

Effect of Etanolic Extract of Carica papaya L. Fruit to Duodenal Goblet Cell Amount of Ovalbumin-induced Balb/C Mice

Efek Ekstrak Etanol Buah *Carica papaya L.* terhadap Jumlah Sel Goblet Duodenum Mencit Balb/B Diinduksi Ovalbumin

Belva Prima Geniosa¹, Sri Tasminatun², SN Nurul Makiyah³

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY, ²Bagian Farmakologi FKIK UMY, ³Bagian Histologi FKIK UMY

Abstract

This study aims to determine the effect of C. papaya extract to the number of goblet cells in the duodenum 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, ±20grams 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 were given for 28 days, while OVA is given on 15th and 22nd day (intraperitoneal,) and 23rd until 28th day (peroral). On the 29th day the mice were sacrificed and the duodenums were made into histological preparation with HE staining. The anti-inflammatory effect is assessed by the average number of goblet cells per 100 epithelial cells in the duodenal villi under a light microscope. The data were analyzed using SPSS15 with Kruskal-Wallis continued with Mann-Whitney.

The average number of goblet cells per 100 epithelial cells for normal control group: 9,80±0,44; negative control group: 10,58±0,46; methylprednisolone group: 7,70±0,34; 175mg/kgBW dose extract: 8,33±0,31; 350mg/kgBW dose extract: 9,28±0,38; and 700mg/kgBW dose extract: 8,04±0,38. They have a significant difference (p<0.05) and the treatment groups have low average±SE. The methylprednisolone group has the lowest average±SE of goblet cells number per 100 epithelial cells, but 350mg/kgBW group has the closest average to normal control group. In conclusion, C.papaya extract has effect to the average number of goblet cells per 100 epithelial cells in OVA-induced Balb/C mice.

Keywords: Carica papaya, duodenum, goblet cells, Ovalbumin

Intisari

Respon tubuh terhadap radang pada saluran pencernaan adalah meningkatnya proliferasi sel goblet untuk melindungi jaringan dengan menghasilkan mukus. Buah pepaya (*Carica papaya*) memiliki efek antiinflamasi karena kandungan flavonoid dan vitamin C. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *C. papaya* terhadap jumlah sel goblet duodenum mencit Balb/C yang diinduksi Ovalbumin.

Desain penelitian ini adalah eksperimental *in vivo* pada hewan uji, *post-test only control group design*. Sebanyak 30 ekor mencit Balb/C jantan, ±20gram, 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 duodenum diambil untuk dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE. Efek antiinflamasi ekstrak dinilai dari rata-rata jumlah sel goblet per 100 sel epitel pada vili duodenum. Data dianalisis menggunakan SPSS15 dengan Kruskal-wallis dilanjutkan Mann-Whitney.

Rata-rata jumlah sel goblet per 100 sel epitel kelompok kontrol normal: 9,80±0,44; kontrol negatif: 10,58±0,46; kontrol metilprednisolon: 7,70±0,34; ekstrak dosis 175mg/kgBB: 8,33±0,31; dosis 350mg/kgBB: 9,28±0,38; dan dosis 700mg/kgBB: 8,04±0,38. Analisis Kruskal-wallis menunjukkan data memiliki perbedaan bermakna (p<0,05) dan kelompok perlakuan memiliki rata-rata±SE yang rendah. Kelompok kontrol metilprednisolon memiliki rata-rata jumlah sel goblet yang terendah, namun kelompok dosis 350mg/kgBB memiliki rata-rata paling mendekati kontrol normal. Kesimpulannya bahwa ekstrak etanol buah *C.papaya* berpengaruh terhadap rata-rata jumlah sel goblet per 100 sel epitel pada duodenum mencit Balb/C yang diinduksi OVA.

Kata kunci: *Carica papaya*, duodenum, Ovalbumin, sel goblet

Pendahuluan

Penyakit radang saluran pencernaan dapat disebabkan oleh infeksi virus, bakteri maupun alergi. Gejala utama yang ditimbulkan adalah diare berulang yang dapat berbentuk cair atau lunak dan mengandung darah atau mukus¹. Pada duodenum, yang merupakan saluran usus halus pertama setelah lambung, radang dapat memicu kerusakan epitel, edema vili, dan proliferasi sel Goblet².

Saluran pencernaan memiliki sistem pertahanan berupa enzim dan mukosa. Saluran ini diselimuti oleh mukus yang memiliki struktur berbeda pada lambung, usus dan kolon. Mukus yang terdapat pada lambung dan usus adalah terutama musin MUC2 dan MUC5AC. Musin tersebut berfungsi untuk membatasi bakteri, protozoa atau antigen untuk mencapai epitel dan plak Peyer dalam saluran pencernaan³. Mukus juga berkemampuan untuk mempermudah meluncurnya makanan di sepanjang saluran pencernaan dan mencegah ekskorasi epitel⁴.

Sel goblet pada usus memiliki fungsi sebagai pertahanan dengan sekresi senyawa musin khususnya MUC2^{5,6}. Sebagai respon terhadap radang, sel goblet akan menghasilkan musin lebih banyak untuk pertahanan epitel. Pada proses peradangan, sel Th2 melepaskan sitokin yang kemudian merangsang proliferasi dan hiperplasia sel goblet, serta pelepasan mucus yang bersifat *viscoelastic gel*. Sitokin proinflamatori (IL-1, IL-6, dan TNF alfa) dengan cepat meningkatkan pengaturan ekspresi gen musin (MUC) dan merangsang pelepasan musin intestinal⁷.

Pepaya (*Carica papaya L.*) selain mudah didapat dan murah, mengandung zat yang dapat menjadi agen antiinflamasi, yakni flavonoid, betakaroten dan vitamin C⁸.

Kandungan flavonoid yang terdapat dalam pepaya adalah sebesar 57.70 ± 2.11 mg rutin/100g berat kering⁹. Flavonoid merupakan senyawa yang terdapat pada zat warna tumbuh-tumbuhan dan memiliki potensi dalam menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase dari metabolisme asam arakhidonat sehingga menghambat pembentukan prostaglandin^{10,11,12}.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental *in vivo* pada hewan uji *post-test only control group design*. Penelitian ini menggunakan hewan uji mencit Balb/C jantan, berat badan ± 20 g, umur 8 minggu. Mencit Balb/C diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Mencit *Balb/C* diberi perlakuan aklimatisasi, dipelihara dalam kondisi kandang, pencahayaan yang sama, diberi pakan BR I.

Penentuan jumlah sampel yang diperlukan dihitung dengan menggunakan rumus Federer^{13,14}. Setelah 24 mencit diadaptasi selama 1 minggu, kemudian mencit dibagi menjadi 6 kelompok secara *simple random sampling*, masing-masing terdiri dari 4 ekor.

Sebagai variabel bebas yakni dosis ekstrak *Carica papaya L* 175mg/kgBB/hari, 350mg/kgBB/hari dan 700mg/kgBB/hari.; sedang variabel tergantung adalah jumlah sel goblet duodenum. Variabel terkontrol adalah mencit Balb/C jantan, umur 8 minggu, berat 20 gram yang dilakukan aklimatisasi, dipelihara dalam kondisi kandang, pencahayaan yang sama, pakan standar BR-I.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa spuit injeksi tuberculin 1 cc, alat biopsi, gunting bedah, seperangkat alat pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan HE, kapas, kandang mencit diberi kode, mikroskop cahaya dan optilab.

Bahan penelitian yang digunakan adalah buah *Carica papaya L.*; mencit galur Balb/C umur 8 minggu berat 20 gram; pakan dan minum *adlibitum*; etanol 80% untuk pembuatan ekstrak; alkohol 70%; akuades; OVA dengan merek Merck; formalin 10% untuk pengawetan organ setelah pembedahan; pengecatan *hematoxylin eosin*; metilprednisolon.

Buah *Carica papaya L.*, berwarna jingga merata sebanyak 10 kg dicuci bersih. Buah ditiriskan dan dipotong tipis. Potongan buah selanjutnya masukkan dalam mesin *freeze drying* agar kering. Setelah potongan buah benar-benar kering mudah dipatahkan dengan tangan, buah dihaluskan dengan *blender*. Buah kering yang sudah menjadi serbuk atau simplisia tersebut kemudian siap untuk dimaserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut etanol 80% sampai terendam seluruhnya selama ± 24 jam, kemudian disaring dengan kertas penyaring. Residu kembali dimaserasi lagi dengan cara yang sama. Ekstrak hasil maserasi atau filtrat yang dihasilkan ditampung menjadi satu dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 45-50^o, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental buah *Carica papaya L.*^{14,15}.

Mencit Balb/C sebanyak 24 ekor, umur 8 minggu dengan berat ± 20 gram dibagi menjadi 6 kelompok. Mencit dipelihara dan diberi makan dan minum yang sama yaitu BR I. Sebelum diberikan perlakuan untuk penelitian, mencit diadaptasikan

selama 1 minggu terlebih dahulu di kandang pemeliharaan. Selama penelitian mencit ditimbang setiap minggunya untuk mengetahui perkembangan berat badan.

Keenam kelompok tersebut diberikan perlakuan sebagai berikut : kelompok I tanpa diberi perlakuan sebagai kontrol normal (K-N); kelompok II sebagai kontrol hanya disensitisasi dengan OVA saja (K-OVA); kelompok III diberi perlakuan ekstrak etanol buah *C. papaya* dosis 175mg/kgBB/hari dan disensitisasi dengan OVA (K-OVA-CP175); kelompok IV diberi perlakuan ekstrak etanol buah *C. papaya* dosis 350mg/kgBB/hari dan disensitisasi dengan OVA (K-OVA-CP350); kelompok V diberi perlakuan ekstrak etanol buah *C. papaya* dosis 700mg/kgBB/hari dan disensitisasi dengan OVA (K-OVA-CP700); dan kelompok VI sebagai kontrol positif dengan pemberian metilprednisolon peroral dengan dosis 0.13 mg/mencit/hari dan disensitisasi dengan OVA (K-OVA-MP)¹⁷.

Perlakuan terhadap hewan uji pada penelitian ini meliputi pemberian ekstrak *C. papaya* dilakukan peroral selama 28 hari dan sensitisasi mencit Balb/C menggunakan OVA secara intraperitoneal dan peroral. Sensitisasi larutan OVA secara intraperitoneal dilakukan pada hari ke-15 dan hari ke-22, kemudian peroral pada hari ke-23 hingga ke-28 dengan dosis yang sama. Larutan OVA dibuat dengan melarutkan 2,5mg OVA pada 7,75ml natrium klorida, kemudian diberikan dengan dosis 0,15cc/mencit¹⁸.

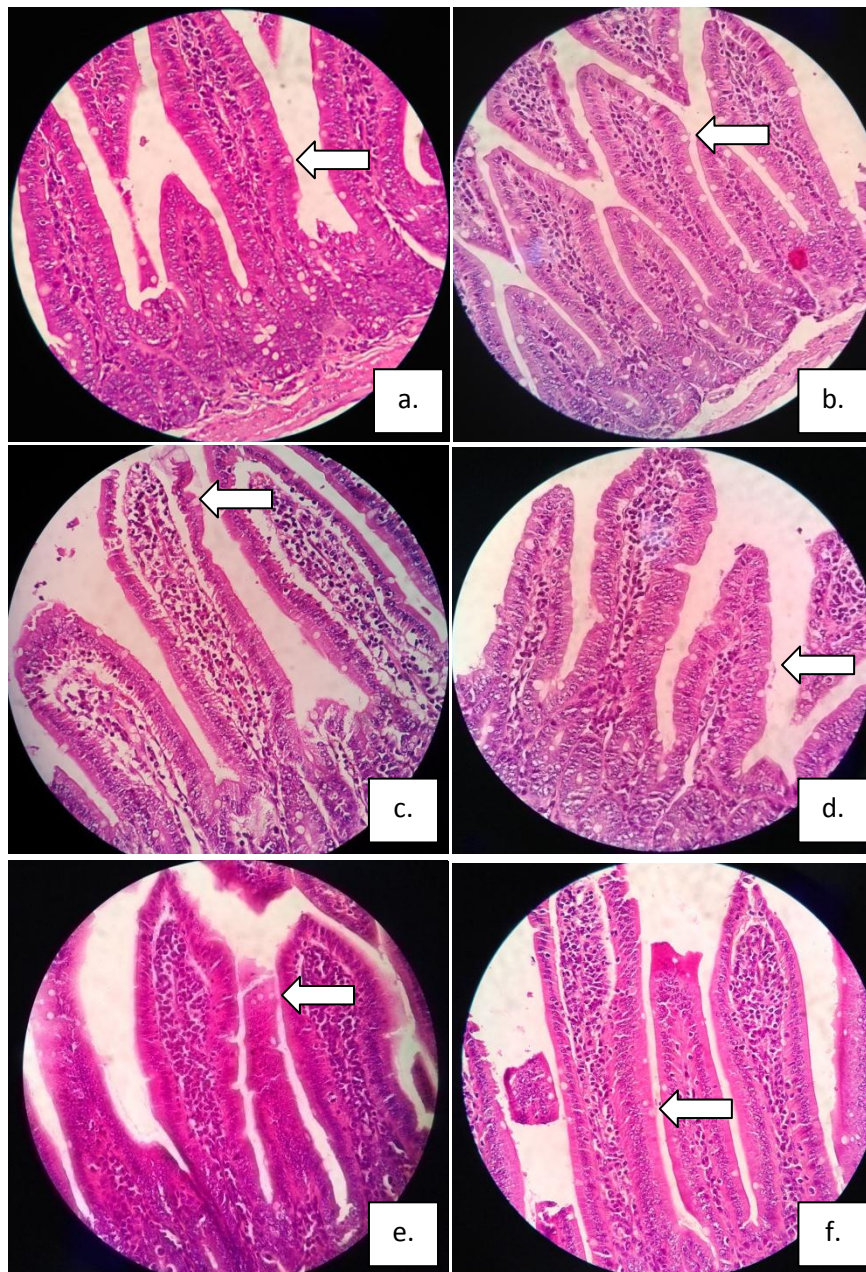
Mencit dikorbankan 24 jam setelah pemaparan OVA yang terakhir. Kulit abdomen mencit dibuka dengan gunting, sehingga tampak lapisan mesenterium dan cavum peritoneum beserta isinya dapat terlihat dengan jelas. Bagian saluran

pencernaannya yaitu duodenum (usus halus) bagian proksimal, distal dari bagian pylorus lambung diambil lalu disimpan dalam formalin 10% kemudian dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE.

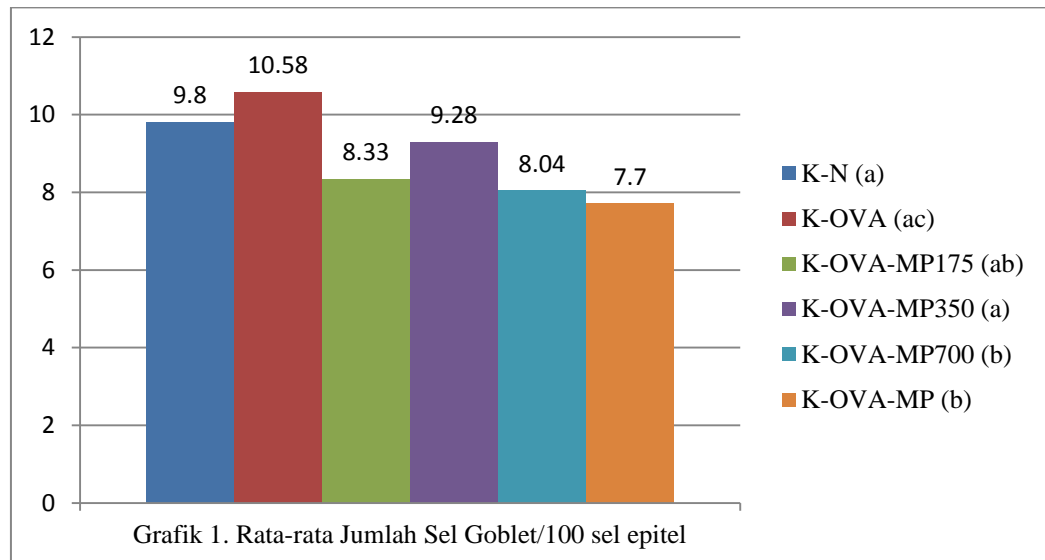
Pengamatan preparat histologi dilakukan pada perbesaran 400x dengan menghitung jumlah sel goblet tiap 100 sel epitel pada 20 vili duodenum dalam 10 lapang pandang tiap sampel hewan uji. Data penelitian ini berupa rata-rata jumlah sel goblet per 100 sel epitel yang diuji normalitas distribusinya dengan menggunakan *Shapiro Wilk*. Data dianalisis dengan SPSS 15 menggunakan metode *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Mann-Whitney*.

Hasil Penelitian

Hasil uji statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* menunjukkan rata-rata jumlah sel goblet memiliki nilai $p=0,00$ ($p<0,05$), artinya rata-rata jumlah sel goblet duodenum mencit Balb/C menunjukkan perbedaan signifikan. Pada Tabel 1 didapatkan rata-rata jumlah sel goblet/100 sel epitel tertinggi pada K-OVA sebesar $10,58 \pm 0,463$. K-OVA memiliki rata-rata jumlah sel goblet yang lebih tinggi dari K-N ($9,8 \pm 0,449$) meskipun perbedaannya tidak signifikan.



Gambar 1. Histologi mukosa duodenum mencit dengan perwarnaan HE perbesaran 400x a. K-N, b. K-OVA, c. K-OVA-CP175, d. K-OVA-CP350, e. K-OVA-CP700, f. K-OVA-MP, sel goblet ditunjukkan dengan tanda panah.



Rata-rata terendah terdapat pada K-OVA-MP, yakni diberi obat kortikosteroid metilprednisolon sebesar $7,700 \pm 0,349$. K-OVA-MP memiliki rata-rata lebih rendah dari K-N, K-OVA-CP175 dan K-OVA-CP700 secara signifikan dan dari K-OVA-CP350 walaupun tidak signifikan. Pada akhir penelitian, dua ekor mencit yang diberi sediaan metilprednisolon mati.

Rata-rata jumlah sel goblet per 100 sel epitel pada K-OVA-CP175, K-OVA-CP350 dan K-OVA-CP700 lebih rendah daripada K-OVA dan perbedaannya tidak signifikan pada K-OVA-CP350. Kelompok ekstrak *C. papaya* juga memiliki rata-rata jumlah sel goblet sedikit lebih rendah dari kelompok normal. Pemberian ekstrak *C. papaya* dosis 175mg/kgBB dan 700mg/kgBB dapat menekan proliferasi sel goblet duodenum sebagaimana metilprednisolon, namun jumlahnya jauh lebih rendah dibanding K-N. Pemberian ekstrak *C. papaya* dosis 350mg/kgBB menekan proliferasi sel goblet hingga sedikit lebih rendah dari K-N.

Pembahasan

Pemberian OVA menyebabkan peradangan saluran cerna mencit. Sensitisasi OVA pada duodenum memberikan efek imunitas infiltrasi dan degranulasi sel mast¹⁹. Radang dimulai dengan rusaknya jaringan akibat paparan zat tertentu. Responnya yaitu dilatasi dan peningkatan permeabilitas kapiler di sekitar jaringan. Permeabilitas meningkat karena terjadi kontraksi sel endotel sehingga terbentuk celah. Volume darah yang membawa sel darah putih (leukosit) menuju daerah radang bertambah, kemudian muncul gejala panas dan merah. Leukosit beragregasi di dinding pembuluh darah menyebabkan aliran darah melambat. Plasma darah melewati dinding pembuluh darah yang permeabel bergabung dengan leukosit membentuk eksudat radang. Eksudat tersebut menyebabkan pembengkakan jaringan dan rasa nyeri. Rasa nyeri juga disebabkan oleh adanya mediator bradikinin dan prostaglandin^{20,21,22}.

Radang pada saluran cerna menyebabkan aktifnya sistem pertahanan berupa sel goblet, sel epitel, makrofag dan sel dendritik. Pertahanan mukosa yang diinisiasi oleh sel goblet melindungi jaringan dari zat-zat toksik yang tertelan. Lini pertama pertahanan mukosa adalah produksi mukus secara kontinyu untuk melapisi sel-sel epitel agar tidak terpapar zat tersebut. Musin terkandung dalam mukus yang diproduksi oleh sel goblet atau sel piala, oleh karena itu apabila terjadi radang maka jumlah sel goblet akan meningkat untuk menghasilkan musin yang lebih banyak²³.

Mukus selain berfungsi untuk melindungi sel epitel, juga penting untuk penyerapan nutrisi karena permeabel terhadap bahan dengan berat molekul rendah. Mukus dapat melawan iritan endogen dan eksogen, serta invasi mikroba. Komponen

utama dari mukus adalah musin yang dihasilkan oleh sel goblet melalui lapisan epitel. Musin merupakan komponen viskoelastis yang bergabung dengan air, ion, peptida dan immunoglobulin menjadi mukus yang memfasilitasi pengeluaran patogen dari saluran pencernaan²⁴.

Setelah dihasilkan di dalam sel goblet, musin diubah menjadi bentuk granula dan digerakkan menuju permukaan sel, lalu disekresikan ke dalam lumen usus. Musin disekresikan melalui dua jalur, yakni sekresi berkelanjutan dalam jumlah rendah dan sekresi yang disebabkan oleh adanya stimulus eksternal seperti neuropeptida, sitokin atau lipid tertentu^{24,25}. Hiperplasia atau penambahan jumlah sel goblet menunjukkan adanya reaksi imun terhadap infeksi dan peradangan. Banyaknya jumlah sel goblet membuat produksi mukus berlebih sehingga dapat menyebabkan feses cair²⁶. Pemberian terapi dosis tunggal antibodi anti-CD4 terhadap infeksi *N. brasiliensis* mampu menurunkan jumlah produksi mukus²⁷.

Pada keadaan radang, sel yang mengalami kerusakan akan membebaskan berbagai mediator peradangan. Asam arakidonat dibebaskan dari sel penyimpan lipid oleh enzim hidrolase, kemudian mengalami metabolisme menjadi dua alur. Alur siklooksigenase membebaskan prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan, sedangkan alur lipooksigenase membebaskan leukotrien dan substansi seperti 5-HPETE dan lain-lain. Obat radang yang sering digunakan adalah obat antiinflamasi non steroid (OAINS). OAINS bekerja dengan menghambat sintesis prostaglandin, sedangkan kerja utama glukokortikoid adalah menghambat pembebasan asam arakidonat yang merupakan bahan baku produksi prostaglandin.

Dosis metilprednisolon yang direkomendasikan adalah 40-60mg, maka didapatkan dosis untuk mencit 0,13mg/mencit¹⁷. Metilprednisolon digunakan sebagai terapi antiinflamasi melalui efek immunosupresifnya. Glukokortikoid yang tidak terikat menembus membran sel dan berikatan dengan reseptor afinitas tinggi di sitoplasma, kemudian terjadi modifikasi transkripsi dan sintesis protein. Pada daerah radang, glukokortikoid menghambat infiltrasi leukosit, mengganggu respon mediator inflamasi, dan menekan respon imun humoral²⁸.

Pada akhir penelitian, dua ekor mencit yang diberi sediaan metilprednisolon mati. Paparan metilprednisolon yang dilakukan selama 28 hari membuat daya tahan tubuh mencit menurun melalui efek immunosupresinya. Hal ini juga dapat disebabkan oleh efek samping obat metilprednisolon tersebut. Penggunaan jangka panjang metilprednisolon oral dapat dikaitkan dengan efek samping berupa osteoporosis, penyakit metabolik dan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular^{29,30,31,32,33}. Pemberian immunosupresan dapat menekan proliferasi sel goblet bahkan lebih rendah daripada mencit normal. Proliferasi sel goblet yang rendah terdapat pada kondisi infeksi bakteri, sedangkan hiperplasia sel goblet terdapat pada alergi dan invasi cacing pada saluran pencernaan^{34,35}.

Sel goblet berperan sebagai penghasil musin dalam saluran pencernaan. Pada duodenum, apabila jumlah sel goblet rendah maka ekspresi gen MUC2 dan trefoil factor 3 (Tff3) juga rendah. Keberadaan MUC2 dalam menghasilkan musin penting dalam menjaga homeostasis mukosa tubuh, mencegah perlekatan bakteri, dan nematoda serta menekan pertumbuhan tumor. Selain itu, jika ekspresi Tff3 berkurang

maka mencit kekurangan kemampuan dalam penyembuhan luka usus dan mencit menderita colitis yang fatal^{36,37,34}. Adanya penyakit autoimun terhadap sel goblet juga ditandai dengan deplesi sel goblet^{38,39}.

Buah pepaya memiliki kandungan flavonoid, terpenoid, vitamin A, vitamin B9, vitamin C dan vitamin E. Selain itu pepaya mengandung mineral seperti fosfor, magnesium zat besi dan kalsium. Kandungan vitamin C (70,2 mg/100 gram pepaya) dan betakaroten (20,722 µg/100 gram pepaya) pada *C. papaya* bermanfaat sebagai antioksidan^{40,41,42}.

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. 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^{43,44}.

Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol buah pepaya (*Carica papaya*) dosis 175mg/kgBB, 350mg/kgBB, 700mg/kgBB dan metilprednisolon mampu menurunkan proliferasi sel goblet duodenum mencit Balb/C yang diinduksi OVA. Rata-rata jumlah sel goblet

pada kelompok yang diberi ekstrak *C. papaya* dosis 350mg/kgBB mendekati jumlah sel goblet pada kelompok kontrol normal.

Saran

Saran yang diberikan oleh penulis mengenai penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis ekstrak *C. papaya* maksimal yang dapat diberikan kepada manusia.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai efek samping ekstrak pepaya.
3. Mengkaji ulang obat yang dapat digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian lebih lanjut.

Daftar Rujukan

1. Anorital., Andayasari, L. (2011). Kajian Epidemiologi Penyakit Infeksi Saluran Pencernaan yang Disebabkan oleh Amuba di Indonesia. *Media Litbang Kesehatan Vol.21 No. 1*.
2. Mollica, J.Q., Cara, D.C., D'Auriol, M., Oliviera, V.B., Cesar, I.C., Brandao, M.G.L. (2013). Anti-inflammatory Activity of American Yam *Dioscorea trifida* L.f. in Food Allergy Induced by Ovalbumin in Mice. *Journal of Functional Food 5 (2013) p. 1975 – 1984*.
3. Pelaseyed, T., Bergstorm, J.H., Gustafsson, J.K., Ermund, A., Birchenough, G.M.H., Schutte, A., van der Post, S., Svensson, F., Rodrigues-Pinero, M., Nystrom, E.E.L., Wising, C., Johansson, M.E.V., Hansson, G.C. (2014). The Mucus and Mucins of the Goblet Cells and Enterocytes Provide the First Defense Line of the Gastrointestinal Tract and Interact with the Immune System. *Immunological Reviewsm Vol 260 Issue 1, p 8-20 July*.
4. Wiralaga, I.P.A., Sudira, I.W., Kardenia, I.M., Dharmayuda, A.A.G.O. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap Histopatologi Lambung Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana Vol.7 No.1 Februari*.
5. Yang, Q., Bermingham, N.A., Finegold, M.J. (2001). Requirement of Math1 for Secretory Cell Lineage Commitment in the Mouse Intestine. *Science*. 294:2155-58.
6. Wicaksono, M.H.B., Permana, S. (2013). Potensi Fraksi Etanol Benalu Mangga (*Dendrothoe pentandra*) sebagai Agen Anti Kanker Kolon pada Mencit *Mus musculus* Balb/c) setelah Induksi Dextran Sulvat (DSS) dan Azoxymethane (AOM). FMIPA Universitas Brawijaya.
7. Balqis, U., Tiuria, R., Priosoeryanto, B.P., Darmawi. (2007). Proliferasi Sel Goblet Duodenum, Jejunum dan Ileum Ayam Petelur yang Diimunisasi dengan Protein Ekskretori/Sekretori *Ascaridia galli*. *Jurnal Kedokteran Hewan* Vol.1 No.2.
8. Winarti, S. C. (2010). *Prospek dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Imunomodulator*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik & Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian .
9. Asmah, R. dan Nurul, S.R. (2012). Evaluation of Antioxidant Properties in Fresh and Pickled Papaya. *International Food Research Journal 19(3); 1117-1124*. Selangor : Universiti Putra Malaysia.
10. Sapoetra. (1992). *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Rineka Cipta.
11. Gotama, A. (1999). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid V*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
12. Dawud, F., Bodhi, W., Lolo, W.A. (2014). Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Mahkota Dewa terhadap Edema Kaki Tikus Putih Jantan. *Karya Tulis Ilmiah*. Program Studi Farmasi FMIPA Unsrat Manado.
13. Federer, W.Y. (1963). *Experimental Design, Theory and Application*. New York: Mac. Millan hal 544.

14. Jaber, M. Z. (2012). *Hepatoprotective effects of Nigella sativa seeds extract against ethanol induced hepatic tissue changes in Wistar rats*. Masters thesis, Diponegoro University
15. Dewi, F. K. (2010). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Thesis*. Universitas Sebelas Maret.
16. 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
17. Saputri, D.A. (2010). Pengaruh Pemberian Steroid Dosis Rendah terhadap Hitung Neutrofil pada Sepsis Tahap Awal. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret
18. Subijanto, A.A., Prasetyo, D.H. (2008). Effect of *Nigella sativa L.* Oil on Bronchial Inflammation Grading. *Majalah Kedokteran Indonesia vol. 58 no.6 Juni*.
19. Wang, C.C., Lin, Y.R., Liao, M.H., Jan, T.R. (2013). Oral Supplementation with Areca-Derived Polyphenols Attenuates Food Allergy Responses in Ovalbumin-Sensitized Mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine 2013, 13:154*.
20. Korolkovas, A. (1988). *Essentials of Medicinal Chemistry*. Ed 2. New York: A Wiley Interscience Publ. halaman 1052-1053.
21. Boyd, W. (1971). *An Introduction to the Study of Disease*. Ed 6. Philadelphia: Lea & Febiger. Halaman 96-101.
22. Mansjoer, S. (2003). Mekanisme Obat Anti Radang. Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. USU Digital Library.
23. Kviety, P.R., Yaqinuddin, A., Kattan, W.A. (2014). *Gastrointestinal Mucosal Defense System*. Biota Publishing.
24. Kim, J.J., Khan, W.I. (2013). Goblet Cells and Mucins : Role in Innate Defense in Enteric Infections. *Pathogens 2(1):55-70*.
25. Dharmani, P., Srivastava, V., Kisson-Singh, V., Chadee, K. (2009). Role of Intestinal Mucins in Innate Host Defense Mechanism Against Pathogens. *Journal of Innate Immunity 1(2):123-35*.
26. Gangarosa, E.J., Beisel W.R., Benyajati, C., Sprinz, H., Piyaratn, P. (1960). The Nature of the Gastrointestinal Lesion in Asiatic Cholera and its Relation to Pathogenesis: a Biopsy Study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Mar vol. 9 no. 2 pp 125-35*.
27. Khan, W.I., Collins, S.M. (2004). Immune-mediated alteration in Gut Physiology and its Role in Host Defence in Nematode Infection. *Parasite immunology 26: 319-326*.
28. Boivin, M.A., Ye, D., Kennedy, J.C., Al-Sadi, R., Shepela, C., Ma, T.Y. (2007). Mechanism of Glucocorticoid regulation of the intestinal tight junction Barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 292(2): G590-8*.
29. Wei L., MacDonald T.M., Walker B.R. (2004). Taking Glucocorticoids by Prescription is Associated with Subsequent Cardiovascular Disease. *Ann. Internal Medicine;141:764-770*.
30. Souverein P.C., Berard A., Van Staa T.P., Cooper C., Egberts A.C.G., Leufkens H.G.M., Walker B.R. (2004). Use of Oral Glucocorticoids and Risk Of Cardiovascular and Cerebrovascular Disease in A Population Based Case-Control Study. *Heart; 90:859-865*.
31. De Vries F., Pouwels S., Lammers J.W., Leufkens H.G., Bracke M., Cooper F C., van Staa T.P. (2007). Use of Inhaled and Oral Glucocorticoids, Severity of Inflammatory Disease and Risk of Hip/Femur Fracture: A Population-Based Case-Control Study. *Journal of Internal Medicine;261:170-177*.
32. Vegiopoulos A., Herzig S. (2007). Glucocorticoids, Metabolism and Metabolic Diseases. *Molecular Cell Endocrinology;275:43-61*.
33. Coutinho, A.E., Chapman, K.E. (2011). The Anti-inflammatory and Immunosuppressive Effects of Glucocorticoids, Recent Developments and Mechanistic Insights. *Molecular Cell Endocrinology 335(1):2-13*. PubMed.
34. Bergstrom, K.S., Guttman, J.A., Rumi, M., Ma, C., Bouzari, S., Khan, M.A., Gibson, D.L., Vogl, A.W., Vallance, B.A. (2008). Modulation of Intestinal Goblet Cell Function during Infection by an Attaching and Effacing Bacterial Pathogen. *Infection and Immunity*. United States : Americal Society for Microbiology.
35. Hashimoto, K., Uchikawa, R., Tegoshi, T., Yamada, M., Arizono, N. (2009). Depleted Intestinal Goblet Cells and Severe Pathological Changes in SCID Mice Infected with *Heligmosomoides polygyrus*. *Parasite Immunology 31, 457-465*.
36. Velcich, A., Yang, W., Heyer, J., Fragale, A., Nicholas, C., Viani, S., Kucherlapati, R., Lipkin, M., Yang, K., Augenlicht, L. (2002). Colorectal Cancer in Mice Genetically Deficient in the Mucin Muc2. *Science 295: 1726-1729*.
37. Mashimo, H., Wu, D.C., Podolsky, D.K., Fishman, M.C. (1996). Impaired Defense of Intestinal Mucosa in Mice Lacking Intestinal Trefoil Factor. *Science 274:262-265*.
38. Murch, S.H., Fertleman, C.R., Rodrigues, C., Morgan, G., Klein N.J., Meadows, N., Savidge, T.C., Phillips, A.D., Walker-Smith, J.A. (1999). Autoimmune Enteropathy with Distinct Mucosal Features in T-Cell Activation Deficiency: the Contribution of T cells to the Mucosal Lesion. *Journal Pediatric Gastroenterology Nutr Apr;28(4):393-9*.
39. Serra, S., Jani, P.A. (2006). An Approach to Duodenal Biopsies. *Journal of Clinical Pathology, v.59(11)*.
40. Marelli de Souza, L., Ferreira, K.S., Chaves, J.B.P., Teixeira, S.L. (2008). L-Absorbic Acid, Betacarotenen and Lycopene Content in Papaya Fruit (*Carica papaya*) with or without Physiological Skin Freckle. *Journal Sci. Agric. (Piracicaba, Braz) vol. 65 no.3*.
41. Surtiningsih. (2005). *Cantik dengan Bahan Alami*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
42. Ramdani, F. A., Dwiyanti, G., Siswaningsih, W. (2013). *Penentuan Aktivitas Antioksidan Buah Pepaya (Carica papaya L.) dan Produk Olahannya Berupa Manisan Pepaya*.

43. Sabir, A. (2003). Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Maj Ked Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III*:81-7.
44. Sudirman, T.A. (2014). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.