

EKSTRAK BUAH PEPAYA (*Carica papaya* L.) MENINGKATKAN KADAR CATALASE DAN GLUTATHIONE HATI TIKUS YANG TERPAPAR LEAD ACETATE

Ma'rufah¹ dan M. Adib²,
^{1,2}Akademi Analisis Kesehatan Malang
ufah_02@yahoo.com

ABSTRACT

Pollution is an entry or inclusion living things, substances, energy, and or other components into environment and or change of environment compositions because of human activity or natural process with the result that decrease of quality to certain level that causes doesn't work environment. Pollution can be caused many substances that is heavy metal, i.e. lead acetate (Pb). Lead acetate affect physiological aberration, biochemical, and behavior. Heavy metal induction induce ROS production act as destructive oxidants. Body capability to oxidant neutralize serviced by *superoxyde dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx), *catalase* (CAT), *glutathione* (GSH), vitamin C, vitamin E, and other antioxidants in the cell. Antioxidants synthesized by plants, which is papaya (*Carica papaya* L.). Papaya (*Carica papaya* L.) effect on CAT and GSH levels was performed on male mice wistar strain. Mice induced by lead acetate 20 gr / Kg weight dose for 6 weeks, given papaya extract 100, 200, and 400 mg/Kg weight dose for 6 weeks. Further glutathione and catalase levels are measured on mice liver. This study proves, papaya extract increase catalase levels ($p = 0,000$) and glutathione levels ($p = 0,000$) on mice liver induced lead acetate. Papaya extract 400 mg/Kg/day most effective dose to increase catalase and glutathione levels on mice liver induced lead acetate.

Keywords: *lead acetate*, *Carica papaya* L., *catalase*, *glutathione*, *mice*

PENDAHULUAN

Pencemaran merupakan peristiwa masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan atau komponen lain ke dalam lingkungan dan atau berubahnya tatanan lingkungan oleh kegiatan manusia atau proses alam sehingga kualitas menurun sampai ketinggian tertentu yang menyebabkan lingkungan menjadi kurang atau tidak dapat berfungsi lagi. Sedangkan definisi pencemaran menurut UU no. 32 tahun 2009, pencemaran lingkungan hidup adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan hidup oleh kegiatan manusia sehingga melampaui baku mutu lingkungan hidup yang telah ditetapkan.

Pencemaran dapat terjadi oleh banyak zat, diantaranya adalah logam berat yaitu *lead acetate* (Pb). *Lead acetate* merupakan polutan beracun yang ada di lingkungan dan kawasan industri. Masalah kesehatan dapat timbul akibat pencemaran air minum oleh Pb dan logam berat yang lain. *Lead acetate* mempengaruhi kelainan fisiologis, biokimia, dan tingkah laku. Organ-organ penting yang menjadi target toksisitas Pb antara lain: ginjal, hati, limpa, dan testis (Suradkar, *et al.*, 2010). Hati merupakan organ penting dan aktif terlibat dalam banyak fungsi metabolisme dan sering menjadi organ target sejumlah zat yang bersifat racun (Anuradha dan Krishnamorrthy, 2011). Kerusakan hati dikaitkan dengan perubahan fungsi metaboliknya.

Lead acetate berbahaya bagi tubuh manusia, dalam jumlah kecil dapat menyebabkan kerusakan sel yang diperantarai oleh *reactive oxygen species* (ROS) yang terlibat dalam patologi terkait toksisitasnya. ROS merupakan respon imun alami yang dihasilkan tubuh sebagai respon terhadap invasi antigen. ROS merupakan molekul reaktif tergolong radikal bebas yang akan berikatan dengan elektron yang tidak berpasangan seperti ion *superoxide* (O_2^-), *nitrogen oxide* (NO), dan hydroxyl radikal (OH^-) (Haleagraha, *et al.*, 2011 dan Attia, *et al.*, 2013). Dalam konsentrasi yang tinggi, ROS dapat menjadi mediator kerusakan struktur sel, asam nukleat, lemak dan protein. Hydroxyl radikal diketahui bereaksi dengan seluruh komponen molekul DNA, merusak basa purin, pirimidin dan kerangka deoxyribose (Valko, *et al.*, 2006).

Paparan radikal bebas dengan berbagai penyebab akan membuat suatu organisme mengembangkan berbagai mekanisme penolakan. Mekanisme penolakan terhadap radikal bebas menginduksi stres oksidatif yang melibatkan: 1) mekanisme preventatif, 2) mekanisme perbaikan, 3) pertahanan fisik, dan 4) pertahanan antioksidan. Pertahanan antioksidan enzimatis meliputi *superoxidedismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx), *catalase* (CAT), sedangkan antioksidan non enzimatis diperantarai oleh asam askorbat (vitamin C), *α-tocopherol* (vitamin E), *glutathione* (GSH), *carotenoid*, *flavonoid*, dan antioksidan yang lain.

Induksi oleh logam berat dapat menyebabkan produksi ROS yang merusak, tidak hanya pada DNA, tetapi pada komponen sel yang lain meliputi residu fosfolipid *polyunsaturated fatty acid* yang sangat sensitif terhadap oksidan (Valko, *et al.*, 2006). *Reactive oxygen species* (ROS) dapat secara langsung mengoksidasi GSH, atau secara tidak langsung terjadi oleh reaksi yang dikatalisis GSH peroksidase (Lushchak, 2011). Salah satu pengaruh paparan logam berat adalah pada proses metabolisme GSH yang merupakan

molekul antioksidan dalam tubuh hewan dan manusia, berperan sebagai komponen penting dalam proses detoksifikasi dan ekskresi logam berat (Nishanthi, *et al.*, 2012 dan Sharma, *et al.*, 2011). Selain molekul antioksidan, adapula pertahanan antioksidan enzimatis yang diperankan oleh SOD, GPx, dan CAT.

Pertahanan antioksidan enzimatis salah satunya diperankan oleh CAT. Dalam tubuh manusia dan tikus, CAT ditemukan secara dominan dalam hati, ginjal, dan sel darah merah. Dalam hati dan ginjal CAT ditemukan dalam peroksisom, sedangkan dalam sel darah merah CAT ditemukan sebagian dalam sitoplasma dan sebagian lagi terikat pada membran sel (Walid, *et al.*, 1991). Paparan Pb akan menurunkan aktivitas CAT sebagaimana dibuktikan dalam penelitian Anuradha dan Krishnamoorthy (2011) bahwa dengan induksi Pb selama 90 hari dapat menurunkan aktivitas CAT secara signifikan ($38,18 \pm 3,67 \mu\text{mol}$) dibandingkan dengan kelompok normal ($58,69 \pm 5,64 \mu\text{mol}$).

Kemampuan tubuh tidak cukup untuk menetralkan senyawa oksidan akibat paparan bahan beracun dari lingkungan yang bersifat radikal (Goodman, 1995). Maka dibutuhkan makanan yang banyak mengandung antioksidan untuk membantu tubuh menetralkan radikal bebas. Salah satu buah yang banyak mengandung senyawa antioksidan seperti karotenoid di antaranya adalah buah pepaya. Buah pepaya matang sangat unggul dalam hal betakaroten (276 mikrogram/100 g), betacryptoxanthin (761 mikrogram/100 g), serta lutein dan zeaxanthin (75 mikrogram/100 g). Betakaroten merupakan provitamin A sekaligus antioksidan yang sangat ampuh untuk menangkalkan serangan radikal bebas. Karoten dapat menetralkan oksigen singlet reaktif dan mencegah pembentukan radikal peroxyl akibat peroksidasi lipida. Bahkan karoten tengah dikaitkan dengan fungsinya untuk mengurangi resiko kanker dan menetralkan radikal bebas karsinogen. Betakaroten salah satunya, mampu menghambat proses peroksidasi lipid pada

liposom yang diinduksi oleh radikal bebas atau oksigen singlet (Halliwell dan Gutteridge, 2007; Mohammed *et al*, 2011)

METODE PENELITIAN

1.1 Ekstraksi Buah Pepaya (*Carica papaya* L.)

Buah pepaya (*Carica papaya* L.) yang dipotong kecil-kecil, dikeringkan, kemudian dihaluskan. Ekstraksi dilakukan dengan metode perkolasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1 L selama 24 jam. Fraksi etanol dipisahkan dari serbuk buah pepaya dengan cara disaring. Selanjutnya dilakukan evaporasi etanol dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 2 hari dan hasilkan berupa ekstrak etanolik buah pepaya.

1.2 Pengujian Ekstrak Buah pepaya (*Carica papaya* L.) pada Hewan Coba

Hewan coba (tikus) dikelompokkan menjadi 5 kelompok:

Kelompok 1: tikus dengan diet normal dan aquades selama 6 minggu.

Kelompok 2: diberikan *lead acetate* dosis 20 mg/kg BB selama 6 minggu.

Kelompok 3, 4, dan 5: diberikan *lead acetate* dosis 20 mg/kg BB dan diberikan ekstrak buah pepaya dosis berturut-turut 100; 200; dan 400 mg/kg BB/hari selama 6 minggu. Setelah 6 minggu dilakukan pengukuran kadar *glutathione* (GSH) dan *catalase* (CAT).

Lead acetate dan ekstrak buah pepaya diberikan per oral melalui sonde.

1.3 Homogenisasi Jaringan Hati Tikus

Jaringan hati tikus dari semua kelompok perlakuan ditimbang masing-masing 1 gr. Selanjutnya jaringan dicuci dengan PBS +

PMSF dan ditambahkan 150 µl PBS + PMSF kemudian dihaluskan dengan pistil. Jaringan yang sudah dihaluskan ditambahkan PBS + PMSF 1:1. Larutan homogenat disentrifuse 12.000 rpm 4°C 10 menit didapatkan endapan dan supernatan (digunakan untuk mengukur kadar *catalase* dan *glutathione*).

1.4 Pengukuran Kadar *Catalase* (CAT) Hati Tikus

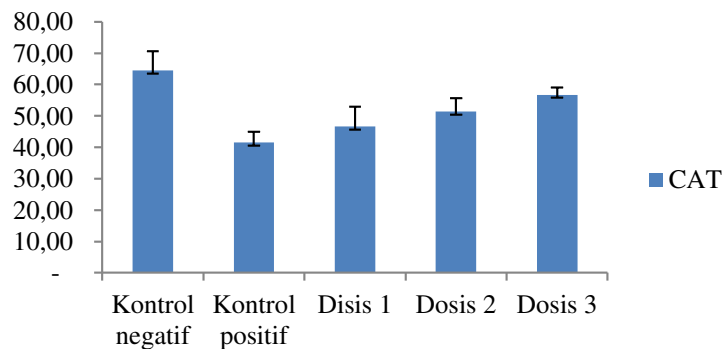
Sampel homogenat diencerkan 500x (1:500) dengan PBS + PMSF. Kemudian menyiapkan larutan H_2O_2 10 mM diencerkan dengan dapar fosfat 100x. Selanjutnya menyiapkan kuvet spektrofotometer UV dan menyiapkan blanko campuran 50 µl PBS dan 950 µl H_2O_2 . Setelah semua sampel siap, kemudian diukur absorbansi sampel dengan panjang gelombang 240 nm.

HASIL PENELITIAN

Hasil pengamatan kadar catalase (CAT) dan glutathione (GSH) pada hati tikus yang diinduksi lead acetate

Penelitian pengaruh ekstrak buah pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap kadar *catalase* (CAT) dan *glutathione* (GSH) pada hati tikus jantan yang diinduksi *lead acetate* bertujuan untuk mengetahui adanya antioksidan alami yang terkandung dalam buah pepaya. Dengan adanya daya antioksidan diharapkan dapat mengurangi resiko kerusakan hati yang diakibatkan oleh paparan Pb yang menjadi salah satu unsur pencemaran lingkungan.

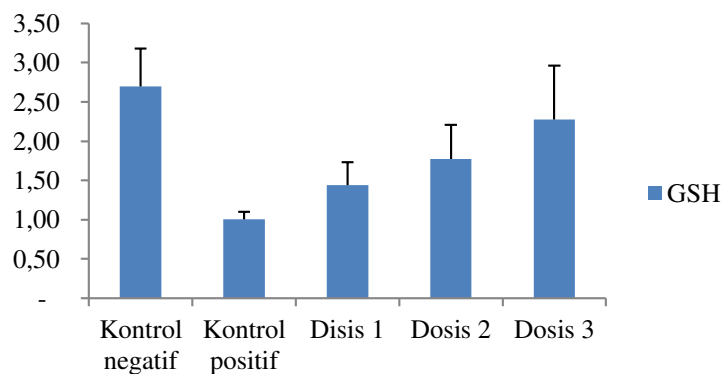
Data hasil pengukuran kadar CAT dan GSH pada hati tikus jantan yang diinduksi *lead acetate* dapat dilihat pada gambar grafik seperti berikut ini:



Gambar 1. Kadar catalase (U/mg protein) hati tikus yang diinduksi lead acetate dan diberikan ekstrak pepaya dengan berbagai dosis

Pada gambar 1 dapat diketahui bahwa kontrol positif yang diinduksi lead acetate menunjukkan kadar catalase terendah dan kadar catalase kembali meningkat dengan pemberian

ekstrak pepaya. Peningkatan kadar catalase menunjukkan kadar mendekati kontrol normal pada pemberian ekstrak pepaya dosis 400 mg/kg BB/ hari.



Gambar 2. Kadar glutathione ($\mu\text{mol/gr}$ jaringan) hati tikus yang diinduksi dengan lead acetate dan diberikan ekstrak pepaya dengan berbagai dosis.

Pada gambar 2 dapat diketahui bahwa kontrol positif yang diinduksi lead acetate menunjukkan kadar glutathione terendah dan kadar glutathione kembali meningkat dengan pemberian ekstrak pepaya. Peningkatan kadar glutathione mendekati kadar normal dengan pemberian ekstrak pepaya dosis 400 mg/kg BB/ hari.

glutathione pada hati tikus yang diinduksi lead acetate sampai mendekati kadar normal.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak buah pepaya berbagai dosis dapat meningkatkan kadar CAT dan GSH pada hati tikus jantan yang diinduksi lead acetate. Dosis 400 mg/kg BB/ hari merupakan dosis efektif yang dapat meningkatkan kadar CAT dan GSH sampai mendekati kadar normal dengan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol positif (dengan perlakuan lead acetate 20 mg/kg BB/ hari).

Pemberian ekstrak buah pepaya secara signifikan dapat meningkatkan kadar catalase ($p = 0.000$) dan meningkatkan kadar glutathione ($p = 0.000$) pada hati tikus yang diinduksi lead acetate. Ekstrak buah pepaya dosis 400 mg/kg BB/ hari merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan kadar catalase dan kadar

DAFTAR PUSTAKA

- Anuradha, R. dan Krishnamoorthy, P. 2011. Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Pongamia pinnata* on Acetate Induced Hepatic Damage in Rats. *African Journal of Biochemistry Research* **5** (12).
- Attia, A. M. M. Ibrahim, F. A. A. Nabil, G. M. dan Aziz, S. W. 2013. Antioxidant Effect of Whole Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Against *Lead acetate* Induced Hematotoxicity in Rats. *Journal of Medicinal Plants Research* **7** (17).
- Goodman, S. 1995. Ester-C: Vitamin C Generasi III. Gramedia Pustaka Utama.
- Haleagrahara, N. Chakravarthi, S. Kulur, A. B. dan Radhakrishnan, A. 2011. Effect of Chronic *Lead acetate* Exposure on Bone Marrow Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in Rats. *African journal of Pharmacy and Pharmacology* **5** (7).
- Halliwell B, Gutteridge JMC, 2007. Free Radicals in Biology and Medicine 4rd Edition. Oxford University Press. New York.
- Lushchak, V. I. 2011. *Glutathione* Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions. *Journal of Amino Acid*. Doi: 10.1155/2012/736837.
- Mohammed A, Abubakar SA, Smuruges SM. 2011. Hepatoprotective effect of aqueous leaf extract of *carica papaya* linn. Against ccl4-induced hepatic damage in rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* Volume 11, Issue 2, November – December 2011; Article-003.
- Nishanthi, J dan Anuradha, R. 2012. Efficacy of *Tagetes erecta* on *Lead acetate* Induced Oxidative Injury in Rat Kidney. *International Journal of PharmTech Research*. Vol **4**.
- Sharma, S. Sharma, V. Paliwal, R. dan Pracheta. 2011. Lead toxicity, Oxidative Damage and Health Implications. A Review. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research* **2** (13).
- Suradkar, S. G. Vihol, P. D. Patel, J. H. Ghodasara, D. J. Joshi, B. P. dan Prajapati, K. S. 2010. Pathomorphological Changes in Tissues of Wistas Rats by Exposure of *Lead acetate*. *Veterinary World* Vol. **3** (2).
- Valko, M., Leibfrits, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., dan Telser, J. 2006. Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Function and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **39**.