

# ***Potency of Etanolic Extract of Papaya Fruit (*Carica papaya L.*) as imunomodulator through Histology Observation of Spleen in Balb/C Mice.***

## **Potensi Ekstrak Etanol Buah *Carica papaya L.* sebagai Imunomodulator melalui Pengamatan Histologi Limpa pada Mencit Balb/C**

Ria Pravitasari<sup>1</sup>, Sri Tasminatun<sup>2</sup>, SN. Nurul Makiyah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran UMY, <sup>2</sup>Bagian Farmakologi FKIK UMY, <sup>3</sup>Bagian Histologi FKIK UMY

### **ABSTRACT**

*The diameter of the alba pulp of the spleen will be enlarge, when the body responds to allergens by increasing the activity of the immune system. Papaya fruits (*Carica papaya L.*) containing flavonoid that can be us as an imunomodulator. This study aims to determine the effect of *C. papaya* extract to the diameter size alba pulp of the spleen of Ovalbumin (OVA) induced Balb/C mice..*

*The research design was experimental in vivo animal test with post-test only control group design. Thirty male Balb/C mice,  $\pm 20$ grams weight, 8 weeks age, divided into six groups consists of a normal control, negative control, Methylprednisolone, and *C. papaya* extract treatment group (175mg/kg, 350mg/kg and 700mg/kg dose per day). The extract and Methylprednisolone are given for 28 days, while OVA is given on 15<sup>th</sup> and 22<sup>nd</sup> day (intraperitoneal,) and 23<sup>rd</sup> until 28<sup>th</sup> day (peroral). On the 29<sup>th</sup> day the mice are sacrificed and the duodenum are made into histological preparation with HE staining. The immunomodulator effect is assessed by the average of the diameter size alba pulp of the spleen under a light microscope. The data were analyzed using SPSS15 with one way ANOVA continued with Tukey test.*

*The average of the diameter size alba pulp of the spleen for control group is  $10,165 \pm 0,195$ ; negative control group is  $30,357 \pm 0,826$ ; methylprednisolone group is  $10,220 \pm 0,346$ ; 175mg/kgbb dose extract is  $14,956 \pm 1,057$ ; 350mg/kgbb dose extract is  $14,030 \pm 0,667$ ; and 700mg/kgbb dose extract is  $12,504 \pm 0,729$ . The conclusion of this study is *Carica papaya L.* extract treatment group (175mg/kg, 350mg/kg and 700mg/kg dose per day) has effect to the average of the diameter size alba pulp of the spleen in OVA-induced Balb/C mice significantly. 700mg/kg dose per day has the same effect with the methylprednisolone group.*

*Keywords: immunomodulator, *Carica papaya L.*, alba pulp of the spleen, ovalbumin*

### **Abstrak**

Diameter pulpa alba limpa akan membesar ketika tubuh merespon alergen dengan meningkatkan aktivitas dari sistem imun. Buah pepaya (*Carica papaya L.*) yang mengandung flavonoid dapat digunakan sebagai imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Carica papaya L.* terhadap diameter pulpa alba limpa mencit Balb/C yang diinduksi ovalbumin.

Desain penelitian ini adalah eksperimental *in vivo* pada hewan uji dengan *post-test only control group design*. Sebanyak 30 ekor mencit Balb/C jantan,  $\pm 20$ gram, 8 minggu, dibagi menjadi enam kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kontrol metilprednisolon, dan tiga kelompok ekstrak *C. papaya* (dosis 175mg/kgbb, 350mg/kgbb, dan 700mg/kgbb per hari). Ekstrak dan metilprednisolon diberikan selama 28 hari, dan ovalbumin (OVA) diberikan pada hari ke-15 dan ke-22 secara intraperitoneal, dan hari ke-23 hingga 28 peroral. Pada hari ke-29, mencit dikorbankan dan limpa diambil untuk dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE. Efek imunomodulator ekstrak dinilai dari rata-rata diameter pulpa alba limpa. Data dianalisis menggunakan SPSS15 dengan *one way ANOVA* dan dilanjutkan *Tukey test*.

Hasil penelitian menunjukkan diameter pulpa alba limpa kelompok kontrol adalah  $10,165 \pm 0,195\mu\text{m}$ , kontrol negatif adalah  $30,357 \pm 0,826\mu\text{m}$ , kontrol metilprednisolon adalah  $10,220 \pm 0,346\mu\text{m}$ , ekstrak dosis 175mg/kgbb adalah  $14,956 \pm 1,057\mu\text{m}$ , dosis 350mg/kgbb adalah  $14,030 \pm 0,667\mu\text{m}$ , dan dosis 700mg/kgbb adalah  $12,504 \pm 0,729\mu\text{m}$ . Dari hasil penelitian ini, pemberian ekstrak etanol buah pepaya (*Carica papaya L.*) dosis 175mg/kgbb/hari, 350 mg/kgbb/hari, dan 700mg/kgbb/hari mampu menurunkan diameter pulpa alba limpa mencit Balb/C yang diinduksi Ovalbumin secara signifikan. Ekstrak etanol dosis 700mg/kgbb memiliki efek setara dengan metilprednisolon.

Kata kunci: imunomodulator, *Carica papaya L.*, pulpa alba limpa, ovalbumin

## **Pendahuluan**

Berbagai jenis tanaman di daerah tropis mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan sebagai obat<sup>1</sup>. Selain sebagai obat, tanaman tropis berkhasiat sebagai imunomodulator<sup>2</sup>. Imunomodulator adalah zat yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh akibat gangguan radikal bebas, serangan bakteri ataupun virus, serta mampu membantu mencegah terjadinya influenza<sup>2</sup>.

Salah satu tanaman yang dapat dikembangkan adalah buah pepaya. Buah pepaya (*Carica papaya L*) merupakan buah yang murah, mudah didapat, dan juga dikenal sebagai bahan makanan, minuman berupa jus pepaya, bahan untuk perawatan, pakan ternak, dan obat-obatan secara empiris. Buah pepaya mengandung berbagai jenis enzim, vitamin, dan mineral. Kandungan vitamin A lebih banyak daripada wortel, vitamin C lebih tinggi daripada jeruk. Kandungan vitamin B kompleks dan vitamin E juga tinggi. Pepaya juga mengandung beta-karoten sebagai provitamin A. Selain itu pepaya juga mengandung banyak zat aktif salah satunya *flavonoid*<sup>3</sup>.

Senyawa-senyawa yang mempunyai prospek cukup baik yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun biasanya dari golongan flavonoid, limonoid, vitamin C, dan vitamin E (tokoferol). Hasil uji secara *in vitro* dari flavonoid golongan flavon dan flavonol telah menunjukkan adanya respon imun<sup>4</sup>.

Sebagai imunomodulator, kandungan flavonoid pada tumbuhan tidak semata-mata berefek meningkatkan sistem imun, namun juga menekan sistem imun apabila aktivitasnya berlebihan. Jika aktivitas sistem imun berkurang, maka flavonoid akan mengirimkan sinyal intraseluler pada reseptor sel untuk

meningkatkan aktivitasnya. Sebaliknya jika sistem imun kerjanya berlebihan, maka tumbuhan itu berkhasiat dalam mengurangi kerja sistem imun tersebut. Jadi tanaman obat yang mengandung flavonoid berfungsi sebagai penyeimbang sistem imun<sup>2</sup>.

Tubuh makhluk hidup sendiri memiliki kemampuan melawan berbagai jenis organisme atau toksin yang dapat merusak jaringan dan organ tubuh. Kemampuan ini disebut kekebalan yang merupakan hasil produksi dari jaringan limfoid di dalam tubuh<sup>5</sup>. Sistem jaringan limfoid dapat diklasifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu organ limfoid primer dan sekunder<sup>6</sup>. Organ limfoid primer merupakan organ yang berfungsi mengatur produksi dan diferensiasi limfosit dan tempat pengaturan perkembangan limfosit. Sedangkan organ limfoid sekunder merupakan organ limfoid yang responsif terhadap stimulasi antigenik atau tempat interaksi limfosit-antigen dan pengontrolannya. Tizard dan Guyton mengelompokkan limpa sebagai salah satu organ limfoid sekunder. Limpa adalah jaringan limfoid yang membentuk organ paling besar dalam tubuh hewan. Limpa memiliki kapsula dan trabekula yang mengandung otot polos yang berperan memobilisasikan darah bila aktivitas fisiologik meningkat<sup>7</sup>. Peningkatan aktivitas dari sistem imun pada limpa, dapat diketahui dari ukuran diameter pulpa alba limpa. Diameter pulpa alba limpa yang lebih besar menunjukkan peningkatan aktivitas sistem imun pada limpa<sup>8</sup>.

## **Bahan dan Cara**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental *in vivo* untuk menguji potensi ekstrak buah pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai imunomodulator pada hewan uji dengan *posttest only control group design*. Subjek penelitian adalah hewan uji berupa mencit *Balb/C* jantan, umur 8 minggu, berat badan  $\pm 20$  gram dan diperoleh dari UPHP (Unit Pengelolaan Hewan Percobaan) UGM.

Penentuan jumlah sampel yang diperlukan dalam penelitian ini menggunakan perhitungan dengan rumus Federer<sup>9</sup>.

Sebagai variabel bebas yaitu dosis *Carica papaya L.*, variabel tergantung adalah ukuran diameter pulpa alba limpa mencit *Balb/C* dan variabel terkendali yaitu galur mencit *Balb/C*, berjenis kelamin jantan, usia 8 minggu dan berat badan  $\pm 20$  gram yang dipelihara dalam kondisi kandang, pencahayaan yang sama, dan pakan BR I.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa spuit injeksi tuberkulin 1 cc, alat biopsy, gunting bedah, seperangkat alat pembuatan sediaan histologi dengan pewarnaan HE, *deck glass*, kapas, mikroskop cahaya dan optilep.

Bahan penelitian yang digunakan adalah buah pepaya (*Carica papaya L.*), metilprednisolon, Ovalbumin (OVA) dengan merk Merck, pakan mencit BR I, etanol 80% untuk pembuatan ekstrak, formalin 10% untuk pengawetan organ setelah pembedahan, alkohol 70 %, akuades, seperangkat bahan pengecatan Hematoxylin Eosin.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada mulai Februari 2015 sampai Juli 2015. Pelaksanaannya

diawali dengan pembuatan ekstrak etanol *Carica papaya L.* Ekstrak etanol *Carica papaya L.* diperoleh dari buah pepaya matang yang diiris tipis, dikeringkan dengan menggunakan *freeze drying*, dihaluskan hingga menjadi bubuk atau simplisia dan kemudian di maserasi dengan etanol 80%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena etanol bersifat semi polar, artinya dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar. Flavonoid yang merupakan senyawa polar diharapkan larut dalam pelarut tersebut.

Selanjutnya mencit dikelompokkan dalam 6 kelompok, 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok kontrol, kelompok C.papaya dosis 175mg/kgbb/hari, kelompok C.papaya dosis 350mg/kgbb/hari, kelompok C.papaya dosis 700mg/kgbb/hari dan kelompok kontrol positif. Sebagai uji efek antialergi, mencit disensitisasi dengan OVA secara intraperitoneal dan sebagai kelompok kontrol positif adalah pemberian metilprednisolon.

Mencit dikorbankan 24 jam setelah akhir pemaparan OVA lalu kulit abdomen dibuka dengan gunting, sehingga tampak lapisan mesenterium dan cavum peritoneum beserta isinya dapat terlihat dengan jelas. Ambil bagian limpa lalu disimpan dalam formalin 10 % kemudian dibuat preparat histologi yang dicat menggunakan *Hematoxylin Eosin* (HE). Preparat diamati sebanyak 10 lapang pandang dengan perbesaran 10x, pengamatan dilakukan pada diameter pulpa alba limpa dengan menggunakan alat ukur yaitu mikrometer. Diameter pulpa alba diukur secara vertikal dan horizontal kemudian dirata-rata.

Data penelitian ini kemudian diuji normalitas distribusinya dengan menggunakan *Shapiro Wilk*. Kemudian data dianalisis dengan *one way ANOVA*

dan dilanjutkan Tukey *test* untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan mencit.

### Hasil Penelitian

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan mencatat diameter pulpa alba limpa

Tabel 1. Rata-rata diameter pulpa alba limpa ( $\mu\text{m}$ )

No.	Kelompok	Rata-rata $\pm$ SE
1.	K-N	10,165 $\pm$ 0,195 <sup>a</sup>
2.	K-OVA	30,357 $\pm$ 0,826 <sup>b</sup>
3.	K-OVA-CP175	14,956 $\pm$ 1,057 <sup>c</sup>
4.	K-OVA-CP350	14,030 $\pm$ 0,667 <sup>c</sup>
5.	K-OVA-CP700	12,504 $\pm$ 0,729 <sup>ac</sup>
6.	K-OVA-MP	10,220 $\pm$ 0,346 <sup>a</sup>

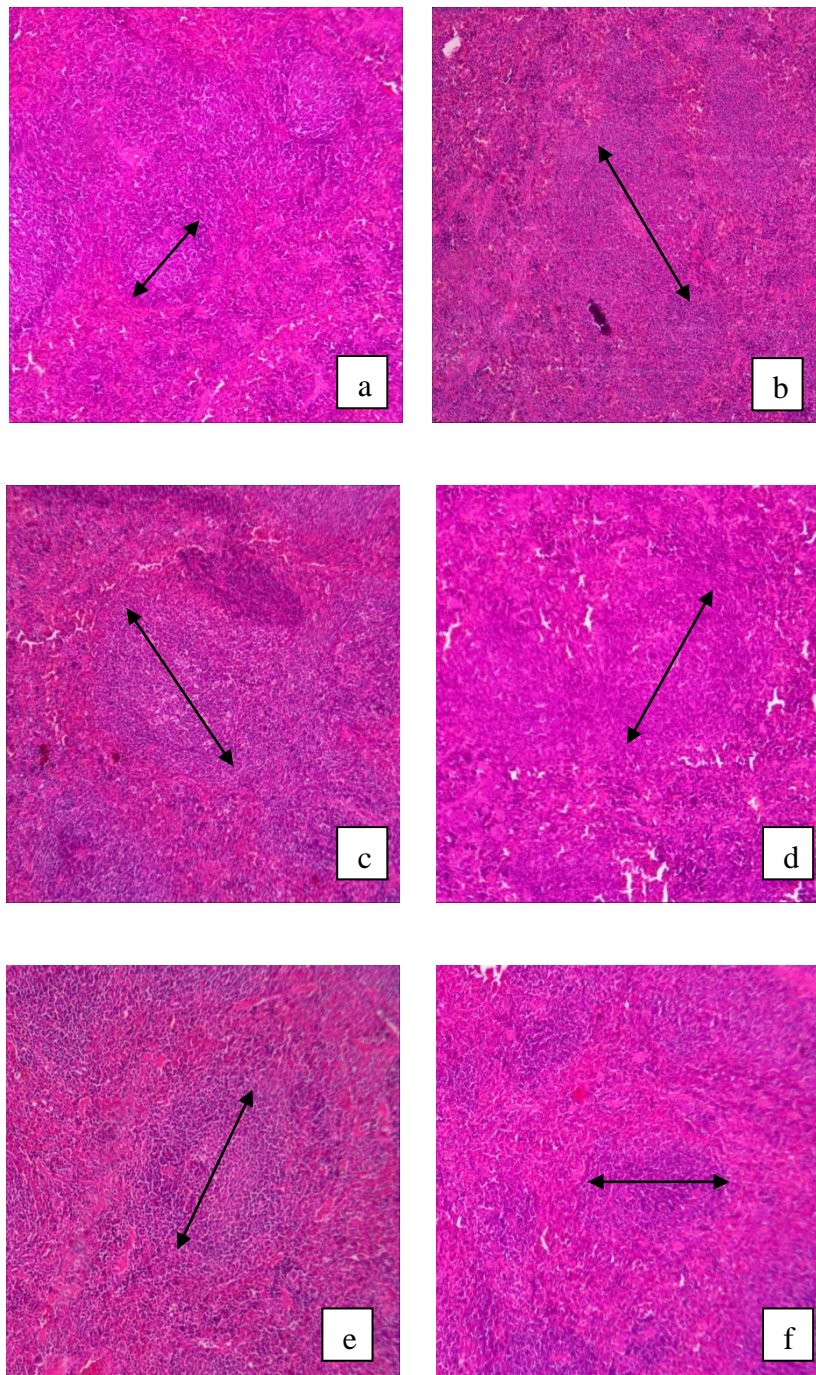
Pada Tabel 1 didapatkan rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa tertinggi pada kelompok kontrol negatif sebesar 30,357  $\pm$  0,826  $\mu\text{m}$ . Rata-rata terendah terdapat pada kelompok kontrol normal sebesar 10,165  $\pm$  0,195  $\mu\text{m}$ . Sedangkan pada kelompok dengan perlakuan berbagai dosis (175mg; 350mg; 700mg) dan kontrol positif memiliki rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif (K-OVA).

Setelah didapatkan data rata-rata diameter pulpa alba limpa kemudian data diuji menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan  $\leq 50$ . Uji

*Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai Sig. semua kelompok  $> 0,05$  yang berarti data diameter pulpa alba limpa terdistribusi normal. Selain itu pada uji varians diperoleh nilai  $p= 0,008 (> 0,05)$  menunjukkan bahwa varians data sama maka uji statistik selanjutnya menggunakan *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna dari rata-rata diameter pulpa alba limpa keenam kelompok tersebut. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan nilai  $p= 0,00 (p < 0,005)$ , berarti terdapat perbedaan rata-rata diameter pulpa alba limpa yang signifikan atau bermakna.

Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang bermakna maka dilakukan analisis *Post-Hoc* menggunakan Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*). Hasil dari analisis *Post-Hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa antara kelompok kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif dengan  $p= 0,00$ . Nilai  $p \leq 0,05$  menandakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok.

Rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan ( $p = 0,00$ ). Hal ini menunjukkan bahwa metilprednisolone menurunkan ukuran diameter pulpa alba limpa mencit yang disensitisasi ovalbumin.



Gambar 1. Histologi limpa mencit dengan perwarnaan HE perbesaran 40x  
a. K-N, b. K-OVA, c. K-OVA-CP175, d. K-OVA-CP350,  
e. K-OVA-CP700, f. K-OVA-MP, diameter pulpa alba ditunjukkan  
dengan panah.



Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang bermakna maka dilakukan analisis *Post-Hoc* menggunakan Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*). Hasil dari analisis *Post-Hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa antara kelompok kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif dengan  $p = 0,00$ . Nilai  $p \leq 0,05$  menandakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok. Rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan ( $p = 0,00$ ). Hal ini menunjukkan bahwa metilprednisolone menurunkan ukuran diameter pulpa alba limpa mencit yang disensitisasi ovalbumin.

Hasil analisis data yang lain, kelompok kontrol normal (K-N) terhadap kelompok ekstrak dosis 700mg/kgbb (K-OVA-CP700) dan kelompok metilprednisolon (K-OVA-MP) tidak memiliki perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Hal ini dikarenakan pemberian ekstrak dosis 700mg/kgbb dan metilprednisolon dapat menekan aktivitas sistem imun m pada limpa sehingga memiliki rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa yang hampir sama dengan mencit yang hidup normal.

## **Pembahasan**

Penelitian ini menunjukkan bahwa ovalbumin sebagai pemicu radang dapat meningkatkan rata-rata ukuran diameter pulpa alba limpa pada kelompok kontrol negatif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol normal yang tidak disensitisasi dengan ovalbumin. OVA secara inhalasi pada model binatang alergi

terbukti menyebabkan inflamasi alergi dan perubahan struktur saluran napas<sup>10</sup> dan ovalbumin juga digunakan secara intraperitoneal sebagai model alergi pencernaan untuk meningkatkan jumlah relatif sel B220+IgE+ pada organ *lymph node* mencit BALB/C<sup>11</sup>.

Metilprednisolon adalah derivat dari prednisolon yang mempunyai kelebihan sebagai anti inflamasi yang sangat kuat dengan efek samping yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan steroid yang lain. Efek retensi air dan sodium sangat minimal, efek iritasi lambung juga minimal. Metilprednisolon juga menghambat fagositosis, pelepasan enzim lisosomal, sintesis dan atau pelepasan beberapa mediator kimia inflamasi<sup>12</sup>

Pada buah pepaya terkandung senyawa-senyawa yang cukup baik dalam meningkatkan aktivitas sistem imun yaitu, flavonoid, limonoid, vitamin C, dan vitamin E. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang terdapat pada hampir seluruh tanaman. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antibakteri karena memiliki gugus hidroksil, aktivitas alergi dan tumor sitotoksik. Aktivitas flavonoid sebagai antiinflamasi melalui denaturasi protein. Pada konsentrasi tinggi, flavonoid dapat menghambat pelepasan asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari membrane dengan memblok jalur siklooksigenase, lipooksigenase, dan fosfolipase A2. Sedangkan pada konsentrasi rendah, flavonoid hanya memblok jalur lipooksigenase. Rendahnya kadar asam arakhidonat akan mengurangi jumlah mediator inflamasi seperti prostaglandin, prostasiklin, endoperoksida, leukotrien, dan lain-lain sehingga proses inflamasi akan terhambat<sup>13</sup>.

## Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol buah pepaya (*Carica papaya L.*) dosis 175mg/kgbb/hari, 350 mg/kgbb/hari, dan 700mg/kgbb/hari mampu menurunkan diameter pulpa alba limpa mencit Balb/C yang diinduksi Ovalbumin secara signifikan. Ekstrak etanol dosis 700mg/kgbb/hari memiliki efek setara dengan metilprednisolon.

## Saran

Perlu dilakukan penelitian uji toksisitas akut, sub kronis dan kronis pada ekstrak *Carica papaya L.*

## Daftar Rujukan

1. Sukara, E. (2000). *Sumber Daya Alam Hayati Dan Pencarian Bahan Baku Obat (Bioprospeking)*. Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik. Puslitbang Biologi LIPI, Bogor : 31-37.
2. Suhirman S dan Winarti C. (2010). *Prospek dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Imunomodulator*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik & Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.
3. Gommay, D. R. (2013). *Uji efektifitas pemberian ekstrak daun pepaya (carica papaya) terhadap jumlah sel osteoklas tulang alveolar tikus wistar jantan yang diinduksi Porphyromonas Gingivalis*.
4. Hollman, P.C.H, M.G.L. Hertog and M.B. Katan, (1996). *Analysis and Health Effects of Flavo-noids*. *Food Chemistry*, 57 (1) : 43-46.
5. Guyton AC dan Hall. J. E. (2008). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.Edisi 11*. Jakarta: EGC.
6. Tizard IR. (2009). *Veterinary Immunology an Introduction*. 8th Ed. Masduki P, Penerjemah. Surabaya: Airlangga University Press.
7. Aziza, R. Z. (2010). Gambaran Histomorfologi hati, usus halus, dan limpa pada tikus hiperglikemia yang diberi Ekstrak Sambiloto.
8. Makiyah, S. N. N., Rainy I, Arie N (2014). Pengaruh Paparan Sinar Ultra Violet terhadap Sistem Imun (Histologi Limpa) dan Indeks Mitotik pada Mencit. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(1), pp-17.
9. Prinarbaningrum, A. (2015). Derajat Peradangan Duodenum Mencit Balb/C setelah Pemberian Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) Diinduksi Ovalbumin. Karya Tulis tidak dipublikasikan. FKIK, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
10. Barlianto, W., Kusuma, M. S. C., Karyono, S., & Mintaroem, K. (2013). Pengembangan Model Mencit Alergi dengan Paparan Kronik Ovalbumin. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 25(1), pp-1.
11. Christina, Y. I., & Rifa'i, M. (2014). Aktivitas Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu (*Dioscorea alata L.*) terhadap Sel B220+ IgE+ pada Mencit BALB/c Model Alergi Pencernaan. *Biotropika*, 2(2), 98-102.
12. Nurudhin, A. (2010). *Pengaruh Metilprednisolon Dosis Rendah Terhadap Kadar Hs-Crp Dan C3 Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronis Stadium V Pasca Hemodialisis* (Doctoral Dissertation, Fakultas Kedokteran).

13. Dimas, U. B. S., Arina, Y. M. D. A., & Amin, M. N. (2014). Pengaruh Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Periodontitis (The effect of papaya leaves extract to the number of lymphocytes cells to the male-wistar rat's gingiva that undergo periodontitis). *Pustaka Kesehatan*, 2(1), 50-57.