

EFEK PENGHAMBATAN ENZIM XANTIN OXIDASE OLEH EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (*Carica papaya* Linn.) SECARA IN VITRO

¹Kusumaningtyas Siwi Artini*, ²Danang Raharjo, ³Eny Wijayanti

¹Universitas Duta Bangsa Surakarta, kusumaningtyas@udb.ac.id

²Universitas Duta Bangsa Surakarta, danang_raharjo@udb.ac.id

³Universitas Duta Bangsa Surakarta, wijayanti2@gmail.com

*Penulis Korespondensi

ABSTRAK

Penyakit metabolik seperti asam urat ditandai dengan tingginya kadar asam urat dikarenakan gangguan metabolisme purin. Peningkatan kadar asam urat didalam darah disebabkan karena adanya defisiensi enzim Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyl Transferase (HGPRT) yang mana enzim ini berfungsi untuk mengubah purin menjadi nukleotida purin sehingga dapat digunakan kembali sebagai penyusun DNA dan RNA sehingga kekurangan enzim ini bisa mengakibatkan kadar asam urat meningkat. Dalam biji buah pepaya (*Carica papaya* Linn.) terdapat kandungan zat fitokimia seperti flavonoid, saponin, dan tanin yang berkhasiat menormalkan kadar lipid dan kadar asam urat. Penelitian ini merupakan penelitian experimental yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* Linn.) dalam menghambat enzim xantine oxidase. Uji penghambatan enzim xantine oksidase dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV – VIS. Penelitian ini menggunakan uji terhadap enzim xantine oxidase yang diberi allopurinol sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 0,625ppm; 1,25ppm; 2,5ppm; 5ppm; dan 10ppm, dan enzim xantine oxidase yang diberi ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi 5ppm; 50ppm;100ppm; 200ppm; dan 300ppm. Pada uji enzim xantine oksidase yang direaksikan dengan allopurinol diketahui bahwa daya hambat terbesar pada konsentrasi 10ppm yaitu sebesar 69,815% dan nilai IC₅₀ 0,28 sedangkan pada uji enzim xantine oxidase yang direaksikan dengan ekstrak biji pepaya diketahui daya hambat terbesar pada konsentrasi 300ppm yaitu 86,105% dan nilai IC₅₀ 101,80. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji pepaya dapat menghambat enzim xantine oksidase secara bermakna.

Kata Kunci : asam urat, ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* Linn.), enzim xantine oxidase

ABSTRACT

Metabolic diseases such as gout are characterized by high levels of uric acid due to disorders of purine metabolism. Increased level of uric acid in the blood are caused by a deficiency of enzyme Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyl Transferase (HGPRT) which the function of the enzyme is to convert purines into purine nucleotides so that they can be reused as a constituent of DNA and RNA so a deficiency can cause the level of uric acid increased. The seed of *Carica papaya* (*Carica papaya* Linn.) contain phytochemicals such as flavonoids, saponins, and tannins which are capable of lowering lipid levels and uric acid levels. This research was an experimental study which aims to test the potential of the extract of papaya's seed in inhibiting the enzyme xanthine oxidase. The test of inhibition of xanthine oxidase was using spectrophotometric UV – VIS. In this research, xanthine oxidase enzyme given allopurinol with a concentration of 0,625ppm; 1,25ppm; 2,5ppm; 5ppm; and 10ppm, and xanthine oxidase enzyme which was given papaya's seed extract with a concentration of 5ppm; 50ppm;100ppm; 200ppm; dan 300ppm. In the xanthine oxidase enzyme test which was reacted with allopurinol, it was found that the greatest inhibitory power was at a concentration of 10 ppm, which was 69,815% and the IC₅₀ value was 0,28 while in the test of xanthine oxidase enzyme reacted with papaya seed extract, it is known that the greatest inhibitory power at a concentration of 300ppm is 86, 105% and the IC₅₀ value is 101,80. The conclusion of this research is the extract of papaya's seed can significantly inhibit the xanthine oxidase enzyme.

Keyword : uric acid, extract of papaya's seed, xanthine oxidase enzyme

PENDAHULUAN

Bahan alam sering digunakan dalam pengobatan di Indonesia. Penggunaan bahan alam ini digunakan secara turun temurun di setiap generasi. Salah satu bahan alam yang digunakan dalam pengobatan tradisional adalah buah pepaya. Tanaman buah pepaya, selain bisa dimanfaatkan daun dan buahnya sebagai bahan makanan, bijinya juga bisa dimanfaatkan untuk pengobatan. Dalam beberapa penelitian yang telah dilakukan, biji buah pepaya telah terbukti dapat menurunkan kadar asam urat karena mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin (Cut Arsiyanti, Ahmad Syauqy, 2013). Pada penelitian lain menunjukkan bahwa biji pepaya mengandung flavonoid, tanin, saponin, anthraquinon, dan anthosianosid (Abdullahi *et al.*, 2012).

Asam urat adalah hasil akhir dari metabolisme senyawa purin yang kemudian akan dikeluarkan melalui urin, feses dan keringat (Sustrani L, Alam S, 2004). Peningkatan kadar asam urat dalam darah hingga melebihi batas normal disebut dengan hiperurisemia (Fatwa Maratus Sholihah, 2014). Peningkatan asam urat ini bisa disebabkan karena konsumsi makanan yang kaya akan asam nukleat seperti usus, biji – bijian, seafood, dan makanan lain yang memiliki kandungan purin yang tinggi seperti yeast yang kemudian akan dimetabolisme menjadi asam urat (Choi HK, Mount DB, 2005). Selain itu, peningkatan kadar asam urat dalam darah juga dipengaruhi oleh gangguan pada ginjal yang dapat menyebabkan terjadinya pengendapan asam urat sehingga terjadi pengkristalan karena ginjal tidak mampu mengeluarkan asam urat dengan baik (Choi HK, Mount DB, 2005).

Purin merupakan prekursor dalam biosintesis asam urat yang dikatalis oleh enzim xantin oksidase (Abdullahi *et al.*, 2012). Dalam proses metabolisme purin, purin yang tidak termetabolisme akan mengendap di persendian yang membentuk kristal kecil yang dapat menimbulkan rasa nyeri yang hebat dan rasa kaku, pembesaran dan penonjolan sendi yang bengkak (Fatwa Maratus Sholihah, 2014). Enzim golongan oksidoreduktase yang mengkatalis reaksi oksidasi xantin menjadi asam urat adalah enzim xantin oksidase (Y, 2013). Dalam reaksinya, enzim oksidase menjadi katalis dalam pengeluaran elektron dari substrat dengan menggunakan oksigen sebagai asektor hidrogen atau elektronnya. Enzim xantin oksidase berperan sangat penting dalam metabolisme purin karena berfungsi merubah hipoksantin menjadi xantin yang kemudian dirubah menjadi asam urat.

Pengobatan penyakit hiperurisemia salah satunya bisa dilakukan dengan menurunkan kadar asam urat darah dengan cara mengurangi produksi asam urat. Obat sintesis yang biasa digunakan untuk mengatasi hiperurisemia adalah allopurinol yang bekerja dengan menghambat pembentukan asam urat dengan cara menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Selain menggunakan obat bahan sintesis, hiperurisemia juga diobati dengan menggunakan bahan alam yang berkhasiat obat seperti biji pepaya. Pada penelitian lain yang telah dilaksanakan, bahan alam yang mengandung flavonoid, alkaloid, dan tanin memiliki khasiat untuk menurunkan kadar asam urat (Suwandi and Perdana, 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak etanol biji pepaya terhadap enzim xantine oksidase dalam memproduksi asam urat secara *in vitro* dan menentukan nilai IC50 sebagai konsentrasi efektif sebagai antihiperurisemia.

METODE

Penelitian ini merupakan True Experimental, variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak biji pepaya dalam berbagai dosis sedangkan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar asam urat. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Duta Bangsa Surakarta.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV – Vis, neraca analitik, bejana maserasi, rotary evaporator, mikropipet dan alat gelas.

Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan enzim xantin oksidase, allopurinol, aquadest, etanol 96%, dapar fosfat pH 7,5 0,05M, HCl 1 N, substrat xantin, DMSO 1%

Pengujian hambatan xantin oksidase secara in vitro

Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reksi kemudian ditambahkan 2,9 mL dapar fosfat pH 7,5 0,05M dan 2 mL larutan substrat ksantin 0,15 mM, selanjutnya dilakukan pra inkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan ksantin oksidase dan dilakukan diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit, selanjutnya ditambahkan 1 mL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Ukur serapannya pada λ maksimal. Perlakuan terhadap sampel dalam uji penghambatan enzim xantin oksidase dapat dilihat dalam tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan Sampel Dalam Pengujian Penghambatan Enzim Ksantin Oksidase.

Bahan	Sampel	Volume (mL)		
		Kontrol Sampel	Blanko	Kontrol blanko
Sampel (salah satu dari) :				
• Larutan allopurinol (0,625, 1,25, 2,5, 5, dan 10 ppm)	1	1	-	-
• Larutan ekstrak (300, 200, 100, 50, dan 5 ppm)				
Buffer fosfat pH 7,5 0,05 M	2,9	2,9	3,9	3,9
Substrat Ksantin 0,15 mM	2	2	2	2
Prainkubasi 15 menit suhu 25°C				
Larutan ksantin oksidase	0,1	-	0,1	-
Dapar fosfat pH 7,5 0,05M	-	0,1	-	0,1
Inkubasi 25°C 30 menit				
HCl 1N	1	1	1	1

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol biji pepaya dibuat dengan metode maserasi. Sebanyak 500 gr serbuk biji pepaya dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96 % selama 24 jam dan dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Maserat yang dihasilkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 sampai 50 °C sehingga dihasilkan ekstrak kental sebanyak 3,15 gr. Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak etanol biji pepaya sebanyak 6,3 %. Tahap selanjutnya setelah didapatkan ekstrak maka dilakukan penapisan fitokimia untuk menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol biji pepaya. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol biji pepaya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Zat Fitokimia Dalam 100gram Biji Pepaya (*Carica Papaya* L.)

Senyawa	Hasil
Flavonoid	+
Fenolik	+
Alkaloid	+
Steroid	-
Tanin	+
Saponin	+

Dari hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol biji pepaya di atas diketahui bahwa ekstrak etanol biji pepaya positif mengandung flavonoid, fenolik, alkaloid, tanin dan saponin.

Pengujian aktivitas hambatan xantin oksidase terhadap ekstrak etanol biji pepaya dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol biji pepaya dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase dalam mengubah xantin menjadi asam urat. Dalam pengujian ini, hal pertama yang dilakukan adalah menentukan panjang gelombang maksimum. Dari hasil penentuan panjang gelombang maksimum didapatkan panjang gelombang maksimum asam urat sebesar 268 nm. Tahap selanjutnya adalah pengujian penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase dari ekstrak etanol biji pepaya. Dalam pengujian penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase dilakukan pengukuran absorbansi terhadap blanko, kontrol blanko, sampel dan kontrol sampel. Pengukuran absorbansi terhadap blanko dan sampel bertujuan untuk menentukan absorbansi dari asam urat yang dihasilkan dalam proses perubahan xantin menjadi asam urat yang dikatalisis oleh enzim xantin oksidase. Sedangkan pengukuran absorbansi terhadap kontrol blanko dan kontrol sampel digunakan sebagai faktor pengkoreksi sehingga absorbansi yang dihasilkan merupakan absorbansi asam urat yang sebenarnya.

Setelah diperoleh nilai panjang gelombang, selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi larutan uji dan larutan pembanding allopurinol pada panjang gelombang 268nm untuk mengetahui penurunan kadar asam urat. Efek penghambatan allopurinol terhadap enzim xantin oksidase dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Efek Hambatan Allopurinol Terhadap Enzim Xantin Oksidase

Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)	Inhibisi (%)
0,625	0,305	49,624
1,25	0,289	51,745
2,5	0,275	55,715
5	0,259	60,986
10	0,243	69,815

Berdasarkan data di tabel 2, dihitung persentase penghambatan untuk setiap bahan uji diperoleh hasil bahwa semakin besar konsentrasi allopurinol (10ppm) maka persentase penghambatan (% inhibisi) allopurinol terhadap aktivitas enzim xantin oksidase (69,815%). Hal ini menunjukkan bahwa allopurinol yang biasa digunakan dalam pengobatan hiperursemia, secara efektif dapat menghambat pembentukan asam urat. Allopurinol merupakan analog purin yang digunakan untuk mengatasi hiperurisemia dengan mekanisme menurunkan kadar asam urat di dalam darah dengan menghambat aktivitas xantin oksidase (Katzung B.G., Masters, S.B. & Trevor, 2012). Allopurinol bekerja dengan bersaing dengan xantin dalam berikatan dengan sisi aktif enzim xantin oksidase dan bereaksi menjadi okipurinol yang juga bekerja menghambat enzim xantin oksidase.

Untuk melihat efek hambatan ekstrak etanol biji pepaya terhadap enzim xantin oksidase dilakukan pengujian terhadap sediaan uji, hasilnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Efek Hambatan Ekstrak Etanol Biji Pepaya Terhadap Enzim Xantin Oksidase

Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)	Inhibisi (%)
5	0,476	23,956
50	0,418	36,893
100	0,316	62,149
200	0,290	71,663
300	0,244	86,105

Ekstrak etanol biji pepaya diuji secara *in vitro* untuk mengetahui aktivitasnya dalam menghambat xantin oksidase. Dari data yang tersaji di tabel 3, diketahui bahwa persen inhibisi tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi 300ppm dengan daya inhibisi 86, 105%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya juga memiliki aktivitas menurunkan kadar asam

urat dengan mekanisme penghambatan enzim xantin oksidase. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa jus biji pepaya mampu menurunkan kadar asam urat (Cut Arsiyanti, Ahmad Syauqy, 2013). Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam biji pepaya mengandung flavonoid yang memiliki aktivitas menurunkan kadar asam urat dengan mekanisme menghambat enzim xantin oksidase, sikooksigenase, dan lipooksigenase (Thanh *et al.*, 2004).

Potensi kerja penghambatan enzim xantin oksidase ditentukan nilai IC_{50} sebagai nilai konsentrasi obat yang dapat menghambat 50% pembentukan asam urat. Nilai IC_{50} dari allopurinol dan ekstrak etanol biji pepaya dapat dilihat di tabel 4.

Tabel 4. Nilai Konsentrasi Inhibisi (IC_{50}) Allopurinol Dan Ekstrak Daun Alpukat Pada Panjang Gelombang Maksimum 268nm

Nama Zat Aktif	IC_{50}
Allopurinol	0,28 ppm
Ekstrak Etanol Biji Pepaya	101,80 ppm

Berdasarkan hasil penelitian yang tersaji dalam tabel 4 diketahui bahwa allopurinol memiliki daya inhibisi yang lebih tinggi dari ekstrak etanol biji pepaya dengan nilai IC_{50} 0,28 ppm. Penilaian ini berarti allopurinol memiliki daya hambat enzim xantin oksidase dalam merubah xantin menjadi asam urat hingga 50% aktivitasnya yaitu pada konsentrasi 0,28. Nilai IC_{50} allopurinol lebih baik dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol biji pepaya 101,80 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dalam menghambat enzim xantin oksidase lebih lemah dibandingkan dengan allopurinol. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa bahan alam memiliki daya hambat dalam penurunan kadar asam urat yang lebih rendah dibandingkan dengan allopurinol (Suwandi and Perdana, 2017) (Ernawati and Susanti, 2014).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim xantin oksidase terutama pada konsentrasi 300ppm dengan nilai inhibisi 86,105% dan memiliki nilai IC_{50} 101,80 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullahi, A. *et al.* (2012) 'Inhibitory activity of xanthine oxidase by fractions *Crateva adansonii*', *Journal of Acute Disease*, 1(2), pp. 126–129. doi: 10.1016/s2221-6189(13)60029-3.
- Choi HK, Mount DB, R. A. (2005) '2005', *Ann Intern Med*, 143(7), pp. 499–516.
- Cut Arsiyanti, Ahmad Syauqy, K. T. (2013) 'http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jnc', *Journal of Nutrition College*, 2(1), pp. 118–125.
- Ernawati, E. and Susanti, H. (2014) 'In Vitro Xanthine Oxidase Inhibition Activity Of The Sarang Semut (*Myrmecodia Tuberosa* (Non Jack) Bl .) Ethanol Extract', *Pharmaciana*, 4(1), pp. 15–22.
- Fatwa Maratus Sholihah (2014) 'Diagnosis and treatment of gouty arthritis', *Medical Journal Of Lampung University*, 3(7), pp. 39–45. doi: 10.1080/00325481.1949.11693819.
- Katzung B.G., Masters, S.B. & Trevor, A. . (2012) *Basic & Clinical Pharmacology*, 12 Ed. New York: McGraw-Hill.
- Sustrani L, Alam S, H. I. (2004) *Asam Urat: Informasi Lengkap untuk Penderita dan Keluarganya*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Suwandi, W. D. and Perdana, F. (2017) 'Jurnal Ilmiah Farmako Bahari Inhibition Activity Of Xanthine Oxidase Of Ethanol Extract Of Avocado Leaves With In Vitro Method', pp. 40–45.
- Thanh, M. *et al.* (2004) 'Biological & Pharmaceutical Bulletin Volume 27 issue 9 2004 [doi 10.1248/bpb.27.1414] Nguyen, Mai Thanh Thi; Awale, Suresh; Tezuka, Yasuhiro; Tran, Qu -- Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Viet', 27(9).
- Y, N. (2013) *Biokimia Dasar*. Bandung: Rekayasa Sains.