

Uji Toksisitas Akut dan Efek Antiinflamasi Ekstrak Metanol dan Ekstrak *n*-Heksana Daun Pepaya (*Carica papaya* L)

Tahara Dilla Santi

Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Muhammadiyah Aceh, Banda Aceh, Indonesia

Email: taharads@yahoo.co.id

Abstrak

Telah dilakukan uji toksisitas akut dan efek antiinflamasi ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya (*Carica papaya* L). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun pepaya mengandung senyawa alkaloid, steroid dan flavonoid. Flavonoid dan alkaloid diekstraksi dari ekstrak metanol daun pepaya dan steroid diekstraksi dari ekstrak *n*-heksana daun pepaya. Uji toksisitas akut ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya telah dilaksanakan pada tikus dengan pemberian dosis sampel tunggal. Tujuan penelitian ini untuk mengamati respon perilaku (profil farmakologi), penambahan berat badan dan kematian selama 14 hari. Hasil uji toksisitas akut setelah pemberian ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya dosis 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb, dan 1000 mg/kgbb pada tikus menunjukkan tidak ada yang mati dan efek toksis tidak bermakna. Penelitian efek antiinflamasi pada tikus putih yang diinduksi karagenan 1% dan pemberian ekstrak daun pepaya untuk menurunkan volume radang pada kaki tikus. Pengujian dilakukan dengan metode *rat hind paw edema* atau pembentukan radang buatan pada telapak kaki kiri tikus putih jantan. Perlakuan dilakukan terhadap enam kelompok yaitu kelompok kontrol positif yang diberi indometacin 10 mg/kgbb, kelompok kontrol negatif yang diberi CMC 1% dan kelompok yang diberi ekstrak metanol atau *n*-heksana daun pepaya dengan dosis 200 mg/kgbb, 400 mg/kgbb. Volume edema diukur setiap setengah jam selama 5 jam dengan menggunakan plestimometer digital. Data dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak pepaya dapat menurunkan volume radang pada kaki tikus.

Abstract

The acute toxicity test and antiinflammatory effect of methanolic and *n*-hexane extracts *Carica papaya* L leaf have been studied. The results of phytochemical screening show that papaya leaf contains alkaloid, steroid, and flavonoid compound. Flavonoid and alkaloid extracted from methanolic extract of papaya leaf and steroid extracted from *n*-hexane extract of papaya leaf. The acute toxicity test of methanolic and *n*-hexane extracts *Carica papaya* L leaf have been studied on rat with giving a single dose of samples. The aim of this work was to investigate the behavioral responses (pharmacological profile), the development of body weight and mortality for 14 days. The results of acute toxicity test after giving dose of 250 mg/kgbw, 500 mg/kgbw and 1000 mg/kgbw of methanolic and *n*-hexane extracts of leaves of *Carica papaya* L to males rat showed no animal died and significant toxic effect. In the study antiinflammatory effects in white rat with carragenan induced 1%, and to determine an effective dose of extract papaya to decrease the edema volume of rat foot. The test was done using rat hind paw edema or established an artificial inflammation in left foot of white male rats. The treatments were carried out on six groups, the positive control group was administered with Indomethacin 10 mg/kgbw per oral, the negative control group was administered with CMC 1%, and the extract groups were administered with 200 mg/kgbw and 400 mg/kgbw of methanolic and *n*-hexane extracts *Carica papaya* L leaf. Edema volume were measured every half hour for 5 hours using a plethysmometer digital. Obtained data were analyzed by *Kruskal-Wallis* test followed *Mann-Whitney* test with confident level was 95%. The result of this study indicate that papaya leaf extract can reduce edema volume of rat foot.

Keywords: acute toxicity, antiinflammatory, *Carica papaya* L leaves, indomethacin.

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respon protektif yang ditimbulkan oleh kerusakan pada jaringan yang berfungsi untuk menghancurkan, mengurangi, atau melokalisasi baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu. Tanda-tanda pokok peradangan akut mencakup pembengkakan atau edema, kemerahan, panas, nyeri, dan perubahan fungsi (Erlina *et al.*, 2007). Untuk mengatasi hal tersebut, orang biasanya menggunakan obat-obat farmasetik yang bersifat analgetik/antiinflamasi. Bagi mereka yang jauh dari kota untuk mendapatkan obat farmasetik tersebut belum tentu mudah. Oleh karena itu, perlu tersedia obat-obat lain berupa obat-obat tradisional yang dapat memberikan aktivitas antiinflamasi.

Salah satu obat tradisional yang memiliki efek antiinflamasi adalah daun pepaya (*Carica papaya* L). Dilaporkan bahwa daun *Carica papaya* L yang diberikan secara oral memberikan efek antiinflamasi pada tikus yang diinduksi kakinya dengan karagenan (Owoyele *et al.*, 2008). Daun pepaya dapat menghambat peradangan yang hampir sama dengan pemberian oral indomethacin pada betis tikus yang ditanam kapas steril selama tujuh hari (Imaga *et al.*, 2010). Daun pepaya juga memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan (Otsuki *et al.*, 2009), dan aktivitas antitumor dengan menginduksi apoptosis pada sel tumor (Mahmood *et al.*, 2005). Di dalam daun pepaya mengandung senyawa flavonoid, steroid dan alkaloid. Skrinning

fitokimia daun pepaya mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, glikosida jantung, dan steroid (Ayoola *et al.*, 2010). Penelitian Mahatrinny *et al.*, (2014), ekstrak etanol daun pepaya mengandung senyawa alkaloid, saponin, dan tanin. Senyawa flavonoid, steroid dan tanin dalam bentuk bebas dan kompleks tanin-protein berkhasiat sebagai antiinflamasi.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji toksisitas akut ekstrak metanol atau *n*-heksana daun pepaya secara oral dan efek antiinflamasi ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya. Uji toksisitas akut dimaksudkan untuk mendapatkan informasi tentang gejala keracunan, penyebab kematian, urutan proses kematian dan rentang dosis yang mematikan hewan uji (Lethal dose atau disingkat LD₅₀) suatu bahan (Elya, 2010).

METODE

Penelitian ini merupakan metode eksperimental pada tikus (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakologi Farmasi Universitas Sumatera Utara (USU), laboratorium Kimia Organik Bahan Alam FMIPA USU dan laboratorium Biologi FMIPA USU selama 10 minggu.

Alat-alat yang digunakan adalah aluminium foil, *water bath* (Buchi B-480), tabung uji (vial), alat-alat gelas laboratorium, blender (Nowake), corong kaca, neraca listrik (Chyo JP 2-6000), neraca hewan (Presica Geniwigher, GW-1500), *rotary evaporator*

(Buchi R-114), *freeze dryer* (Modulyo, Edwards, serial no: 3985), cawan porselen, mortar, oral sonde tikus, spuit (ukuran 1 ml dan 3 ml), pletismometer air raksa, kandang tikus, *heater*, inkubator.

Bahan yang digunakan yaitu daun pepaya, metanol, *n*-heksana, akuadest, karagenan, indometasin, asam klorida 2 N, besi (III) klorida, natrium hidroksida, timbal (II) asetat, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, eter, etil asetat, etanol 95%, serbuk seng, asam klorida pekat, serbuk magnesium, cerium sulfat 1%.

Pengambilan dan pengolahan sampel

Penyiapan simplisia daun pepaya (*Carica papaya* L) meliputi identifikasi, pengumpulan dan pengolahan sampel. Determinasi tumbuhan dilakukan oleh Laboratorium Taksonomi Tumbuhan FMIPA USU. Sampel yang digunakan adalah daun pepaya segar yang diambil dari kebun pepaya di Banda Aceh. Daun pepaya yang telah dikumpulkan sebanyak 15 kg, dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan, kemudian dikeringkan di udara terbuka dan terlindung dari cahaya matahari. Setelah kering, daun diserbuk dan diperoleh simplisia daun pepaya sebanyak 2 kg. Simplisia daun pepaya disimpan di dalam wadah kering dan terlindung dari cahaya matahari.

Ekstraksi sampel

Sebanyak 1000 g serbuk kering daun pepaya dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu ditambah metanol atau *n*-heksana

hingga seluruh bahan terendam. Wadah ditutup rapat dan dibiarkan selama 3 hari di tempat yang tidak terkena sinar matahari sambil sering diaduk. Setelah 3 hari, ekstrak disaring dan ampas dimaserasi lagi dengan menggunakan pelarut yang baru sampai diperoleh ekstrak akhir yang tidak berwarna. Seluruh maserat digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur $\pm 40^{\circ}\text{C}$ sampai diperoleh ekstrak kental, kemudian dipekatkan dengan *freeze dryer* pada suhu -40°C selama ± 24 jam. Adapun skema penyiapan sampel dapat dilihat pada gambar 1.

Skrining fitokimia simplisia daun pepaya

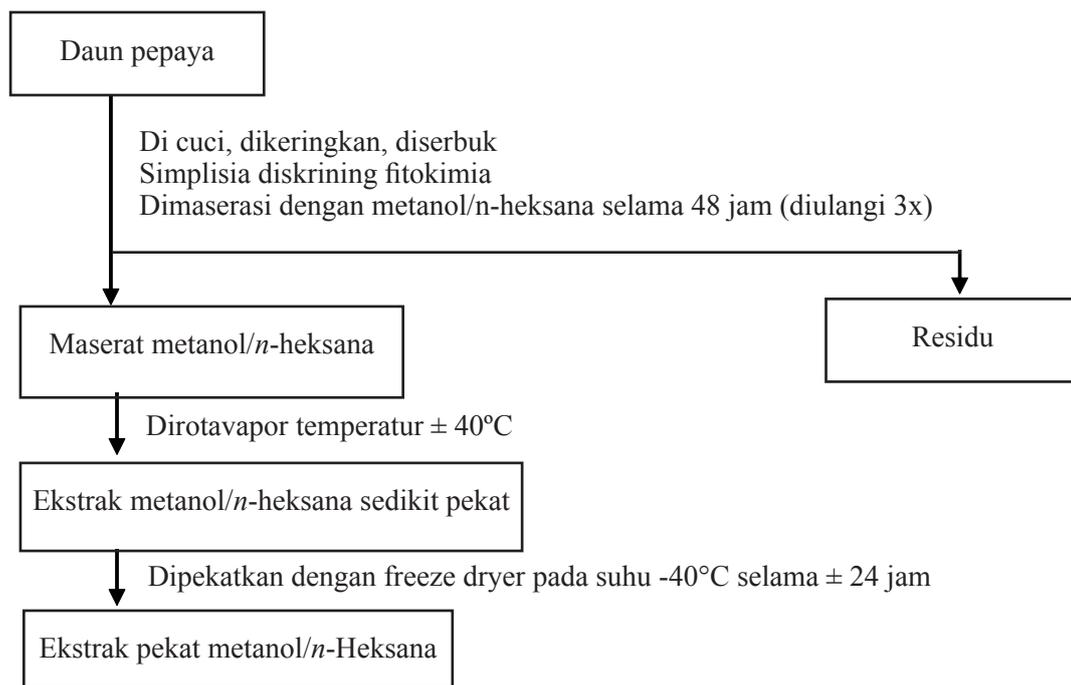
Dilakukan pemeriksaan kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid menurut prosedur yang telah dilakukan Harbone.

Pembuatan suspensi CMC 1% uji antiinflamasi dan toksisitas akut

Sebanyak 1 gr CMC ditimbang, lalu ditaburkan pada lumpang yang berisi air panas, dibiarkan hingga mengembang, digerus sampai homogen, ditambahkan aquadest hingga 100 ml.

Penyiapan bahan uji antiinflamasi dalam bentuk suspensi

Ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya dibuat dalam bentuk suspensi menggunakan CMC 1% dengan dosis pemberian 200 dan 400 mg/Kg BB. Obat pembanding indometasin dibuat dalam bentuk suspensi CMC 1% dengan dosis pemberian 10 mg/Kg



Gambar 1. Diagram proses pembuatan ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya

BB. Kontrol negatif yang digunakan adalah suspensi CMC 1%.

Penyiapan induktor radang uji antiinflamasi

Sebanyak 50 mg karagenan ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, dicukupkan dengan larutan infus NaCl kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Penyiapan bahan uji toksisitas akut dalam bentuk suspensi

Ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya yang digunakan dalam uji toksisitas akut dibuat dalam bentuk suspensi menggunakan CMC 1% dengan dosis pemberian 250, 500 dan 1000 mg/Kg BB. Kontrol negatif yang digunakan adalah suspensi CMC 1%.

Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut dilakukan dengan menggunakan 35 ekor tikus putih jantan. Tikus diaklimatisasi selama seminggu, diberi pakan CP551 dan air minum. Selanjutnya berat badan tikus ditimbang dan dikelompokkan ke dalam tujuh kelompok yang terdiri atas lima ekor. 24 jam sebelum perlakuan, tikus dipuaskan makan namun tetap diberi air minum *ad libitum*. Kelompok satu (kontrol) diberikan larutan CMC 1%. Untuk kelompok dua, tiga dan empat diberikan masing-masing ekstrak metanol daun pepaya dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/Kg BB. Sedangkan pada kelompok lima, enam dan tujuh diberikan masing-masing ekstrak *n*-heksana daun pepaya dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/Kg BB. Pemberian sediaan bahan uji dan kontrol secara oral dengan volume pemberian 1,5 ml untuk setiap 150

Tabel 1. Kelompok perlakuan uji antiinflamasi

No	Kelompok	Perlakuan	Jumlah
1	Kelompok 1	CMC 1% (per oral, bentuk suspensi)	6
2	Kelompok 2	Indometasin (per oral, bentuk suspensi, dosis 10 mg/Kg BB)	6
3	Kelompok 3	Ekstrak metanol (per oral, bentuk suspensi, dosis 200 mg/Kg BB)	6
4	Kelompok 4	Ekstrak metanol (per oral, bentuk suspensi, dosis 400 mg/Kg BB)	6
5	Kelompok 5	Ekstrak <i>n</i> -heksana (per oral, bentuk suspensi, dosis 200 mg/Kg BB)	6
6	Kelompok 6	Ekstrak <i>n</i> -heksana (per oral, bentuk suspensi, dosis 400 mg/Kg BB)	6

Keterangan: Kelompok kontrol (1): larutan CMC 1% sebanyak 1,5 ml
 Kelompok 2: suspensi ekstrak metanol dosis 250 mg sebanyak 1,5 ml
 Kelompok 3: suspensi ekstrak metanol dosis 500 mg sebanyak 1,5 ml
 Kelompok 4: suspensi ekstrak metanol dosis 1000 mg sebanyak 1,5 ml
 Kelompok 5: suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 250 mg sebanyak 1,5 ml
 Kelompok 6: suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 500 mg sebanyak 1,5 ml
 Kelompok 7: suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 1000 mg sebanyak 1,5 ml

mg berat badan. Setiap tiga hari sekali, berat badan tikus ditimbang. Pengamatan terhadap perilaku, gejala toksik bahkan kematian tikus dilaksanakan selama empat belas hari.

Penelitian efek antiinflamasi

Sebelum dilakukan percobaan, tikus dipuaskan selama 18 jam dengan tetap diberi air minum. Pada hari pengujian, masing-masing hewan ditimbang dan pada sendi kaki kiri diberi tanda sebagai batas pengukuran. Volume kaki kiri tikus diukur dengan cara mencelupkannya ke dalam pletismometer air raksa sampai batas pada kaki kiri tikus berada pada garis batas atas cairan. Dicatat volume awal (V_0). Selanjutnya, tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok seperti pada tabel 1. Satu jam kemudian, masing-masing telapak kaki kiri tikus disuntik secara intraplantar dengan larutan karagenan 1% sebanyak 0,1 ml. Setelah setengah jam dilakukan pengukuran volume kaki kiri tikus dengan

prosedur sama seperti untuk mengukur V_0 . Perubahan volume cairan yang terjadi dicatat sebagai volume telapak kaki tikus (V_t). Pengukuran dilakukan setiap selang waktu 30 menit selama 5 jam. Volume radang adalah selisih volume telapak kaki tikus setelah dan sebelum disuntik karagenan. Pada waktu pengukuran, volume cairan harus sama setiap kali pengukuran, tanda batas kaki tikus harus jelas, kaki tikus harus tercelup sampai batas yang dibuat.

Perhitungan persen radang dan persen penghambatan radang

$$\text{Persen Radang} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100 \%$$

Keterangan:
 V_t = volume radang kaki tikus setelah waktu t
 V_0 = volume awal kaki tikus

$$\text{Persen Penghambatan Radang} = \frac{a - b}{a} \times 100 \%$$

Keterangan:

a = persen radang rata-rata kelompok kontrol

b = persen radang rata-rata kelompok uji dan pembandingan

Analisa data

Data uji antiinflamasi ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya dianalisis dengan uji *Kruskall-Wallis*. Untuk menguji adanya

perbedaan yang bermakna antara kelompok uji digunakan uji *Mann-Whitney*. Data diproses dengan SPSS 16,0 dimana hasil uji statistik akan bermakna jika $p < 0,05$. Data pengamatan uji toksisitas akut ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya dipakai untuk mengevaluasi potensi toksisitas akut pada tikus Wistar jantan. Data mengenai gejala-gejala toksik yang tampak pada fungsi vital, digunakan untuk mengevaluasi wujud efek toksik yang timbul.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun pepaya

No	Pemeriksaan	Pereaksi	Terbentuk	Hasil
1	Flavonoid	FeCl ₃	Endapan hitam	+
2	Alkaloid	Wagner	Endapan coklat	+

Tabel 3. Hasil skrining fitokimia ekstrak *n*-heksana daun pepaya

No	Pemeriksaan	Pereaksi	Terbentuk	Hasil
1	Steroid	Lieberman-Bouchard	Hijau kebiruan	+

HASIL

Hasil skrining fitokimia

Untuk mengetahui kandungan simplisia daun pepaya, dilakukan skrining fitokimia. Hasil pemeriksaan pendahuluan dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Hasil uji toksisitas akut

Pemberian dosis tunggal oral ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/KgBB, tidak

mempengaruhi perilaku tikus jantan selama perlakuan. Perilaku (profil farmakologi) akibat pemberian dosis tunggal tersebut tidak menunjukkan perbedaan perilaku tikus yang bermakna dibandingkan kontrol.

Dari hasil pengamatan fisiologis, kondisi tikus yang diberikan ekstrak metanol maupun *n*-heksana dosis 250 mg/Kg BB, tidak menunjukkan perubahan fisiologis yang berarti secara visual (masih bergerak normal dan lincah tanpa ada perubahan dari nafas,

tertidur, reaktif atau terjadinya kejang). Tikus hanya mengalami diare selama dua sampai tiga hari. Pada pemberian ekstrak metanol dan *n*-heksana dosis 500 mg/Kg BB, tikus mulai mengalami diare yang lebih lama yaitu empat hari. Tikus belum menunjukkan adanya perubahan secara fisiologis. Namun pada pemberian ekstrak metanol dan *n*-heksana dosis 1000 mg/KgBB, diare yang dialami tikus lebih lama yaitu enam hari disertai dengan perubahan warna urin menjadi putih (tabel 4). Diare tersebut terjadi dari hari ke tiga sampai hari ke delapan. Walaupun demikian, belum dapat dilihat perubahan fisiologis tikus yang bermakna.

Dari hasil pengukuran berat badan tikus pada uji toksisitas akut per tiga hari, diperoleh penambahan berat badan setelah pemberian ekstrak metanol dan *n*-heksana dosis 250 mg/KgBB yaitu 5,7 sampai 6 gram. Kenaikan berat badan tikus jauh dibawah kelompok kontrol yaitu 10 gram. Sedangkan pada pemberian ekstrak metanol dan *n*-heksana dosis 500 mg/KgBB diperoleh penambahan berat badan 4 sampai 4,1 gram. Penambahan berat badan terendah terjadi pada pemberian ekstrak metanol dan *n*-heksana dosis 1000 mg/KgBB yaitu 2,7 – 2,8 gram. Sampai dengan dosis 1000 mg/KgBB pemberian ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya, tidak ditemukan

Tabel 4. Uji toksisitas akut pada tikus wistar jantan

Kelompok	Jumlah	Pertambahan bobot rata-rata tikus (gram)	Gejala toksik	Tikus yang mati
Kontrol (1)	5	10	-	0
Kelompok 2	5	6	Hari 5, 6 diare	0
Kelompok 3	5	4	Hari 3, 4, 5, 6 diare	0
Kelompok 4	5	2,8	Hari 3, 4, 5, 6, 7, 8 diare	0
Kelompok 5	5	5,7	Hari 3, 4, 6 diare	0
Kelompok 6	5	4,1	Hari 3, 4, 5, 8 diare	0
Kelompok 7	5	2,7	Hari 3, 4, 5, 6, 7, 8 diare, urin putih	0

adanya kematian hingga hari ke 14, sehingga tidak ada efek toksik yang bermakna.

Hasil uji efek antiinflamasi

Pengujian aktivitas antiinflamasi ini menggunakan metode Winter. Metode Winter merupakan metode paling banyak digunakan untuk pertama kali menguji agen antiinflamasi baru dengan melihat

kemampuan suatu senyawa dalam mengurangi induksi radang atau edema lokal pada telapak kaki tikus injeksi inductor radang (Ravi *et al.*, 2009). Pemilihan metode ini karena pelaksanaannya sederhana, cepat, dapat diamati dengan jelas radang yang terjadi dan dapat diukur secara kuantitatif serta dapat dihitung secara statistik. Pengujian efek antiinflamasi dilakukan

dengan menggunakan alat Pletismometer air raksa dengan pengukuran berdasarkan hukum Archimedes yaitu bila suatu benda yang dimasukkan ke dalam zat cair akan memberikan gaya atau tekanan ke atas sebesar volume yang didesak atau dipindahkan. Induksi radang dilakukan secara kimia menggunakan larutan karagenan 1% sebanyak 0,1 ml yang disuntikkan pada telapak kaki tikus secara intraplantar.

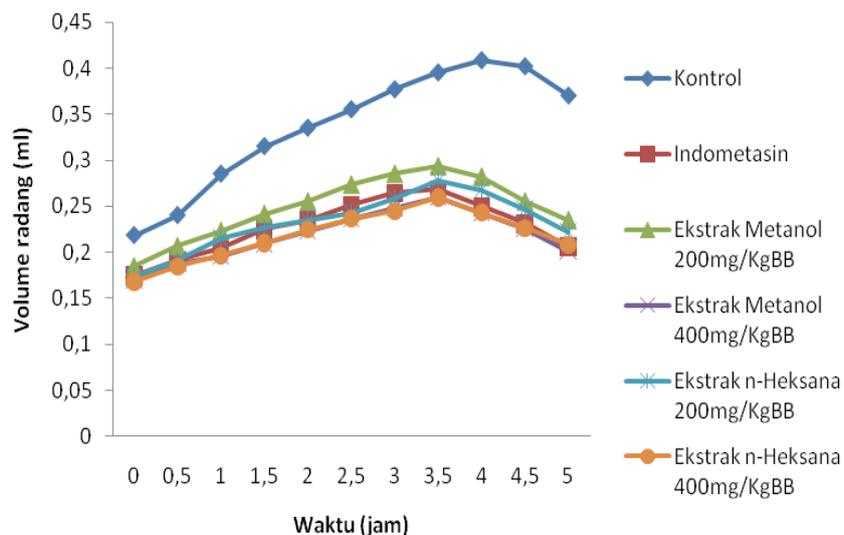
Pembentukan radang oleh karagenan menghasilkan radang yang akut dan tidak menyebabkan kerusakan jaringan, meskipun radang dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur berkurang setelah 24 jam. Responnya terhadap obat antiinflamasi lebih peka dibandingkan iritan lainnya. Volume radang rata-rata dan simpangan baku pada semua kelompok mulai jam ke-0,5 sampai jam ke-5, disajikan dalam tabel 5.

Tabel 5. Rerata \pm simpang baku volume radang

Jam ke-	Volume Radang					
	Kontrol	Indometasin	Ekstrak Metanol 200mg/KgBB	Ekstrak Metanol 400mg/KgBB	Ekstrak n-Heksana 200mg/KgBB	Ekstrak n-Heksana 400mg/KgBB
0	0.2183 \pm 0.0496	0.1750 \pm 0.0308	0.1850 \pm 0.0243	0.1700 \pm 0.0261	0.1733 \pm 0.0280	0.1683 \pm 0.0194
0,5	0.2400 \pm 0.0510	0.1917 \pm 0.0319	0.2067 \pm 0.0250	0.1883 \pm 0.0214	0.1917 \pm 0.0214	0.1850 \pm 0.0164
1	0.2850 \pm 0.0558	0.2050 \pm 0.0345	0.2233 \pm 0.0151	0.1967 \pm 0.0207	0.2150 \pm 0.0187	0.1967 \pm 0.0175
1,5	0.3150 \pm 0.0414	0.2250 \pm 0.0327	0.2417 \pm 0.0117	0.2100 \pm 0.0179	0.2267 \pm 0.0186	0.2100 \pm 0.0141
2	0.3350 \pm 0.0455	0.2350 \pm 0.0288	0.2550 \pm 0.0152	0.2233 \pm 0.0151	0.2350 \pm 0.0164	0.2250 \pm 0.0105
2,5	0.3550 \pm 0.0404	0.2517 \pm 0.0248	0.2733 \pm 0.0137	0.2367 \pm 0.0186	0.2433 \pm 0.0151	0.2367 \pm 0.0137
3	0.3767 \pm 0.0280	0.2650 \pm 0.0187	0.2850 \pm 0.0105	0.2483 \pm 0.0160	0.2583 \pm 0.0147	0.2450 \pm 0.0138
3,5	0.3950 \pm 0.0356	0.2683 \pm 0.0117	0.2933 \pm 0.0103	0.2600 \pm 0.0110	0.2783 \pm 0.0194	0.2600 \pm 0.0126
4	0.4083 \pm 0.0133	0.2500 \pm 0.0110	0.2817 \pm 0.0133	0.2433 \pm 0.0151	0.2683 \pm 0.0147	0.2433 \pm 0.0121
4,5	0.4017 \pm 0.0248	0.2317 \pm 0.0147	0.2550 \pm 0.0176	0.2267 \pm 0.0121	0.2467 \pm 0.0137	0.2267 \pm 0.0103
5	0.3700 \pm 0.0245	0.2067 \pm 0.0121	0.2350 \pm 0.0207	0.2017 \pm 0.0147	0.2217 \pm 0.0133	0.2083 \pm 0.0133

Pada jam ke-0,5 tampak adanya peradangan yang dipicu oleh karagenan lambda 1% yang ditunjukkan dengan peningkatan volume telapak kaki tikus pada semua kelompok. Peningkatan volume radang terkecil terdapat pada kelompok ekstrak *n*-heksana 400 mg/KgBB yaitu sebesar 0,1850 dan volume radang terbesar terdapat pada kelompok kontrol yaitu sebesar 0,2400, sedangkan pada kelompok indometasin, ekstrak metanol 200 mg/KgBB, ekstrak metanol 400 mg/KgBB dan ekstrak *n*-heksana 200 mg/KgBB relatif memiliki volume radang yang hampir sama. Volume radang pada jam ke-1 sampai jam ke-

3,5 terus meningkat pada seluruh kelompok. Pada jam ke-4 sampai jam ke-5, volume radang kaki tikus pada kelompok kontrol terus meningkat dilanjutkan dengan adanya penurunan, sedangkan pada kelompok indometasin, ekstrak metanol 200 mg/KgBB, ekstrak metanol 400 mg/KgBB dan ekstrak *n*-heksana 200 mg/KgBB dan ekstrak *n*-heksana 400 mg/KgBB volume radang mengalami penurunan. Gambaran lebih jelas terhadap erubahan volume radang pada semua kelompok akan tampak pada Gambar 2.



Gambar 2. Volume rata-rata radang telapak kaki

Dari perubahan volume telapak kaki tikus, dapat dihitung persentase radang telapak kaki tikus. Kelompok perlakuan yang memiliki persentase radang yang lebih rendah dibanding kelompok kontrol menunjukkan bahwa bahan uji mampu menekan radang yang disebabkan oleh karagenan. Persentase radang telapak kaki tikus mulai jam ke-0,5 sampai jam ke-5, disajikan dalam Tabel 6.

Waktu terbentuknya radang akibat dari induksi karagenan terdiri dari dua fase. Fase pertama (*early phase*), yaitu 1-2 jam setelah injeksi karagenan yang menyebabkan trauma. Trauma tersebut disebabkan oleh pelepasan serotonin dan histamin ke tempat radang serta terjadi peningkatan sintesis prostaglandin pada jaringan yang rusak. Pada fase kedua (*late phase*), 3 jam setelah diinjeksi

Tabel 6. Persentase radang telapak kaki tikus

Waktu	Kontrol	Indometasin	Ekstrak Metanol 200mg/KgBB	Ekstrak Metanol 400mg/KgBB	Ekstrak n-Heksana 200mg/KgBB	Ekstrak n-Heksana 400mg/KgBB
0.5	9.92	9.52	11.71	10.78	10.58	9.90
1	30.53	17.14	20.72	15.69	24.04	16.83
1.5	44.27	28.57	30.63	23.53	30.77	24.75
2	53.44	34.29	37.84	31.37	35.58	33.66
2.5	62.60	43.81	47.75	39.22	40.38	40.59
3	72.52	51.43	54.05	46.08	49.04	45.54
3.5	80.92	53.33	58.56	52.94	60.58	54.46
4	87.02	42.86	52.25	43.14	54.81	44.55
4.5	83.97	32.38	37.84	33.33	42.31	34.65
5	69.47	18.10	27.03	18.63	27.88	23.76
X ± SD	59.47 ± 25.07	33.14 ± 14.96	37.84 ± 15.43	31.47 ± 14.06	37.60 ± 15.07	32.87 ± 13.98

karagenan, terjadi pelepasan prostaglandin dan dimediasi oleh bradikinin, leukotrien, sel polimorfonuklear, dan produksi prostaglandin oleh makrofag (Ravi *et al.*, 2009; Linnet *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian tersebut, bila mengacu pada persentase penurunan radang oleh ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya dimulai pada waktu pengamatan jam ke-0,5 sampai jam ke-2, diduga ekstrak *Carica papaya* L bekerja pada fase pertama (*early phase*), yaitu melalui penghambatan pelepasan mediator kimia serotonin dan histamin ke tempat terjadinya radang. Selain itu, juga menghambat sintesis

prostaglandin yang merupakan mediator utama dari inflamasi. Penghambatan sintesis prostaglandin dengan cara menghambat kerja siklooksigenase (COX) yang berfungsi merubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin bila terjadi radang.

Dari tabel persentase radang tertinggi pada kelompok kontrol adalah 87,02% pada jam ke 4 (t_4) dan menjadi 69,47% setelah perlakuan t_5 . Persen radang rata-rata tertinggi suspensi indometasin adalah 53,33% pada perlakuan $t_{3,5}$ dan menjadi 18,10% setelah perlakuan t_5 . Suspensi ekstrak metanol dosis 200 mg/KgBB adalah 58,56% pada perlakuan $t_{3,5}$ dan menjadi 27,03% setelah perlakuan t_5 .

Suspensi ekstrak metanol dosis 400 mg/KgBB adalah 52,94% pada perlakuan $t_{3,5}$ dan menjadi 18,63% setelah perlakuan t_5 . Suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 200 mg/KgBB adalah 60,58% pada perlakuan $t_{3,5}$ dan menjadi 27,88 % setelah perlakuan t_5 . Suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 400 mg/KgBB adalah 54,46% pada perlakuan $t_{3,5}$ dan menjadi 23,76% setelah perlakuan t_5 . Pemberian indometasin, ekstrak metanol dosis 200 mg/KgBB, ekstrak metanol dosis 400 mg/KgBB, ekstrak *n*-heksana dosis 200 mg/KgBB, dan ekstrak *n*-heksana dosis 400 mg/KgBB memberikan persentase radang telapak kaki tikus yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Hal ini menyatakan bahwa bahan uji yang diberikan pada tikus berperan sebagai antiinflamasi. Sesuai dengan hasil skrining fitokimia yang menyatakan bahwa daun pepaya dengan penyari metanol mengandung alkaloid, dan

flavonoid. Ekstrak *n*-heksana daun pepaya mengandung senyawa steroid. Seperti yang telah dinyatakan oleh Hidayati *et al.*, (2005), salah satu aktivitas antiinflamasi flavonoid yaitu menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi. Flavonoid juga memberikan efek antiinflamasi dari berbagai bahan alam (Serafini *et al.*, 2010; Garcia-Lafuente *et al.*, 2009).

Selanjutnya dihitung persentase inhibisi radang ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya (*Carica papaya* L) pada tikus putih jantan. Nilai persentase inhibisi radang ini menunjukkan kemampuan bahan uji menekan radang. Semakin besar persentase inhibisi radang menunjukkan bahwa semakin besar kemampuan antiinflamasi bahan uji tersebut. Persentase inhibisi radang mulai jam ke-0,5 sampai jam ke-5, disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Persen inhibisi radang telapak kaki tikus

Jam ke-	Inhibisi Radang				
	Indometasin	Ekstrak Metanol 200mg/KgBB	Ekstrak Metanol 400mg/KgBB	Ekstrak n-Heksana 200mg/KgBB	Ekstrak n-Heksana 400mg/KgBB
0,5	4.0293	18.0180	8.6727	6.5828	0.2285
1	43.8571	32.1396	48.6275	21.2740	44.8762
1,5	35.4680	30.8170	46.8560	30.5040	44.0935
2	35.8367	29.1892	41.2885	33.4203	37.0014
2,5	30.0116	23.7201	37.3505	35.4831	35.1485
3	29.0827	25.4623	36.4603	32.3785	37.1965
3,5	34.0881	27.6305	34.5727	25.1361	32.7013
4	50.7519	39.9557	50.4300	37.0192	48.8015
4,5	61.4372	54.9386	60.3030	49.6154	58.7309
5	73.9508	61.0930	73.1847	59.8584	65.7926

Kelompok kontrol merupakan kelompok dengan pemberian larutan CMC 1% per oral, memperlihatkan rata-rata peradangan yang terus meningkat. Larutan CMC 1% tidak memiliki efek menurunkan edema pada telapak kaki tikus sehingga kelompok ini tidak memperlihatkan adanya penghambatan peradangan. Kelompok indometasin merupakan kelompok dengan pemberian suspensi indometasin 10mg/KgBB. Kelompok ini memperlihatkan adanya penghambatan peradangan yang bermakna (73.9508%). Indometasin dapat mengurangi peradangan dengan mekanisme penghambatan mediator radang yaitu prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase (Wilmana, 2007).

Berdasarkan analisis data secara statistik dengan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* diketahui bahwa pada umumnya perlakuan pemberian berbeda terhadap tiap kelompok ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya dan kelompok kontrol (+) tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan antara satu dengan yang lainnya. Perbedaan nilai persentase radang rata-rata yang dihasilkan antar kelompok perlakuan ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya sendiri tidak terlalu signifikan. Perbedaan nilai persentase radang rata-rata yang signifikan pada jam ke-5 secara berurutan dari yang terkecil adalah kelompok kontrol (CMC1%) < kelompok ekstrak *n*-heksana 200 mg/KgBB < kelompok ekstrak metanol 200 mg/KgBB < kelompok ekstrak *n*-heksana

400 mg/KgBB < kelompok ekstrak metanol 400 mg/KgBB < kelompok indometasin 10 mg/KgBB. Artinya, perlakuan pemberian ekstrak daun pepaya menghasilkan nilai persentase radang rata-rata yang berbeda secara signifikan pada tiap dosis.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki aktivitas antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol dan *n*-heksana daun pepaya pada dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB tidak berbeda secara statistik.

Pemberian indometasin, ekstrak metanol dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB, ekstrak *n*-heksana dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB memberikan persentase radang telapak kaki tikus yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Hal ini menyatakan bahwa bahan uji yang diberikan pada tikus berperan sebagai antiinflamasi.

Hasil skrining fitokimia daun pepaya mengandung alkaloid, flavonoid dan steroid. Penggunaan penyari metanol pada simplisia daun pepaya yaitu untuk memperoleh kandungan senyawa-senyawa yang bersifat polar diantaranya flavonoid, sedangkan penggunaan penyari *n*-heksana untuk memperoleh kandungan senyawa-senyawa non polar yang salah satunya adalah steroid. Pada uji toksisitas akut, pemberian dosis 1000 mg/KgBB ekstrak metanol dan

n-heksana daun pepaya, tidak ditemukan adanya kematian hingga hari ke 14, sehingga tidak ada efek toksik yang bermakna. Selain itu tikus tidak menunjukkan adanya perubahan secara fisiologis.

DAFTAR ACUAN

- Ayoola, P.B., Adeyeye, A. (2010). Effect of heating on the chemical composition and physico - chemical properties of *Arachis hypogea* (groundnut) seed flour and oil. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(8), 751-754
- Elya, Berna., Amin, Juheini., Emiyanah. (2010). Toksisitas akut daun *Justicia gendarussa* Burm. *Makara sains*, 14(2), 29-134
- Erlina, R., A. Indah., Yanwirasti. (2007). Efek antiinflamasi ekstrak etanol kunyit (*Curcuma domestica* Val.) pada tikus putih jantan galur wistar. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 12(2), 112-115
- Garcia-Lafuente, A., E. Guillamo'n, A. V. Mauricio, A. R. Jose, and A. Mart.'nez. (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: Implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, 58, 537-552
- Imaga NA, GbenleGO, Okochi VI, Adenekan S, Duro-Emmanuel T, Oyeniya B, *et al.* (2010). Phytochemical and antioxidant nutrient constituents of *Carica papaya* and *Parquetina nigrescens* extracts. *Scientific Research and Essays*, 5(16), 2201-2205
- Linnet, A., P. G. Latha, M. M. Gincy, G. I. Anuja, S. R. Suja, S. Shymal, *et al.* (2010). Anti-inflammatory, analgesic and anti-lipid peroxidative effects of *Rhaphidophora pertusa* (Roxb.) and *Epipremnum pinnatum* (Linn.) Engl. aerial parts. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1(1), 5-10
- Mahatrinny, N.N., Payani, N.P.S., Oka, I., Astuti, K.W. (2014). Skrining fitokimia ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari daerah Ubud, Kabupaten Gianyar, Bali. *Karya Tulis Ilmiah*. Bali : Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
- Mahmood, A.A., Sidik, K., Salmah, I. (2005). Wound healing activity of *Carica papaya* leaf extract in rats. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, 1(4), 398-401
- Otsuki, Dang, Kumagai, Kondo, Iwata, Morimoto. (2010). Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. *Journal Ethnopharmacol*, 127(3), 760-7
- Owoyele, B.V., Adebukola, O.M., Funmilayo, A.A., Soladoye, A.O. (2008). Anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Carica papaya* leaves. *Journal Inflammopharmacology*, 16, 168-173

Ravi, V., T. S. M. Saleem, S. S. Patel, Raamamurthy., K. Gauthaman. (2009). Anti-inflammatory effect of methanolic extract of *Solanum nigrum* Linn. Berries. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 2(2), 33-36

Serafini, M., I. Peluso., A. Raguzzini. (2010). Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69, 273-278

Wilmana, FP. (2007). *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Gaya Baru