

Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) Dengan Metode *Natatory Exhaustion*

Riska Ardiana Rengganis¹, Hasriyani², Bintari Tri Sukoharjanti³

^{1,2,3}Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Kudus

Email: riskaardiana185@gmail.com

Published: June, 2025

ABSTRAK

Tonikum merupakan campuran berbagai zat yang dapat memperkuat tubuh atau memberikan tambahan energi, yang mekanismenya berkaitan dengan stimulasi sistem saraf pusat (SSP). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai tonikum adalah daun pepaya (*Carica papaya* L.), karena mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang diketahui dapat mendukung efek tonikum. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas dan dosis optimal pemberian EEDP terhadap efek tonikum pada mencit jantan. Pemberian dilakukan secara oral dengan hewan uji sebanyak 25 ekor yang dibagi secara acak ke dalam lima kelompok terdiri atas kontrol negatif yang diberikan Na-CMC 0,5%, kontrol positif dengan kafein 100 mg/KgBB, serta tiga kelompok perlakuan yang menerima EEDP dengan dosis 400 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 800 mg/KgBB. Efektivitas tonikum diuji melalui metode kelelahan renang (*natatory exhaustion*), dengan parameter yang dinilai adalah perbedaan waktu kelelahan sebelum dan sesudah perlakuan. Hasil analisis statistik menggunakan One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($P < 0,05$), yang menandakan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok. Uji lanjutan dengan metode Duncan memperlihatkan bahwa ekstrak daun pepaya menunjukkan peningkatan efek tonikum seiring dengan peningkatan dosis, dan dosis paling optimal ditemukan pada kelompok yang menerima EEDP 800 mg/KgBB.

Kata Kunci : Ekstrak Daun Pepaya, Efek Tonikum, *Natatory Exhaustion*

ABSTRACT

Tonic is a mixture of various substances that can strengthen the body or provide additional energy, the mechanism of which is related to stimulation of the central nervous system (CNS). One of the plants that has the potential as a tonic is papaya leaves (Carica papaya L.), because it contains various bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins which are known to support the tonic effect. This study aims to test the effectiveness and optimal dose of EEDP administration on the tonic effect in male mice. Administration was carried out orally with 25 test animals which were randomly divided into five groups consisting of negative controls given 0.5% Na-CMC, positive controls with 100 mg/KgBW caffeine, and three treatment groups that received EEDP at doses of 400 mg/KgBW, 600 mg/KgBW, and 800 mg/KgBW. The effectiveness of the tonic was tested using the natatory exhaustion method, with the parameters assessed being the difference in fatigue time before and after treatment. The results of statistical analysis using One Way ANOVA showed a significance value of 0.000 ($P < 0.05$), indicating a significant difference between groups. Further testing using the Duncan method showed that papaya leaf extract showed an increase in tonic effect along with increasing doses, and the most optimal dose was found in the group receiving EEDP 800 mg/KgBW.

Keywords: Papaya Leaf Extract, Tonic Effect, *Natatory Exhaustion*

INTRODUCTION

Seiring perkembangan zaman, kebutuhan manusia semakin meningkat, sehingga aktivitas untuk memenuhinya juga bertambah. Untuk mendukung pemenuhan kebutuhan tersebut, dibutuhkan senyawa atau zat yang mampu meningkatkan stamina guna membantu mengurangi rasa lelah. Dalam menghadapi tuntutan energi yang terus meningkat, suplemen penambah energi menjadi salah satu solusi yang dibutuhkan. Dengan mengonsumsi suplemen tersebut, individu dapat mencapai kondisi fisik yang optimal dalam waktu singkat dan tetap mampu menjalani aktivitas harian dengan stamina yang prima. Zat atau senyawa penambah stamina ini dapat berasal dari tanaman obat maupun bahan sintetis. Akan tetapi, penggunaan tanaman obat sebagai sumber penambah stamina dianggap lebih aman dibandingkan dengan senyawa sintetis (Syamsul *et al.*, 2022).

Tonikum adalah obat yang dapat digunakan untuk menambah energi atau stamina pada tubuh makhluk hidup. Obat tonikum digolongkan ke dalam bentuk golongan senyawa obat *psikostimulansia*. Kandungan senyawa *psikostimulansia* dalam suatu tanaman obat atau bahan obat dapat digunakan untuk menghilangkan gejala kelelahan. Salah satu contoh senyawa *psikostimulansia* adalah kafein. Namun, efek samping yang sering terjadi pada kafein yaitu tremor, dan jantung berdebar. Selain itu, penghentian konsumsi kafein bagi orang yang sudah kecanduan dapat menyebabkan rasa gelisah, gugup, mudah tersinggung, nyeri kepala, gemetar dan tidak mampu bekerja secara efektif, serta depresi (Toyang *et al.*, 2024).

Kafein termasuk kedalam kelompok alkaloid yang berasal dari turunan xantin dengan rumus senyawa kimia $C_8H_{10}N_4O_2$ dengan rumus bangun 1,3,7- *trimethylxanthine*. Sebagian besar orang menggunakan kafein untuk melawan kantuk dan rasa lelah karena kafein mampu *menstimulasi* saraf pusat tubuh manusia. Kafein bekerja menghambat *phosphodiesterase* serta memiliki efek antagonis terhadap reseptor adenosine sentral. Kerja kafein berhubungan dengan fungsi adenosin, suatu senyawa yang berfungsi sebagai inhibitor neurotransmitter dan dapat berikatan dengan reseptor di otak. Adenosin juga memiliki kemampuan untuk melebarkan pembuluh darah otak sehingga otak dapat menyerap lebih banyak oksigen selama tidur. Kafein meningkatkan susunan saraf pusat, merelaksasi otot polos, dan meningkatkan stimulant otot jantung. Namun, mengonsumsi terlalu banyak kafein dapat berdampak negatif, mengakibatkan gelisah, gugup, tremor, insomnia, hipertensi, mual, dan kejang (Saputri *et al.*, 2023).

Daun pepaya (*Carica Papaya* L.) ialah tanaman kayu bercabang yang batangnya basah tegak di dekat permukaan tanah. Dapat digunakan hampir semua bagian dari tanaman pepaya, khususnya batang, daun, akar dan buah-buahan. Pepaya ialah satu diantara tanaman yang dipakai pada pengobatan konvensional. Beberapa tanaman ini, yang biasa dipakai pada pengobatan konvensional ialah daun yang kaya akan enzim papain (Hasriyani *et al.*, 2021). Daun pepaya (*Carica Papaya* L.) telah diuji secara klinis termasuk metabolit sekunder dalam bentuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan fenol. Kadar flavonoid yang bekerja pada pepaya mengurangi laju oksidasi lemak dengan perannya sebagai antioksidan, pada dosis kecil daun pepaya (*Carica papaya* L.) menghasilkan efek stimulan, dan dapat mencegah penyakit kardiovaskular. Mekanisme flavonoid sebagai tonik bekerja dengan mengoptimalkan kegiatan motorik pada mencit dan menghambat penyerapan ion Ca^{2+} memasuki retikulum sarkoplasma dengan adanya kendala itu menimbulkan

kandungan ion Ca^{2+} di sarkoplasma tinggi dan menunjang munculnya efek tonik. Selain itu, kandungan senyawa alkaloid dalam daun pepaya memiliki mekanisme menghambat fosfodiesterase yang merupakan enzim yang selektif bekerja pada jantung (Tari & Indriyana, 2021).

Uji efek tonikum dijalankan dengan memakai metode *natatory exhaustion*. Metode ini menghitung perbedaan antara mencit renang sebelum dan setelah perlakuan. Prinsip kerja ini ialah guna menguji efek tonik pada produksi sesuai peningkatan kegiatan fisik dalam bentuk waktu tambahan pada hewan uji saat berenang di tangki yang diisi air. Indikator yang dikaji menggunakan metode ialah tanda-tanda kelelahan pada mencit, seperti kepala mencit terendam dalam air selama 7 detik, badan mencit tegak lurus pada permukaan air, kaki tidak bergerak, dan ekornya tidak bergerak (Imanda *et al.*, 2024)

Berdasarkan penelitian (Asmoro Bangun, 2021) mengenai analisis tingkat flavonoid total dalam biji dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) memakai metode spektrofotometer UV-vis diperoleh hasil bahwasanya ekstrak etanol 96% daun pepaya mempunyai kandungan flavonoid total melebihi ekstrak biji pepaya. Kemampuan daun pepaya untuk mengoptimalkan daya tahan tidak bisa dipisahkan dari dikandungnya, sebagaimana alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan banyak lagi. Fraksi alkaloid (*carpaine*) bertanggung jawab untuk kegiatan kerja di jantung, dan flavonoid mempunyai efek merangsang pada produksi sel darah.

Berdasarkan penelitian (Yolandini *et al.*, 2020) memaparkan bahwasanya senyawa flavonoid dan alkaloid bisa mencapai efek tonikum dengan memusuhi reseptor adenosin A^1 , dan mengaktifkan tugas adenosin secara keseluruhan sehingga rasa kantuk hilang, timbul perasaan bersemangat, mata melebar dan segar. Pada penelitian lain (Savira *et al.*, 2022) memaparkan bahwasanya tanaman obat yang efektif sebagai tonikum mencakup koneksi dengan saponin dan senyawa lain yang efektif dalam memperbanyak daya tahan dan mempercepat sirkulasi darah. Senyawa lain yang bisa menambah kegiatan motorik ialah senyawa flavonoid.

Berdasarkan penelitian yang sudah dijalankan pada uraian di atas membuktikan bahwa pengujian efek tonikum ekstrak etanol daun pepaya belum pernah dijalankan, sehingga penulis tertarik menjalankan penelitian uji efek tonikum ekstrak etanol daun pepaya dengan metode *natatory exhaustion*. Tujuan dijalankannya penelitian berikut yakni guna memahami efek tonikum dari ekstrak daun pepaya dengan variasi dosis ekstrak yang memberi efek tonikum paling baik.

Materials And Method

Jenis penelitian berikut ialah studi eksperimental (*True experimental design*) dengan desain *Pretest-posttest matched control group* yang dilakukan guna melihat dampak yang ditimbulkan terhadap mencit sebelum dan sesudah diberi perlakuan ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.). Penelitian perihal uji efek tonikum ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*) dijalankan pada sejumlah tahap yakni, preparasi dan pemilihan sampel, pembuatan simplisia, ekstraksi, karakteristik spesifik dan non-spesifik, serta pengujian fitokimia pada kadar daun pepaya, aklimatisasi hewan percobaan, uji bebas etanol, penetapan dosis, perlakuan hewan uji dan uji efek tonikum ekstrak etanol daun pepaya pada mencit jantan (*Mus musculus*) dengan metode *Natatory exhaustion*. Penelitian dijalankan di Laboratorium Farmakologi Institut Teknologi Kesehatan Cedikia Utama Kudus. Populasi dan sampel pada penelitian berikut ialah mencit putih jantan dari spesies *Mus musculus* yang diperoleh dari Java Rat Labs Semarang, sebanyak 30 ekor dengan persyaratan usia berkisar 2-3 bulan, dengan bobot tubuh sekitar 20-30 gram, sehat dalam keadaan tidak terinfeksi dan tidak cacat secara fisiologi atau anatomi tubuh. Peralatan yang dipakai pada penelitian berikut mencakup: *moisture balance*, *rotary evaporator*, neraca analitik, *waterbath*, blender, timbangan mencit, beaker glass, pipet tetes, tabung reaksi, cawan porselin, gelas ukur, mortir dan stamper, batang pengaduk, bejana maserasi, akuarium, sendok tanduk, ayakan no.40 mesh, rak tabung reaksi, sonde oral, spuit 1 ml, kertas perkamen, kertas saring dan *stopwatch*.

Sejumlah bahan yang digunakan pada penelitian berikut meliputi : ekstrak daun pepaya, Na-CMC (*Sigma*), aquadest, kafein (*Sigma*), etanol 96%, Besi(III) klorida (FeCl_3), HCl pekat, serbuk magnesium, Kloroform, Ammonia (NH_3), Asam asetat (CH_3COOH), Asam sulfat pekat (H_2SO_4), reagen Mayer, reagen *Dragendroff* dan hewan uji mencit. Data hasil uji efek tonikum dijalankan pengujian normalitas guna memahami data yang didapat normal atau tidak dan pengujian homogenitas guna memahami data yang didapat distribusinya merata atau tidak. Sesudah data yang didapat homogen dan

berdistribusi normal selanjutnya dijalankan pengujian *One Way* ANOVA guna tujuan memahami perbedaan signifikan diantara golongan perlakuan. Berikutnya dijalankan pengujian Duncan, tujuannya guna mencermati signifikansi perbedaan rerata yang disebabkan oleh perlakuan berbeda pada tiap-tiap kelompok percobaan (Savira *et al.*, 2022).

RESULTS

Ethical Clearance

Penelitian ini telah melewati uji layak etik dengan Nomor Keputusan 5605/B.1/KEPK-FKUMS/III/2025 yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Determinasi Tanaman

Determinasi daun pepaya (*Carica papaya* L.) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan nomor surat 118/Lab.Bio/B/II/2025. Kunci Determinasi : 1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15a - 109b - 119b - 120a - 121b - 124b - 125b - 126a *Caricaceae*.

Simplisia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Berdasarkan penelirian yang telah dilakukan didapatkan hasil nilai rendemen simplisia yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Serbuk Simplisia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Sampel	Hasil		
	Berat Awal Sampel	Berat Serbuk Simplisia	Rendemen
Simplisia Daun Pepaya	2.500 gr	500 gr	20%

Syarat rendemen simplisia yang baik lebih dari 10% (Farmakope Herbal, 2017) karena semakin tinggi nilai rendemen maka semakin tinggi kandungan senyawa yang tertarik pada bahan baku. Dari hasil penelitian didapatkan rendemen simplisia daun pepaya sebesar 20% yang memenuhi standar nilai rendemen yang baik.

Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan hasil rendemen ekstrak daun pepaya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen Esktrak Kental Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Sampel	Hasil		
	Berat Serbuk Simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen
Simplisia Daun Pepaya	500 gr	56,39 gr	11,2%

Syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal, 2017). Pada hasil penelitian diperoleh nilai rendemen ekstrak sebesar 11,2% yang artinya memenuhi persyaratan.

Skrining Fitokimia

Berdasarkan penelitian didapatkan hasil analisa skrining fitokimia ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Pengujian	Pengamatan	Hasil	Keterangan
Alkaloid			
+Reagen Mayer	Terbentuk endapan putih	+	Positif
+Reagen	Terbentuk endapan jingga	+	

Dragendroff			
Flavonoid	Larutan berwarna merah jingga	+	Positif
Saponin	Terbentuk busa yang stabil	+	Positif
Tanin	Larutan berwarna hijau tua	+	Positif

Uji Karakteristik Ekstrak

1. Parameter Spesifik

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil uji organoleptik ekstrak daun pepaya yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Parameter Spesifik

Parameter	Hasil Pemeriksaan
Warna	Coklat Kehitaman
Bentuk	Ekstrak kental
Bau	Khas Daun Pepaya
Rasa	Pahit

2. Parameter Non Spesifik

Parameter non spesifik berupa penentuan nilai kadar air. Data hasil pengujian non spesifik ekstrak daun pepaya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji Kadar Air

Parameter	Hasil Pengujian
Kadar Air	7,90 %

Persyaratan pengujian kandungan kadar air yaitu kurang dari 10% untuk mencegah pertumbuhan mikroba dan degradasi senyawa aktif (Farmakope Herbal, 2017). Hasil uji kadar air simplisia daun pepaya didapatkan adalah 7,90% yang artinya memenuhi persyaratan.

Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui masih ada atau tidaknya etanol yang terkandung dalam ekstrak (Tivani *et al.*, 2021). Hasil hasil bebas etanol disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji Bebas Etanol

Sampel	Hasil Pengujian	Keterangan
Ekstrak Daun Pepaya	+	Tidak Tercium Bau Ester

Berdasarkan hasil pengujian ekstrak tidak tercium bau ester yang berarti ekstrak etanol daun pepaya tersebut positif bebas etanol.

Aklimatisasi Hewan Uji

Hewan percobaan terlebih dahulu menjalani proses aklimatisasi selama 7 hari di kandang. Hasil pengamatan aklimatisasi hewan uji disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Berat Badan Mencit Sebelum dan Sesudah Aklimatisasi

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Berat Badan Mencit (gram)		Perubahan Berat Badan %
	Sebelum Aklimatisasi	Sesudah Aklimatisasi	
Kontrol Negatif	21,0	23,2	10,48%
Kontrol Positif	24,0	26,6	10,83%
Kelompok I (EEDP	23,0	26,0	13,04%

400mg/KgBB)			
Kelompok II (EEDP 600mg/KgBB	23,3	27,6	18,45%
Kelompok III (EEDP 800mg/KgBB	23,8	28,4	19,33%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hewan uji tidak mengalami penurunan berat badan > 10%, yang artinya memenuhi persyaratan yang mengatakan bahwa perubahan berat badan hewan uji sesudah aklimatisasi tidak mengalami penurunan berat badan sebesar >10% (Imanda *et al.*, 2022).

Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Penelitian ini dilakukan perlakuan secara oral dengan 5 kelompok mencit yang berbeda, diantaranya kontrol negatif (Na-CMC 0,5 %), kontrol positif (Kafein 100 mg/kgBB), perlakuan I (400 mg/kgBB ekstrak etanol daun pepaya), perlakuan II (600 mg/kgBB ekstrak etanol daun pepaya), dan perlakuan III (800 mg/kgBB ekstrak etanol daun pepaya). Data kenaikan efek tonikum dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Persentase Kenaikan Efek Tonikum

Kelompok Perlakuan	Persentase Efek Tonikum %
Kafein 100mg/KgBB	25,4%
EEDP 400mg/KgBB	23,1%
EEDP 600mg/KgBB	25,7%
EEDP 800mg/KgBB	34,5%

Dari hasil data yang didapatkan hasil kenaikan efek tonikum > 20%. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peningkatan efek tonikum sebesar 20% atau lebih dianggap signifikan (J. Hesturini *et al.*, 2022).

Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan metode *Natatory Exhaustion*

Berdasarkan penelilitan yang dilakukan didapatkan data hasil pengamatan disajikan pada Tabel 9.

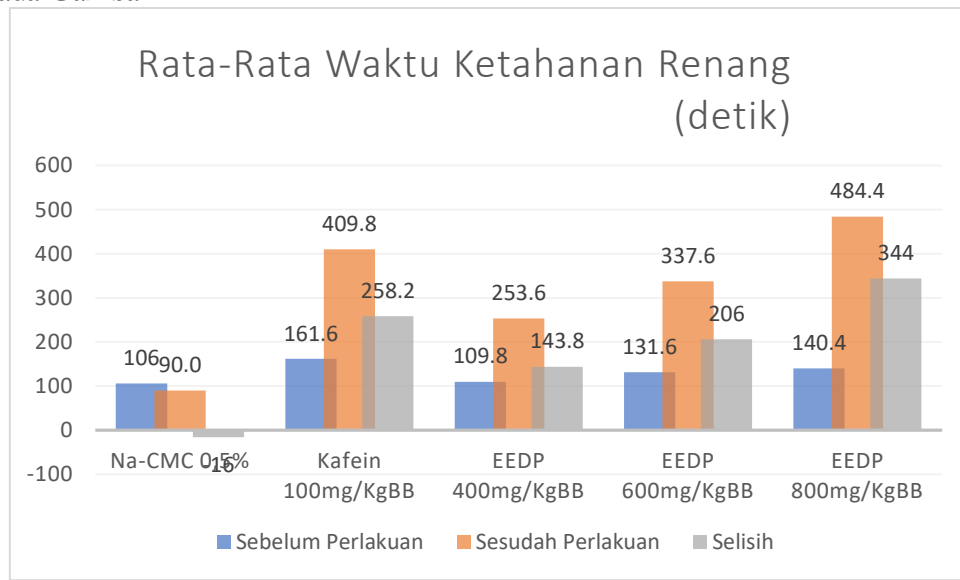
Tabel 9. Data Waktu Ketahanan Renang Mencit

Kelompok Perlakuan	Rata-rata waktu ketahanan renang sebelum perlakuan $\pm$ SD (Detik)	Rata-rata waktu ketahanan renang sesudah perlakuan $\pm$ SD (Detik)	Rata-rata waktu ketahanan renang sebelum dan sesudah perlakuan $\pm$ SD (Detik)
Kontrol Negatif	106,0 $\pm$ 15,4	90,0 $\pm$ 10,0	-16,0 $\pm$ 5,4 ^a
Kontrol Positif	161,6 $\pm$ 22,6	409,8 $\pm$ 88,1	258,2 $\pm$ 86,8 ^{de}
EEDP 400mg/KgBB	109,8 $\pm$ 20,1	253,6 $\pm$ 46,4	143,8 $\pm$ 33,7 ^d
EEDP 600mg/KgBB	131,6 $\pm$ 29,1	337,6 $\pm$ 47,2	206,0 $\pm$ 66,2 ^{bc}
EEDP 800mg.KgBB	140,4 $\pm$ 21,3	484,4 $\pm$ 85,5	344,0 $\pm$ 83,9 ^{bd}

Keterangan :

- Berbeda signifikan dengan semua kelompok
- Tidak berbeda signifikan terhadap K +
- Tidak berbeda signifikan terhadap K I
- Tidak berbeda signifikan terhadap K II
- Tidak berbeda signifikan terhadap K III

Data hasil penelitian waktu ketahanan berenang mencit pada uji *nataatory exhaustion* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Waktu Ketahanan Renang

Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS melalui uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, uji homogenitas dan One Way ANOVA untuk menilai pengaruh lima kelompok perlakuan terhadap efek tonikum secara sistematis. Hasil Analisa data disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Uji Normalitas

Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
.124	25	.200*	.954	25	.309

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi 0,309 ($P > 0,05$). Pengujian dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene Statistic*, yang dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.010	4	20	.132

Berdasarkan hasil analisis terhadap selisih waktu kelelahan antar kelompok perlakuan, diperoleh nilai sebesar 0,132 ($P > 0,05$), yang mengindikasikan bahwa data memiliki varians yang homogen. Selanjutnya, dilakukan uji One Way ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Data hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Uji <i>One Way ANOVA</i>					
	Sum Of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	462945.440	4	115736.360	29.540	.000
Within Groups	78360.400	20	3918.020		
Total	541305.840	24			

Berdasarkan hasil Tabel 12 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($P < 0,05$), yang menandakan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik, serta mengindikasikan bahwa formulasi yang diberikan memiliki efek tonikum. Adanya perbedaan signifikan yang teridentifikasi, maka analisis dilanjutkan dengan uji lanjutan menggunakan metode Duncan guna mengetahui perbedaan antar kelompok secara lebih spesifik. Data hasil uji Duncan dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Uji Duncan

Subset for alpha = 0.05

Kelompok Perlakuan	N	1	2	3	4
Kontrol Negatif	5	90.0000			
EEDP 400mg/KgBB	5		253.6000		
EEDP 600mg/KgBB	5			337.6000	
Kontrol Positif	5			409.8000	409.8000
EEDP 800mg/KgBB	5				484.4000
Sig.		1.000	1.000	.083	.074

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan ($\alpha = 0,05$), kontrol negatif (Na-CMC 0,5%) memiliki nilai rata-rata terendah yaitu 90,0 detik, menunjukkan tidak ada perlakuan, pada EEDP dosis 400 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, 800mg/KgBB menunjukkan peningkatan bertahap dalam rata rata nilai 253,6 detik, 337,6 detik, dan 484,4 detik, pada kontrol positif (Kafein 100mg/KgBB) menunjukkan nilai 409,8 detik yang hampir setara dengan EEDP 600mg/KgBB dan mendekati EEDP 800mg/KgBB.

DISCUSSION

Ethical Clearance

Ethical clearance pada hewan uji adalah langkah untuk menjaga etika, kemanusiaan dan integritas ilmiah dalam penelitian. Menurut (Shim & Kim, 2022) menyatakan bahwa sebelum penelitian dilakukan, seluruh protokol harus dikaji dan disetujui oleh Komite Etik Penelitian Hewan untuk memastikan bahwa manfaat ilmiah dari penelitian sebanding dengan dampak yang ditimbulkan terhadap hewan uji.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya tanaman yang akan diteliti dengan tanaman lain (Happy *et al.*, 2021). Hasil detrmnasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini tergolong dalam :

Famili : *Caricaceae*
Genus : *Carica*
Spesies : *Carica papaya* Linn

Simplisia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dilakukan sortasi basah guna memisahkan bahan dari pengotor lain meliputi tanah, dan bagian tanaman yang tidak digunakan. Selanjutnya dilakukan perajangan guna mempermudah dalam proses pengeringan. Kemudian, dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung, pengeringan sampel bertujuan untuk mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri. Simplisia yang diperoleh dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing ataupun bagian yang tidak diinginkan yang tertinggal, kemudian simplisia dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan no. 40mesh. Penghalusan dan pengayakan bertujuan untuk memperluas permukaan sampel ketika bersentuhan dengan pelarut dalam proses ekstraksi sehingga proses ekstraksi terjadi secara optimal (Ahriani *et al.*, 2021). Hasil rendemen simplisia daun pepaya yang diperoleh sebesar 20%.

Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Simplisia daun pepaya (*Carica papaya* L.) diekstraksi dengan metode maserasi. Adapun alasan dipilihnya metode maserasi ini ialah sampel yang digunakan dapat berjumlah banyak, proses pengerjaannya yang sederhana dan memungkinkan terhindarnya penguraian zat yang terdapat dalam tumbuhan sebab tidak menggunakan proses pemanasan. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah etanol 96% hal tersebut dikarenakan etanol 96% bersifat lebih selektif menarik zat yang diinginkan, absorbsinya baik, mudah menguap dan mendapatkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan pelarut etanol 70% (Adriana *et al.*, 2024).

Diperoleh nilai rendemen ekstrak sebesar 11,2%. Tujuan dari dilakukannya perhitungan rendemen ekstrak ialah untuk mengetahui jumlah simplisia yang dipergunakan dalam proses ekstraksi untuk menghasilkan sejumlah ekstrak yang diinginkan serta mengetahui jumlah metabolit sekunder yang dibawa oleh pelarut selama proses ekstraksi.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tanaman (Putri & Lubis, 2022).

Berdasarkan Tabel 3 ekstrak daun pepaya memberikan hasil positif terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Elma *et al.*, 2024), yang membuktikan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin yang terkandung pada ekstrak daun pepaya. Selain itu hasil skrining fitokimia ekstrak daun pepaya selaras dengan penelitian (Rusli *et al.*, 2024) yang munjukan bahwa ekstrak daun pepaya juga mengandung senyawa saponin.

Uji Karakteristik Ekstrak

1. Parameter Spesifik

Penentuan organoleptik dari suatu ekstrak bertujuan untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak yang dipergunakan.

Uji organoleptis pada penelitian ini selaras dengan penelitian (Hasriyani et al., 2021) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun pepaya berwarna hijau kecoklatan, memiliki bau khas, rasa pahit, dan bentuk kental.

2. Parameter non spesifik

Uji kadar air simplisia daun pepaya bertujuan untuk mengetahui jumlah air di dalam ekstrak daun pepaya. Semakin kecil kandungan atau jumlah air dalam ekstrak maka dapat mengurangi resiko pertumbuhan mikroba, maka dari itu analisa kadar air penting dilakukan guna menjaga ekstrak dan mencegah pertumbuhan mikroba pada ekstrak. Umumnya kandungan kadar air yang dipersyaratkan yaitu kurang dari 10% (Rosidah et al., 2020). Hasil pengujian kadar air simplisia daun pepaya yang didapatkan adalah 7,90% sesuai dengan literatur yang mengatakan syarat kadar air dalam ekstrak tidak lebih dari 10%.

Uji Bebas Etanol

Tujuan dilakukan uji bebas etanol untuk memastikan jika ekstrak kental tersebut merupakan ekstrak murni dan tidak ada kandungan etanol di dalamnya (Tivani et al., 2021). Berdasarkan Tabel 4.5 uji bebas etanol menunjukkan bahwa hasil uji ekstrak kental daun pepaya yang diperoleh tidak tercium bau ester, hasil tersebut dapat dikatakan ekstrak kental daun turi sudah bebas etanol. Ekstrak yang tidak mengandung etanol ditandai dengan tidak berbau ester pada saat dipanaskan setelah penambahan asam asetat dan asam sulfat.

Aklimatisasi Hewan Uji

Hewan percobaan terlebih dahulu menjalani proses aklimatisasi selama 7 hari di kandang. Proses ini bertujuan untuk membantu hewan beradaptasi dengan lingkungan baru, sehingga dapat mengurangi stres yang berpotensi memengaruhi metabolisme dan mengganggu hasil penelitian. Selama masa aklimatisasi, hewan diberikan pakan dan air minum, serta dipastikan seluruh hewan dalam kondisi sehat sebelum digunakan dalam penelitian (Mutiarahmi et al., 2021).

Semua bobot mencit harus memenuhi standar dalam penelitian tidak kurang dari 10%. Jika berat mencitnya kurang dari atau melebihi batas standar tersebut dapat mempengaruhi proses penyerapan di dalam tubuh dan mempengaruhi efek obat tersebut (Imanda et al., 2024). Setelah diaklimatisasi mencit dibagi menjadi kelompok kontrol (positif dan negatif) dan kelompok perlakuan (tingkatan dosis ekstrak). Kelompok kontrol negatif digunakan untuk memastikan senyawa uji bisa memberikan efek atau tidak sedangkan kontrol positif untuk melihat kelompok dosis mana yang bisa menghasilkan efek sebagai tonikum.

Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Sebelum perlakuan semua mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 8 jam namun senantiasa diberi air minum. Tujuan mencit dipuasakan tersebut yaitu untuk mengosongkan lambung mencit agar saat absorpsi obat/sediaan terjadi dengan sempurna dan tidak terpengaruhi oleh makanan dilambung mencit yang dapat mempengaruhi penelitian (J. Hesturini et al., 2022).

Tabel 7 diperoleh kelompok kontrol positif Kafein 100 mg/kgBB kenaikan efek tonik sebesar 25,4%, kelompok I 400 mg/kgBB ekstrak etanol daun pepaya diperoleh 23,1% kenaikan efek tonik, kelompok II 600 mg/kgBB ekstrak etanol daun pepaya diperoleh 25,7% kenaikan efek tonik, dan kelompok III 800 mg/kgBB ekstrak etanol daun pepaya diperoleh 34,5% kenaikan efek tonik.

Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) metode *Natatory Exhaustion*

Natatory exhaustion merupakan uji skrining farmakologi untuk mengenali efek obat yang bekerja pada koordinasi motorik paling utama pada saraf pusat. Efek stimulan dipengaruhi oleh kondisi fisik mencit untuk meningkatkan aktivitas. Peningkatan aktivitas terlihat dari peningkatan kerja secara

langsung berupa penambahan waktu lelah hewan uji selama direnangkan dalam tangki berisi air (Savira *et al.*, 2022).

Penelitian ini dilakukan menggunakan 25 ekor mencit putih jantan. Sebelum perlakuan semua mencit dipuaskan terlebih dahulu selama 8 jam namun senantiasa diberi air minum. Kemudian mencit di renangkan lalu dicatat waktu bertahan mencit di dalam air sampai mencit menunjukkan tanda kelelahan yang ditandai dengan mencit membiarkan kepalanya berada dibawah permukaan air selama 7 detik, setelah itu mencit diistirahatkan selama 30 menit (Imanda *et al.*, 2024).

Selanjutnya mencit diberi perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing, setelah semua mencit diberi perlakuan, mencit direnangkan kembali kemudian dicatat waktu bertahan mencit di dalam air hingga mencit menunjukkan tanda kelelahan. Penambahan daya tahan atau efek tonikum adalah selisih waktu renang sesudah perlakuan dan waktu renang sebelum perlakuan (Tari & Indriyana, 2021).

Berdasarkan Gambar 1 dapat disimpulkan bahwa kontrol positif maupun sediaan ekstrak etanol daun pepaya memiliki efek tonikum yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan waktu lelah pada setiap perlakuan. Selisih waktu lelah yang paling besar ada pada kelompok III dengan dosis ekstrak etanol daun pepaya 800mg/KgBB dengan rata-rata waktu lelah sebelum perlakuan dengan nilai $140,4 \pm 21,3$ dan rata-rata waktu lelah sesudah perlakuan diperoleh nilai $484,4 \pm 85,5$. Kemudian dengan kelompok II dosis 600mg/KgBB diperoleh rata-rata waktu lelah sebelum perlakuan $131,6 \pm 29,1$ dan rata-rata waktu lelah sesudah perlakuan $337 \pm 47,2$, pada kelompok I dosis 400mg/KgBB diperoleh rata-rata waktu lelah sebelum perlakuan $109,8 \pm 20,1$ dan rata-rata waktu lelah sesudah perlakuan $409,8 \pm 88,1$. Dengan bertambahnya dosis ekstrak etanol daun pepaya semakin banyak sehingga aktivitas tonikum yang dihasilkan semakin besar. Sementara pada sediaan kontrol negatif (Na-CMC 0,5%) diperoleh hasil perbedaan waktu namun tidak signifikan, karena Na-CMC tidak memiliki kandungan senyawa yang dapat meningkatkan stamina.

Menurut (Reichert *et al.*, 2022) kafein bertindak sebagai antagonis non-selektif terhadap reseptor adenosin, terutama A^1 dan A^2 , sehingga menghasilkan efek psikostimulan yang signifikan dan membantu mengurangi rasa lelah. Oleh karena itu, sebagian besar masyarakat telah mengenal dan memanfaatkan kafein untuk menjaga energi serta meningkatkan ketahanan terhadap kelelahan.

Daun pepaya memiliki beragam kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin dan tanin dimana beberapa penelitian menyebutkan bahwa senyawa alkaloid dan flavonoid dapat memberikan efek tonikum dengan cara mengantagonis reseptor adenosin A^1 . Selain itu flavonoid dikenal memiliki aktivitas antioksidan tinggi, yang dapat menetralkan radikal bebas seperti ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang meningkat selama melakukan aktivitas fisik intens. Flavonoid dapat meningkatkan aliran darah melalui vasodilatasi, meningkatkan mitogenesis dan fungsi mitokondria, memperbaiki metabolisme energi, yang mendukung kapasitas stamina yang lebih besar (Wang *et al.*, 2023). Berdasarkan penelitian (Amir *et al.*, 2023) alkaloid adalah senyawa bioaktif tanaman yang berkontribusi pada efek peningkatan stamina melalui mekanisme menstimulasi sistem saraf pusat, meningkatkan metabolisme energi, modulasi hormon stress dan memiliki efek antioksidan dan anti-inflamasi.

Analisa Data

Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, menunjukan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi 0,309 ($P > 0,05$) yang mengindikasikan bahwa pemberian formula memiliki efek tonikum yang signifikan, maka dilanjutkan uji homogenitas yang bertujuan untuk menentukan keseragaman varians antar kelompok, dengan kriteria dapat diterima apabila nilai signifikansi (p) $> 0,05$. Berdasarkan hasil analisis terhadap waktu kelelahan antar kelompok perlakuan, diperoleh nilai sebesar 0,132 ($P > 0,05$), yang mengindikasikan bahwa data memiliki varians yang homogen.

Kemudian dilanjutkan One Way ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil analisis menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($P < 0,05$), bermakna secara statistik, serta mengindikasikan bahwa kelompok yang diberikan memiliki efek tonikum. Adanya perbedaan signifikan yang teridentifikasi, maka analisis dilanjutkan dengan uji lanjutan menggunakan metode Duncan guna mengetahui perbedaan antar kelompok secara lebih spesifik. Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan ($\alpha = 0,05$), kontrol negatif (Na-CMC 0,5%) memiliki nilai rata-rata terendah yaitu 90,0

detik, menunjukkan tidak ada perlakuan, pada EEDP dosis 400 mg/KgBB, 600mg/KgBB, 800mg/KgBB menunjukkan peningkatan bertahap dalam rata rata nilai 253,6 detik, 337,6 detik, dan 484,4 detik. Sedangkan pada kontrol positif (Kafein 100mg/KgBB) menunjukkan nilai 409,8 detik yang hampir mendekati EEDP 600mg/KgBB dan hampir setara dengan EEDP 800mg/KgBB.

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki keterbatasan, yaitu tidak dilakukannya analisis terhadap kadar abu pada sampel yang digunakan. Kadar abu merupakan parameter yang mencerminkan kandungan mineral anorganik dalam suatu bahan, sehingga dapat memengaruhi karakteristik fisik maupun kimia dari hasil akhir. Ketiadaan data mengenai kadar abu membatasi ruang lingkup analisis, khususnya dalam memahami secara menyeluruh komposisi bahan yang diteliti. Oleh karena itu, untuk memperoleh hasil yang lebih komprehensif dan mendalam, disarankan agar pengujian kadar abu dilakukan pada penelitian selanjutnya.

CONCLUSIONS

Dari hasil penelitian uji efek tonikum ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kental daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki warna coklat kehitaman, bau khas daun pepaya dan rasa pahit dan kadar air simplisia daun pepaya sebesar 7,90%
2. Daun pepaya (*Carica papaya* L.) positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin yang diidentifikasi melalui skrining fitokimia.
3. Kandungan alkaloid dan flavonoid pada ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki efek tonikum terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) yang ditunjukkan oleh peningkatan aktivitas dan performa fisik mencit setelah pemberian ekstrak.
4. Dosis ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang dapat memberi efek tonikum yang paling optimal yaitu dosis III (800 mg/kgBB) karena pada dosis tersebut menunjukkan rata-rata nilai yang tinggi dan tidak berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif (kafein 100 mg/kgBB) berdasarkan uji lanjut Duncan ($\alpha = 0,05$). Efek tonikum ekstrak terlihat pada dosis II (600mg/KgBB) yang menunjukkan hasil mendekati kontrol positif, serta pada dosis I (400mg/KgBB) meskipun dengan efek paling rendah dibandingkan dengan dosis II dan dosis III.

Dengan demikian ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) berpotensi digunakan sebagai bahan alami yang memiliki aktivitas tonikum, terutama pada dosis 800mg/KgBB

REFERENCES

- Ahriani, Zelviani, S., & Fitriyanti. (2021). Analisis Nilai Absorbansi Untuk Menentukan Kadar Flavonoid Daun Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.) Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. 8, 56–64. <https://doi.org/10.24252/Jft.V8i2.23379>
- Amir, M., Vohra, M., Raj, R. G., Osoro, I., & Sharma, A. (2023). Adaptogenic Herbs : A Natural Way To Improve Athletic Performance. Health Sciences Review, 7(January), 100092. <https://doi.org/10.1016/J.Hsr.2023.100092>
- Asmoro Bangun, P. P. (2021). Analisis Kadar Total Flavonoid Pada Daun Dan Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometer Uv-Vis. Jurnal Ilmiah Farmasi Attamru, 2(1), 1–5. <https://doi.org/10.31102/Attamru.V2i1.1263>
- Happy, M., Klau, C., & Hesturini, R. J. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgesik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. 4(1), 6–12. <https://doi.org/10.52216/Jfsi.V4i1.59>
- Hasriyani, Nurul Muzayyanah, M., Zulfah Primananda, A., & S, I. (2021). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. Seminar Nasional Farmasi Uad, 1, 146–157.
- Imanda, Y. L., Yanti, S. P., & Sriwijaya, R. A. (2024). Uji Efek Tonikum Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Terhadap Mencit Putih Jantan Galur (*Swiss webster*) Dengan Metode *Natatory Exhaustion* Dan *Rotarod Test*. Jurnal Riset Kesehatan Modern, 6(2), 1–11.
- J. Hesturini, R., Sari, F., & Putri Vadia, A. (2022). Uji Aktivitas Tonikum Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Metode *Natatory Exhaustion*. Jurnal Farmasi Tinctura, 4(1), 1–6.

<https://doi.org/10.35316/Tinctura.V4i1.2344>

- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba Di Laboratorium Pada Prinsip Kesejahteraan Hewan : Kajian Pustaka. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145. <https://doi.org/10.19087/Imv.2020.10.1.134>
- Putri, D. M., & Lubis, S. S. (2022). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*, 2(3), 120–125. <https://doi.org/10.22373/Amina.V2i3.1384>
- Reichert, C. F., Deboer, T., & Landolt, H. (2022). Adenosine , Caffeine , And Sleep – Wake Regulation : State Of The Science And Perspectives. March, 1–21. <https://doi.org/10.1111/Jsr.13597>
- Rosidah, I., Agustini, K., P, O. B., Pudjiastuti, L., Teknologi, P., Badan, M., Teknologi, P., Laptiab, G., & Puspipstek, K. (2020). Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). 7(1), 13–20. <https://doi.org/10.22236/Farmasains.V7i1.4175>
- Saputri, G. A. R., Nofita, & Sudarti, W. (2023). Uji Efektivitas Tonikum Kombinasi Ekstrak Daun Bidara Laut (*Ziziphus mauritiana* L.) Dan Jus Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*) Metode Natatory Exhaustion. 17(2014), 276–284.
- Savira, R. D., Yuliawati, & Utami, D. T. (2022). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(1), 242–247.
- Shim, J., & Kim, J. (2022). Considerations For Experimental Animal Ethics In The Research Planning And Evaluation Process. 37(4), 271–277.
- Syamsul, D., Nurussakinah, Susanti, I. S., & Kartika, Y. (2022). Uji Efek Sari Air Serbuk Simplisia Daun Gagatan Harimau (*Vitis gracilis* Bl.) Sebagai Tonikum Terhadap Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) Test. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences (Jps)*, 5(2), 464–472.
- Tivani, I., Amananti, W., & Rima Putri, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Manutung*, 7(1), 86–91.
- Toyang, G., Fitriawati, A., & Wardani, T. S. (2024). Uji Efek Tonikum Seduhan Herbal Kombinasi Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) Dan Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) Terhadap Mencit Putih Jantan *Galur Swiss Webster*. 8, 3688–3698.
- Tari, M., & Indriyana, D. (2021). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.) Terhadap Mencit Putih Jantan Dengan Metode Natatory Exhaustion. 1, 21–34.
- Wang, Y., Tian, Z., Li, Z., & Kim, J. C. (2023). Effects Of Flavonoid Supplementation On Athletic Performance In Healthy Adults : A Systematic Review And Meta-Analysis.
- Yolandini, R., Farmasi, P. S., Jambi, U., & Bengkulu, A. F. A. (2020). Uji Efek Tonikum Ekstrak Daun Sawo Manila (*Manilkara zapota*) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) Dengan Metode Ketahanan Renang. 9(1), 37–42. <https://doi.org/10.30644/Rik.V8i2.267>