

Penentuan Derajat Toksisitas Akut Ekstrak Air Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Muda Pada Mencit Menggunakan *Purposed New Recommended Method*

Penulis

Laila Dinda Nadiyah*, Yuktiana Kharisma, Yuniarti

Afiliasi

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Indonesia

Kata Kunci

- ➔ Unripe *Carica papaya* L. fruit aqueous extract
- ➔ degree of acute toxicity
- ➔ LD₅₀

Diterima 7 September 2015

Direvisi 7 Desember 2015

Disetujui 4 Maret 2016

*Penulis korespondensi

Laila Dinda Nadiyah
Fakultas kedokteran
Universitas Islam Bandung,
Jalan Hariangbanga No.2
Tamansari-Bandung, West Java,
Indonesia
laila.dinda.nadiyah.xi.si.1@gmail.com

Abstrak

Papaya (*Carica papaya* L.) fruit was proven scientifically in having medicinal effects: such as gastroprotective, laxative, galactagogues, and antibacterial effect. Unripe papaya fruit contains saponin, alkaloid, tannin, flavonoid, triterpenoid, and quinone which may reveal toxicities as adverse effect when it consumed in high dose. The aim of this study is to determine the acute toxicity degree of unripe *Carica papaya* L. fruit aqueous extract in mice using proposed new recommended method. The acute toxicity degree conducted by determination of lethal dose₅₀ (LD₅₀) using new recommended method to 12 female mice. The subjects were divided into three stages and each mouse was given different dose of the extract. LD₅₀ calculated by mean of mortality lowest dose and non mortality highest dose then the result classified into the degree of acute toxicity. The study showed there was no mortality in all groups of the experimental subject. LD₅₀ of unripe *Carica papaya* L. aqueous extract was found >5000 mg/kg BW and classified as Practically Non Toxic (PNT) substance.

Pendahuluan

Obat tradisional Indonesia merupakan warisan budaya yang perlu dilestarikan, diteliti, dan dikembangkan. Penelitian di bidang tanaman obat penting untuk dilakukan guna memanfaatkan tanaman tersebut sebagai bahan pengobatan bagi manusia. Penelitian obat tradisional yang berasal dari bahan alam umumnya berupa jenis penelitian budidaya tanaman obat, analisis kandungan kimia, toksisitas, farmakodinamik, formulasi dan uji klinik (Dewoto 2007).

Salah satu jenis bahan alam yang secara umum dimanfaatkan oleh masyarakat adalah buah pepaya. Efek gastroprotektif, laksatif, laktagogum, dan antibakterial merupakan khasiat yang terbukti secara ilmiah dari buah pepaya (Aravind *et al.* 2013; Kharisma *et al.* 2011). Pepaya mengandung substansi beberapa fitokimia seperti saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, triterpenoid, dan kuinon (Iwuagwu *et al.* 2013). Konsumsi buah pepaya dengan kandungan substansi fitokimia dalam jumlah tinggi diketahui dapat menimbulkan efek samping bagi tubuh berupa efek toksik, sehingga uji toksisitas akut sebagai salah satu jenis uji preklinik perlu dilakukan untuk mengetahui



tingkat keamanan tanaman obat tradisional (Dewoto 2007; Iwuagwu *et al.* 2013)

Pada uji toksisitas akut kali ini digunakan buah pepaya muda yang memiliki kandungan nutrisi yang lebih tinggi dibandingkan buah yang sudah matang, berupa kandungan karbohidrat, lemak, protein, serat, vitamin C, mineral (kalsium, kalium, fosforus, magnesium), dan enzim (*papain, chymopapain*) (Iwuagwu *et al.* 2013). Pengamatan terhadap mortalitas hewan uji dilakukan selama 24 jam. Data yang diperoleh digunakan sebagai data awal evaluasi karakteristik toksik substansi fitofarmaka (BPOM 2014). Metode kuantitatif berupa penentuan *lethal dose*₅₀ (LD₅₀) merupakan metode tersering yang digunakan dalam penilaian uji toksisitas akut (Paramveer *et al.* 2010). Hasil LD₅₀ dapat menentukan kriteria penggolongan derajat toksisitas substansi fitofarmaka yang diklasifikasikan menjadi luar biasa toksik, sangat toksik, toksik sedang, toksik ringan, praktis tidak toksik, dan relatif tidak membahayakan (BPOM 2014).

Penelitian terbaru oleh Chinendu dkk menyebutkan metode *proposed new recommended* disarankan untuk digunakan dalam menentukan LD₅₀ suatu substansi fitofarmaka karena memiliki beberapa keunggulan dibanding metode sebelumnya berupa hasil akhir yang didapatkan lebih akurat, penggunaan jumlah hewan uji yang minimal, proses uji toksisitas yang relatif lebih sederhana dengan durasi penelitian yang lebih singkat (Chinedu *et al.* 2013). Penelitian tentang toksisitas akut ekstrak air buah pepaya muda pada tahun 2007 yang dilakukan oleh Oduola *et al.* (2007) menggunakan metode Karber menunjukkan hasil LD₅₀ sebesar 2520 mg/kgBB. Sementara itu, toksisitas akut ekstrak air buah pepaya muda dengan menggunakan metode *proposed new recommended* pada penelitian ini didapatkan LD₅₀ sebesar >5000 mg/kgBB. Kedua hasil tersebut menunjukkan toksisitas ekstrak air buah pepaya muda yang sangat ringan. Hingga saat ini di Indonesia belum ada laporan mengenai efek toksisitas ataupun efek samping yang membahayakan dari mengonsumsi buah pepaya. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan derajat toksisitas akut ekstrak air buah pepaya muda pada mencit menggunakan metode *proposed new recommended*.

Metode Penelitian

Bahan penelitian berupa buah pepaya muda varietas Paris yang tidak dikupas (termasuk biji) dengan umur buah sekitar 2.5-3 bulan, buah keras padat, kulit buah berwarna hijau, dan biji berwarna putih. Buah pepaya berasal dari perkebunan pepaya di Kecamatan Leles, Kabupaten Garut, Jawa Barat. Dua belas ekor mencit betina (*Mus musculus*) galur Swiss Webster usia 6-8 minggu dengan berat badan 25-30 gram dibagi ke dalam tiga tahap uji toksisitas yaitu uji toksisitas tahap satu menggunakan dosis tunggal pada konsentrasi rendah, uji toksisitas tahap dua menggunakan dosis tunggal pada konsentrasi sedang, dan uji toksisitas tahap tiga menggunakan dosis tunggal pada konsentrasi tinggi serta satu tahap uji konfirmasi digunakan sebagai subjek penelitian.

Penelitian eksperimental laboratorium ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung (UNISBA). Metode *proposed new recommended* dipilih untuk digunakan dalam penelitian uji toksisitas ini. Dosis tunggal pada tahap pertama sebesar 50, 200, 400, 800 mg/kg BB; tahap kedua sebesar 1000, 1500, 2000 mg/kg BB; dan tahap ketiga sebesar 3000, 4000, 5000 mg/kgBB (berat badan) masing-masing diberikan secara peroral.⁷ Pada tahap pertama, mencit diamati tingkah lakunya selama 1 jam setelah diberi sampel kemudian diamati selama 10 menit tiap dua jam selama 24 jam. Tingkah laku yang menunjukkan toksisitas dan mortalitas dicatat. Jika pada tahap pertama tidak didapatkan mencit yang mati maka dilanjutkan ke tahap kedua. Pada tahap kedua pengamatan yang dilakukan sama dengan tahap pertama. Jika pada tahap kedua tidak didapatkan mencit yang mati maka dilanjutkan ke tahap ketiga dan pengamatan yang dilakukan sama dengan tahap pertama dan kedua. Jika tidak didapatkan mencit yang mati maka dosis tertinggi pada uji toksisitas tahap ketiga digunakan sebagai dosis toksisitas sampel yang akan divalidasi melalui uji konfirmasi. Uji Konfirmasi dilakukan menggunakan dosis terendah yang tidak menimbulkan kematian. Apabila pada uji konfirmasi dengan dosis tertinggi sampel yaitu sebesar 5000 mg/kgBB tidak didapatkan mencit yang mati maka LD₅₀ dinyatakan sebesar >5000 mg/kgBB. Pada penelitian ini dosis uji yang digunakan mulai dari dosis terendah hingga tertinggi yang bertujuan untuk melihat batasan toksisitas mulai dari dosis terendah.



Hasil LD₅₀ dihitung melalui rumus yang telah ditentukan oleh metode *proposed new recommended* berupa hasil rata-rata penjumlahan dosis tertinggi ekstrak yang tidak menimbulkan kematian dan dosis terendah ekstrak yang menimbulkan kematian. Pada analisis akhir, nilai LD₅₀ yang didapat menentukan ekstrak air buah pepaya muda tersebut diklasifikasikan pada derajat toksisitas akut tertentu dari suatu substansi fitofarmaka.

$$LD_{50} = \frac{(M_0 + M_1)}{2}$$

Keterangan :

M₀ = dosis tertinggi dari ekstrak air buah pepaya muda yang tidak menimbulkan kematian.

M₁ = dosis terendah dari ekstrak air buah pepaya muda yang menimbulkan kematian.

Hasil

Pada penelitian ini diperoleh hasil berupa tidak

ada hewan uji yang mati ataupun tingkah laku mencit yang menunjukkan gejala toksisitas seperti piloereksi, *grooming*, *straub*, tremor, kejang, peningkatan *righting reflex*, dan eksoptalamus pada keseluruhan tahap uji toksisitas setelah 24 jam pemberian dosis tunggal ekstrak air buah pepaya muda (dosis 50 s.d. 5000 mg/kg BB). Pada uji konfirmasi hasil yang sama diperoleh berupa tidak ada hewan uji yang mati dan menunjukkan gejala toksisitas setelah pemberian dosis tertinggi ekstrak strsebesar 5000 mg/kg BB. LD₅₀ ekstrak air buah pepaya muda didapatkan sebesar >5000 mg/kg BB dan diklasifikasikan ke dalam kriteria derajat toksisitas akut sebagai substansi yang Praktis Tidak Toksik (PTT).

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, toksisitas akut ekstrak air buah pepaya muda menggunakan metode *proposed new recommended* didapatkan nilai LD₅₀ sebesar >5000 mg/kg BB. Hodge dan Sterner

Tabel 1. Toksisitas Hewan Coba Pada Beberapa Dosis Dalam Uji Tahap I, II, III, dan Uji Konfirmasi

Tahapan Uji	Dosis* (mg/kgBB per oral)	Toksisitas Akut	
		(Mati/Hidup)	(Gejala Toksisitas)
Uji Tahap I	50	Hidup	Tidak ada gejala piloereksi, <i>grooming</i> , <i>straub</i> , tremor, kejang, <i>righting reflex</i> , eksoptalamus.
	200	Hidup	
	400	Hidup	
	800	Hidup	
Uji Tahap II	1000	Hidup	Tidak ada gejala piloereksi, <i>grooming</i> , <i>straub</i> , tremor, kejang, <i>righting reflex</i> , eksoptalamus.
	1500	Hidup	
	2000	Hidup	
Uji Tahap III	3000	Hidup	Tidak ada gejala piloereksi, <i>grooming</i> , <i>straub</i> , tremor, kejang, <i>righting reflex</i> , eksoptalamus.
	4000	Hidup	
	5000	Hidup	
Uji Konfirmasi	5000	Hidup	Tidak ada gejala piloereksi, <i>grooming</i> , <i>straub</i> , tremor, kejang, <i>righting reflex</i> , eksoptalamus.
	5000	Hidup	

Keterangan: *Dosis ditentukan berdasarkan *proposed (new) recommended method* (Chinedu et al. 2013).

Tabel 2. Kriteria Penggolongan Derajat Toksisitas Sediaan Uji Berdasarkan Hodge dan Sterner

Tingkat Toksisitas	LD50 oral	Klasifikasi
1	<1 mg/kgBB	Luar biasa toksik
2	1-50 mg/kgBB	Sangat toksik
3	50-500 mg/kgBB	Toksik sedang
4	500-5000 mg/kgBB	Toksik ringan
5	5-15 g/kgBB	Praktis tidak toksik
6	>15 g/kgBB	Relatif tidak membahayakan

Dikutip dari : Peraturan Kepala Badan Pengawasan Makanan RI No. 7 Tahun 2014



mengklasifikasi nilai LD₅₀ ke dalam substansi yang derajat toksisitas akutnya bersifat Praktis Tidak Toksik (PTT).⁵ Saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, triterpenoid, dan kuinon dikonfirmasi sebagai substansi fitokimia pada ekstrak air buah pepaya muda setelah dilakukan skrining fitokimia dengan metode kualitatif.

Kandungan suatu substansi (toksin atau racun) berpotensi menimbulkan gejala toksisitas bagi tubuh manusia tergantung pada kuantitas zat metabolit tersebut pada obat tradisional. Penelitian mengenai toksisitas fitofarmaka penting dilakukan guna mengetahui efek samping yang bersifat fatal dan membahayakan (Hodgson 2004). Pada penelitian ini dimungkinkan kandungan substansi fitokimia tersebut berkontribusi terhadap efek toksisitas yang minimal dari ekstrak air buah pepaya muda. Efek yang minimal dapat terjadi akibat interaksi yang terjadi antar substansi fitokimia yang dapat bersifat saling menguatkan atau dikenal dengan efek positif ataupun efek yang saling melemahkan bahkan meniadakan aktivitas biologis substansi fitokimia satu sama lain atau yang dikenal dengan efek negative (Lila & Raskin 2005).

Faktor lain yang kemungkinan berpengaruh terhadap keberagaman kandungan substansi fitokimia yang dalam hal ini berperan sebagai zat yang mampu menimbulkan efek yang positif dan negatif pada tanaman obat adalah faktor eksternal dan internal dari tumbuhan obat tersebut. Faktor internal meliputi faktor genetik dan varietas tanaman sementara faktor eksternal berupa perbedaan letak geografis dan kondisi lingkungan. Pada penelitian ini digunakan pepaya varietas Paris yang memiliki keunggulan berupa kandungan lateks yang lebih tinggi dibanding dengan

varietas lain (Figueiredo *et al.* 2008).

Pada penelitian ini, penilaian faktor yang mempengaruhi variasi kandungan fitokimia pada tanaman obat kemungkinan diarahkan lebih terhadap faktor eksternal berupa perbedaan letak geografis yang saling terkait dalam mempengaruhi kondisi lingkungan tempat tanaman obat tersebut tumbuh dan berkembang. Buah pepaya yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari perkebunan pepaya di Leles, Kabupaten Garut. Suhu, kelembapan, intensitas cahaya, kandungan mineral, suplai air, dan karbondioksida diketahui sebagai komponen dari kondisi lingkungan yang mempengaruhi perkembangan tanaman obat (Ramakrishna & Ravishankar 2011).

Keberagaman substansi fitokimia, interaksinya dalam menimbulkan efek dari suatu tanaman obat, serta faktor eksternal maupun internal berpengaruh terhadap efek toksisitas yang timbul. Pada penelitian ini, dimungkinkan varietas buah pepaya yaitu varietas Paris, letak geografi serta kondisi lingkungan mempengaruhi kandungan substansi fitokimia dan interaksi yang terjadi diantara substansi tersebut. Interaksi yang terjadi antar substansi fitokimia pada ekstrak air buah pepaya muda ini kemungkinan belum cukup secara kuantitas maupun kualitas sehingga belum memadai untuk menimbulkan efek kematian pada hewan uji dan memberikan hasil akhir berupa derajat toksisitas akut yang tergolong Praktis Tidak Toksik (PTT).

Simpulan

Ekstrak air buah pepaya muda memiliki LD₅₀ pada mencit sebesar >5000 mg/kg BB menggunakan

Tabel 3. Kandungan Fitokimia Ekstrak Air Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Muda Secara Kualitatif

No.	Golongan Senyawa	Reaksi	Hasil Uji*	Keterangan
1	Alkaloid	Sampel + Dragendroff + CHCl ₃ + HCl	(+)	Terbentuk warna jingga
2	Flavonoid	Sampel + Mg + HCl + Amil Alkohol	(+)	Terbentuk warna merah bata
3	Saponin	Sampel + HCl (dikocok)	(+)	Terbentuk busa
4	Tannin	Sampel + pereaksi Steasny* (dipanaskan)	(+)	Terbentuk endapan merah
5	Quinon	Sampel + NaOH	(+)	Terbentuk warna coklat pekat
6	Steroid/ Triterpenoid	Sampel + Eter + H ₂ SO ₄ + Asam asetat glasial	(+)	Terbentuk warna merah, ungu, hitam

*Keterangan:

(+) = ada kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak

Pereaksi Steasny = campuran formaldehida 30% dan asam klorida pekat (HCl) dengan perbandingan 2:1



metode *proposed new recommended* dan dengan derajat toksisitas akut Praktis Tidak Toksik (PTT). Pemberian ekstrak air buah pepaya muda hingga dosis uji tertinggi tidak menimbulkan gejala toksisitas pada mencit. Saran pada penelitian ini adalah perlunya dilakukan uji toksisitas terhadap efek sistemik seperti pemeriksaan histopatologi organ, pemeriksaan biokimia berupa kadar enzim dan metabolit yang menunjukkan kerusakan organ, serta pemeriksaan komponen hematologi.

Ucapan Terima kasih

Terimakasih kepada pihak Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung (UNISBA) atas segala fasilitas yang diberikan selama penelitian ini, serta staff laboratorium atas bantuan teknis yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan lancar.

Daftar Pustaka

- Aravind G, Bhowmik D, Duraivel S, Harish G. 2013. Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 1(1):7–15.
- BPOM. 2014. Pedoman uji toksisitas nonklinik secara *in vivo*. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 7 Tahun 2014.
- Chinedu E, Arome D, Ameh FS. 2013. New recommended method for determining acute toxicity in animal models. *Toxicology International*. 20(3):224–6.
- Dewoto HR. 2007. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Maj Kedokt Indon*. 57(7):205–11.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 23(4):213–26.
- Kharisma Y, Ariyoga A, Sastramihardja HS. 2011. Efek ekstrak air buah pepaya (*Carica papaya* L.) muda terhadap gambaran histologi kelenjar mamma mencit laktasi. *MKB*.43(4):160–5.
- Hodgson E. 2004. Introduction to toxicology. In: Hodgson E, penyunting. A textbook of modern toxicology. Edisi ke-3. New Jersey (AS):Wiley & Sons, Inc.
- Iwuagwu M, Chukwuka KS, Uka UN. 2013. Evaluation of nutritional components of *Carica papaya* L. at different stages of ripening. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*. 6(4):13–6.
- Lila MA, Raskin I. 2005. Health-related interactions of phytochemical. *Journal of Food Science*. 70(1):21–7.
- Paramveer D, Chancal M, Paresh M, Rani A, Nema RK. 2010. Effective alternative methods of LD50 help to save number of experimental animals. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2(6):450–3.
- Oduola T, Adeniyi FAA, Ogunyemi EO, Bello IS, Idowu TO, Subair, HG. 2007. Toxicity studies on an unripe *Carica papaya* aqueous extract: biochemical and haematological effects in wistar albino rats. *Journal of Medicinal Plants Research*. 1(1):1–4.
- Ramakrishna A, Ravishankar GA. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior Landes Bioscience*. 6(11):1720–31.

