif lebih murah. KLT dapat digunakan untuk :

1. Mengetahui kemurnian suatu senyawa
2. Memisahkan dan mengidentifikasi komponen dalam suatu campuran
3. Analisis kuantitatif dari satu atau lebih komponen yang terdapat dalam sampel.

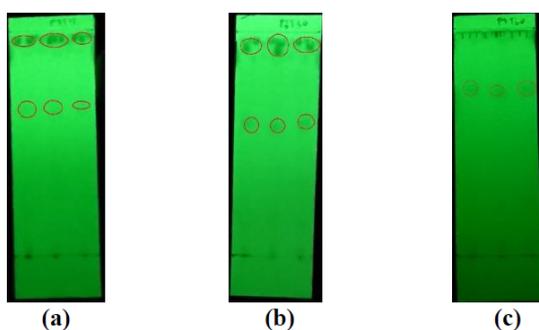
Kromatografi lapis tipis (KLT) dapat digunakan sebagai tujuan analitik dan preparatif. Kromatografi lapis tipis (KLT) analitik digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil misalnya, menentukan jumlah komponen dalam campuran dan menentukan pelarut yang tepat untuk pemisahan dengan KLT preparatif. Sedangkan KLT preparatif digunakan untuk memisahkan campuran senyawa dari sampel dalam jumlah besar berdasarkan fraksinya, yang selanjutnya fraksi-fraksi tersebut dikumpulkan dan digunakan untuk analisa berikutnya (Sastrohamidjojo, 2007).

Fasa diam dalam KLT berupa silika gel (biasanya berupa plat silika gel F₂₅₄) yang mampu mengikat senyawa yang akan dipisahkan. Sedangkan fasa geraknya berupa berbagai macam pelarut atau campuran pelarut. Proses

pengembangan/elusi ialah proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembang merambat naik dalam lapisan fase diam. Jarak hasil pemisahan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan atau harga Rf. KLT dapat digunakan untuk perhitungan kualitatif dalam pengujian sampel dengan menggunakan harga Rf dimana harga Rf dinyatakan dengan (Sastrohamidjojo, 2007) :

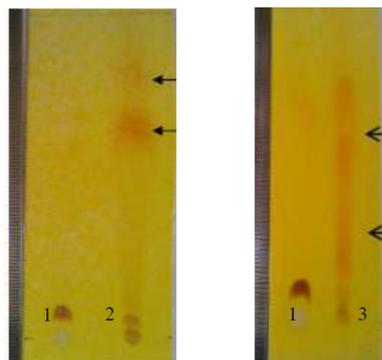
$$R_f = \frac{\text{jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$$

Peneliti sebelumnya yaitu Febri (2021) melakukan isolasi KLTP ekstrak kasa senyawa alkaoid biji buah pepaya menggunakan komposisi eluen metanol : kloroform (1 : 9) sekaligus melakukan reagen penyemprotan dragendroff. Berikut merupakan hasil KLT dari penelitian Febri yang menggunakan pelarut etanol : air : kloroform



Gambar 2.6 Perbandingan hasil KLT ekstrak kasar biji buah pepaya dibawah sinar UV sebesar 254 nm menggunakan pelarut etanol:air:kloroform dengan variasi waktu (a) 15 menit, (b) 30 menit, dan (c) 60 menit.

Data tersebut dapat didukung oleh percobaan lanjutan dari ekstraksi fraksinasi yang dilakukan oleh Hidayati (2019) kemudian dilakukan pemisahan KLT. Hasil deteksi alkaloid ekstrak etanol biji buah pepaya oleh fraksi n-heksana dan etil asetat diperoleh sebagai berikut :



Gambar 2.7 hasil deteksi alkaloid (1) ekstrak biji buah pepaya, (2) fraksi etil asetat dari ekstrak etanol biji buah pepaya, (3) fraksi n-heksana dari ekstrak etanol biji buah pepaya.

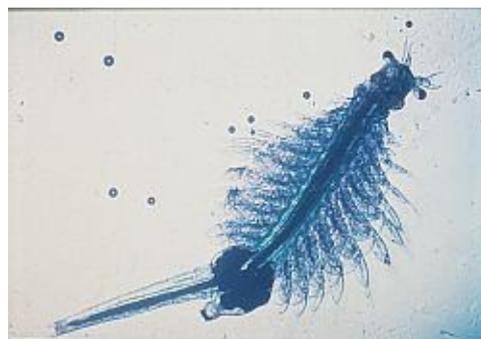
2.4 Larva Udang *Artemia salina* L.

A. salina Leach. atau *brine shrimp* adalah jenis udang-udangan primitif yang dikenal cukup lama dan diberi nama *Cancer salinus* oleh *Linnaeus* pada tahun 1778. Kemudian pada tahun 1819 diubah menjadi *A. Salina* oleh Leach.

Hewan ini memiliki resistensi luar biasa pada perubahan dan dapat hidup di perairan yang berkadar garam tinggi (antara 15-300 per mil) dan dapat bertoleransi pada kadar garam 50% (jenuh), suhu berkisar antara 25-30⁰C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L, dan pH antara 7,3–8,4. Sebagai plankton, *A. salina* Leach. tidak dapat mempertahankan diri terhadap serangan musuh karena tidak memiliki alat pelindung, sehingga kondisi lingkungan hidupnya yang ekstrim tersebut sangat menguntungkan baginya karena minim predator. (Mudjiman, 1995). *A. salina* Leach dapat ditemui di rawa air asin di pedalaman bukit pasir namun tidak dapat ditemui di lautan karena banyak sekali predator, dan juga dapat ditemui di kolom-kolom evaporasi buatan manusia untuk mendapatkan garam (Emslie, 2003)

A. salina Leach. merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem

laut yang sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu *A. salina* Leach. juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007). Bentuk *A. salina* Leach. secara morfologi dapat dilihat pada Gambar berikut



Gambar 2.8 *A. salina* Leach. (Abatzopoulos *et al.*, 1996)

Menurut Emslie (2003) klasifikasi tanaman pepaya adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*
 Phylum : *Arthropoda*
 Class : *Crustacea*
 Subclass : *Branchiopoda*
 Ordo : *Anostraca*
 Family : *Artemiidae*
 Species : *A. Salina* Leach.

A. salina Leach dewasa memiliki panjang tubuh 8-15 mm tergantung lingkungannya. Tubuhnya dilengkapi 10 pasang *phyllopodia* pipih mirip daun dan bergerak dengan ritme teratur. Warna *A. salina* Leach dewasa lebih pucat, hijau, merah muda atau transparan. Memiliki sepasang mata dan mulut pada antenanya (Emslie,2003). Telur *A. salina* Leach berbentuk bulat pada keadaan kering dan agak berlekuk pada keadaan basah. Telur-telur ini berwarna coklat dengan diameter berkisar 200-300 mikron dilapisi cangkang tebal dan kuat berfungsi untuk mempermudah pengapungan, melindungi embrio dari kekeringan, benturan, dan sinar ultraviolet (Nisfi, 2010). *A. salina* Leach dewasa dapat hidup sampai

enam bulan dan betinanya akan bertelur setiap 4-5 har sekali dan menghasilkan 50-300 telur atau nauplius. Nauplius akan dewasa setelah berumur 14 hari dan siap berkembang biak (Mudjiman, 1995).

2.5 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Toksisitas menurut ilmu kimia adalah kerusakan yang diakibatkan oleh reaksi kimia karena memiliki bermacam-macam variasi dan bentuk. Salah satu contoh adalah senyawa alkalis atau asam-asam kuat yang mengalami kontak langsung dengan organ tubuh manusia seperti kulit, mata, saluran pernapasan maupun saluran pencernaan akan mengakibatkan kerusakan jaringan bahkan kematian pada sel-sel (Palar, 1994). Cahyono (2004) menyatakan bahwa toksisitas adalah kemampuan suatu bahan kimia untuk merusak jaringan organisme hidup. Kadar racun suatu bahan kimia ini dinyatakan dengan istilah LC_{50} (*Lethal Concentration-50*) dan dinyatakan dalam miligram bahan kimia per-meter kubik media uji (*part permillion* atau ppm). Penyebab 50% kematian pada jaringan makhluk hidup sebagai sampel uji adalah paparannya dalam waktu tertentu (Cahyono, 2004)

Meyer dan Ferigini (1982), menggunakan *Artemia salina* L pada penelitiannya yang menguji aktivitas biologis dan hal ini merupakan pertama kalinya oleh Institut Kanker di Amerika Serikat. Penelitian terhadap senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker membutuhkan biaya yang besar, oleh karena itu mereka menggunakan *Artemia salina* L untuk uji awalnya. Jika uji awal ini mendapatkan hasil yang cukup baik maka bisa dilakukan uji lanjut (Kristianti, dkk, 2011). Selain mudah diperoleh, keunggulan *Artemia salina* L

lainnya yaitu memiliki perkembangan cepat, harga murah, metode penelitiannya mudah dan hanya membutuhkan sedikit sampel sehingga cocok untuk uji aktivitas senyawa hasil isolasi, tidak memerlukan laboratorium khusus serta hasil ujinya terpercaya (Kristianti, dkk, 2011).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah metode uji yang menggunakan *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji dan berperan sebagai *bioassay* sederhana untuk mendeteksi toksisitas akut suatu senyawa dengan cara menentukan LC_{50} dari komponen aktif suatu simplisia atau ekstrak suatu tumbuhan (Frank, 1995). Metode BSLT memiliki banyak keunggulan yaitu biaya yang dibutuhkan murah, sederhana, praktis, penelitian membutuhkan sedikit waktu dan mudah. Sehingga metode ini banyak digunakan untuk uji toksisitas dalam analisis anestetik, pestisida, serta zat pencemar air. Berikut merupakan tingkat toksisitas suatu bahan menurut Meyer (1982).

Tabel 2.5 Kategori Toksisitas (Meyer, dkk, 1982)

Kategori	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Sangat toksik	< 30
Toksik	30-1000
Tidak toksis	>1000

Penelitian yang dilakukan oleh Widiyanti (2012), menggunakan sampel buah pare untuk diambil senyawa metabolit sekundernya seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan triterpenoid karena berhubungan dengan tingkat kematian larva dengan cara menghambat daya makan larva (*antifeedant*) tersebut. Hal ini dapat terjadi karena senyawa-senyawa tersebut mampu bertindak sebagai racun perut bagi larva dan juga menghambat reseptor mulut larva agar kehilangan stimulus untuk mengenali makanan sehingga larva tersebut akan mati kelaparan.

Kemudian, data yang didapat adalah jumlah kematian *Artemia salina* L dan akan dihitung pada rumus:

$$\% \text{ Kematian} = \frac{A-B}{C} \times 100\%$$

Keterangan:

A = jumlah *Artemia salina* L yang mati pada larutan uji

B = jumlah *Artemia salina* L yang mati pada kontrol

C = jumlah *Artemia salina* L mula-mula

Jika jumlah kematian pada kontrol lebih dari 5% namun kurang dari 10% maka harus dilakukan koreksi Abbott Formula, yaitu:

$$\text{Angka kematian} = \frac{\% \text{kematian hewan uji} - \% \text{kematian hewan kontrol}}{100 - \% \text{kematian hewan uji}}$$

Jika jumlah kematian pada kontrol lebih dari 10% maka harus dilakukan uji ulang.

Uji toksisitas ekstrak biji pepaya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didukung oleh penelitian Haqiqi (2021) menggunakan biji pepaya secara ultrasonik pada berbagai jenis pelarut dan nilai LC₅₀ tertinggi yang didapat ada pada kloroform dengan nilai LC₅₀ 11,256 ppm. Data ini dapat didukung dengan membandingkan penelitian-penelitian sebelumnya yang menggunakan metode lain yaitu tercantum dalam data dibawah:

Tabel 2.6 Pengaruh metode ekstraksi terhadap LC₅₀

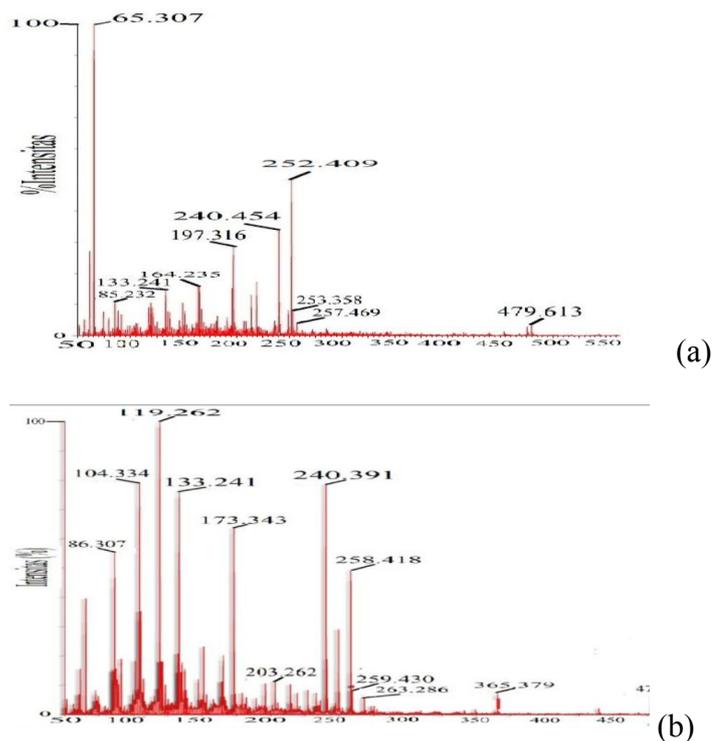
Metode Ekstraksi	Sampel	Pelarut	LC ₅₀ (ppm)	Referensi
Ultrasonik	Biji Pepaya	Kloroform	11,256	Haqiqi (2021)
Maserasi	Biji Pepaya	Kloroform	246,4124	Rachmawati (2009)
Maserasi	Biji Pepaya	Metanol	>350	Khor dan Wong (2014)

Rachmawati (2009) pada ekstrak maserasi dengan pelarut kloroform menunjukkan LC_{50} sebesar 246,4124 ppm dan Khor dan Wang (2014) pada ekstrak maserasi dengan pelarut metanol mendapat nilai LC_{50} sebesar 350 ppm.

2.6 LC-MS/MS

Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) adalah teknik kimia analitik yang menggabungkan kemampuan pemisahan secara fisik kromatografi cair (HPLC) dengan kemampuan analisis spektrometri massa (MS). Sementara kromatografi cair memisahkan campuran dari berbagai senyawa, spektrometri massa memberikan identitas struktural dari berbagai senyawa dengan spesifisitas molekul yang tinggi dan deteksi sensitifitas sehingga teknik bisa digunakan untuk menganalisis senyawa biokimia, organik, maupun anorganik (Bulla, 2020). Sebelum dilakukan injeksi sampel kedalam instrumen LC-MS, preparasi sampel menggunakan metode Ekstraksi Fase Padat (SPE) sebelum sampel diinjeksikan kedalam instrumen LC-MS/MS. Preparasi LC-MS dengan metode ini memiliki keuntungan yaitu memisahkan senyawa pengotor atau senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih murni agar sensitivitas spektra yang dinampakkan lebih tinggi (Simpson, 2002).

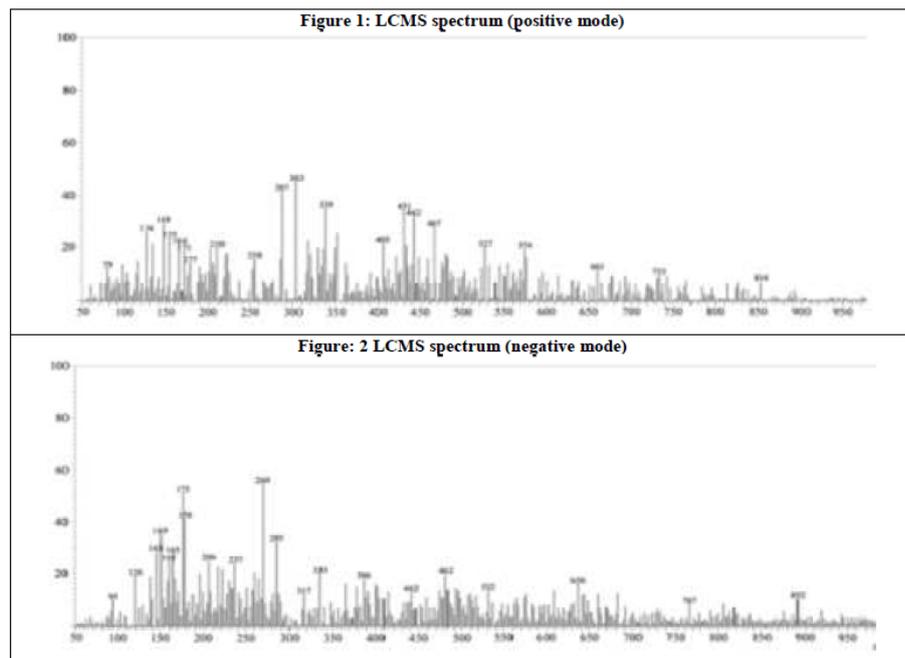
Penelitian oleh Bulla (2020) menganalisis senyawa alkaloid pada daun pepaya kultivar lokal A dan kultivar B dengan LC-MS dan mendapatkan hasil spektrum seperti gambar dibawah ini:



Gambar 2.9 (a) hasil spektrum massa senyawa alkaloid pada daun buah pepaya kultivar lokal A (b) hasil spektrum massa senyawa alkaloid pada daun buah pepaya kultivar lokal B.

Berdasarkan hasil spektrum massa yang tersebut, dapat dilihat bahwa terdapat peak-peak yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid karpain, baik pada ekstrak daun buah pepaya kultivar A maupun B keduanya terdapat satu puncak dengan m/z 479,613 yang berasal dari $M + H^+$ ($478 + 1$) dengan M adalah massa molekul relatif karpain (Bulla, 2020)

Data penelitian diatas didukung penelitian oleh Srinivasan (2019), yang melakukan identifikasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun pepaya menggunakan LC-MS:



Gambar 2.10 Hasil Kromatogram LC-MS ekstrak daun pepaya

Tabel 2.7 Identifikasi senyawa pada daun pepaya

S-NO	Compound Name	Molecular Mass
1	Tocopherol	430.72
2	Ascorbic Acid	176.13
3	Carpaine	466.71
4	Deoxykaemferol	270.25
5	Kaempferol	286.24
6	Deoxyquercetin	286.25
7	Quercetin	302.24
8	Dicoumarol	336.31
9	Coumaroylquinic Acid	338.32
10	Coumarin	146.15
11	Folic Acid	441.41
12	Cystine	121.16
13	Homocystein	135.19
14	Cystein sulphoxide	177.22
15	L Glutamic acid	147.13
16	p-Coumaroyl alcohol	150.18
17	Dimethoxyl phenol	154.17
18	Umbelliferone	162.15
19	Phenylalanine	165.19
20	Caffeoyl alcohol	166.18
21	Methyl nonyl ketone	170.30

Berdasarkan tabel 2.7 menurut Srinivasan (2019) kromatogram hasil LC-MS diatas dapat diketahui berbagai senyawa yang berhasil diidentifikasi dalam ekstrak daun pepaya.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan pada 2 Februari 2022 – 27 April 2022 di Laboratorium Kimia Dasar dan Anorganik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, ayakan 90 mesh, loyang, cawan penguap, desikator, neraca analitik, oven, spatula, bola hisap, plat silika gel F₂₅₄, pipa kapiler, dan lampu UV. Dan juga alat gelas yang meliputi gelas arloji, batang pengaduk, beaker glass 500 mL, beaker glass 100 mL, pipet tetes, pipet ukur, labu ukur. Ekstraksi senyawa aktif menggunakan shaker incubator, klem dan statif, corong buchner, corong pisah, bola hisap, rotary evaporator, dan botol vial. Uji aktivitas antitoksitas menggunakan instrumen UV-Vis dan LC-MS, seperangkat alat penetasan udang, mikropipet.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah pepaya, aquades, etil asetat, kloroform, metanol, HCl 2% reagen Dragendroff, reagen Meyer, asam asetat anhidrat, aquades, HCl, natrium bikarbonat dan aluminium foil. Kemudian bahan yang digunakan saat uji antikanker adalah telur udang *Artemia salina* Leach, air laut, ragi roti dan DMSO.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian uji eksperimental sampel biji pepaya. Langkah pertama adalah biji buah pepaya dicuci dengan air bersih kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan lalu diblender dan diayak menggunakan ayakan 90 mesh agar biji buah pepaya menjadi serbuk biji pepaya yang dapat dihitung kadar air yang terkandung didalamnya. Selanjutnya, serbuk biji buah pepaya dihitung kadar air dan dilakukan ekstraksi dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut kloroform selama 20 menit dalam suhu ruang dan frekuensi 20 kHz sehingga diperoleh filtrat yang merupakan ekstrak kasar alkaloid melalui *vacuum rotary evaporator*, pengeringan dan dihitung rendemennya. Kemudian, ekstrak kloroform difraksinasi cair-cair dengan pelarut etil asetat dan didapat fraksi etil asetat. Setelah itu, fraksi etil asetat diuji fitokimia golongan senyawa aktif alkaloid dengan reagen dragendroff dan reagen meyer. Langkah selanjutnya adalah fraksi etil asetat dilakukan pemisahan senyawa aktif kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) menggunakan eluen metanol : kloroform (1 : 9) untuk menghasilkan isolat-isolat senyawa alkaloid. Kemudian isolat-isolat hasil pemisahan KLT diuji toksisitas menggunakan metode BSLT pada *Artemia salina* L. lalu dicari nilai LC_{50} nya. Langkah terakhir, isolat yang positif mengandung senyawa alkaloid serta memiliki nilai LC_{50} terbaik akan diidentifikasi dengan LC-MS.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi Sampel.

2. Analisis Kadar Air.
3. Ekstraksi Biji Pepaya secara Ultrasonik.
4. Fraksinasi Ekstrak Kloroform dengan Etil Asetat.
5. Uji Fitokimia Senyawa Aktif Alkaloid.
6. Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif.
7. Uji Tingkat Toksisitas isolat Biji Pepaya menggunakan metode BSLT.
8. Analisis Data.
9. Identifikasi dengan LC-MS.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel biji buah pepaya sebanyak 300 gram dicuci dan dibersihkan, lalu dikeringkan dengan cara didiamkan dalam suhu ruang sampai mengering. Kemudian, dilakukan penggilingan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 90 untuk mendapatkan serbuk biji buah pepaya yang akan dianalisis kadar airnya.

3.5.2 Analisis Kadar Air (Khodijah, 2017)

Sampel yang digunakan dalam analisis kadar air adalah serbuk biji pepaya. Cawan dipanaskan pada suhu 105°C selama ±15 menit kemudian dimasukkan dalam desikator selama 10 menit agar cawan dingin. Cawan ditimbang dan diulangi sampai diperoleh berat konstan. Sampel ditimbang 5 gram dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, kemudian didinginkan dengan cara dimasukkan ke dalam desikator selama ±15 menit dan ditimbang

kembali. Penimbangan diulangi sampai tercapai berat konstan. Selanjutnya, dihitung kadar air dengan rumus berikut.

$$\text{Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan:

a= berat konstan cawan kosong

b= berat cawan+sampel sebelum dikeringkan

c= berat konstan cawan=sampel setelah dkeringkan

Sehingga didapatkan sampel serbuk kering biji buah pepaya yang siap untuk dilakukan ekstraksi secara ultrasonik.

3.5.3 Ekstraksi Biji Pepaya secara Ultrasonik (Widyasari, 2018)

Sampel yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah serbuk kering biji buah pepaya. Sampel ditimbang 20 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian diekstraksi dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut kloroform selama 20 menit dengan frekuensi 20 kHz. Filtrat dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* dan dikeringkan kemudian dihitung rendemen dengan persamaan 3.2 :

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

Sehingga didapat ekstrak kasar kloroform biji buah pepaya yang akan difraksinasi dengan pelarut etil asetat.

3.5.4 Fraksinasi Ekstrak Kloroform dengan Etil Asetat (Widyasari, 2018)

Sampel yang digunakan dalam fraksinasi adalah ekstrak kasar kloroform. Sampel diambil sebanyak 5 gram dan dihidrolisis dengan HCl 2M hingga pH

larutan 3. Proses hidrolisis dilakukan selama 1 jam dihomogenkan dengan magnetik stirer, lalu ditambah natrium bikarbonat sampai pH netral. Hasil hidrolisis kemudian difraksinasi dengan corong pisah menggunakan pelarut etil asetat sebanyak tiga kali. Selanjutnya, didiamkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan organik dan lapisan air kemudian kedua lapisan ini dipisahkan. Lapisan organik diambil untuk dipekatkan menggunakan *vakuu rotary evaporator*. Sehingga didapat fraksi etil asetat yang dapat ditimbang, dihitung rendemennya, kemudian dilakukan uji fitokimia, pemisahan dengan KLTP dan dilakukan uji toksisitas dengan larva udang.

3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Alkaloid (Haqiqi, 2021)

Tabung reaksi berisi 2 mg sampel fraksi etil asetat biji pepaya ditambah HCL 2% sebanyak 0,5 mL dan larutan dibuat menjadi 2 bagian. Lalu ditambahkan 2-3 tetes reagen dragendroff pada tabung pertama dan 2-3 tetes reagen Mayer pada tabung kedua. Adanya kandungan alkaloid pada sampel ditunjukkan oleh endapan jingga dalam tabung pertama dan endapan kekuningan dalam tabung kedua (Harborne, 1987)

3.5.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif (Febri, 2021)

Sampel yang digunakan untuk tahap pemisahan secara KLTP adalah fraksi etil asetat. Kemudian sampel dilarutkan dan ditotolkan disepanjang plat pada batas bawah berjarak 1,5 cm. Pemisahan dengan KLT preparatif ini menggunakan plat silika gel F₂₅₄ dengan ukuran 10 X 10 cm agar dapat dipotong sesuai kebutuhan, kemudian tepi atas diberi garis dengan jarak 0,5 agar batas akhir dapat

diketahui, begitu pula tepi atas diberi garis dengan jarak 1,5 cm agar titik awal penotolan dapat ditentukan. Sampel yang telah ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄ kemudian dikeringkan dan dielusi menggunakan eluen metanol : kloroform (1 : 9). Setelah elusi sampai dengan garis batas, proses elusi dihentikan sehingga didapat noda-noda pada permukaan plat (Febri, 2021).

Noda-noda pada permukaan plat diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan didokumentasikan kemudian dihitung nilai Rfnya. Isolat yang diduga senyawa alkaloid dikerok dan ditimbang lalu dilarutkan dalam pelarutnya, divortex, kemudian disentrifugasi agar silika dapat mengendap. Kemudian silika dan supernatan yang terbentuk dipisahkan dan diulangi sebanyak 3 kali dan diupkan pelarutnya sehingga didapat isolat yang positif menunjukkan senyawa alkaloid. Kemudian isolat-isolat hasil pemisahan KLTP dilakukan uji toksisitas dengan larva udang dan isolat yang menunjukkan LC₅₀ terbaik dengan hasil uji reagen yang menunjukkan positif senyawa alkaloid kemudian dilakukan identifikasi dengan LC-MS.

3.5.7 Uji Toksisitas dengan Larva Udang *Artemia salina* L

3.5.7.1 Penetasan Larva Udang (Nurhayati, 2006)

Disiapkan 2 bejana bersekat. Ruang pertama pada bejana diberi lampu untuk menghangatkan telur sedangkan ruang sebelahnya untuk diberi air laut. Dimasukkan 250 ml air laut kemudian dimasukkan 2,5 mg telur udang. Pada ruang bejana yang berisi telur, ditutupi oleh aluminium foil dan lampu dinyalakan selama 48 jam. Perkiraan telur akan menetas setelah 18-24 jam, telur yang baru menetas ini disebut naupli. Naupli inilah yang akan diuji BSLT.

3.5.7.2 Uji Toksisitas

Sampel yang digunakan untuk uji toksisitas dengan larva udang adalah fraksi etil asetat dan isolat-isolat hasil pemisahan kromatografi lapis tipis. Konsentrasi sampel dibuat menjadi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 0 ppm dilarutkan dengan etil asetat sebanyak 10 mL. Kemudian dimasukkan pada botol vial untuk diuapkan pelarutnya sampai kering. Setelah itu, ditambahkan dengan 100 μ L dimetil sulfoksida (DMSO) dikocok hingga larut, setetes larutan ragi roti, 1 mL air laut kemudian divortex sampai sampel larut dalam air laut. Larutan ini dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan air laut sampai volume 5 mL dan dikocok sampai homogen. sebagai kontrol. Setelah itu dimasukkan ke dalam gelas vial dan dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* L. pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang.

Kontrol yang digunakan ada 3 yaitu kontrol negatif atau media DMSO (tanpa ekstrak), kontrol pelarut, dan kontrol air laut. Tujuan dari kontrol ini adalah untuk memastikan ada atau tidaknya pengaruh penggunaan ketiga kontrol ini pada larva. Kontrol DMSO dibuat tanpa penambahan isolat alkaloid dan pelarut (etil asetat) yaitu diambil 100 μ L DMSO, kontrol pelarut dibuat tanpa penambahan isolat alkaloid dan DMSO yaitu diambil 100 μ L etil asetat, kontrol air laut dibuat tanpa penambahan DMSO dan pelarut (etil asetat). Ketiga kontrol masing-masing ditambahkan 1 tetes ragi roti dan 10 ekor larva udang dan pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Perlakuan dilakukan sebanyak 7 kali pengulangan setiap isolat yang didapat dan fraksi etil asetat pada setiap ppm. Data yang diperoleh kemudian akan dianalisis data menggunakan analisis probit melalui Minitab 18.

3.5.8 Analisis Data

Toksisitas biji pepaya dapat ditentukan dengan mencari nilai LC_{50} data yang didapat adalah jumlah kematian atau mortalitas (%) *Artemia salina* L dan presentase jumlah rata-rata akan didapat dengan membandingkan jumlah larva yang mati pada larutan uji yaitu pada konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm dikurangi dengan jumlah larva yang mati pada kontrol dibagi dengan jumlah keseluruhan larva (10 larva) dengan rumus:

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{A-B}{C} \times 100\%$$

$$\text{Mortalitas} = \frac{\% \text{ Mortalitas}}{100} \times \text{jumlah hewan uji (70)}$$

Nilai mortalitas larva udang yang diperoleh akan diolah untuk mendapatkan nilai LC_{50} menggunakan analisis probit melalui Minitab 18 dengan tingkat kepercayaan 95%.

3.5.9 Identifikasi dengan LC-MS

Sampel yang digunakan pada identifikasi LC-MS adalah isolat yang diduga senyawa alkaloid dan memiliki nilai LC_{50} terbaik. Selanjutnya, dilakukan analisis menggunakan LC-MS dengan menggunakan data sebagai berikut.

Tabel 3.1 Kondisi Instrumen LC-MS (Bulla, 2020)

Nama	Kondisi
Kolom UHPLC	Hypersil Gold (50 mm x 2,1 mm x 1,9 μ m) ACCELLA type 1250
Fasa Gerak	0,1% asam sulfat dalam air (fase A) 0,1% asam format dalam asetronitril (fase B)
Laju Alir	300 μ /min
Volume Injeksi	2 μ L
MS type	MS/MS Triple Q (quadrupole) TSQ QUANTUM ACCESS MAX
Sumber Ionisasi	ESI (Electrospray Ionization)
Software	TSQ Tune
Kontrol Suhu kolom	30 C

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Nilai LC₅₀ fraksi etil asetat dan isola-isolat hasil pemisahan KLTP biji pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki nilai LC₅₀ berturut-turut sebesar 5,152 ppm, 5,394 ppm, dan 6,008 ppm. Fraksi etil asetat dan kedua isolat memiliki tingkat toksisitas dalam kategori toksik.
2. Hasil identifikasi LC-MS/MS isolat 1 hasil KLTP menunjukkan adanya senyawa alkaloid dengan % area keberadaan senyawa alkaloid sebesar 73,9%.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengeringan ekstrak dan fraksi yang lebih maksimal dengan mengalirkan gas N₂ agar tidak mempengaruhi langkah selanjutnya pada penelitian.
2. Perlu dilakukan fraksinasi berulang dan KLTP berulang dengan cara isolat yang didapat dipisahkan kembali menggunakan metode lain untuk mengurangi senyawa non-alkaloid dalam sampel.
3. Dapat dilakukan penelitian lanjutan yang mengembangkan sifat toksisitas isolat alkaloid pada biji pepaya agar bisa dimanfaatkan secara maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abatzopoulos, Th. J., Beardmore, J. A., Clegg, J.S., dan Sorgeloos, P. 1996. *Biology of Aquatic Organism: Artemia-Basic and Applied Biology*.
- Ahmad, M., Minarno, E. B., & Suyono, S. 2020. Kunci tadabbur dan integrasi Al-Qur'an dalam pembelajaran Biologi. *BIOEDUCA: Journal of Biology Education*, 2(2), 101-114.
- Alfarabi, Muhammad., Atikah Fauziayuningtias. 2017. Toxicity Analysis of *Carica papaya* Seed Extract Using Brine Shrimp Lethality Test. *Neutral Science: Journal of Science and Technology*. Vol 6(2): 153-158
- Alupului, A., Calinescu, I., dan Lavric, V. 2009. Ultrasonic vs Microwave Extraction Intensification of Active Principles from Medical Plants. *Journal of AIDIC*. Vol (9)
- Anderson, J.E., J.L. McLaughlin, and L.L Rogers.1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drugs Information Journal*. 32: 513-524
- Avula, Bharathi. 2018. Targeted and non-targeted analysis of annonaceous alkaloids and acetogenins from *Asimina* and *Annona* species using UHPLC-QToF-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*
- Azah, S. F. 2019. Uji Toksisitas dan Identifikasi Isolat Steroid Hasil KLTP Ekstrak n-Heksana dan Petroleum Eter *Hydrila verticillata* menggunakan UV-Vis dan LC-MS/MS. *Skripsi*. UIN Malang
- Brennan, J. G. 2006. Evaporation and Dehydration. Di dalam. Brennan, J. G. (Ed). *Food Processing Handbook*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim.
- Bulla, Reni M.Theo M. Da. 2020. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Kultivar Lokal. *Chem.Note*. Vol.1(1): 58-68.
- Cahyono, A.B. 2004. *Keselamatan Kerja Bahan Kimia di Industri*. Yogyakarta: UGM Press
- Day, R. A dan Underwood, A. L. 2002 *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga
- Emslie, S. 2003. *Artemia salina Leach-Brine Shrimp-Ses Monkeys*.
- EK Neethu, et.al. 2018. Preliminary Phytochemical and Biochemical Analysis of *Carica papaya* Linn.(Seed). *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 3(3): 19-22

- Febrianto, M. 2020. Profil Senyawa Kromatografi Lapis Tipis Pada Biji Pepaya (*Carica Papaya L*) Berdasarkan Jenis Pelarut Dan Waktu Ekstraksi Ultrasonik. Skripsi: UIN Malang
- Frank, C. L. 1995. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Basic of Toxicology*.
- Fried, B and Sherma, J. 1994. *Thin Layer Chromatography Techniques and Applications third ed*. Marcel Dekker Inc. : New York .
- Friedman, M. 2013. Anticarcinogenic, cardioprotective, and other health benefits of tomato compounds lycopene, α -tomatine, and tomatidine in pure form and in fresh and processed tomatoes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(40), 9534-9550.
- Garcia, J.L.L. dan Castro, M.D.L. 2004. Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment, application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal Chromatography*. 1034: 237-242.
- Green, Benedict T., et al. "Piperidine alkaloids: human and food animal teratogens." *Food and chemical toxicology* 50.6 2012: 2049-2055.
- Guttierreze, Salud. 2011. Bioactivity of *Carica papaya* (Caricaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Molecules*. 16.
- Hafidloh, Dewi. 2014. Sitotoksik Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annus L*) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- 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 : UIN Malang
- Hans and Heldt W. 2005. *Plant Biochemistry 3th ed*. Sand Diego (US): Elseiver Academic Press
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi II*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro. Bandung: ITB
- Hernani dan M. Rahardjo. 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan Cetaksaan II*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hidayati, Devi Nisa. 2019. Antibacterial Activity of Fractions from Papaya Seeds (*Carica papaya L*) Extract Against *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* and Contributing Compounds. *Pharmaciana*. Vol.9 No.1: 183-190

- Iffah, A. A. D., & Samawi, M. F. 2018. Skrining Metabolit Sekunder pada Sirip Ekor Hiu *Carcharhinus melanopterus*. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*, (5).
- 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.
- Kanwar, A.S. 2007. Brine Shrimp (*Artemia salina*) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine* 2 (4): 35-42.
- Khodijah, Siti. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Payudara dan Identifikasi Senyawa Aktif Akar dan Daun Anting-Anting (*Acalyphia indica* L.) *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khopkar, S.M. 2008. *Dasar-dasar kimia analitik*. Erlangga : Jakarta.
- Khor, E. S., & Wong, N. K. (2014). Potential antioxidant and cytotoxic properties of secondary metabolite extracts from *Carica papaya* fruits and seeds. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(7), 220-224.
- Kristianti, A. N., Nanik S. A., Mulyadi T., dan Bambang K. 2006. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Terpenoida dan Steroida. *Karya Ilmiah*. Medan: FMIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lisiyana, Nur. 2016. Isolation of Ethyl Acetate Fraction Compounds Alkaloids Plant Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) by speed variation of flow rate using column chromatography. *Skripsi*. UIN Malang
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil dari Kulit batang Angsret (*Spathoda campanulate* Beauve) Serta Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri Secara in vitro *Skripsi*.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono, S. 2005. The Phytochemical Screenings And Thin Layer Chromatography Analysis Of Chemical Compounds In Ethanol Extract Of Labu Siam Fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz.). *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 3(1), 26-31.
- Meyer, B. N., Ferrigini, N. R., Putman J. E., Jacobsen L., B. Nicholas., and McLaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Media*. 45:31-34
- Morris, J. S., & Facchini, P. J. 2016. Isolation and characterization of reticuline N-methyltransferase involved in biosynthesis of the aporphine alkaloid magnoflorine in opium poppy. *Journal of Biological Chemistry*, 291(45),

23416-23427.

- Mudjiman, A. 1995. *Makanan Ikan*. Jakarta: PT. Penerbit Swadaya.
- Mulya, M. dan Suharman, 1995. *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press: Surabaya.
- Mulyono, Lienny Meriyuki. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol 2(2).
- Novita, N., Ayu, W. D., & Masruhim, M. A. 2016. Uji aktivitas ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* linn) sebagai hepatoprotektor pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. Vol. 3, pp. 312-317.
- Nisfi, Rizki. 2010. Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus conoideus* var. *Conodeus* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Nurhayati, A. P. D., Nurlita. A dan Rachmat Febrianto. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo*. Vol.2 No.1: 41-46
- Onyeyirichi, Ilhuoma. 2015. Chemical Composition of Chloroform Extract of *Carica Papaya* Seed Oil. *International Journal of Modern Biochemistry*. 4(1): 15-22
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta
- Pangesti, Tika, Ika Nur Fitriani. 2013. Sweet Papaya Seed Candy Antibacterial *Escherichia coli* Candy with Papaya Seed (*Carica papaya* L.). *PELITA*. Vol 8. No 2
- Putra, W.S. 2012. *68 Buah Ajaib Penangkal Penyakit*. Yogyakarta: Katahati.
- Rachmawati, D. (2009). Toksisitas Fraksi Heksan, Fraksi Kloroform, dan Fraksi Air Sisa dari Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Brine Shrimp Lethality Test.
- Rahmah, Rochisotur. (2014). Isolasi dan Uji Efektivitas Antimalaria Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-Anting secara *in vivo* pada Mencit Jantan. *Skripsi*. UIN Malang
- Rizqiyah, Alfin. 2014. Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan Identifikasi

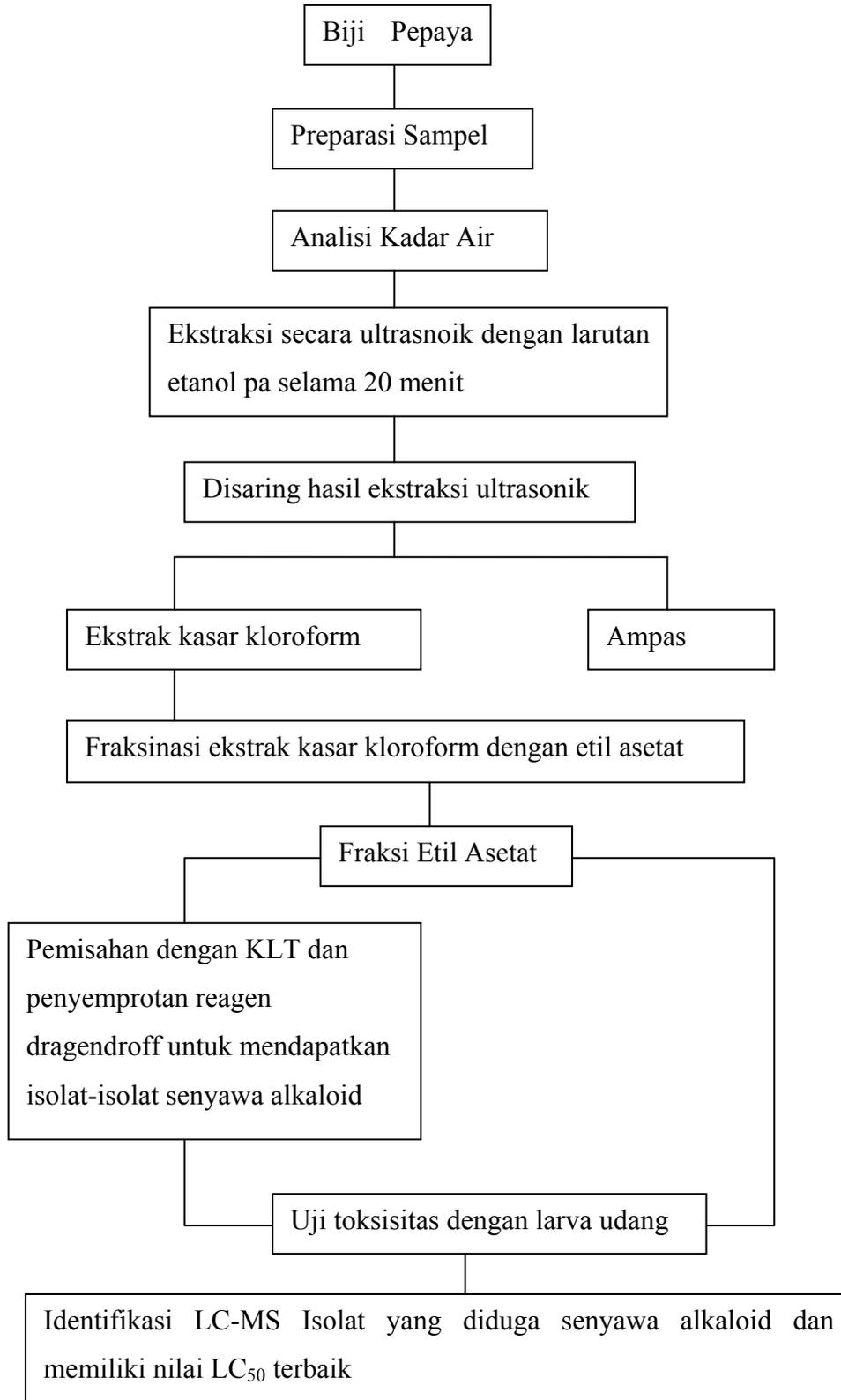
Golongan Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof.Dr. Kosasih Padmawinata, Bandung: ITB
- Roni, A., Maesaroh, M., & Marliani, L. 2018. Aktivitas antibakteri biji, kulit dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(1), 29-33.
- Roshan, Asha, et.al. 2014. A Brief Study on *Carica papaya* L. *International Journal of Current Trends in Pharmaceutical Research*. 2(4): 541-550.
- Rungsung, W., Ratha, K. K., Dutta, S., Dixit, A. K., & Hazra, J. 2015. Secondary metabolites of plants in drugs discovery. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(7), 604-613.
- Salla, Swetha. 2016. Antioxidant activity of papaya seeds extract against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. *Food Science and Technology*. 66: 293-297
- Santos, A.L.D., Chierice, G.O., Alexander, K., dan Riga, A. 2009. Crystal Structure Determination for Eugenyl Acetate. *Journal Chem Crystallogr*. 39: 655-611.
- Sari, D. P., Muslichah, S., & Wiratmo, W. 2014. Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kadar Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan (Effect of Methanolic Extract, N-Hexanic Fraction, and Methanolic Fraction of Papaya Seed (Ca. *Pustaka Kesehatan*, 2(3), 416-421.
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh perbedaan metode ekstraksi, bagian dan jenis pelarut terhadap rendemen dan aktifitas antioksidan bambu laut (*Isis hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal*. Vol 1(3).
- Srinivasan, R. J. Karthi. 2019. A Review of Pharmacognosy, Pharmacology, and LC-MS Investigation of *Carica papaya*. *International Journal of Phytotherapy*. Vol.9(2): 20-26
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Shihab, MQ. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta : Lentera Hati.
- Simpson, Nigel, J. K. 2000. *Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques, and Applications*. New York: CRC Press.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Kanisius: Yogyakarta

- Sukardiman, dkk. 2014. *Buku Ajar Farmakognosi*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Suresh, H. M., Shivakumar, B., & Shivakumar, S. I. 2012. Cytotoxicity of aporphine alkaloids from the roots of *Annona reticulata* on human cancer cell lines. *Int J Plant Res*, 2(3), 57-60.
- Supardan, Muhammad Dani. 2011. Application of Ultrasound-assisted Solvent Extraction for Recovery of Oil from Palm Oil Mill Effluent. *AGRITECH*. Vol. 31 No. 4
- Stahl, E. 1985. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopik. Bandung: ITB.
- Tan, L., Wang, Y., Ai, G., Luo, C., Chen, H., Li, C., ... & Su, Z. 2019. Dihydroberberine, a hydrogenated derivative of berberine firstly identified in *Phellodendri* Chinese Cortex, exerts anti-inflammatory effect via dual modulation of NF- κ B and MAPK signaling pathways. *International Immunopharmacology*, 75, 105802
- Torres, N.M., Talavera, TA., Andrew, HE. 2017. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compound from Vegetables Sources. *Agronomy*. Vol.7(47):1-19.
- Wang, X., Hu, C., Ai, Q., Chen, Y., Wang, Z., & Ou, S. (2015). Isolation and identification carpaine in *Carica papaya* L. leaf by HPLC-UV method. *International Journal of Food Properties*, 18(7), 1505-1512.
- Widianti, W. 2012. Potensi Antioksidan dan Sitotoksisitas ekstrak Buah Cermay (*Phyllanthus acidus* L). *Jurnal Skripsi*. FMIPA IPB Bogor.
- Wijoyo, P.M. 2008. *Sehat dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Bee Media Indonesia.
- Wulandari, Lesty. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: Taman Kampus Presindo.
- Zhou, K., Wang, H., Mei, W., Li, X., Luo, Y., dan Dai, H. 2011. Antioxidant Activity of Papaya Seed Extracts. *Journal Molecules*. Vol 6: 6179-6192.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian



Lampiran 2. Diagram Alir

L.2.1 Preparasi Sampel

Biji buah pepaya

- Diambil biji buah pepaya
- Ditimbang 300 gram
- Dicuci dengan air bersih
- Dikeringkan dengan suhu ruang
- Dihaluskan menggunakan blender dengan ayakan 90 mesh

Serbuk biji pepaya

L.2.2 Analisis Kadar Sampel

Serbuk biji pepaya

- Dipanaskan cawan pada suhu 105°C selama ± 15 menit
- Didinginkan dalam desikator selama 10 menit
- Ditimbang cawan sampai diperoleh berat konstan
- Ditimbang sampel serbuk sebanyak 50 gram
- Dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam
- Didinginkan dalam desikator selama ±15 menit
- Ditimbang
- Diulangi perlakuan sampai berat konstan
- Dihitung kadar air

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\square - \square}{\square - \square} \times 100\%$$

Hasil

L.2.3 Ekstraksi Biji Pepaya secara Ultrasonik

Serbuk biji pepaya

- Ditimbang serbuk sebanyak 20 gram
- Dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- Ditambahkan 200 ml kloroform
- Di ekstraksi dengan ultrasonik frekuensi 20 kHz pada suhu ruang selama 20 menit
- Disaring hasil ekstraksi dengan corong buchner

- Dipekatkan dengan rotary evaporator
- Dikeringkan dalam lemari asam pada suhu ruang

Ekstrak Etanol

L.2.4 Fraksinasi Ekstrak Kloroform dengan Etil Asetat

Ekstrak Kloroform

- Ditimbang sebanyak 5 gram
- Dihidrolisi / diasamkan dengan HCl 2 M hingga pH 2-3
- Dihidrolisis selama 1 jam menggunakan magnetik stirer hot plate suhu ruang
- Ditambahkan natrium bikarbonat sampai pH netral

Hidrolisat

- Di ekstraksi cair-cair menggunakan 25 mL pelarut etil asetat dalam corong pisah (3x)
- Dikocok dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan

Lapisan Organik

- Dimasukkan ke dalam gelas kimia
- Dipekatkan dengan didiamkan pada suhu ruang

Lapisan Air

Fraksi Etil Asetat

- Ditimbang
- Dihitung rendemen

Hasil

L.2.5 Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid

Fraksi Etil Asetat

- Dimasukkan kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan HCl 2% sebanyak 0,5 mL
- Larutan dibagi menjadi 2

Tabung 1

- Ditambahkan 2-3 tetes Reagen dragendorff

Hasil

Tabung 2

- ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer

Hasil

L.2.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif

a. Persiapan Plat KLT

Silika gel F₂₅₄

- Dipotong plat dengan ukuran 10 x 10 cm
- Diberi batas bawah dan batas atas masing-masing 1 cm.
- Diaktivasi plat dengan pven pada suhu 100-105°C selama 30 menit

Hasil

b. Persiapan fase gerak (eluen)

Chamber

- Dimasukkan 10 ml eluen metanol : kloroform (1 : 9)
- Dijenuhkan selama 60 menit dan ditutup rapat chamber selama proses penjenuhan

Hasil

c. Proses Elusi

Fraksi Etil Asetat

- Diaplikasikan fraksi etil asetat sebanyak 3 kali ulangan
- Ditotolkan sebanyak 15 totolan sampel pada masing-masing plat (3 jalur pengulangan) dan dikeringkan
- Dimasukkan plat ke dalam chamber yang berisi eluen
- Ditutup rapat dan tidak boleh dipindahkan hingga proses eluesi selesai
- Plat dikeringkan dan didokumentasikan
- Diamati hasil dan dihitung Rf

Hasil

L.2.7 Uji Toksisitas dengan Larva Udang *Artemia salina* L

a. Penetasan Larva Udang

Larva Udang *Artemia salina* L

- Diambil 2,5 mg telur udang
- Dimasukkan kedalam 250 mL air laut
- Diaerasi selama ± 48 jam dengan suhu 25-30°C

Hasil

b. Uji Toksisitas**Fraksi Etil Asetat dan Isolat hasil pemisahan KLTP**

- Diambil sampel sebanyak 100 mg
- Dilarutkan dengan pelarut etil asetat 10 mL (menjadi larutan stok 100 ppm)
- Dimasukkan ke dalam masing-masing botol vial dengan pengulangan 7 kali
- Diuapkan pelarutnya sampai kering
- Dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, setets larutan ragi roti, dan 2 mL air laut
- Divortex selama 30-60 detik
- Ditandabatkan hingga 10 mL dengan air laut
- Dimasukkan 10 ekor larva udang
- Diamati kematian larva udang setelah 24 jam
- Dianalisis datanya untuk mencari nilai LC_{50}

Hasil**L.2.8 Identifikasi dengan LC-MS****Isolat dugaan senyawa Alkaloid**

- Diambil beberapa cuplikan
- Dilarutkan dalam pelarutnya (0,1% asam format dalam air (fase A) dan 0,1% asam format dalam asetonitril (fase B) (70% fase A:30% fase B))
- Diinjekkan ke dalam tempat sampel
- Dijalankan instrumen LC-MS

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Pembuatan Larutan HCl 2N

$$\rho \text{ HCl } 32\% = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah ion H}^{\text{+}}\text{)}$$

$$\text{konsentrasi} = 32\% = \frac{32 \text{ g}}{100 \text{ gram larutan}} \times 100\%$$

- mol HCl dalam konsentrasi 32% = $\frac{\text{gr HCl}}{\text{BM HCl}} = \frac{32 \text{ g}}{36,42 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0,8786 \text{ mol}$

- volume larutan HCl dalam larutan HCl 32% = $\frac{m}{\rho}$

$$= \frac{100 \text{ g}}{1,19 \frac{\text{g}}{\text{ml}}} = 84,033 \text{ mL} = 0,084 \text{ L}$$

- Molaritas HCl 32% = $\frac{\text{mol}}{V \text{ (L)}} = \frac{0,8786 \text{ mol}}{0,084 \text{ L}} = 10,4599 \text{ mol/L}$

- Normalitas HCl 32% = $n \times \text{molaritas HCl}$

$$= 1 \times 10,4599 \text{ mol/L} = 10,4599 \text{ N}$$

Sehingga untuk membuat larutan HCl 2N sebanyak 100 mL dari larutan HCl 10,4599 N menggunakan prinsip pengenceran berikut =

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$10,4599 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N}$$

$$V_1 = 19,1206 \text{ ml}$$

Larutan HCl pekat 32% diambil sebanyak 19,1 mL kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL lalu ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok sampai homogen.

L.3.2 Pembuatan larutan pengembang metanol : kloroform (1 : 9)

$$\text{Metanol} = \frac{1}{10} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

$$\text{Kloroform} = \frac{9}{10} \times 10 \text{ ml} = 9 \text{ ml}$$

Cara pembuatan: dipipet 1 mL metanol dan 9 mL kloroform, kemudian dimasukkan dalam *chamber*.

L.3.3 Pembuatan Larutan NaHCO₃ jenuh

NaHCO₃ ditimbang sebanyak 10 gr kemudian dilarutkan dalam aquades 100 mL (sampel terdapat endapan yang tidak larut). Setelah itu NaHCO₃ disaring untuk memisahkan endapan yang tidak dapat larut tersebut sehingga didapat larutan NaHCO₃ jenuh.

L.3.4 Pembuatan Konsentrasi Larutan Isolat untuk Uji Toksisitas

L.3.4.1 Pembuatan Larutan Stok Fraksi Etil Asetat

Pembuatan larutan stok isolat alkaloid dan fraksi etil asetat

$$\text{Ppm} = \text{mg/L}$$

Larutan stok (ppm) = 1 mg/L dalam 10 mL pelarutnya

$$\text{Ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}} = 100 \text{ ppm}$$

Jadi, larutan stok 100 ppm pada masing-masing isolat alkaloid dan fraksi etil asetat dibuat dengan dilarutkan 1 mg isolat kedalam 10 mL pelarutnya. Untuk membuat konsentrasi larutan 1,2,3,4,5 ppm dari larutan stok 100 ppm maka dibuat dengan rumus pengenceran dibawah ini.

- Pembuatan larutan 1 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 1 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{0,01 \text{ L} \cdot \text{ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0001 \text{ L} = 0,1 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 2 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{0,02 \text{ L} \cdot \text{ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0002 \text{ L} = 0,2 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 3 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 3 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{0,03 \text{ L} \cdot \text{ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0003 \text{ L} = 0,3 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 4 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{0,04 \text{ L} \cdot \text{ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0004 \text{ L} = 0,4 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 5 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{0,05 \text{ L} \cdot \text{ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0005 \text{ L} = 0,5 \text{ mL}$$

L.3.4.2 Pembuatan Larutan Stok Isolat KLTP

$$\text{Ppm} = \text{mg/L}$$

Isolat 1

Larutan stok (ppm) = 2,39 mg/L dalam 10 mL pelarutnya

$$\text{Ppm} = \frac{2,39 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}} = 239 \text{ ppm}$$

- Pembuatann larutan 1 ppm

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

$$V_1 \times 1 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 1 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{0,01 \text{ L} \cdot \text{ppm}}{239 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,000041 \text{ L} = 41 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 2 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 2 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,02 \text{ L.ppm}}{239 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,000083 \text{ L} = 83 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 3 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 3 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 3 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,03 \text{ L.ppm}}{239 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,000125 \text{ L} = 125 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 4 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 4 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 4 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,04 \text{ L.ppm}}{239 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,000167 \text{ L} = 167 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 5 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 5 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,05 \text{ L.ppm}}{239 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,000209 \text{ L} = 209 \mu\text{L}$$

Isolat 2

Larutan stok (ppm) = 3,04 mg/L dalam 10 mL pelarutnya

$$\text{Ppm} = \frac{3,04 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}} = 304 \text{ ppm}$$

- Pembuatann larutan 1 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 1 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,01 \text{ L.ppm}}{304 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,0000328 \text{ L} = 32 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 2 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 2 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,02 \text{ L.ppm}}{304 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,0000657 \text{ L} = 65 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 3 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 3 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 3 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,03 \text{ L.ppm}}{304 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,0000986 \text{ L} = 98 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 4 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 4 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 4 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,04 \text{ L.ppm}}{304 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,0001315 \text{ L} = 131 \mu\text{L}$$

- Pembuatann larutan 5 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 5 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{0,05 \text{ L.ppm}}{304 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,000164 \text{ L} = 164 \mu\text{L}$$

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan
L.4.1 Penentuan Kadar Air Sampel Serbuk Biji Pepaya

Tabel L.4.1 Data Berat Cawan Kosong dan Berat Cawan + Sampel

Berat Cawan Kosong (g)				Berat Konstan (g)
Sebelum Dioven	U1	U2	U3	
20,8020	20,7962	20,7953	20,7952	20,7952
21,1850	21,1747	21,1730	21,1727	21,1727
23,9354	23,9321	23,9316	23,9313	23,9313
13,0953	13,0891	13,0889	13,0887	13,0887
34,5089	34,4794	34,4173	34,4175	34,4175

Berat Cawan Kosong + Sampel (g)				Berat Konstan (g)
Sebelum Dioven	U1	U2	U3	
21,2955	21,2633	21,2620	21,2612	21,2612
21,6724	21,6465	21,6452	21,6443	21,6443
24,4314	24,4057	24,4055	24,4022	24,4022
13,5891	13,5624	13,5609	13,5603	13,5603
34,9180	34,9082	34,8857	34,8844	34,8844

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{21,2955 \text{ gr}-21,2612 \text{ gr}}{21,2955 \text{ gr}-20,7952 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0343 \text{ gr}}{0,5003 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 6,8558 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{21,6724 \text{ gr}-21,6443 \text{ gr}}{21,6724 \text{ gr}-21,1727 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0281 \text{ gr}}{0,4997 \text{ gr}} \times 100\% = 5,6233 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{24,4314 \text{ gr}-24,4022 \text{ gr}}{24,4314 \text{ gr}-23,9313 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0291 \text{ gr}}{0,5001 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 5,8188 \%
 \end{aligned}$$

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{13,5891 \text{ gr} - 13,5603 \text{ gr}}{13,5891 \text{ gr} - 13,0887 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0288 \text{ gr}}{0,5004 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 5,7553 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{34,9180 \text{ gr} - 34,8844 \text{ gr}}{34,9180 \text{ gr} - 34,4175 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0336 \text{ gr}}{0,5005 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 6,7132 \%
 \end{aligned}$$

Rata-rata kadar air yang diperoleh dalam analisis serbuk biji pepaya adalah 6,15%

L.4.2 Rendemen Hasil Ekstraksi Ultrasonik

$$\text{Berat gelas kosong} = 64,9060 \text{ g}$$

$$\text{Berat gelas kosong + ekstrak pekat} = 69,4005 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 4,4945 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{4,4954 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% = 22,4725\%
 \end{aligned}$$

L.4.3 Rendemen Hasil Fraksi Etil Asetat

$$\text{Berat gelas kosong} = 63,4890 \text{ g}$$

$$\text{Berat gelas kosong + fraksi pekat} = 63,7682 \text{ g}$$

$$\text{Berat fraksi etil asetat} = 0,2792 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2792}{4,4945 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 6,212 \%
 \end{aligned}$$