

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI INFUSA BIJI ALPUKAT (*Persea americana*) DAN BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) DIABETES MELLITUS DENGAN PARAMETER MDA

Safriani Rahman, Rachmat Kosman, Sudrianto

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar
Email : safriani_rahman@yahoo.com.

ABSTRACT

This research aims to determine the concentration Infusa Seeds Avocado and papaya seeds effective leaves that have antioxidant activity to MDA levels in diabetic mellitus with rats was induced with alloxan. This research used 21 white rats were divided into 7 groups. All rats were induced by alloxan 110 mg/KgBB intraperitoneally. Group I as a normal control, group II was administered with Na.CMC as a negative control, group III avocado seed infusion of 10%, group IV papaya seed infusion of 10%, group V infusion combination of avocado seeds and papaya seeds 4%^{v/v}, group IV infusion combination of avocado seeds and papaya seeds 6%^{v/v}, group VII infusion combination of avocado seeds and papaya seeds 8%^{v/v}. Administration were given orally for 14 days orally. Before treatment, all groups except the group I was induced with alloxan 110 mg/kgBB in intraperitonially. Measurement of MDA levels before and after administration of infusion. MDA levels as measured on a spectrophotometer 532 nm wavelength. MDA Assay performed with TBA method. The results showed that the combined infusion of avocado seeds and papaya seeds, concentrations of 4%^{v/v}, 6%^{v/v}, 8%^{v/v} effective as an antioxidant.

Keywords : Diabetes, antioxidants, malondialdehyde (MDA), avocado seeds and papaya seeds

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit kronis yang terjadi ketika pankreas tidak dapat lagi memproduksi insulin atau insulin yang dihasilkan kurang dan tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan insulin dalam tubuh. Penyakit diabetes mellitus biasa ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah yang sering disebut

hiperglikemia yang dapat menyebabkan kerusakan yang serius terhadap beberapa sistem tubuh terutama sistem saraf dan pembuluh darah. Penyakit ini merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan peningkatan resiko kematian (Price, 2005).

Penderita diabetes mellitus yang ditandai dengan hiperglikemia ini dapat menyebabkan peningkatan stres

oksidatif. Hiperglikemia akan menyebabkan terjadinya auto oksidasi glukosa sehingga terbentuk radikal bebas, glikosilasi auto-oksidatif, dan meningkatnya jalur perubahan glukosa, sorbitol, dan fruktosa yang akan menurunkan antioksidan (Wiyono, 2003).

Pada kondisi sistem antioksidan tidak normal atau kekurangan antioksidan yang ada, maka terjadi hiperproduksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), hal ini menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan salah satu komponen pada mekanisme kerusakan jaringan pada manusia, dimana dapat ditunjukkan dengan meningkatnya kadar MDA dalam serum (Siswanto, 2012).

Pengobatan diabetes mellitus telah dilakukan dengan berbagai cara, seperti olah raga dan diet. Pengobatan dapat pula dengan pemberian insulin maupun menggunakan obat-obatan antidiabetes yang dijual dipasaran atau lebih dikenal sebagai obat sintesis (BPOM, 2010). Pengobatan secara tradisional didasarkan pada faktor-faktor empiris, kebiasaan, dan pengalaman. Umumnya mekanisme pengobatan secara tradisional tidak dapat dijelaskan secara rinci seperti pengobatan sintesis (Wijayakusuma, 2004).

Biji alpukat (*Persea americana*) dan biji pepaya (*Carica papaya*) secara empiris dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah. Biji alpukat (*Persea americana*) mengandung senyawa golongan polifenol, flavonoid, triterpenoid dan tanin yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin, maka insulin dapat bekerja secara normal sehingga mencegah penyakit diabetes mellitus. Biji pepaya (*Carica papaya*) mengandung tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa flavanoid pada biji alpukat dan biji pepaya bermanfaat sebagai antioksidan untuk menurunkan kadar glukosa darah melalui perbaikan fungsi pankreas (dengan cara regenerasi sel) untuk meningkatkan produksi insulin (Sholhah, 2013).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu batang pengaduk, belender, botol semprot, corong, gelas kimia (Pyrex[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), kain saring, kandang tikus, kanula, kuvet, labuukur, panci infusa, pipa kapiler, pipet tetes, spoit, spektrofotometri *Uv-vis*, seperangkat alat glukometer (Gluco DR[®]), seperangkat alat sentrifugasi, tabung sentrifuge, stopwatch, timbangan

analitik dan timbangan O'hauss (Camry®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest, aloksan, asam klorida, asam setat glasial, biji alpukat (*Persea americana*), biji pepaya (*Carica papaya* L.), EDTA, etanol, ketamin, kertas timbang, n-butanol, NaCl, Na-CMC, Na₂SO₄, strip test glukosa, TBA (Asam tiobarbiturat) dan TCA (Asam trikloroasetat).

Prosedur Kerja

Pembuatan Bahan Penelitian

Pembuatan infusa biji alpukat (*Persea americana*) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.)

1. Pembuatan infusa biji alpukat

Sebanyak 10 gram serbuk biji alpukat ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam panci infusa, ditambahkan aquadest 100 ml. Panaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhunya mencapai 90⁰C, sambil sesekali diaduk-aduk. Serkai selagi panas menggunakan kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki yaitu 100 ml (10%).

2. Pembuatan infusa biji papaya

Sebanyak 10 gram serbuk biji pepaya ditimbang kemudian

dimasukkan ke dalam panci infusa, ditambahkan aquadest 100 ml. Panaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhunya mencapai 90⁰C, sambil sesekali diaduk-aduk. Serkai selagi panas menggunakan kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki yaitu 100 ml (10%).

3. Pembuatan larutan aloksan

Sebanyak 480 mg serbuk aloksan kemudian dilarutkan dengan larutan NaCl fisiologis, kemudian dihomogenkan

4. Pembuatan EDTA 10%

Sebanyak 10 gram EDTA ditimbang lalu dilarutkan dengan sedikit aquadest hingga homogen kemudian dicukupkan volumenya hingga 100 ml.

5. Pembuatan Asam Asetat 10%

Sebanyak 10 ml asam asetat dilarutkan dengan sedikit aquadest kemudian diencerkan sampai volume larutan menjadi 100 ml.

6. Pembuatan TCA 10%

Sebanyak 10 gram asam trikloroasetat ditimbang lalu dilarutkan dengan sedikit aquadest, kemudian diencerkan sampai volume larutan menjadi 100 ml.

7. Pembuatan Na₂SO₄ 2 mol/L

Sebanyak 14,204 gram natrium sulfat ditimbang lalu dilarutkan dengan sedikit aquadest, kemudian diencerkan sampai volume larutan menjadi 50 ml.

8. Pembuatan TBA

Sebanyak 100 mg asam tiobarbiturat ditimbang lalu dilarutkan dengan sedikit aquadest, kemudian diencerkan sampai volume larutan menjadi 50 mL Na₂SO₄.

Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Sebanyak 21 ekor tikus yang disiapkan kemudian dibagi dalam 7 kelompok tiap kelompok terdiri dari 3 hewan coba. Masing-masing kelompok diinduksi dengan aloksan selama 2x24 jam, adapun pembagian kelompoknya sebagai berikut :

- a. Kelompok I normal.
- b. Kelompok II (kontrol negatif) di beri Na.CMC.
- c. Kelompok III diberi infusa biji alpukat 10%.
- d. Kelompok IV diberi infusa biji pepaya 10%.
- e. Kelompok V diberi kombinasi infusa biji alpukat dan biji papaya 4%^{v/v}
- f. Kelompok VI diberi kombinasi infusa biji alpukat dan biji papaya 6%^{v/v}

- g. Kelompok VII diberi kombinasi infusa biji alpukat dan biji papaya 8%^{v/v}

Perlakuan terhadap Hewan Uji

Hewan uji dipuasakan selama 8 jam dan selanjutnya diukur kadar glukosa darah puasanya sebagai kadar glukosa awal (T₀) selanjutnya semua hewan uji diinduksi aloksan dengan dosis 120 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 2x24 jam. Lalu dilakukan pengukuran kadar glukosa darah sebagai kadar glukosa darah induksi.

Kelompok I tidak diberi apa-apa sebagai kontrol normal, kelompok II diberi Na.CMC sebagai kontrol negatif, kelompok III diberi infusa biji alpukat 10%, kelompok IV diberi infusa biji pepaya 10%, kelompok V diberi kombinasi infusa biji alpukat dan biji pepaya 4%^{v/v}, kelompok VI diberi kombinasi infusa biji alpukat dan biji pepaya 6%^{v/v}, kelompok VII diberi kombinasi infusa biji alpukat dan biji pepaya 8%^{v/v}, semua pemberian dilakukan secara oral sebanyak 5 ml/100grBB. Pemberian dilakukan selama 14 hari, pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-1, 3, 7, 11, dan 14. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dengan cara darah hewan uji diambil melalui ujung ekor dan

diteteskan pada strip glukometer yang sebelumnya telah diaktifkan sehingga secara otomatis akan terbaca pada monitor dari glukometer tersebut. Prinsip metode ini adalah secara enzimatis melibatkan reaksi glukosa oksidase yang menghasilkan intensitas warna yang akan dideteksi oleh alat ini.

Pengambilan Darah Hewan Uji

Proses pengambilan darah pada hewan uji tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan secara plexus retroorbitalis. Tikus diinjeksi dengan ketamin 0,3 mL (Ketamin hidroklorida 50 mg/mL) secara intraperitoneal, kemudian pipa kapiler digoreskan pada medial *canthus* mata di bawah bola mata ke arah *foramen opticus*. Pipa kapiler diputar sampai melukai *plexus* dan darah ditampung pada vial yang telah diberi EDTA.

Analisis MDA

Darah dikumpulkan dalam vial yang berisi larutan EDTA. Sebanyak 1 ml darah dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge dan kemudian protein diendapkan dengan menambahkan 2,5 ml dari 20 g/mL asam trikloroasetat. Setelah itu disentrifuge pada 1000 rpm

selama 10 menit kemudian supernatant dipisahkan. Endapan protein disuspensikan kembali dalam 2,5 ml asam asetat dan ditambahkan 3 ml asam tiobarbiturat (2g/L dalam 2mol/L Na_2SO_4). Campuran reaksi dipanaskan dalam *waterbath* selama 30 menit, kemudian didinginkan cepat dalam *icebath* untuk menghentikan reaksi, kemudian diekstraksi dengan menambahkan n-butanol sebanyak 4 ml dan disentrifuge kembali pada 3000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifuge tersebut diukur absorbansinya pada spektrofotometri dengan panjang gelombang 532 nm.

Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh, dikumpulkan dan kemudian diolah dan dianalisis secara statistik berdasarkan analisis uji *t*-berpasangan (untuk melihat perbedaan kadar MDA antara data sebelum dan setelah perlakuan), Uji anova-satu arah (untuk melihat apakah penurunan pada kadar MDA antara kelompok perlakuan sama atau tidak), dan Uji *post hoc* LSD (untuk melihat perbedaan penurunan kadar MDA antara masing-masing kelompok perlakuan).

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Rata-rata kadar MDA awal, MDA setelah induksi dan MDA setelah terapi infusa pada tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus

Perlakuan	Absorbansi MDA (Malondialdehid) \pm SD			% Penurunan	P(95%)
	Awal	Induksi	Terapi		
Normal	0.056 \pm 0.019	0.053 \pm 0.011	0.027 \pm 0.003	48.49	
Na.CMC	0.056 \pm 0.010	0.214 \pm 0.028	0.570 \pm 0.391	-183.81	
Infusa biji alpukat 10%	0.059 \pm 0.037	0.139 \pm 0.035	0.034 \pm 0.029	77.58	
Infusa biji pepaya 10%	0.045 \pm 0.027	0.127 \pm 0.020	0.058 \pm 0.039	52.11	0.016
Kombinasi 4% ^{v/v}	0.022 \pm 0.007	0.125 \pm 0.024	0.076 \pm 0.064	33.13	
Kombinasi 6% ^{v/v}	0.064 \pm 0.016	0.112 \pm 0.006	0.013 \pm 0.007	88.57	
Kombinasi 8% ^{v/v}	0.057 \pm 0.035	0.156 \pm 0.008	0.035 \pm 0.008	76.99	

PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas antioksidan infusa biji alpukat (*Persea americana*) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan parameter MDA dilakukan dengan metode *Thiobarbiturat Acid* (TBA). Metode ini merupakan metode yang paling banyak dan paling sering digunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas, mudah dikerjakan, mempunyai kepekaan yang cukup tinggi, mudah diaplikasikan untuk berbagai sampel. Metode ini didasarkan pada pembentukan reaksi antara 1 molekul MDA dengan 2 molekul TBA (*Thiobarbiturat Acid*) yang menghasilkan warna merah yang dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang 532 nm. Semakin pekat warna yang dihasilkan maka konsentrasi MDA juga semakin tinggi. Jumlah MDA yang terbentuk menggambarkan proses peroksidasi

lipid. Dimana semakin tinggi absorbansi MDA semakin besar aktivitas radikal bebas, sebaliknya semakin rendah absorbansi MDA semakin kecil aktivitas radikal bebas.

Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) dikarenakan genetik, karakteristik biologi dan perilakunya sangat mirip manusia dan banyak gejala kondisi manusia dapat direplikasi pada tikus. Tikus betina tidak digunakan dalam penelitian ini, karena sistem hormonalnya tidak stabil dibandingkan dengan tikus jantan sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Sebelum perlakuan, tikus dipuasakan 8 jam untuk meminimalkan faktor pengaruh makanan pada pengukuran kadar glukosa darah, kemudian diinduksi dengan aloksan 110 mg/kgBB secara intraperitoneal. Aloksan akan merusak sel-sel

penghasil insulin yaitu sel β - pulau langerhans dengan cara reduksi aloksan menjadi asam dialurat yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan sehingga menghasilkan radikal ion superoksida yang kemudian terbentuk radikal bebas hidrogen peroksida yang dapat menyerang komponen penyusun sel sehingga menyebabkan kerusakan sel pada sel β - pulau langerhans.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan infusa biji alpukat 10%, infusa biji pepaya 10%, kombinasi infusa biji alpukat dan biji pepaya 4%^{v/v}, kombinasi infusa biji alpukat dan biji pepaya 6%^{v/v}, dan kombinasi infusa biji alpukat dan biji pepaya 8%^{v/v} (dapat dilihat pada tabel 1), pada tabel 1 menunjukkan bahwa pada setiap kelompok perlakuan mengalami peningkatan kadar MDA setelah induksi, dan terjadi penurunan kadar MDA setelah pemberian terapi infusa selama 14 hari kecuali kelompok Na.CMC. Dari tabel 1 tersebut kemudian dibuat dalam sebuah grafik (dapat dilihat pada gambar 1). Pada gambar 1 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan normal mengalami penurunan kadar MDA setelah terapi meskipun tidak diberikan infusa biji alpukat dan biji pepaya, itu terjadi karena sistem imun pada

hewan coba bagus, dan bisa juga dipengaruhi oleh makanan dan minuman yang diberikan pada tikus. Kelompok perlakuan yang diberikan Na.CMC mengalami kenaikan kadar MDA setelah pemberian terapi infusa. Hal ini terjadi karena Na.CMC tidak mengandung komponen antioksidan yang dapat menurunkan kadar MDA dan Na.CMC tidak memiliki efek terhadap tikus sehingga tikus pada kelompok ini terus menerus terpapar oleh radikal bebas yang menyebabkan terjadinya peningkatan MDA. Kelompok infusa biji alpukat 10% dan kelompok infusa biji pepaya 10% menunjukkan peningkatan kadar MDA setelah induksi dan mengalami penurunan setelah pemberian terapi infusa selama 14 hari. Kelompok kombinasi biji alpukat dan biji pepaya 4%^{v/v}, kombinasi biji alpukat dan biji pepaya 6%^{v/v}, dan kelompok biji alpukat dan biji pepaya 8%^{v/v} (dapat dilihat pada gambar 1) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar MDA setelah induksi dan penurunan kadar MDA setelah pemberian terapi infusa selama 14 hari. Kelompok kombinasi biji alpukat dan biji pepaya 6%^{v/v} (dapat dilihat pada tabel 1) menunjukkan penurunan kadar MDA yang paling besar dibandingkan dengan kelompok lain berdasarkan

rata-rata persen penurunan kadar MDA.

Rata-rata pengukuran kadar MDA pada tabel 1 kemudian dianalisis menggunakan uji *t*-berpasangan. Untuk melihat pengaruh pemberian aloksan terhadap hewan coba, maka dilakukan analisis antara data sebelum dan sesudah induksi. Data dianalisis menggunakan metode *t*-berpasangan dari analisis tersebut didapatkan hasil bahwa data sebelum induksi 0.05221 ± 0.05081 dan data setelah induksi 0.13167 ± 0.09456 , menunjukkan nilai yang berbeda nyata yaitu $P(95\%) 0.000$ ($p < 0.05$), Hal ini berarti aloksan berhasil meningkatkan kadar MDA tikus sebelum diterapi.

Penurunan kadar MDA pada kelompok kombinasi infusa biji alpukat (*Persea americana*) dan biji pepaya (*Carica papaya*) dengan konsentrasi $6\% \text{v/v}$ diduga bahwa adanya penghambatan pada proses peroksidasi lipid sehingga MDA yang terbentuk berkurang. Efek penurunan ini diduga karena senyawa flavanoid dan alkaloid yang terkandung pada biji alpukat (*Persea americana*) dan biji pepaya (*Carica papaya*) memiliki efek antioksidan.

Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa kelompok kombinasi infusa biji alpukat (*Persea*

americana) dan biji pepaya (*Carica papaya*) $6\% \text{v/v}$ berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menurunkan kadar MDA tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diinduksi aloksan dilihat dari rata-rata persen penurunan kadar MDA.

KESIMPULAN

1. Kombinasi infusa biji alpukat (*Persea americana*) dan biji papaya (*Carica papaya*) dengan konsentrasi $4\% \text{v/v}$, $6\% \text{v/v}$, $8\% \text{v/v}$ memiliki efek antioksidan dengan menurunkan kadar MDA tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes melitus yang diinduksi aloksan..
2. Kombinasi infusa biji alpukat dan biji pepaya dengan konsentrasi $6\% \text{v/v}$ paling efektif dalam menurunkan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes melitus yang diinduksi aloksan.

DAFTAR PUSTAKA

- Price, Sylvia & Wilson, Loraine M. 2005. *Patofisiologi : konsep klinis proses-proses penyakit* (Brahm U. Pendit. et al., penerjemah). Jakarta : EGC, 1259-1273
- Sholhah FA, Tjandrakirana, Qomariyah N, 2013. *Pengaruh Pemberian Kombinasi Rebusan Biji Alpukat (Persea americana) dan Biji Pepaya (Carica papaya) terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit*. Jurnal MIPA Universitas Negeri Surabaya 2(3)1: 191-193

Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Infusa Biji Alpukat Dan Biji Pepaya Terhadap Tikus Putih Diabetes Mellitus Dengan Parameter MDA

Siswanto, W. P . 2012. *Pemberian Suspensi Bubuk Kedelai Dapat Menurunkan Kadar Malondialdehid (MDA) Serum pada Tikus Putih Diabetes Melitus yang Diinduksi Streptozotocin.* Gaster Vol. 9 55-61.

Wijayakusuma H. 2004. *Atasi Diabetes Mellitus dengan Tanaman Obat.* Jakarta: PuspaSehat.

Wiyono,P. 2003. *Peranan Hiperglikemia Terhadap Terjadinya Komplikasi Kronik Diabetes Melitus.* Berkala Ilmu Kedokteran, 35, 1.