

## **Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Kadar Malondialdehid pada Mencit Stress Oksidatif dengan Perenangan**

### **(Antioxidant Effect of Ethanol Extract from Papaya Seed (*Carica papaya* L.) on Superoxide Dismutase Activity and Malondialdehid Level in Stress Oxidative Mice with Swimming Stress Method)**

NI MADE DWI SANDHIUTAMI\*, YESI DESMIATY, AFIZZA ANBAR

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan,  
Indonesia, 12640.

Diterima 15 Februari 2016, Disetujui 12 Maret 2016

**Abstrak:** Biji pepaya mengandung vitamin E dan flavonoid yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek antioksidan ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap aktivitas SOD sel darah merah dengan metode adenokrom dan kadar MDA plasma dengan metode TBARs pada mencit yang diberi aktivitas fisik perenangan. Mencit diberi ekstrak etanol biji pepaya selama 7 hari dan perenangan selama 65 menit pada hari ke-7. Pengujian ini menggunakan 36 ekor mencit yang dibagi 6 kelompok, yaitu kelompok I (normal), kelompok II (kontrol negatif), kelompok III (kontrol positif vitamin E), kelompok IV (dosis 0,105 g/kg bb), kelompok V (dosis 0,210 g/kg bb) dan kelompok VI (dosis 0,420 g/kg bb). Hasil penelitian kelompok I, II, III, IV, V, VI berturut-turut untuk aktivitas SOD sel darah merah adalah  $89 \pm 6,4329$ ;  $47,37 \pm 3,8225$ ;  $85,56 \pm 3,9210$ ;  $46,35 \pm 10,0929$ ;  $58,89 \pm 3,8271$  dan  $81,59 \pm 5,7700$  U/mL, kadar MDA plasma berturut-turut adalah  $1,6831 \pm 0,0942$ ;  $6,3567 \pm 0,1046$ ;  $1,3697 \pm 0,2254$ ;  $4,7914 \pm 0,2139$ ;  $3,8231 \pm 0,3574$  dan  $1,7560 \pm 0,1215$  nmol/mL. Ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb memberikan efek antioksidan paling tinggi.

**Kata kunci:** antioksidan, biji pepaya, SOD, MDA.

**Abstract:** Papaya seed contains vitamin E and flavonoid that have antioxidant activity. This study was aimed to determine the antioxidant effect of ethanol extract of papaya seed (*Carica papaya* L.) by observing SOD activity of blood with adenochrom method and MDA plasma level with TBARs method in mice given swimming stress. Mice was given ethanol extract of papaya seed for 7 days and swimming for 65 minutes on the 7<sup>th</sup> day. The study used 36 mice which divided into six groups, which were group I (normal), group II (negative control), group III (positive control: vitamin E), group IV (dose of 0,105 g/kg bw), group V (dose of 0,210 g/kg bw), and group VI (dose of 0,420 g/kg bw). The result showed that SOD activity of group I, II, III, IV, V, and VI was  $89 \pm 6,4329$  U/mL;  $47,37 \pm 3,8225$ ;  $85,56 \pm 3,9210$ ;  $46,35 \pm 10,0929$ ;  $58,89 \pm 3,8271$ ;  $81,59 \pm 5,7700$  U/mL, respectively, and MDA plasma level of group I, II, III, IV, V, and VI was  $1,6831 \pm 0,0942$ ;  $6,3567 \pm 0,1046$ ;  $1,3697 \pm 0,2254$ ;  $4,7914 \pm 0,2139$ ;  $3,8231 \pm 0,3574$  and  $1,7560 \pm 0,1215$  nmol/mL, respectively. This is indicated that dose of 0,420 g/kg bw of ethanol extract of papaya seed gave the highest antioxidant effect.

**Keywords:** antioxidant, papaya seed, SOD, MDA.

\* Penulis korespondensi, Hp. 081299097848  
e-mail: dwi\_sandhiutami@yahoo.com

## PENDAHULUAN

KEBERADAAN radikal bebas dalam tubuh dapat berimplikasi pada berbagai penyakit kerusakan sel, jaringan, organ hati, ginjal, jantung serta kondisi degeneratif, seperti *aging*, arthritis, kanker dan lain-lain. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit teluarnya<sup>(1)</sup>. Adanya elektron bebas yang tidak berpasangan mengakibatkan radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Untuk menstabilkan diri, radikal bebas cenderung bereaksi dengan senyawa lain untuk mendapatkan pasangan elektron<sup>(2)</sup>.

Aktivitas fisik berat dapat meningkatkan konsumsi oksigen berlebih<sup>(3)</sup> melalui rantai respirasi<sup>(4)</sup> yang akibatnya meningkatkan jumlah radikal superoksida yang terbentuk sehingga terjadi peningkatan produksi radikal bebas di dalam tubuh dan memicu stres oksidatif<sup>(3,4,5)</sup>. Stres oksidatif adalah kondisi dimana radikal bebas yang diproduksi pada latihan fisik melebihi kapasitas pertahanan antioksidan. Dalam beberapa penelitian yang dilakukan, telah dibuktikan bahwa pemberian aktivitas fisik berat berupa perenangan terhadap hewan percobaan dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang ditandai dengan meningkatnya kadar MDA<sup>(3,4,6)</sup>.

Stres oksidatif dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya serangan oksidan terhadap asam lemak tidak jenuh yang menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksida lipid. Pada proses tersebut mengakibatkan terputusnya asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel, seperti malondialdehid (MDA)<sup>(4)</sup>. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel, sehingga status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA<sup>(1)</sup>.

Secara alami, tubuh memiliki antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis untuk melawan radikal bebas yang berpotensi mengganggu keseimbangan fungsi tubuh<sup>(1)</sup>. Enzim superoksida dismutase (SOD) merupakan pertahanan pertama terhadap aktivasi senyawa oksigen reaktif (ROS). Pada keadaan stress oksidatif terjadi penurunan sistem enzimatis SOD dan glutathion peroksidase. Jika produksi radikal bebas melebihi kemampuan antioksidan endogen untuk menetralkannya maka kelebihan radikal bebas sangat potensial menyebabkan kerusakan sel. Oleh sebab itu tubuh memerlukan pasokan antioksidan dari luar tubuh yang lebih dikenal dengan antioksidan eksogen seperti vitamin E, vitamin C, sayur-sayuran hijau dan buah-buahan<sup>(7)</sup>.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal

bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga sel akan dihambat<sup>(1)</sup>. Antioksidan eksogen banyak berasal dari bahan alam. Salah satu contoh tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan eksogen di Indonesia adalah biji pepaya (*Carica papaya* L.). Hasil analisis fitokimia menunjukkan biji pepaya mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, anthraquinon dan anthosianosid<sup>(8)</sup>. Dalam minyak yang terdapat biji pepaya terkandung asam lemak oleat yang tinggi yaitu 71,30% dan kandungan tokoferol 74,71 mg/kg serta karotenoid 7,05 mg/kg<sup>(9)</sup>. Beberapa khasiat dari biji pepaya diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan di dalam metabolit sekunder, diduga metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik yakni flavonoid. Dalam penelitian yang dilakukan Zhou *et al.* menyatakan bahwa ada hubungan terkait total fenolik terhadap aktivitas antioksidan dalam biji pepaya<sup>(10)</sup>.

Tokoferol juga merupakan metabolit sekunder yang terdapat di biji pepaya, terutama  $\alpha$ -tokoferol telah diketahui sebagai antioksidan yang mampu mempertahankan integritas membran. Senyawa tersebut dilaporkan bekerja sebagai *scavenger* radikal bebas oksigen, peroksida lipid dan oksigen singlet<sup>(12)</sup>. Dalam beberapa penelitian mengenai antioksidan vitamin E banyak digunakan sebagai kontrol positif atau kontrol pembanding karena vitamin E sudah terbukti sebagai antioksidan kuat<sup>(3,11)</sup>.

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol biji pepaya telah dilakukan secara *in vitro* dengan metode *1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl* (DPPH), diperoleh nilai  $IC_{50}$  53,41 bpj<sup>(12)</sup>. Berdasarkan adanya kandungan senyawa vitamin E dan flavonoid serta nilai  $IC_{50}$  biji pepaya maka peneliti ingin menguji efek antioksidan ekstrak etanol 70% biji pepaya terhadap aktivitas SOD sel darah merah dan MDA plasma pada mencit stress oksidatif dengan diberi aktivitas fisik perenangan.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Simplisia biji pepaya, etanol 70%, vitamin E, eter, dapar karbonat 0,0518 M, larutan epinefrin 0,01 M, kloroform, etanol 96%, EDTA, NaCl 0,9%, asam trikloroasetat (TCA) 20%, asam tiobarbiturat (TBA) 0,67%, tetraoksipropan (MDA standar) dan air suling. Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan galur DDY berumur 2 bulan dengan berat badan berkisar 20-25 gram.

**Alat.** Sonde oral, alat suntik, alat sentrifuge, alat-alat bedah, pH meter, timbangan analitik, timbangan hewan, mikropipet, penangas air, lemari pendingin, tabung Eppendorf, tabung reaksi, spektrofotometer UV-VIS.

**METODE. Pembuatan Sediaan Uji.** Timbang

serbuk biji pepaya 500 g, kemudian ditumbuk dan diayak dengan *mesh* 40. Sesudah itu dimaserasi dengan pelarut etanol 70% selama 5x24 jam kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai 1/3 volume. Hasilnya dituangkan ke dalam cawan, dipekatkan di atas *water bath* pada suhu tidak lebih dari 60 °C sambil diaduk-aduk sampai ekstrak kental.

**Pelaksanaan Uji.** Tiga puluh enam ekor mencit yang sehat dibagi 6 kelompok yang masing-masing terdiri atas 6 ekor yaitu kelompok normal (I) diberi suspensi Na-CMC, kelompok negatif pada hari ke-7 diberi perenangan selama 65 menit (II), kelompok kontrol positif yang diberi vitamin E dosis 0,084 g/kg bb per oral setiap hari selama 7 hari dan pada hari ke-7 diberi perenangan selama 65 menit (III), kelompok IV, V dan VI adalah kelompok yang diberi ekstrak etanol biji pepaya masing-masing dengan dosis 0,105 g/kg bb, 0,210 g/kg bb dan 0,420 g/kg bb selama 7 hari dan pada hari ke-7 diberi perenangan selama 65 menit. Mencit kemudian dibunuh dan darah diambil dari jantung menggunakan jarum suntik dan ditempatkan dalam tabung sentrifuga yang telah diberi antikoagulan EDTA. Darah yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 *rpm* selama 10 menit. Setelah terpisah lapisan atas (plasma) yang berwarna bening kekuningan diambil untuk pengukuran kadar MDA, serta lapisan bawah (sel darah merah) ditambah NaCl 0,9% lalu disentrifugasi dan ditambahkan 1 mL air suling.

**Pembuatan Hemolisat Darah.** Sel darah merah ditambah 0,25 mL NaCl 0,9%, kocok kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 *rpm* selama 10 menit, buang lapisan atasnya (*supernatan*). Tambahkan lagi 0,25 mL NaCl 0,9%, kocok dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 3.000 *rpm* selama 10 menit, buang lapisan atasnya (*supernatan*). Ambil 0,25 mL sel darah merah ditambah 1 mL air suling, kocok kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 *rpm* selama 10 menit, setelah memisah ambil bagian beningnya, berikut adalah hemolisat sel darah merah (sampel).

**Pengukuran SOD.** Kadar SOD diperiksa pada sel darah merah menurut metode Misra & Fridovich. Sebanyak 250  $\mu$ L hemolisat sel darah merah ditambahkan 400  $\mu$ L campuran kloroform-etanol 96% (3:5), kemudian di sentrifugasi pada 3.000 *rpm* selama 10 menit. Filtrat yang berwarna kuning muda jernih di ambil 10  $\mu$ L lalu ditambahkan 90  $\mu$ L air suling dan ditambahkan 2775  $\mu$ L dapar karbonat 0,0518 M dan 125  $\mu$ L larutan epinefrin 0,01 M, dicampur homogen kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur serapannya setelah menit ke 1, 2, 3, 4 pada  $\lambda$  480 nm suhu 30 °C. Dengan cara yang sama dilakukan juga

untuk air suling (blanko) dengan pembacaan serapan setelah menit ke 1, 2, 3 dan 4. Rata-rata serapan per menit pada blanko lebih kurang 0,025/menit<sup>(13)</sup>. Rumus pengukuran aktivitas SOD<sup>(13)</sup>.

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

$$\text{Aktivitas SOD (unit/mL)} = \% \frac{\text{Hambatan} \times 1 \text{ unit/10 } \mu\text{L}}{50 \%}$$

Keterangan:

A = rata-rata selisih absorban/menit tanpa sampel

B = rata-rata selisih absorban/menit sampel

50% = unit aktivitas SOD didefinisikan sebagai jumlah SOD diperlukan untuk menyebabkan inhibisi 50% dari oksidasi epinefrin (SOD<sub>50</sub>).

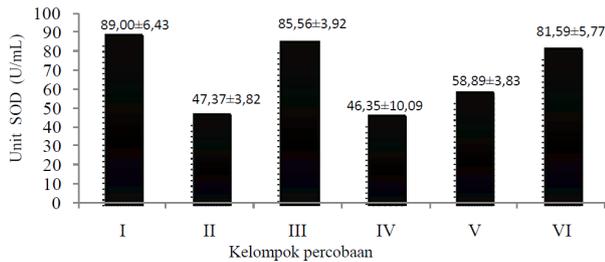
**Pengukuran Kadar MDA.** Kadar MDA plasma diukur menurut metode Wills. Sebanyak 200  $\mu$ L larutan sampel (plasma) ditambahkan 1,0 mL trikloroasetat (TCA) 20% dan 2 mL asam tiobarbiturat (TBA) 0,67%. Larutan dicampur homogen dengan dipanaskan di tangas air selama 10 menit. Setelah dingin, larutan disentrifugasi pada 3.000 *rpm* selama 10 menit. Filtrat yang berwarna merah muda diukur serapannya panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Kadar MDA dihitung menggunakan kurva baku MDA dengan konsentrasi 0; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 dan 1,6 nmol/mL<sup>(13)</sup>. Terhadap data kadar MDA dan SOD yang diperoleh, dilakukan uji statistik nonparametrik menggunakan metode analisis Kruskal-Wallis. Apabila hasil Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk melihat adanya perbedaan pada tiap kelompok.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengujian Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Aktivitas SOD Sel Darah Merah.

Hasil pengukuran SOD untuk setiap kelompok perlakuan disajikan pada Gambar 1. Rata-rata aktivitas SOD pada kelompok kontrol negatif sebesar 47,37 U/mL lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata aktivitas SOD pada kelompok normal, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dosis. Secara fisiologis, tubuh manusia mempunyai beberapa macam enzim dan non-enzimatis yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan enzimatis atau antioksidan endogen terdiri dari superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (Gpx). SOD adalah enzim yang berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutase dari anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan oksigen (O<sub>2</sub>). Reaksi tersebut adalah sebagai berikut:





**Gambar 1. Grafik rata-rata aktivitas SOD sel darah merah (U/mL) tiap kelompok.**

**Keterangan:**

I: Kelompok normal yang diberi suspensi Na.CMC; II: Kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan perenangan; III: Kelompok kontrol positif yang diberikan vitamin E dosis 0,084 g/kg bb; IV: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,105 g/kg bb; V: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,210 g/kg bb; VI: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb.

SOD merupakan pertahanan pertama terhadap aktivasi senyawa oksigen reaktif (ROS). SOD dalam tubuh berperan sebagai oksidan untuk mengatasi reaksi radikal bebas melalui pengikatan ion logam, penangkapan oksigen dan mengurangi toksisitas oksigen menjadi bentuk-bentuk non radikal<sup>(7)</sup>.

Dalam penelitian ini, hewan percobaan mencit diberikan beban aktivitas fisik maksimal berupa perenangan selama 65 menit dapat meningkatkan konsumsi oksigen sehingga produksi radikal bebas juga meningkat. Peningkatan radikal bebas akan mengakibatkan peningkatan pemakaian antioksidan endogen di dalam tubuh. Pada kelompok kontrol negatif tidak diberikan antioksidan eksogen menyebabkan tingginya penggunaan antioksidan endogen di dalam tubuh sehingga menurunkan status antioksidan endogen<sup>(14)</sup>.

Untuk mengukur aktivitas SOD digunakan *adenochrom assay* yang mudah dilaksanakan dan sensitif untuk mengukur aktivitas SOD. Pengukuran didasarkan pada kemampuan SOD menghambat autooksidasi spontan dari epinefrin. Larutan epinefrin dalam keadaan asam akan stabil, tetapi spontan akan teroksidasi dengan adanya kenaikan pH. Autooksidasi terjadi paling cepat disertai dengan terbentuknya adenokrom dengan kecepatan linier yaitu pada pH 10,2 dan suhu 30°C<sup>(15)</sup>.

Rata-rata aktivitas SOD kelompok kontrol positif sebesar 85,56 U/mL lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis dan kelompok kontrol negatif. Hal ini dikarenakan pemberian vitamin E atau alfa-tokoferol secara preventif dapat mempertahankan aktivitas SOD di dalam tubuh. Mekanisme kerja vitamin E sebagai antioksidan eksogen mampu berinteraksi dengan radikal bebas pada kondisi stres

dengan menjadi ion hidrogen radikal bebas sehingga molekul radikal bebas menjadi lebih stabil. Hal ini membuat SOD lebih mudah dalam mengkatalisis reaksi radikal superoksida menjadi produk lain yang lebih stabil menyebabkan jumlah unit SOD di dalam tubuh tetap terjaga. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Wresdiyati dkk. yang menyatakan kelompok yang diberikan vitamin E secara preventif mampu mempertahankan aktivitas SOD sehingga hasilnya tidak berbeda nyata dengan kelompok normal<sup>(16)</sup>.

Rata-rata aktivitas SOD kelompok perlakuan dosis 0,420 g/kg bb sebesar 81,59 U/mL, lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis 0,105 g/kg bb, kelompok perlakuan dosis 0,210 g/kg bb dan kelompok negatif. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dosis 0,420 g/kg bb mampu mempertahankan aktivitas SOD di dalam tubuh. Hal ini terjadi karena adanya zat aktif vitamin E dan flavonoid yang bekerja dalam mempertahankan aktivitas SOD di dalam tubuh<sup>(16,17)</sup>.

**Tabel 1. Hasil uji statistik beda aktivitas SOD sel darah merah (U/mL) antar kelompok.**

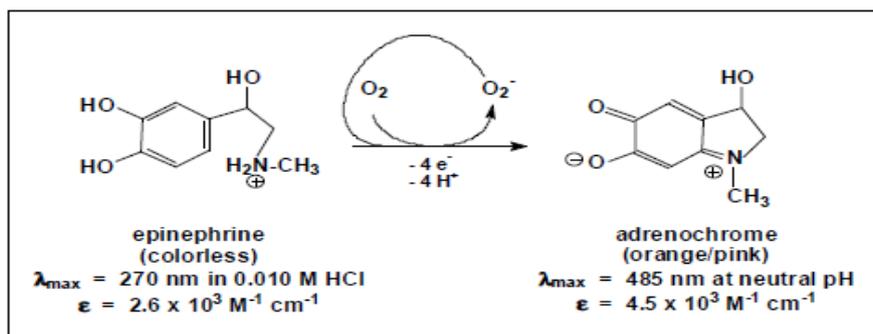
Kelompok	Median	I	II	III	IV	V	VI
I	89,00						
II	47,37						
III	85,56		*				
IV	46,35			*			
V	58,89		*	*			
VI	81,59		*		*	*	

**Keterangan:**

\* = ada perbedaan bermakna ( $\alpha = 0,05$ ); I: Kelompok normal yang diberi suspensi Na.CMC; II: Kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan perenangan; III: Kelompok kontrol positif yang diberikan vitamin E dosis 0,084 g/kg bb; IV: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,105 g/kg bb; V: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,210 g/kg bb; VI: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb.

Secara statistik (Tabel 1), rata-rata aktivitas SOD pada sel darah merah mencit antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 0,210 g/kg bb, dan kelompok dosis 0,420 g/kg bb menunjukkan adanya perbedaan bermakna. Sedangkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 0,105 g/kg bb tidak menunjukkan perbedaan bermakna.

Kelompok perlakuan dosis 0,105 g/kg bb secara statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kontrol positif. Kelompok dosis ini hanya dapat meningkatkan aktivitas SOD sebesar 2,10%. Hasil rata-rata aktivitas SOD kelompok perlakuan

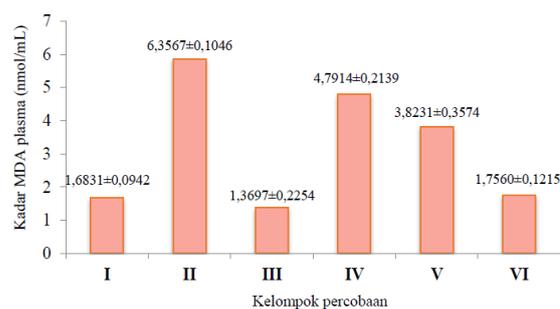
Gambar 2. Mekanisme reaksi oksidasi epinefrin<sup>(21)</sup>.

dosis 0,105 g/kg bb sebesar 58,89 U/mL lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 85,56 U/mL yang dapat diartikan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,210 g/kg bb belum mampu meningkatkan aktivitas SOD sebaik vitamin E yang digunakan sebagai kontrol positif.

Kelompok perlakuan dosis 0,210 g/kg bb secara statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kontrol positif. Kelompok dosis ini hanya dapat meningkatkan aktivitas SOD sebesar 23,68%. Hasil rata-rata aktivitas SOD kelompok perlakuan dosis 0,210 g/kg bb sebesar lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 85,56 U/mL yang dapat diartikan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,210 g/kg bb belum mampu meningkatkan aktivitas SOD sebaik vitamin E yang digunakan sebagai kontrol positif.

Kelompok perlakuan dosis 0,420 g/kg bb secara statistik menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna dengan kontrol positif. Kelompok dosis ini dapat meningkatkan aktivitas SOD sebesar 72,24%. Pada dosis ekstrak etanol biji pepaya 0,420 g/kg bb dapat mempertahankan aktivitas SOD di dalam tubuh sebaik kelompok kontrol positif. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol biji pepaya yang diberikan maka aktivitas SOD akan semakin meningkat. Adanya kandungan zat aktif vitamin E dan flavonoid yang bertindak sebagai antioksidan eksogen inilah yang mampu mempertahankan aktivitas SOD di dalam tubuh. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Ari Widiyanto yang menyatakan bahwa pemberian vitamin E sebagai antioksidan eksogen mampu mempertahankan aktivitas SOD dibandingkan kelompok yang tidak diberikan vitamin E<sup>(18)</sup>. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sussi Astuti menyatakan flavonoid dapat mempertahankan aktivitas SOD di dalam tubuh sehingga status antioksidan di dalam tubuh dapat terjaga<sup>(14)</sup>.

**Pengujian efek antioksidan ekstrak etanol biji pepaya terhadap kadar MDA plasma.** Gambar 3 memperlihatkan bahwa kadar MDA plasma antara kelompok II (6,3567±0,1046) berbeda dengan



Gambar 3. Grafik rata-rata kadar MDA plasma (nmol/mL) tiap kelompok

Keterangan:

I: Kelompok normal yang diberikan suspensi Na-CMC; II: Kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan perenangan; III: Kelompok kontrol positif yang diberikan vitamin E dosis 0,084 g/kg bb; IV: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,105 g/kg bb; V: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,210 g/kg bb; VI: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb.

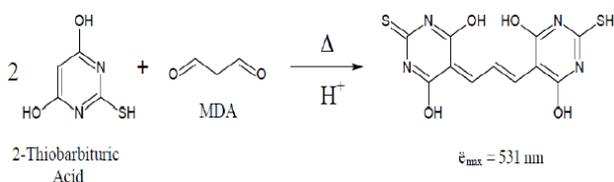
kadar MDA plasma Kelompok III (1,3697±0,2254), kelompok IV (4,7914±0,2139), kelompok V (3,8231±0,3574) dan kelompok VI (1,7560±0,1215).

Hasil pengukuran kadar MDA plasma pada kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya peningkatan rata-rata kadar MDA plasma dibandingkan dengan kelompok normal, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dosis. Hal ini terjadi akibat peningkatan senyawa radikal bebas akibat aktivitas fisik berat pada hewan percobaan berupa perenangan selama 65 menit. Peningkatan metabolisme dan konsumsi oksigen akibat beban aktivitas fisik berat pada hewan mencit menimbulkan terbentuknya senyawa radikal bebas yang berakibat terjadinya stres oksidatif dan memicu peningkatan proses peroksidasi lipid di dalam tubuh sehingga meningkatkan kadar MDA plasma<sup>(4)</sup>. Hasil penelitian ini didukung laporan I Made Jawi yang menyatakan kelompok mencit yang diberi beban aktivitas fisik berat berupa perenangan memiliki kadar MDA plasma yang lebih tinggi dibandingkan kelompok mencit normal<sup>(19)</sup>. Hal yang serupa dilakukan oleh Tri Oktaviani dalam penelitiannya menyatakan bahwa mencit yang

diberi beban aktivitas fisik berupa perenangan tanpa pemberian antioksidan eksogen (kelompok kontrol negatif) dapat meningkatkan kadar MDA plasma lebih tinggi dibandingkan kelompok normal dan kelompok lainnya<sup>(7)</sup>.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif terjadi peningkatan kadar MDA akibat mencit diberikan beban aktivitas fisik perenangan. MDA adalah produk akhir yang terbentuk dari peroksida lipid, MDA inilah yang akan diukur dengan metode TBARS. Prinsip kadar MDA yang diukur dengan metode Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) adalah mereaksikan MDA dengan TBA dalam suasana asam dan temperature 97-100 °C. Reaksi ini menghasilkan senyawa yang berwarna pink. Perubahan warna yang terjadi diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 532 nm<sup>(4)</sup>. Pengukuran MDA telah digunakan sebagai indikator kerusakan oksidatif asam lemak tidak jenuh pada sel hidup yang menyebabkan perubahan struktural dan fungsi<sup>(20)</sup>.

Rata-rata kadar MDA plasma kelompok kontrol positif menunjukkan adanya penurunan kadar MDA plasma paling rendah dibandingkan dengan kelompok negatif dan kelompok perlakuan dosis. Hal ini menunjukkan terjadi pencegahan proses peroksidasi lipid dengan pemberian vitamin E. Vitamin E yang



Gambar 4. Reaksi antara TBA dengan MDA<sup>(20)</sup>.

berfungsi sebagai antioksidan eksogen, dapat bereaksi dengan radikal bebas sebagai antioksidan pemutus rantai dengan cara menjadi donor ion hidrogen radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi molekul yang lebih stabil<sup>(16)</sup>. Hasil penelitian ini didukung dengan penelitian Sandhiutami NMD yang menyatakan pemberian vitamin E sebagai antioksidan eksogen dapat menurunkan kadar MDA plasma dibandingkan dengan kelompok negatif<sup>(3)</sup>.

Bila dilihat dari Gambar 3, rata-rata kadar MDA plasma pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dengan dosis 0,420 g/kg bb memiliki kadar MDA plasma lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan dosis 0,105 g/kg bb dan 0,210 g/kg bb.

Kelompok perlakuan dosis 0,105 g/kg bb secara statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok positif. Kelompok

dosis ini hanya dapat menurunkan kadar MDA plasma sebesar 24,62%. Hasil rata-rata kadar MDA plasma sebesar 4,7914±0,2139 nmol/mL lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 1,3697±0,2254 nmol/mL yang dapat diartikan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,105 g/kg bb belum mampu menurunkan kadar MDA plasma sebaik vitamin E yang digunakan sebagai kontrol positif.

Kelompok perlakuan dosis 0,210 g/kg bb secara statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok positif. Kelompok dosis ini menurunkan kadar MDA plasma sebesar 39,86%. Hasil rata-rata kadar MDA plasma sebesar 3,8231±0,3574 nmol/mL lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 1,3697±0,2254 nmol/mL yang dapat diartikan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,210 g/kg bb belum mampu menurunkan kadar MDA plasma sebaik vitamin E sebagai kontrol positif.

Tabel 2. Hasil uji statistik beda kadar MDA plasma (nmol/mL) antar kelompok.

Kelompok	Median	I	II	III	IV	V	VI
I	1,6831	■					
II	6,3567		■				
III	1,3697		*	■			
IV	4,7914		*	*	■		
V	3,8231		*	*	*	■	
VI	1,7560		*	*	*	*	■

Keterangan : \* (ada perbedaan bermakna)  $\alpha = 0,05$ ; I: Kelompok normal yang diberikan suspensi Na-CMC; II: Kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan perenangan; III: Kelompok kontrol positif yang diberikan vitamin E dosis 0,084 g/kg bb; IV: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,105 g/kg bb; V: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,210 g/kg bb; VI: Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb.

Kelompok perlakuan dosis 0,420 g/kg bb secara statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok positif (Tabel 2). Kelompok dosis ini menurunkan kadar MDA plasma sebesar 72,38%. Hasil rata-rata kadar MDA plasma sebesar 1,7560±0,1215 nmol/mL lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 1,3697±0,2254 nmol/mL yang dapat diartikan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb belum mampu menurunkan kadar MDA plasma sebaik vitamin E yang digunakan sebagai kontrol positif.

Namun kelompok dosis ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb dapat menurunkan kadar MDA plasma lebih besar dibandingkan kelompok dosis 0,105 g/kg bb dan 0,210 g/kg bb. Hal ini menunjukkan

semakin tinggi dosis ekstrak etanol biji pepaya yang diberikan dapat menurunkan kadar MDA plasma semakin rendah. Penurunan kadar MDA plasma pada kelompok perlakuan ini disebabkan adanya kandungan zat aktif vitamin E dan flavonoid di dalam biji pepaya yang bertindak sebagai antioksidan eksogen. Vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan eksogen dapat mencegah terjadinya proses peroksida lipid. Penelitian ini didukung oleh Sandhiutami NMD yang menyatakan adanya kandungan vitamin E mampu menurunkan kerusakan peroksida lipid sehingga kadar MDA plasma di dalam tubuh dapat menurun<sup>(3)</sup>.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang dapat bertindak sebagai antioksidan eksogen secara multifungsional, sebagai pereduksi, penangkal radikal bebas, pengkelat logam dan peredam terbentuknya singlet oksigen. Penelitian ini didukung pula oleh Hairrudin yang menyatakan flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan eksogen mampu menurunkan kadar MDA plasma<sup>(4)</sup>.

### SIMPULAN

Ekstrak etanol biji pepaya dosis 0,420 g/kg bb memberikan efek antioksidan dengan meningkatkan aktivitas SOD dan tidak ada perbedaan bermakna dengan vitamin E sebagai kontrol positif dan dapat menurunkan kadar MDA plasma secara bermakna namun tidak sekuat vitamin E sebagai kontrol positif.

### DAFTAR PUSTAKA

- Murray RK, Granner D, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. 25<sup>th</sup> Ed. Appleton & Lange; 1996.
- Mandisadora O. Identifikasi dan potensi antioksidan flavonoid kulit kayu mahoni (*Swietenia macrophylla* King) [skripsi]. Bogor: Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor; 2010. 12.
- Sandhiutami NMD, Ngatidjan, Kristin E. Uji aktivitas antioksidan minyak buah merah (*Pandanus conoideus* LAM.) secara *in vitro* dan *in vivo* pada tikus yang diberi beban aktivitas fisik maksimal. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. 2010. 15(1):18-28.
- Hairrudin, Helianti D. Efek protektif propolis dalam mencegah stres oksidatif akibat aktifitas fisik berat (*swimming stress*). Jurnal Ilmu Dasar. 2009. 10(2):1-5.
- Harjanto. Stres oksidatif pada latihan olahraga. Majalah Kedokteran Indonesia. 2003. 53(3):126.
- Oktaviani Tri. Efek rebusan daun sampaing solok (*Aerva sanguinolenta* (L.) Blume) terhadap kadar MDA pada mencit dan aktivitas antioksidan secara *in vitro* [skripsi]. Jakarta: Universitas Pancasila; 2013. 28-30.
- Lingga Lanny. The healing power of antioxidant. Jakarta: PT. Gramedia; 2012. xii.
- Arsiyanti Cut. Pengaruh pemberian jus biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap kadar asam urat tikus *Sprague Dawley* dislipidemia. Artikel penelitian. 2012. 9.
- Malacrida CR, Kimura M dan Jorge N. Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. Departement of Food Engineering and Technology. Brazil: Sao Paulo State University; 2011. 4.
- Zhou K, Wang H, Mei W, Li X, Lou Y dan Dai H. Antioxidant activity of papaya seed extracts. China. 2011. 6.
- Latief M, Tafzi F, Saputra A. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol beberapa bagian kayu manis (*Cinnamomum burmani*) asal Kabupaten Kerinci provinsi Jambi. Prosiding Semirata FMIPA, Universitas Lampung, 2013:4.
- Valentina E. Daya peredaman radikal bebas ekstrak metanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl). Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. 2013. 2(1):8.
- Nurhasanah Fatty. Efek antioksidan dari ekstrak biji petai cina (*Leucaena leucocephala* L.) pada tikus putih yang diinduksi streptozotocin [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2004. 21,43.
- Astuti Sussi. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian. 2008. 13(2):2, 4-8.
- Nisma F, Situmorang A, Fajar M. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) berdasarkan aktivitas SOD (*superoxyde dismutase*) dan kadar MDA pada sel darah merah domba yang mengalami stres oksidatif secara *in vitro* [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof.Dr.Hamka; 2011. 2-3.
- Wresdiyati T, Astawan M, Fithriani D, Adnyane IKM, Novelina S, Aryani S. Pengaruh  $\alpha$ -tokoferol terhadap profil superoksida dismutase dan malondialdehid pada jaringan hati tikus di bawah kondisi stres. Jurnal Veteriner. 2008. 3-4.
- Adeneye AA. The aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. prevent carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. Jurnal International of Applied Research in Natural Products. 2009. 2(2):3.
- Widiyantoro A, Wardoyono ERP, Sayekti E. Aktivitas ekstrak buah Makassar (*Brucea javanica* L. Merr) terhadap radikal anion superoksida secara *in vivo*. Jurnal Penelitian Saintek. 2010. 15(1):7.
- Jawi IM, Ngurah IB, Yasa IWP, Manuaba IB. Aktivitas fisik maksimal dapat meningkatkan kadar SGOT, SGPT dan menimbulkan degenerasi sel hati mencit. Jurnal Kedokteran Yarsi. 2006. 14(3):204.
- Amelia G. Potensi rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* L.) sebagai antioksidan alami [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2006. 12, 14-15, 20.
- Gambar mekanisme reaksi oksidasi epinefrin. Assay superoxide dismutase activity using the enzyme inhibition of the oxidation of ephinefrine. Diambil dari [www.csun.edu/~hcchm001/sodassay.pdf](http://www.csun.edu/~hcchm001/sodassay.pdf). diakses 12 Desember, 2013.