

**PENGARUH EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica
papaya*) TERHADAP KADAR IL-6 DAN SOD
PADA TIKUS YANG DIINDUKSI MSG**

Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai
derajat Magister (S2)**



Magister Ilmu Biomedik

Shanti Ayu Yusufiaty

MBK.23.22.010393

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2025**

TESIS
**PENGARUH EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica*
papaya) TERHADAP KADAR IL-6 DAN SOD**
PADA TIKUS YANG DIINDUKSI MSG

disusun oleh:

Shanti Ayu Yusufiaty

MBK.23.22.010393

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Kamis, 28 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui:

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Siti Thomas Z, S.KM, M. Kes
NIK.210.109119

Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, Msi. Apt
NIK. 210.198.047

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS
NIK 210 113 160

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Shanti Ayu Yusufiaty
Tempat / tanggal lahir : Cirebon , 12-12-1975
Agama : Islam
Jenis kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN : Lulus tahun 1987
2. SMPN : Lulus tahun 1990
3. SMAN : Lulus tahun 1993
4. S1 Fakultas Kedokteran UNJANI : Lulus tahun 2000
5. Profesi Dokter : Lulus tahun 2002
6. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2023 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr Deki S MMRS
2. Nama Anak :

1. Aulia permata Devi S
2. Syamil Basayev
3. Kemas Salman R

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena telah memberikan Rahmat kesehatan dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tesis yang berjudul "PENGARUH EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) TERHADAP KADAR IL-6 DAN SOD PADA TIKUS YANG DIINDUKSI MSG".

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu tugas akhir di Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada seluruh dosen yang telah membantu dan mendukung serta memotivasi penulis dalam penyelesaian penulisan tesis.

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.F selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan selaku penguji yang memberi bimbingan masukan selama penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. Siti Thomas Z, S.KM, M. Kes selaku pembimbing I yang telah memberikan masukan serta arahan dan semangat dalam penyusunan tesis.

5. Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, Msi. Apt selaku pembimbing II yang telah meluangkan banyak waktu, memberikan semangat serta masukan selama penyusunan tesis.
6. Dr. dr. Minidian Fasitarsi, M.Sc, Sp.GK selaku penguji II yang telah memberikan banyak masukan dalam menyelesaikan laporan tesis ini.
7. Dr. dr. Joko Wahyu W, M.Kes selaku penguji III yang telah memberikan banyak kritik serta saran dalam menyelesaikan laporan tesis ini.
8. Asisten penelitian dan staf Laboran *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang, yang telah banyak membantu dalam penyelesaian laporan penelitian ini
9. Kedua Orang Tua, Suami dan Anak-anak tercinta yang telah memberikan doa, semangat, dukungan sehingga tesis ini dapat disidangkan.
10. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu dalam penyelesaian laporan penelitian ini

Akhir kata penulis menyampaikan semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat untuk semuanya, khususnya bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran.

Semarang, Agustus 2025

Hormat saya,



(Shanti Ayu Yusufiaty)

DAFTAR ISI

	Halaman
TESIS	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah Penelitian.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
1.5. Originalitas Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. <i>Interleukin 6</i> (IL-6).....	8
2.1.1. Aktivitas IL-6.....	8
2.1.2. Peran <i>Interleukin-6</i> (IL-6).....	10
2.1.3. Metode pengukuran IL6 metode ELISA	11
2.2 <i>Superoxide dismutase</i> (SOD)	13
2.2.1 Aktivitas SOD.....	13
2.2.2 Mekanisme kerja SOD.....	14
2.2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar SOD	16
2.2.3 Pengukuran kadar SOD dengan metode ELISA.....	17
2.3 EKSTRAK DAUN PEPAYA (<i>Carica papaya</i>)	20

2.3.1 Definisi Daun Pepaya	20
2.3.2 Sistematika dan Taksonomi Daun Pepaya.....	21
2.3.3 Proses pembuatan Ekstrak Daun Pepaya.....	22
2.3.4 Manfaat Ektrak Daun Pepaya	22
2.4 <i>Monosodium glutamat</i> (MSG)	24
2.4.1 Definisi <i>Monosodium glutamat</i> (MSG)	24
2.4.2 Metabolisme Asam Glutamat	25
a. Subtansi sintesa protein.....	25
b. Pasangan transmisi dengan α -ketoglutarate	25
c. Prekursor glutamin.....	26
2.4.3 Toksisitas Asam Glutamat	26
2.5 Pengaruh Ektrak Daun Pepaya Terhadap Kadar IL-6 dan SOD yang diinduksi oleh konsumsi berlebih MSG.....	28
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS.....	31
3.1 Kerangka Teori.....	31
3.2 Kerangka Konsep	35
3.3 Hipotesis Penelitian.....	35
BAB IV METODE PENELITIAN	36
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	36
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	37
4.2.1 Populasi.....	37
4.2.2 Sampel	37
4.2.3 Cara Pemilihan Sampel.....	37
4.3 Variabel Penelitian	38
4.4 Definisi Operasional.....	38
4.4.1 Variabel bebas.....	38
4.4.2 Variabel terikat	38
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	39
4.5.1 Peralatan penelitian.....	39
4.5.2 Pembuatan ekstrak daun pepaya	40
4.5.3 Prosedur pemberian oral ekstrak daun pepaya	41
4.5.4 Pengambilan darah dan pengumpulan serum	42
4.6 Cara Penelitian.....	42
4.6.1 Prosedur pengukuran kadar IL-6 dan SOD metode ELISA	43

4.6.2 Alur Penelitian	45
4.7 Analisis Data	46
4.8 Jadwal Pelaksanaan Penelitian	46
4.8.1 Tempat Penelitian	46
4.8.2 Waktu Penelitian.....	46
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	47
5.1 Hasil Penelitian.....	47
5.1.1 Hasil rata-rata kadar IL-6 pada serum tikus yang diberikan <i>Monosodium glutamat</i> (MSG) peroral.....	47
5.1.2 Hasil rata-rata kadar SOD pada serum tikus yang diberikan <i>Monosodium glutamat</i> (MSG) peroral.....	49
5.2 Pembahasan	51
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	56
6.1. Kesimpulan.....	56
6.2. Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	66
Surat izin etik penelitian.....	66
Dokumentasi Penelitian	67
Hasil Analisis Laboratorium sampel serum	69
Lampiran Analisa Statistik Menggunakan SPSS	73

DAFTAR SINGKATAN

APP	: <i>Acute phase protein</i>
AP-1	: <i>Protein aktivator 1</i>
CLP	: <i>Cecal ligation and puncture</i>
CP	: <i>Carica papaya</i>
CPS	: <i>Cerebro spinal fluid</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
eNOS	: <i>endothelial nitricoxide synthase</i>
FDA	: <i>Food and drug administration</i>
GF	: <i>Growth factor</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
CPS	: <i>Cerebro spinal fluid</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-10	: <i>Interleukin-10</i>
MMP	: <i>Matrix metalloproteinase</i>
MSG	: <i>Monosodium glutamate</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
PAMPs	: <i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PRRs	: <i>Pattern recognition receptors</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor-beta</i>

TLRs : *Toll like receptors*

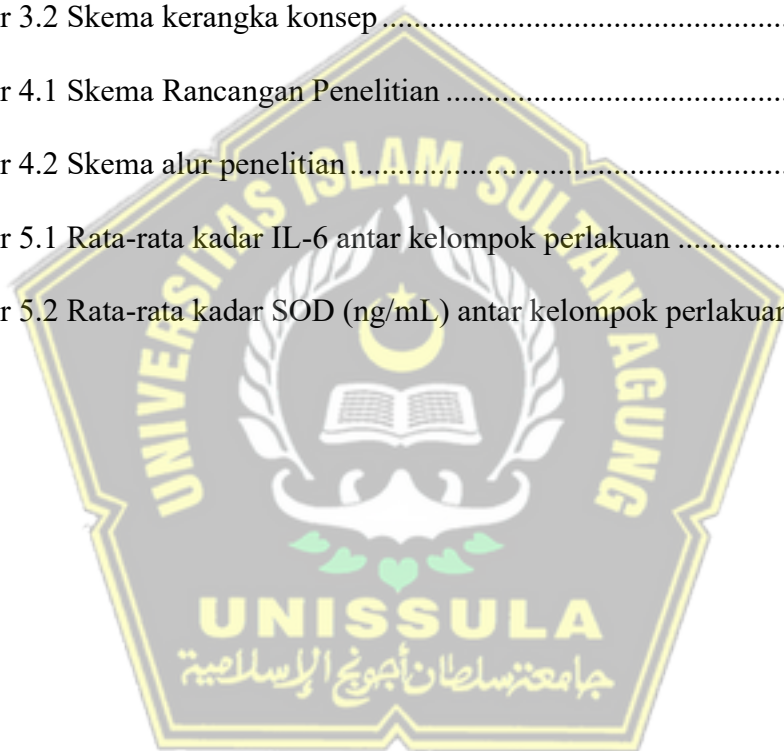
TNF- α : *Tumor necrosis factor-alpha*

TNF- β : *Tumor necrosis factor-beta*



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Aktivasi IL-6.	9
Gambar 2.2. Daun Pepaya.....	20
Gambar 2.3 Struktur kimia senyawa bioaktif penting yang terdapat pada Daun Pepaya.	21
Gambar 3. 1 Skema kerangka teori.....	34
Gambar 3.2 Skema kerangka konsep.....	35
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.....	36
Gambar 4.2 Skema alur penelitian.....	45
Gambar 5.1 Rata-rata kadar IL-6 antar kelompok perlakuan.....	48
Gambar 5.2 Rata-rata kadar SOD (ng/mL) antar kelompok perlakuan.....	50



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5.1 Rata-rata kadar IL-6 (ng/L), normalitas, homogenitas dan uji <i>Kruskal Wallis</i> antar kelompok perlakuan.....	47
Tabel 5.2 Uji <i>Mann Whitney</i> kadar IL-6 pada tiap kelompok.....	49
Tabel 5. 3 Rata-rata Ekspresi SOD (ng/mL) dan Hasil Analisis dengan Uji <i>One way anova</i>	49



ABSTRAK

Latar Belakang: Konsumsi monosodium glutamat (MSG) secara berlebihan dapat meningkatkan stres oksidatif dan memicu inflamasi, yang ditandai dengan peningkatan kadar interleukin-6 (IL-6) serta penurunan kadar superoxide dismutase (SOD). Daun pepaya (*Carica papaya*) mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, serta vitamin C dan E yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Tujuan penelitian untuk membuktikan pengaruh ekstrak daun pepaya terhadap kadar IL-6 dan SOD pada tikus Wistar yang diinduksi MSG.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan desain *post test only control group*. Tikus Wistar jantan dibagi menjadi empat kelompok: K1 (kontrol sehat), K2 (diinduksi MSG), K3 (diinduksi MSG + ekstrak daun pepaya 100 mg/200gBB), dan K4 (diinduksi MSG + ekstrak daun pepaya 200 mg/200gBB). Perlakuan diberikan selama 14 hari. Kadar IL-6 dan SOD diukur menggunakan metode ELISA.

Hasil: Kadar IL-6 pada kelompok (K2) paling rendah yaitu $3,26 \pm 0,45$ ng/L, kelompok sehat (K1) $4,41 \pm 0,68$ ng/L, kelompok (K4) $4,44 \pm 0,44$ ng/L, dan paling tinggi pada kelompok (K3) $5,36 \pm 0,70$ ng/L. Untuk kadar SOD, nilai paling rendah terdapat pada (K2) $3,26 \pm 0,45$ ng/L, diikuti kelompok sehat (K1) $4,41 \pm 0,68$ ng/L, kelompok perlakuan (K4) $4,44 \pm 0,44$ ng/L, dan paling tinggi pada kelompok (K3) yaitu $5,36 \pm 0,70$ ng/L. Pemberian ekstrak daun pepaya menyebabkan kadar IL-6 paling rendah dengan efek paling optimal pada dosis 200 mg/200 gBB, dan menyebabkan kadar SOD paling tinggi pada kelompok (K3) meskipun tidak signifikan.

Kesimpulan: Ekstrak daun pepaya berpengaruh terhadap kadar IL-6 tetapi tidak berpengaruh terhadap kadar SOD pada tikus yang diinduksi MSG.

Kata Kunci: *Carica papaya*, Kadar IL-6, Kadar SOD, MSG, antioksidan, inflamasi

ABSTRACT

Background: Excessive consumption of monosodium glutamate (MSG) can increase oxidative stress and trigger inflammation, which is characterized by elevated levels of interleukin-6 (IL-6) and decreased levels of superoxide dismutase (SOD). Papaya leaves (*Carica papaya*) contain bioactive compounds such as flavonoids, saponins, as well as vitamins C and E, which have potential antioxidant and anti-inflammatory properties. The aim of this study is to investigate the effect of papaya leaf extract on IL-6 and SOD levels in MSG-induced Wistar rats.

Methods: This experimental study employed a post-test only control group design. Male Wistar rats were divided into four groups: K1 (healthy control), K2 (MSG-induced), K3 (MSG-induced + papaya leaf extract 100 mg/200 g BW), and K4 (MSG-induced + papaya leaf extract 200 mg/200 g BW). Treatments were administered for 14 days. IL-6 and SOD levels were measured using the ELISA method.

Results: IL-6 levels in group K2 were lower at 3.26 ± 0.45 ng/L, followed by the healthy control group K1 (4.41 ± 0.68 ng/L), group K4 (4.44 ± 0.44 ng/L), and higher in group K3 (5.36 ± 0.70 ng/L). For SOD levels, lower values were found in K2 (3.26 ± 0.45 ng/L), followed by the healthy control group K1 (4.41 ± 0.68 ng/L), treatment group K4 (4.44 ± 0.44 ng/L), and higher in K3 (5.36 ± 0.70 ng/L). Administration of papaya leaf extract resulted in lower IL-6 levels, with the most optimal effect at a dose of 200 mg/200 gBW, and in higher SOD levels in group K3, although the latter was not statistically significant.

Conclusion: Papaya leaf extract affects IL-6 levels but does not influence SOD levels in MSG-induced rats.

Keywords: *Carica papaya*, IL-6 levels, SOD levels, MSG, antioxidants, inflammation.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Carica papaya (CP) merupakan tanaman tropis populer yang memiliki potensi sifat obat yang besar.¹ Pepaya banyak ditanam di daerah beriklim tropis termasuk Indonesia karena kandungan nutrisinya yang baik, harga yang relatif murah, mudah tumbuh, dan merupakan tanaman sepanjang musim.² Daun pepaya merupakan sumber penting antioksidan alami yang dapat digunakan untuk modulasi makanan terhadap stres oksidatif dan peradangan, menunjukkan efek pelemahan produksi ROS dan sekresi sitokin proinflamasi *Interleukin-6* (IL-6) serta peningkatan aktivitas *Superoxide dismutase* (SOD).³ Ekstrak daun pepaya meningkatkan status antioksidan tubuh, ditandai dengan peningkatan SOD,⁴ menurunkan lonjakan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 yang menunjukkan efek sinergis yang kuat.⁵ Daun sebagai salah satu bagian yang mempunyai kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan fenolik, vitamin C dan E.^{6,7} yang berpotensi untuk mengobati infeksi, meningkatkan kekebalan tubuh, sebagai antiinflamasi, dan berkhasiat mencegah penyakit lainnya.⁷

Konsumsi *Monosodium glutamat* (MSG) berlebihan dikaitkan dengan berbagai masalah kesehatan, termasuk inflamasi, menyebabkan degenerasi lemak pada hepatosit dan adanya sel-sel radang, mempengaruhi viabilitas sel monosit dalam respons imun dan inflamasi, menyebabkan nekrosis pada neuron hipotalamus dan menyebabkan toksisitas pada hepar.⁸ Efek anti inflamasi seperti yang dimiliki pada daun pepaya memiliki potensi untuk proteksi terhadap inflamasi

dan kerusakan jaringan.⁹ Antioksidan alami sebagai alternatif untuk menyeimbangkan ROS dan kekhawatiran akan toksisitas antioksidan sintetik.^{10,11} Salah satunya daun pepaya yang memiliki kandungan antioksidan tertinggi diantara sayuran hijau lainnya, dan juga sangat umum dikonsumsi di Indonesia.⁴

Mengonsumsi MSG >6 gram/perhari (WHO), >5gram/hari (Kemenkes RI) menyebabkan peningkatan reaktif oksigen spesies (ROS), bersifat racun bagi berbagai organ,¹² memodifikasi protein, dan merusak DNA, yang menyebabkan kematian sel,^{13,14} meningkatkan sitokin pro inflamasi IL-6 serta menurunkan kadar SOD.¹² MSG menyebabkan ketidakseimbangan elektrolit, gangguan metabolisme termasuk penambahan berat badan, hipertensi, dan sindrom metabolik.¹⁵⁻¹⁷ Data dari Riskesdas menunjukkan peningkatan prevalensi hipertensi di Indonesia dari 25,8% pada tahun 2013 menjadi 34,1% pada tahun 2018. Meskipun tidak secara langsung mengaitkan MSG sebagai penyebab utama, asupan natrium yang tinggi merupakan faktor risiko yang signifikan.¹⁸ *Food and Drug Administration* (FDA) menyatakan bahwa MSG adalah zat yang aman, namun beberapa penelitian pada hewan menunjukkan efek negatif setelah konsumsi MSG secara kronis.¹⁹

Efek anti-inflamasi daun pepaya diselidiki lebih lanjut pada berbagai penelitian eksperimental *in vivo*. Somanah *et al.* 2017 melaporkan ekstrak pepaya dengan dosis 2 mg/mL menunjukkan efek pelemahan produksi ROS dan sekresi sitokin proinflamasi IL-6 dan TNF- α serta peningkatan aktivitas SOD.³ Usmani *et al.* 2023 menyelidiki potensi sifat imunomodulator yang penting untuk pengobatan sepsis, pemberian ekstrak etanol daun *C. pepaya* pada tikus sepsis secara signifikan menurunkan lonjakan sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi yang diinduksi *cecal*

ligation and puncture CLP (TNF- α , IL-6, IL-10). Selain itu, ekstrak etanol bersama dengan imipenem dan CP menunjukkan efek sinergis yang kuat sehingga berpotensi untuk pengobatan sepsis.⁵ Sejalan dengan penelitian diatas, ekstrak etanol daun pepaya mengurangi edema kaki yang disebabkan oleh karagenan, pembentukan granuloma, serta peradangan pada tikus arthritis yang diinduksi formaldehida.²⁰ Pemberian ekstrak daun pepaya dosis 200,6 mg/200 g berat badan selama 40 hari meningkatkan status antioksidan tubuh, ditandai dengan meningkatnya kadar SOD dan penurunan kadar glukosa darah menjadi normal.⁴

ROS terlibat hampir disemua organ tubuh yang menyebabkan kerusakan jaringan.²¹ ROS yang tidak stabil bersifat sangat reaktif, ketidak seimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan menyebabkan stres oksidatif, sampai pada kerusakan jaringan.²² Antioksidan dapat digunakan sebagai alternatif menurunkan gangguan inflamasi yang biasanya disebabkan oleh ROS karena memiliki kemampuan untuk memperlambat atau menghentikan proses oksidasi serta memutus rantai yang dapat merusak sel dan jaringan.²³ Kandungan antioksidan yang kuat dari ekstrak daun pepaya dengan adanya senyawa fenol dan flavonoid, dapat menurunkan kadar asam lemak dengan menghambat aktivitas enzim XO, mendonorkan atom H⁺, mencegah stress oksidatif dan menetralkan radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan sel.^{7,20,24} Pemberian ekstrak daun pepaya diharapkan dapat menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan kadar SOD yang diakibatkan oleh konsumsi berlebih MSG.

1.2. Rumusan Masalah Penelitian

Apakah ekstrak daun pepaya berpengaruh terhadap kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG?.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk membuktikan pengaruh ekstrak daun pepaya terhadap kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang tidak diinduksi MSG dan tidak diberikan ekstrak daun pepaya
- b. Untuk mengetahui rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG dan tidak diberikan ekstrak daun pepaya
- c. Untuk mengetahui rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG dan diberikan ekstrak daun pepaya dosis 100mg
- d. Untuk mengetahui rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG dan diberikan ekstrak daun pepaya dosis 200mg
- e. Menganalisis perbedaan rata-rata kadar IL-6 dan SOD antar kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Untuk menambah literasi tentang manfaat ekstrak daun pepaya pada tikus yang diinduksi MSG dan menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Manfaat secara praktis dari penelitian ini memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat ekstrak daun pepaya yang dapat berkhasiat dalam perbaikan dan penyembuhan inflamasi.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
Somanah J, Bourdon E, Ba.horun T. 2117. ³	<i>Extracts of Mauritian Carica papaya (var. solo) protect SW872 and HepG2 cells against hydrogen peroxide induced oxidative stress.</i>	Eksperimen tal, <i>In vivo</i>	Ekstrak biji dan kulit pepaya melindungi terhadap stres oksidatif, menjaga kelangsungan hidup sel, menghambat oksidasi protein dan mengembalikan aktivitas SOD dengan secara aktif menetralkan penumpukan ROS intraseluler. menunjukkan peran penting terhadap stres oksidatif dan peradangan. ³
Usmani J, Wasim M, Ansari MN, Hassan MJ, Sharma M, Ahmad R. 2023. ⁵	<i>Potential therapeutic effect of Carica papaya leaves extract on immune response, biochemical and hematological mechanisms on cecal ligation and puncture model of sepsis in rats: an in vivo study</i>	Penelitian eksperimen tal <i>In Vivo</i>	Ekstrak etanol dari daun C. pepaya dikombinasikan dengan imipenem dan CP mengurangi infeksi dengan memodulasi respon imun terhadap cedera, mengatur jalur biologis dan hematologi yang terlibat dalam terjadinya sepsis. ⁵
Kyaw TS, Sukmak M, Nahok K, et al. 2022. ¹³	<i>Monosodium glutamate consumption reduces the renal excretion of trimethylamine N-oxide and the abundance of Akkermansia muciniphila in the gut.</i>	Penelitian eksperimen tal <i>In Vivo</i>	Tikus Wistar diberi pakan dengan diet standar 0,5, 1,5 atau 3,0 g% MSG yang setara dengan 7, 21, atau 42g/hari dalam 60kg manusia, diet standar dengan 3,0g% MSG dalam air minum yang dihentikan setelah 4 minggu Konsumsi MSG menyebabkan Akumulasi TMAO dalam darah melalui pengurangan ekskresi ginjal yang berhubungan dengan cedera ginjal akut. ¹³

Od-Ek P, Deenin W, Malakul W, Phoungpetc hara I, Tunsophon S. 2020. ²⁵	<i>Anti-obesity effect of Carica papaya in high-fat diet fed rats.</i>	Penelitian eksperim ental In Vivo	Jus pepaya menurunkan penyerapan lipid serta efek anti-obesitas, anti-dislipidemia, dan anti-inflamasi pada tikus yang mengalami obesitas. Terjadi peningkatan aktivitas SOD, dapat menstimulasi SOD, dan hal ini dapat menangkalkan efek zat yang berpotensi membahayakan. ²⁵
Nissa C, Kartasurya MI, Rahmawati B. 2015. ⁴	<i>Effects of Chlorophyll in Papaya Leaves on Superoxide Dismutation and Blood Glucose Level of Diabetic Rats.</i>	Penelitian eksperime ntal In Vivo	Ekstrak daun pepaya selama 40 hari meningkatkan status antioksidan tubuh, ditandai dengan peningkatan SOD dan penurunan kadar glukosa darah. Ekstrak dengan dosis 200,6 mg/200g berat badan dapat menurunkan kadar glukosa darah menjadi normal setelah 40 hari. ⁴
Yahya Y, Nurliani A, Santoso HB. 2017. ²⁶	<i>The Effect of Papaya (Carica papaya L.) Leaf Extract to the Number of Trypanosoma evansi Steel in Liver and Kidney of Mice (Mus musculus L. 1758).</i>	Penelitian eksperime ntal In Vivo dan In Vitro	Ekstrak etanol pepaya terbukti mampu menurunkan jumlah Trypanosoma evansi di hati dan ginjal. Dosis 300 mg/ kg-1 ekstrak daun pepaya mampu menurunkan jumlah T. evansi pada hati dan ginjal dibandingkan dosis 75 mg · kg-1 dan 150 mg · kg-1. ²⁶

Berdasarkan originalitas penelitian sebelumnya, secara keseluruhan penelitian tersebut melakukan pengamatan terhadap potensi pepaya dalam meningkatkan kekebalan tubuh serta memiliki sifat antidiabetik, antikanker, antiinflamasi, dan pencegah penyakit lainnya.⁷ Persamaan dalam penelitian tersebut berfokus pada penggunaan tanaman alami sebagai sumber antioksidan yaitu daun pepaya yang banyak dikonsumsi serta memiliki efek antiinflamasi. Berbeda dengan penelitian terdahulu, dimana penelitian ini merupakan penelitian eksperimen *in vivo*

yang dilakukan pada tikus wistar yang diinduksi MSG berlebih, berfokus pada pengamatan parameter molekuler yaitu kadar IL-6 dan Kadar SOD.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Interleukin 6 (IL-6)*

2.1.1. Aktivitas IL-6

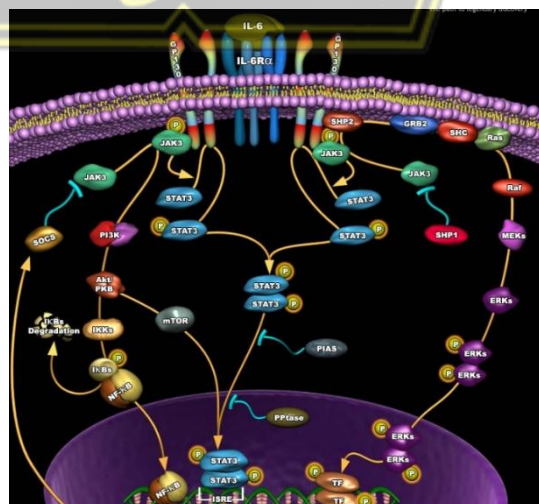
Interleukin 6 (IL-6) disekresikan oleh berbagai protein heterogen dengan berat molekul 19-70 kD, dengan bentuk isoform yang dominan berkisar antara 23-30 kD. Polipeptida IL-6 berikatan dengan protein pembawa yang berbeda contohnya albumin dan soluble IL-6 reseptor. IL-6 beredar dalam bentuk multiple *glycosylated* dengan ukuran bervariasi antara 21-28 kDa,²⁷ tergantung dari proses berlangsung seperti glikosilasi dan fosforilasi. Melalui proses ini maka aktivitas biologi IL-6 dan kehadirannya di jaringan yang spesifik bisa terjadi. Peptide IL-6 terdiri dari 212 asam amino dengan gen yang terletak pada kromosom 7p21 dengan jumlah 5 ekson dan 4 intron.²⁸

IL-6 merupakan sitokin proinflamasi, merupakan indikator menilai tingkat inflamasi yang dialami oleh sel endotel pembuluh darah.²⁹ Peningkatan kadar IL-6 serum dapat menyebabkan penurunan regulasi produksi *Nitric Oxide (NO)* dengan menghambat *endothelial nitricoxide synthase (eNOS)* sehingga memfasilitasi pembentukan trombus dan akibatnya meningkatkan risiko kejadian penyakit kardiovaskuler. Peningkatan kadar sitokin inflamasi berhubungan dengan disfungsi endotel dan untuk mengidentifikasi pasien dengan kondisi yang lebih parah.²⁷

Limfosit T helper dibagi menjadi Th1 yang menghasilkan sitokin

proinflamasi *interferon- γ* (IFN- γ), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *tumor necrosis factor- β* (TNF- β), *interleukin-1*, IL-6, *interleukin-8*, *interleukin-12* yang berfungsi mengaktifkan sistem imun seluler dan sistem imun non spesifik. Th2 menghasilkan sitokin anti inflamasi yaitu *interleukin-4* dan *interleukin-10* yang mengaktifkan sistem imun humoral.³⁰

Nilai normal kadar IL-6 dalam serum adalah < 4 pg/ml. Jika kadar IL-6 dalam serum adalah ≥ 4 pg/ml dapat dikatakan meningkat,³¹ hal ini menandakan bahwa telah terjadi suatu proses inflamasi. Peningkatan IL-6 juga memiliki efek yang merugikan seperti meningkatkan suhu tubuh dan menyebabkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya proses inflamasi.³² Kadar IL-6 dalam serum dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Pada usia 65- 74 tahun, kadar IL-6 rata-rata adalah 1,4 pg/ml pada laki - laki dan 1,1 pg/ml pada wanita. Pada usia diatas 85 tahun, rata-rata kadar IL-6 pada laki – laki adalah 3,5 pg/ml dan 2,1 pg/ml pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 terkait usia diakibatkan stimulasi produksi IL-6 terkait peningkatan jumlah radikal bebas oksigen.³³



Gambar 2.1 Aktivasi IL-6.³⁴

Salah satu sitokin proinflamasi yang diproduksi dalam berbagai situasi darurat, berfungsi sebagai mediator dalam berbagai situasi darurat dan memicu sinyal peringatan ke seluruh tubuh. *Pattern Recognition Receptor* (PRR) pada sel kekebalan seperti monosit dan makrofag mengidentifikasi indikator spesifik patogen eksogen, juga disebut sebagai pola molekuler, pada lesi yang terinfeksi.³⁴ *Toll like receptor* (TLRs) mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan, NF κ B, meningkatkan transkripsi mRNA sitokin inflamasi seperti IL-6, TNF- α , dan IL-1 β . TNF- α , dan IL-1 β kemudian merangsang faktor transkripsi untuk menghasilkan IL-6.³⁵

2.1.2. Peran *Interleukin-6* (IL-6)

IL-6 merupakan sitokin proinflamasi kuat yang dihasilkan oleh beberapa jenis sel, termasuk makrofag yang teraktivasi, sel T, sel endotel, dan sel otot polos untuk merangsang respon kekebalan tubuh selama infeksi telah diakui sebagai penanda potensial terkait dengan kejadian penyakit kardiovaskuler. Selain itu, IL-6 juga mempengaruhi kondisi lingkungan seluler, termasuk efek pada trombosit, endotelium, faktor metabolisme, dan koagulasi. IL-6 memainkan peran penting dalam proses ruptur atau erosi plak aterosklerotik dan kadar IL-6 serum yang meningkat selama peristiwa ini.²⁷ Peningkatan kadar IL-6 berkorelasi dengan kerusakan jaringan dan inflamasi yang terjadi. Secara umum IL-6 berhubungan dengan IL-1 dan TNF- α , yang artinya ketiga sitokin ini dapat saling berkoordinasi pengeluarannya dari monosit aktif, terutama di daerah inflamasi sehingga sering disebut sitokin proinflamasi (*proinflammatory-cytokine*).³⁶

IL-6 berfungsi sebagai sitokin pro inflamasi yang disekresikan oleh sel T dan makrofag. Berperan dalam merangsang respon sistem kekebalan tubuh terhadap mikroba tertentu seperti *Mycobacterium leprae* melalui *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) yang kemudian akan mengikat *pattern recognition receptors* (PRRs) dan *Toll-like receptors* (TLRs).³⁷ Sitokin IL-6 merangsang hepatosit untuk memproduksi *acute phase protein* (APP) dan *cerebro spinal fluid* (CPS) untuk merangsang progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi *neutrophil*. selain itu, IL-6 juga merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang akan memproduksi antibodi pada sistem imun spesifik. IL-6 merupakan *growth factor* (GF) sel plasmaneoplastik (*myeloma*).³⁸

IL-6 memiliki 2 molekul *transmembrane*, yaitu *interleukin-6R* dan *signal transducing subunit*. Peran pleiotropik *interleukin-6* sebagai agen pro inflamasi dan anti inflamasi yang berkaitan dengan *interleukin-6R*. *interleukin-6* diregulasi dan diekspresikan dengan jumlah yang sedikit, kecuali pada kondisi infeksi dan kondisi trauma. Peran proinflamasi *interleukin-6* terjadi pada proses kronis, seperti penyakit-penyakit autoimun, contohnya; lupus, kusta, *rheumatoid arthritis*. Peningkatan kadar *interleukin-6* terjadi pada kondisi infeksi akut bakteri, peradangan kronis, kondisi bakterimia.³⁹

2.1.3. Metode pengukuran IL6 metode ELISA

Pengukuran kadar IL-6 dapat menggunakan metode *enzyme linked immune sorbent assay* (ELISA) dengan kadar normal <11 pg/ml. Metode

ELISA merupakan suatu teknik biokimia yang banyak digunakan dibidang imunologi yang berfungsi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen.⁴⁰ ELISA merupakan teknik molekuler yang digunakan untuk menganalisis interaksi antara antigen dan antibodi. Prinsip dasarnya yaitu pengikatan antibodi terhadap antigen yang dimobilisasi dan membentuk kompleks antigen-antibodi. Setelah terjadi reaksi antigen-antibodi maka akan terjadi perubahan warna. Intensitas warna berbanding lurus dengan jumlah antigen yang ada dalam sampel. pembacaan hasil dengan ELISA Reader berupa *Optical Density*.⁴¹ Ketersediaan metode untuk mengukur sitokin sangat penting untuk melawan infeksi dan respons imun lainnya, ELISA adalah metode yang paling banyak digunakan.⁴²

2.1.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar IL-6

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin pleiotropik yang berperan penting dalam regulasi respon imun, inflamasi, dan metabolisme. Kadar IL-6 dalam tubuh sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor baik intrinsik maupun ekstrinsik. Stres oksidatif menjadi salah satu pemicu utama karena aktivasi jalur transkripsi NF- κ B dapat meningkatkan ekspresi IL-6, sedangkan keberadaan antioksidan mampu menekannya. Infeksi bakteri maupun virus juga memicu pelepasan IL-6 dalam jumlah tinggi sebagai bagian dari respon imun tubuh. Selain itu, obesitas dan gangguan metabolisme turut meningkatkan kadar IL-6 secara kronis melalui aktivitas jaringan adiposa, yang berhubungan erat dengan resistensi insulin.⁴³

Aktivitas fisik juga memengaruhi kadar IL-6, di mana olahraga sedang justru meningkatkan IL-6 sebagai *myokine* yang protektif, sedangkan latihan berlebihan dapat memicu inflamasi. Faktor usia atau proses penuaan (*inflammaging*) menyebabkan peningkatan kadar IL-6 akibat disfungsi imun dan mitokondria. Pola diet juga memainkan peranan penting; diet tinggi lemak jenuh dapat menaikkan kadar IL-6, sedangkan konsumsi polifenol atau flavonoid dari bahan alam, termasuk daun pepaya, terbukti menurunkannya. Kadar IL-6 juga cenderung meningkat pada berbagai penyakit kronis seperti kanker, penyakit autoimun, diabetes melitus, maupun gangguan kardiovaskular.⁴⁴ Kadar IL-6 merupakan hasil dari interaksi kompleks antara faktor stres oksidatif, inflamasi, metabolisme, aktivitas fisik, usia, pola diet, serta kondisi patologis tertentu. Hal ini menunjukkan bahwa intervensi dengan agen antioksidan alami, seperti flavonoid dalam ekstrak daun pepaya, berpotensi menekan peningkatan IL-6 terutama pada kondisi stres oksidatif akibat induksi zat toksik seperti *monosodium glutamate* (MSG).

2.2 *Superoxide dismutase* (SOD)

2.2.1 Aktivitas SOD

SOD merupakan metaloenzim yang berfungsi sebagai antioksidan dan mengkatalisis proses reduksi radikal anion superoksida menjadi oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). SOD bertahan hingga lima tahun pada suhu $5^\circ C$. tidak stabil terhadap panas, dalam kondisi basa (PH 6,5–7,5). SOD merupakan antioksidan endogen yang berfungsi melawan radikal bebas. Antioksidan

berbasis enzim yang berfungsi untuk menangkap radikal bebas dan mencegah pembentukan radikal baru.⁴⁵

Tubuh memiliki tiga isoform enzim antioksidan SOD, CuZn-SOD ekstraseluler (EC-SOD atau SOD3), SOD sitosol atau tembaga-seng (CuZn-SOD atau SOD1), dan SOD mangan (Mn-SOD atau SOD2). Isoform ini berasal dari gen yang berbeda, tetapi masing-masing mengkatalisis reaksi yang sama, yaitu transformasi anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. SOD diekspresikan secara luas dalam sitoplasma dan memainkan peran penting dalam melindungi sel dari stres oksidatif.^{46,47}

2.2.2 Mekanisme kerja SOD

SOD adalah golongan enzim yang membatasi sistem enzim gugus oksidan biologis dalam tubuh, yang secara efektif dapat merespons stres oksidatif seluler, metabolisme lipid, peradangan, dan oksidasi. Penelitian yang dipublikasikan telah menunjukkan bahwa enzim SOD dapat mempertahankan keseimbangan dinamis antara produksi dan pembersihan oksidan biologis dalam tubuh dan mencegah efek toksik radikal bebas, dan telah terbukti efektif dalam studi antitumor, antiradiasi, dan antipenuaan.⁴⁸ Sistem pertahanan antioksidan kulit manusia melindungi terhadap ROS dengan menggabungkan mekanisme enzimatik dan non-enzimatik. Contoh antioksidan enzimatik termasuk katalase, glutathione peroksidase, dan SOD. Untuk menstabilkan H_2O_2 , enzim superoksida dismutase menghasilkan H_2O_2 yang kurang reaktif terhadap ROS. *Katalase* dan *glutathione peroksidase* akan menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.⁴⁹

Tubuh menghasilkan antioksidan untuk melindunginya dari ROS. Bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah, molekul antioksidan mencegah oksidasi. Dengan mengikat ion logam, menyerap radikal lipid peroksid, memperbaiki kerusakan oksidatif, dan menjebak radikal bebas secara kimia atau enzimatis, oksidan menetralkan ROS dan menstabilkan radikal bebas untuk menghentikan oksidasi dengan menarik atau melepaskan elektron. Antioksidan dibagi menjadi enzimatis dan non-enzimatis sesuai dengan fungsinya, antioksidan enzimatis seperti katalase, glutathione peroksidase (GSH peroksidase), dan SOD. Antioksidan non-enzimatis termasuk ubiquinone, vitamin C (asam askorbat), vitamin E (alfa tokoferol), dan vitamin A (retinoid).⁴⁹

Peningkatan ROS menyebabkan kerusakan sel, dua faktor transkripsi NF- κ B dan AP-1 (aktivator protein-1), mengaktifkan respons inflamasi, dan meningkatkan pemecahan kolagen melalui degenerasi matriks dan produksi MMP. Selain itu, ROS menyebabkan Nrf2 bertranslokasi ke nukleus dan memulai transkripsi gen antioksidan, mendorong pembentukan α -MSH, yang memicu jalur Nrf2 dan meningkatkan jalur Nrf2 yang diaktifkan di fibroblas dan sel lainnya.^{50,51}

Kadar ROS yang tinggi secara konsisten merusak struktur protein, lipid, dan DNA serta mengaktifkan jalur kematian sel. Akibatnya, kerusakan sel yang tidak dapat diperbaiki, malfungsi, dan kematian organisme terjadi. SOD3, isoenzim SOD yang terutama ditemukan di dinding arteri, melakukan dua fungsi: meningkatkan bioavailabilitas oksida nitrat dan membersihkan superoksida. Ketika kadar superoksida diturunkan, aktivitas oksida nitrat

meningkat dan homoeostasis kontraktilitas pembuluh darah ditingkatkan. Ini karena SOD3 membatasi interaksi cepat oksida nitrat dengan superoksida, yang menghasilkan peroksinirit. Hilangnya SOD3 menyebabkan peradangan perivaskular. SOD3 ditemukan di kedua epidermis dan dermis.⁵²

2.2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar SOD

SOD merupakan *metalloenzymes* yang mengandung atom tembaga, seng atau besi yang dibentuk dalam sitosol dan yang mengandung mangan dibentuk didalam matrik mitokondria, cara kerjanya dengan mengkatalisis dismutasi pada *superoxide* menjadi *hydrogen peroxide* dan oksigen, *hydrogen peroxide* mudah untuk berdifusi melewati membran plasma. Selanjutnya *hydrogen peroxide* diubah menjadi molekul air oleh enzim katalase dan *glutation peroksidase*. SOD merupakan enzim antioksidan yang berefek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh pertama dalam menghadapi radikal bebas.⁵³

Keberadaan SOD dapat ditemukan di otak, hati, sel darah merah, ginjal, tiroid, testis, otot jantung, mukosa lambung, kelenjar ptuitari, pankreas dan paru.⁵³ SOD ditemukan pada seluruh makhluk hidup yang penting bagi perlindungan sistem aerobik untuk mencegah keracunan oksigen (dan derivat radikal bebas dalam oksigen). Aktivitas SOD dapat dijadikan acuan pengukuran stress oksidatif dalam tubuh.⁵³ Kadar SOD juga dipengaruhi oleh usia jika semakin tua maka kadar SOD semakin menurun, selain itu juga dikendalikan oleh faktor *genetic*. SOD ialah enzim yang ditemukan dalam sel organisme hidup, memecah molekul oksigen yang berpotensi berbahaya, melindungi tubuh dari efek stres oksidatif, yang menjadikannya antioksidan kuat.⁵³

Kadar SOD juga dipengaruhi oleh usia jika semakin tua maka kadar SOD semakin menurun, selain itu juga dikendalikan oleh faktor genetik banyak faktor yang dapat mempengaruhi kadar oksidan dan antioksidan dalam tubuh antara lain oksigen, yang merupakan sumber utama radikal bebas yang berpotensi merusak meskipun sangat penting untuk kehidupan. Radikal bebas juga ada di lingkungan.

Sumber lingkungan yang menimbulkan radikal bebas termasuk paparan radiasi pengion (dari industri, paparan sinar matahari, sinar kosmik, dan sinar-X medis), ozon dan dinitrogen oksida (terutama dari knalpot mobil), logam berat (seperti merkuri, kadmium, dan timah hitam), asap rokok (baik aktif maupun pasif), alkohol, lemak tak jenuh, dan bahan kimia serta senyawa lain dari makanan, air, dan udara.⁵⁴

2.2.4 Pengukuran kadar SOD dengan metode ELISA

SOD mengkatalisis dismutasi superoksida menjadi oksigen dan peroksida (H_2O_2). Pada eukariota, termasuk manusia, terdapat tiga bentuk isoenzim SOD: (1) tembaga, SOD yang bergantung pada seng (Cu, Zn SOD), (2) yang bergantung pada mangan SOD (Mn SOD), dan (3) SOD ekstraseluler (EC-SOD). SOD banyak diteliti dan digunakan dalam aplikasi anti-inflamasi, antitumor, proteksi radiasi, dan antisenilitas. Namun, aplikasi klinis SOD sebagai agen terapeutik belum banyak digunakan. terbatas karena waktu pembersihan plasma yang sangat cepat, ketidakstabilan, dan imunogenisitas *in vivo*.⁵⁵

Metode pemeriksaan didasarkan pada ikatan antibodi pendeteksi SOD

terkonjugasi biotin. Standar dan sampel percontohan ditambahkan ke sumur selanjutnya. Setelah inkubasi, konjugat yang tidak terikat dihilangkan dengan buffer pencuci. Kemudian, antibodi pendeteksi biotinilasi ditambahkan untuk berikatan dengan SOD erkonjugasi pada antibodi berlapis. Setelah mencuci konjugat yang tidak terikat, HRP-Streptavidin ditambahkan. Setelah pencucian ketiga, substrat TMB ditambahkan untuk memvisualisasikan reaksi enzimatik HRP. TMB dikatalisis oleh HRP menghasilkan produk berwarna biru yang berubah menjadi kuning setelah ditambahkan larutan penghenti. Baca serapan OD pada 450nm dalam pembaca pelat mikro. Konsentrasi SOD dalam sampel dihitung dengan menggambar kurva standar. Konsentrasi zat target sebanding dengan nilai OD450.⁵⁵

Umumnya sampel jaringan perlu dibuat homogenisasi. Protokolnya sebagai berikut:

- 1) Jaringan ditempatkan di atas es, kemudian hapus sisa darah dengan mencuci jaringan dengan buffer PBS pra-pendinginan (0,01M, pH=7,4). Kemudian timbang untuk pemakaian.
- 2) Gunakan lisat untuk menggiling homogenat jaringan di atas es. Penambahan volume lisat bergantung pada berat jaringan. Biasanya, 9mL PBS cukup untuk 1gram potongan tisu. Beberapa protease inhibitor direkomendasikan untuk ditambahkan ke dalam PBS (misalnya 1mM PMSF).
- 3) Proses lebih lanjut menggunakan gangguan ultrasonik atau siklus beku-cair (penangas es untuk pendinginan diperlukan selama gangguan ultrasonik; siklus beku-cair dapat diulang dua kali.) untuk mendapatkan homogenat.

- 4) Homogenat kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada $5000\times g$. Kumpulkan supernatan untuk segera dideteksi. Atau dapat mengambil supernatannya dan menyimpannya pada suhu -20°C atau -80°C untuk pengujian selanjutnya.
- 5) Konsentrasi protein total dianalisis dengan kit BCA untuk analisis data lebih lanjut. Konsentrasi protein total untuk uji Elisa harus berada dalam kisaran 1-3mg/ml. Beberapa sampel jaringan seperti hati, ginjal, pankreas yang mengandung konsentrasi peroksidase endogen lebih tinggi dapat bereaksi dengan substrat TMB sehingga menyebabkan positif palsu. Jika demikian, coba gunakan H_2O_2 1% selama 15 menit inaktivasi dan lakukan pengujian lagi.⁵⁵

2.2.5 Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar SOD

Superoxide dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan utama yang berperan penting dalam mempertahankan keseimbangan redoks seluler dengan mengkatalisis dismutasi radikal superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Kadar dan aktivitas SOD dalam jaringan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik intrinsik maupun ekstrinsik. Faktor intrinsik mencakup kondisi fisiologis seperti usia, status metabolik, serta keberadaan penyakit degeneratif atau inflamasi, yang dapat menurunkan kemampuan tubuh dalam menghasilkan enzim antioksidan. Di sisi lain, faktor ekstrinsik meliputi paparan zat toksik, pola diet, ketersediaan mineral kofaktor (Cu, Zn, Mn), hingga asupan fitokimia dari bahan alam yang memiliki efek protektif terhadap stres oksidatif. Selain itu, regulasi molekuler

melalui jalur transkripsi Nrf2/Keap1-ARE dan interaksi dengan mediator inflamasi seperti interleukin-6 (IL-6) turut menentukan ekspresi dan aktivitas SOD. Kadar SOD pada suatu individu atau model hewan percobaan bukanlah nilai yang statis, melainkan hasil dari interaksi kompleks antara faktor internal dan eksternal yang memengaruhi status redoks tubuh.^{56,57}

2.3 EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica papaya*)

2.3.1 Definisi Daun Pepaya

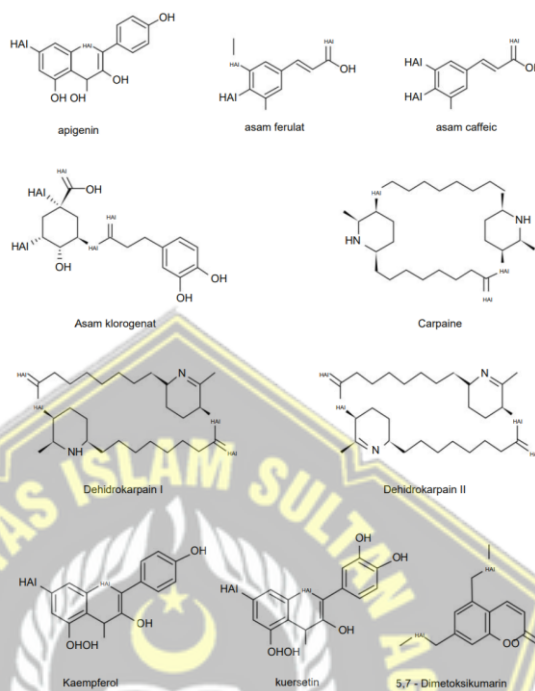
Carica papaya tumbuhan berbunga dan dikotil, tergolong dalam ordo violales, famili Caricaceae,⁵⁸ yang merupakan tanaman asli Amerika Selatan. Selain itu tanaman ini dibudidayakan di negara-negara seperti Malaysia, Brazil, Australia, dan Indonesia yang letaknya dekat dengan garis khatulistiwa. Tanaman *Carica papaya* dikenal dengan berbagai nama, seperti pepaya, paw paw, atau tapaya, berdasarkan sebaran geografisnya. Faktanya, tanaman ini terkenal dengan segudang khasiat obat dari setiap bagian tanamannya mulai dari buah, akar, daun, dan biji tanamannya.⁵⁸



Gambar 2.2. Daun Pepaya.¹

Pepaya tidak hanya dibudidayakan untuk diambil buahnya yang manis dan matang, bahkan bagian tanaman lainnya seperti biji, daun, akar, bunga, kulit kayu, dan lateks telah secara tradisional digunakan di seluruh dunia untuk pembuatan berbagai formulasi obat. Namun, daun telah muncul sebagai

salah satu bagian yang paling bermanfaat dengan banyak senyawa dan aktivitas yang meningkatkan kesehatan.⁷



Gambar 2.3 Struktur kimia senyawa bioaktif penting yang terdapat pada daun pepaya.⁷

Daun pepaya (*Carica papaya*) mengandung senyawa alkaloid seperti karpain, flavonoid, tanin, saponin, pseudokarpain, vitamin A, C, E, dan K, papain, kolin, dan karposid. Daun pepaya mengandung suatu glukosinolat yang disebut benzil isotiosianat. Daun pepaya juga mengandung mineral seperti kalium, kalsium, magnesium, tembaga, zat besi, zink, dan mangan.⁶

2.3.2 Sistematika dan Taksonomi Daun Pepaya

Tanaman ini tidak bercabang, pohon kecil, batang tunggal yang tumbuh setinggi 5–10 m. Daunnya besar, berdiameter 50–70 cm, dengan 7 lobus, sangat melengkung.¹ Pepaya memiliki daun yang tersusun secara spiral di bagian atas dilengkapi tangkai daun sekitar 1 m, daunnya memiliki warna

kehijauan atau keunguan. Buah pepaya memiliki bentuk besar, berair, dan mirip melon yang memiliki biji hitam di bagian tengah. Biji pepaya berwarna hitam, rasa tajam, pedas. Setelah mencapai kematangan pada pohon, tunas baru muncul di bagian bawah batang dan berkembang menjadi cabang setelah mencapai tinggi maksimum.¹

2.3.3 Proses pembuatan Ekstrak Daun Pepaya

Ekstrak daun pepaya dapat dibuat dengan cara berikut :

- a. Sampel daun pepaya sebanyak 1 kg yang masih segar dibersihkan, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C.
- b. Daun pepaya dihaluskan sehingga dihasilkan serbuk simplisia. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menimbang simplisia daun pepaya yang sudah halus sebanyak 400 gram, serbuk simplisia di maserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter.
- c. Hasilnya lalu direndam di dalam bejana dan terlindung dari cahaya selama 3 hari sambil di aduk secara berulang-ulang, setelah 3 hari ekstrak dipisahkan dari ampasnya dengan cara disaring dengan kertas saring.
- d. Filtrat diuapkan diatas waterbath hingga peroleh ekstrak kental.⁵⁹

2.3.4 Manfaat Ekstrak Daun Pepaya

Daun pepaya memiliki sejarah panjang dalam kegunaan medisnya dan telah digunakan di banyak negara Asia untuk mengobati berbagai penyakit. Karena kandungan fungsional dalam daun pepaya dapat digunakan untuk

menyembuhkan jantung, kutil, sembelit, kelemahan, amenore, masalah menstruasi, eksim, sinus, tuberkel kulit, tumor kelenjar, diabetes, maag, hipertensi, demam berdarah, dll.⁷

Secara tradisional, penduduk asli Australia mengonsumsi ekstrak daun pepaya karena aktivitas antikankernya. Selain berbagai komponen melawan kanker, daun pepaya mengandung sejumlah besar nutrisi untuk meningkatkan kekebalan tubuh. Selain vitamin E, A, dan C, mereka memiliki vitamin B-17 yang bentuk pekatnya digunakan untuk menyembuhkan pasien kanker dalam pengobatan kemoterapi konvensional. Fitokimia daun pepaya telah dilaporkan dapat mencegah penipisan sumsum tulang dan penghancuran trombosit. Jus daun pepaya cukup bermanfaat untuk meningkatkan jumlah trombosit dan darah merah serta sel darah putih, menormalkan pembekuan darah dan memperbaiki fungsi hati.⁷

Obat tidak hanya digunakan dalam fase pengobatan saja, melainkan juga digunakan dalam fase preventif dan rehabilitasi. Ekonomis, efek samping yang relatif rendah, serta keberadaanya yang mudah didapat, membuat obat-obatan herbal banyak digunakan oleh masyarakat luas. Ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Senyawa lain yang berperan sebagai antibakteri adalah tanin, efek tanin sebagai antibakteri disebabkan oleh kemampuan tanin untuk membentuk kompleks polisakarida yang dapat merusak dinding sel bakteri. Sebagai akibatnya, metabolisme bakteri terganggu dan menyebabkan kematian bakteri.⁶⁰

Di antara bagian *Carica papaya Linn.*, ekstrak bagian daun adalah ekstrak yang paling banyak menunjukkan aktivitas farmakologis. Aktivitas ini diduga dari senyawa yang merupakan flavonoid bentuk flavonol yang memiliki aktivitas farmakologi antioksidan yang kuat.¹

2.4 *Monosodium glutamat* (MSG)

2.4.1 Definisi *Monosodium glutamat* (MSG)

MSG ialah garam alami yang berasal dari asam glutamat. MSG digunakan sebagai bahan penyedap untuk meningkatkan dan memperdalam rasa makanan.⁶¹ Hasil hidrolisis glutamat, atau gabungan kombinasi beberapa asam amino dengan beberapa peptida kecil yang dihasilkan selama hidrolisis protein nabati dari beberapa asam amino dengan beberapa peptida kecil yang dihasilkan selama hidrolisis protein nabati. Asam glutamat dikategorikan sebagai asam amino non-esensial, karena tubuh manusia dapat menghasilkan asam glutamat sendiri.¹⁹ Asam glutamate terbentuk dari protein dasar yang ditemukan dalam berbagai sayuran, daging, ikan, dan ASI. Protein hewani mengandung 11-22% asam glutamat dan protein nabati sekitar 40% glutamat. Pada protein hewani seperti keju, daging mengandung asam glutamat yang tinggi, yang terikat dengan protein lain. Sedangkan asam glutamate bentuk bebas terdapat pada sayuran seperti tomat, kacang polong, dan kentang.⁶² Untuk mendapatkan cita rasa yang lezat, penggunaan *monosodium glutamat* harus tepat takaran, yaitu antara 0,2% hingga 0,8% dari total makanan. Penggunaan yang berlebihan justru akan membuat makanan terasa aneh. Meskipun demikian, konsumsi micin dalam jumlah besar setiap hari oleh

masyarakat Asia patut diwaspadai, mengingat produksinya yang sangat tinggi. Hal ini menimbulkan kekhawatiran akan potensi efek samping micin terhadap berbagai organ tubuh manusia.⁶³

2.4.2 Metabolisme Asam Glutamat

Metabolisme glutamat di dalam tubuh, terutama di hati, sangat kompleks. Sekitar 57% glutamat diubah menjadi urea untuk dikeluarkan dari tubuh. Sisanya berperan dalam sintesis protein plasma, bersirkulasi bebas dalam darah, atau disimpan sementara dalam bentuk protein atau enzim di hati. Sebagai neurotransmitter, glutamat sangat penting dalam transmisi sinyal saraf. Selain itu, glutamat juga berperan krusial dalam siklus urea, sintesis glutathione, dan produksi energi seluler. Tingginya kadar glutamat dan aspartat di dalam sel, terutama di mitokondria, mendukung peran sentral kedua asam amino ini dalam metabolisme seluler.⁶³ Sepanjang proses metabolisme pada tubuh, glutamat memainkan sejumlah peran penting, termasuk:

a. Subtansi sintesa protein

Glutamat, sebuah asam amino alami, berperan penting dalam membentuk struktur protein. Protein diperkirakan mengandung 10–40% glutamat dalam tubuh, Asam L-glutamat adalah komponen penting dalam pembuatan protein baru, Asam glutamat memiliki karakter fisik dan kimia menjadi struktur sekunder dari protein yang disebut rantai α .

b. Pasangan transmisi dengan α -ketoglutarate

L-glutamat dehidrogenase mengkatalisis sintesis L-glutamat dari amonia dan α -ketoglutarat (siklus asam sitrat). Semua asam amino di

biosintesis melalui proses ini. Glutamat yang telah diserap ditransaminasi dengan piruvat untuk menghasilkan alanin. Proses dekarboksilasi dan transaminasi pada asam amino tertentu yang bereaksi dengan piruvat menghasilkan alanin sebagai produk akhir, serta α -ketoglutarat atau oksaloasetat sebagai produk sampingan. Melalui vena porta, glutamat yang tidak dimetabolisme oleh mukosa diangkut ke hati. Sebagian besar glutamat diubah oleh hati dan usus menjadi glukosa dan laktat sebelum memasuki sirkulasi perifer.¹⁹

c. **Prekursor glutamin**

Peran penting dalam metabolisme asam amino yaitu *Glutamin sintetase* yang mengubah glutamat menjadi glutamin, sebelum memasuki sistem peredaran darah, amonia akan diubah menjadi glutamin. Dalam metabolisme, glutamat dan glutamin berfungsi sebagai molekul pembawa nitrogen. Mereka terlibat dalam sintesis protein, detoksifikasi amonia, dan berbagai proses metabolisme lainnya.⁶⁴

2.4.3 Toksisitas Asam Glutamat

Asam amino ini adalah bahan umum yang digunakan untuk meningkatkan rasa makanan. Baik dalam bentuk protein yang telah dipecah (terhidrolisis) maupun dalam bentuk garam murni (seperti monosodium glutamat atau MSG), bahan ini banyak ditemukan pada berbagai jenis makanan.⁶⁵ Penemuan MSG pertama kali terjadi di Jepang pada tahun 1908. Selain ditemukan dalam pestisida dan pupuk, MSG juga diisolasi dari rumput laut yang dikenal dapat meningkatkan rasa makanan. Proses ekstraksi MSG

dari sumber-sumber alam ini membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang tinggi. Ini pertama kali tersedia di AS pada akhir 1940-an. Belakangan (1956), fermentasi memungkinkan sintesis asam glutamat dan MSG dalam skala luas. Sejak tahun 1957, fermentasi bakteri telah digunakan untuk memproduksi MSG di Amerika Serikat.⁶⁶

Sebuah penelitian pada tahun 2014 menunjukkan bahwa 94% produksi MSG global berasal dari Asia. Tingginya permintaan MSG di kawasan Asia, biaya produksi yang rendah, serta penggunaan MSG yang meluas dalam industri makanan di Asia menjadi faktor utama. Negara-negara seperti Taiwan, Indonesia, China, Thailand, dan Vietnam merupakan produsen MSG terbesar di dunia. China adalah produsen utama dunia (65%), konsumsi (55%), Pengekspor MSG terbesar kedua adalah Indonesia (16%). konsumsi MSG 4% di Timur Tengah dan Afrika, 3% di Eropa, 2% di Amerika Utara, dan 2% di Amerika Tengah dan Selatan.⁶²

Meningkatnya konsumsi MSG secara global didorong oleh beberapa faktor, seperti perubahan pola makan, urbanisasi, peningkatan standar hidup, dan perkembangan industri pengolahan makanan. Faktor-faktor ini, terutama di negara-negara Asia, telah memicu peningkatan permintaan MSG.⁶⁶

Berdasarkan penilaian Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), produk makanan yang mengandung MSG dinyatakan aman untuk dikonsumsi. Senada dengan BPOM, Organisasi Pangan dan Pertanian PBB (FAO) juga merekomendasikan MSG sebagai aditif makanan yang aman digunakan.⁶³

Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), asupan harian MSG yang

dapat diterima adalah 0–120 mg per kilogram berat badan per hari.

Artinya, seseorang dengan berat badan 50 kg sebaiknya tidak mengonsumsi lebih dari 6 gram MSG per hari. Tingginya kadar glutamat dalam darah dan kerentanan spesies tertentu terhadap toksisitas glutamat merupakan dua faktor yang berkontribusi pada efek samping negatif MSG pada hewan. Penelitian pada tikus *Wistar* dengan pemberian MSG dosis 5 gram/kg berat badan dapat menyebabkan degenerasi lemak dan kongesti sinusoid, dosis 10 gram/kg berat badan dapat menyebabkan degenerasi hidropik dan nekrosis dalam kondisi karioreksi, serta dosis 15 gram/kg berat badan mengakibatkan degenerasi lemak dan nekrosis dalam kondisi piknosis.⁶³

2.5 Pengaruh Ektrak Daun Pepaya Terhadap Kadar IL-6 dan SOD yang diinduksi oleh konsumsi berlebih MSG

Konsumsi monosodium glutamat berlebih merupakan salah satu penyebab inflamasi,⁶⁷ menyebabkan peningkatan ROS, bersifat racun bagi berbagai organ,¹² memodifikasi protein, merusak DNA, yang menyebabkan kematian sel,^{13,14} meningkatkan IL-6 serta menurunkan kadar antioksidan.¹² ROS adalah mediator yang berperan dalam kerusakan lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat di dalam sel, stres oksidatif terkait dengan penuaan dan berbagai penyakit manusia, termasuk gangguan inflamasi.⁶⁸ ROS yang tidak stabil bersifat sangat reaktif, ketidakseimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan menyebabkan stres oksidatif, sampai pada kerusakan jaringan.²² Kadar ROS yang tinggi secara konsisten merusak struktur protein, lipid, dan DNA serta mengaktifkan jalur kematian sel. Akibatnya, kerusakan sel yang tidak dapat diperbaiki, malfungsi, dan

kematian organisme terjadi.⁵²

Interleukin-6 merupakan sitokin proinflamasi, indikator menilai tingkat inflamasi yang dialami oleh sel endotel pembuluh darah.²⁹ Peningkatan kadar IL-6 serum dapat menyebabkan penurunan regulasi produksi NO dengan menghambat eNOS sehingga memfasilitasi pembentukan trombus dan akibatnya meningkatkan risiko kejadian penyakit kardiovaskuler. Peningkatan kadar IL-6 berhubungan dengan disfungsi endotel dan untuk mengidentifikasi pasien dengan kondisi yang lebih parah.²⁷ *Superoxide Dismutase* (SOD) merupakan antioksidan endogen yang berfungsi melawan radikal bebas. Antioksidan berbasis enzim yang berfungsi untuk menangkap radikal bebas dan mencegah pembentukan radikal baru.^{45,69} Tubuh menghasilkan antioksidan untuk melindunginya dari ROS. Bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah, molekul antioksidan mencegah oksidasi. Dengan mengikat ion logam, menyerap radikal lipid peroksid, memperbaiki kerusakan oksidatif, dan menstabilkan radikal bebas untuk menghentikan oksidasi dengan menarik atau melepaskan elektron.⁴⁹

Mengonsumsi antioksidan alami sebagai alternatif untuk menyeimbangkan ROS.^{10,11} Salah satunya daun pepaya yang mana memiliki kandungan antioksidan yang tinggi.⁴ Ekstrak daun pepaya memiliki antioksidan yang kuat,¹ dengan kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, dan fenolik.^{6,7} dapat menurunkan kadar asam lemak dengan menghambat aktivitas enzim XO, mendonorkan atom H⁺, mencegah stress oksidatif dan menetralkan radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan sel.^{7,20,24}

Senyawa bioaktif dalam daun pepaya membantu mengembalikan

keseimbangan mikrobioma dengan menekan pertumbuhan bakteri patogen, mendukung pertumbuhan bakteri menguntungkan yang menghasilkan metabolit seperti asam lemak rantai pendek (SCFA) untuk menjaga integritas usus. Dengan membatasi pertumbuhan bakteri patogen, ekstrak daun pepaya menurunkan pelepasan LPS, sehingga mengurangi aktivasi inflamasi. Interaksi antara mikrobioma dan sistem imun dengan pemberian ekstrak daun pepaya memperbaiki mikrobioma, mengurangi disbiosis, mengembalikan homeostasis usus, dan menurunkan LPS. Menurunkan produksi IL-6 melalui penghambatan jalur inflamasi (NF- κ B), dan meningkatkan aktivitas SOD, yang menetralkan radikal bebas dan melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif.^{9,70}

Pemberian ekstrak daun pepaya dapat menurunkan kadar IL-6 dengan cara memperbaiki mikrobioma usus, mengurangi inflamasi, dan memodulasi sistem imun. Meningkatkan aktivitas SOD melalui efek antioksidan langsung dan penurunan stres oksidatif yang diinduksi MSG.⁶ Pemberian ekstrak daun pepaya diharapkan dapat menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan kadar SOD yang diakibatkan oleh konsumsi berlebih MSG.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Konsumsi monosodium glutamat (MSG) secara berlebihan mengakibatkan penumpukan asam glutamat di dalam tubuh, meningkatkan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS).⁷¹ ROS adalah mediator yang berperan dalam kerusakan lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat di dalam sel, stres oksidatif terkait dengan penuaan dan berbagai penyakit manusia, termasuk gangguan inflamasi.⁶⁸ ROS yang tidak stabil bersifat sangat reaktif, ketidakseimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan menyebabkan stres oksidatif, yang menyebabkan peningkatan sitokin pro inflamasi TNF- α , IL-6 dan IL-1, yang berakibat pada kerusakan jaringan. Stres oksidatif dapat memicu jalur yang menginduksi produksi IL-6 dan sitokin pro-inflamasi lainnya. Antioksidan menghambat dengan menetralkan ROS, sehingga menekan produksi IL-6.²²

Efek dari ROS yang tinggi bereaksi dengan biomolekul DNA, lipid dan karbohidrat menyebabkan cedera lokal akhirnya menyebabkan disfungsi organ. Dalam pathogenesis berbagai kondisi klinis, ROS terlibat hampir di semua organ tubuh sampai kerusakan jaringan.²¹ Antioksidan dapat digunakan sebagai alternatif menurunkan gangguan inflamasi yang biasanya disebabkan oleh ROS karena memiliki kemampuan untuk memperlambat atau menghentikan proses oksidasi yang menghasilkan radikal bebas serta memutus

rantai yang dapat merusak sel dan jaringan.²³ Kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan adanya senyawa flavonoid, fenol dan saponin yang dapat menurunkan kadar asam lemak dengan menghambat aktivitas enzim XO, mendonorkan atom H⁺, mencegah stress oksidatif dan menetralkan radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan sel.^{7,20,24}

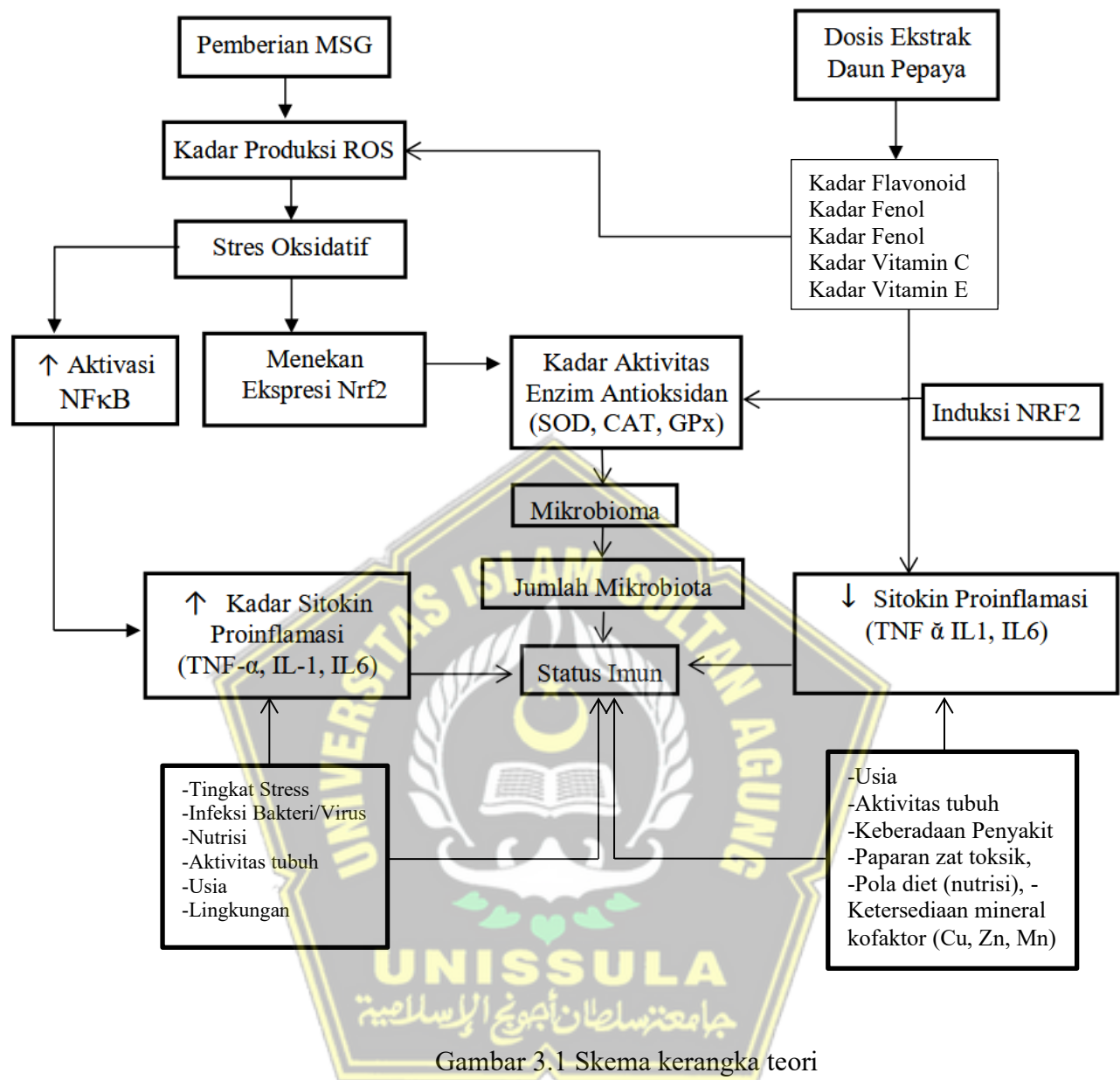
Antioksidan dapat meningkatkan ekspresi gen SOD melalui aktivasi jalur Nrf2 (*Nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), Nrf2 menginduksi produksi enzim antioksidan, termasuk SOD, catalase, dan glutathione peroxidase yang berinteraksi dengan mikrobioma mempengaruhi sistem imun untuk memodulasi produksi metabolit seperti *Short-Chain Fatty Acids* (SCFA), yang memiliki sifat anti-inflamasi. Antioksidan meningkatkan respons imun adaptif dengan mengurangi inflamasi kronis, antioksidan menjaga fungsi sel T dan makrofag, mencegah hiperaktivasi yang menghasilkan IL-6. Memperbaiki homeostasis sel imun melalui pengurangan ROS, meningkatkan fungsi regulasi imun. Antioksidan juga mengurangi kerusakan jaringan yang diinduksi ROS, membantu pemulihan fungsi imun lokal dan sistemik.

Flavonoid dan saponin meredam peningkatan kadar ROS sehingga mengurangi stress oksidatif sehingga menurunkan tingkat inflamasi sitokin proinflamasi salah satunya IL-6. Sedangkan fenol meningkatkan enzim antioksidan yang mengekspresikan Nrf2 sehingga meningkatkan aktifitas

enzim antioksidan seperti SOD. Pemberian ekstrak daun pepaya diharapkan dapat menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan kadar SOD.

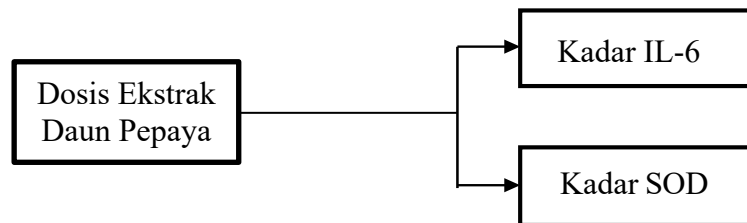
Tanin menekan jalur NF- κ B, yang merupakan regulator utama ekspresi gen pro-inflamasi seperti IL-6. Aktivitas COX-2 dan LOX, yang berkontribusi pada inflamasi, juga ditekan oleh tanin, mengurangi kadar IL-6. Vitamin C dan E menekan produksi IL-6 dengan menghambat aktivasi jalur MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) dan NF- κ B, melindungi SOD dari inaktivasi akibat stres oksidatif. Vitamin C membantu meregenerasi antioksidan lain, seperti vitamin E, sehingga mendukung aktivitas SOD dalam melawan ROS. Vitamin E melindungi lipid membran dari peroksidasi, mengurangi beban ROS pada SOD. Vitamin E didaur ulang oleh vitamin C, yang meningkatkan kapasitasnya sebagai antioksidan dan mendukung aktivitas SOD.

Kadar SOD juga dipengaruhi oleh usia jika semakin tua maka kadar SOD semakin menurun, selain itu juga dikendalikan oleh faktor genetik banyak faktor yang dapat mempengaruhi kadar oksidan dan antioksidan dalam tubuh antara lain oksigen. Radikal bebas juga ada di lingkungan, sumber lingkungan yang menimbulkan radikal bebas termasuk paparan radiasi pengion (dari industri, paparan sinar matahari, sinar kosmik, dan sinar-X medis), ozon dan dinitrogen oksida (terutama dari knalpot mobil), logam berat (seperti merkuri, kadmium, dan timah hitam), asap rokok (baik aktif maupun pasif), alkohol, lemak tak jenuh, dan bahan kimia serta senyawa lain dari makanan, air, dan udara.⁵⁴



Gambar 3.1 Skema kerangka teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Skema kerangka konsep

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak daun pepaya berpengaruh terhadap kadar IL-6 dan kadar SOD pada tikus yang diinduksi MSG

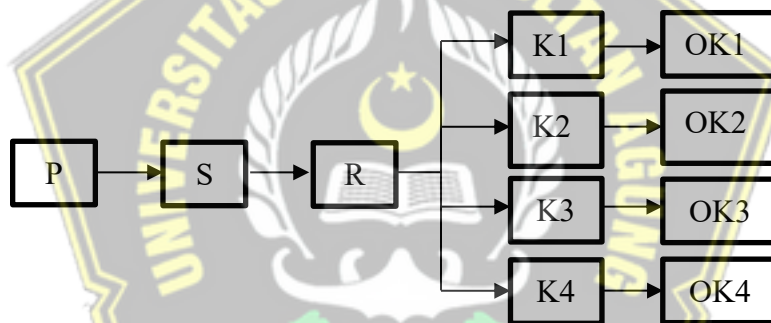


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Subjek penelitian menggunakan tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*). Kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok sehat (K1), kelompok kontrol negatif (K2), kelompok perlakuan 1 (K3) dan kelompok perlakuan 2 (K4).



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

P : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

K1: Kelompok sehat (Tikus tanpa induksi MSG dan ekstrak daun pepaya kemudian diberikan pakan standar selama 14 hari).

K2: Kelompok kontrol negatif (Tikus diinduksi MSG dosis 1g/ekor tikus 200g dalam 2ml aquadest/hari tanpa diberi ekstrak daun pepaya selama 14 hari).

K3: Kelompok perlakuan 1 (Tikus diinduksi MSG dosis 1g/ekor tikus 200g dalam 2ml aquadest/hari dan diberi ekstrak daun pepaya dosis 100mg/200gBB tikus selama 14 hari)

K4: Kelompok perlakuan 2 (Tikus diinduksi MSG 1g/ekor tikus 200g) dalam 2ml aquadest/hari dan diberikan ekstrak daun pepaya dosis 200mg/200gBB tikus selama 14 hari

OK1 : Observasi kadar IL6 dan SOD kelompok sehat

OK2 : Observasi kadar IL6 dan SOD kelompok kontrol negatif

OK3 : Observasi kadar IL6 dan SOD kelompok perlakuan 1

OK4 : Observasi kadar IL6 dan SOD kelompok perlakuan 2

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Sampel pada penelitian ini adalah tikus *Wistar* jantan (*Rattus norvegicus*) berumur 3-4 bulan dengan berat 200-250 gram sesuai dengan sampel yang telah ditentukan dalam penelitian. Tikus yang digunakan diperoleh dari laboratorium hewan coba IBL Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Tikus *Wistar* diadaptasi selama 7 hari di dalam ruangan dengan ventilasi yang baik, suhu ruangan 28-32°C. Tikus *Wistar* diberi pakan standar dan minum secukupnya. Kriteria *drop out* pada penelitian ini apabila tikus sakit atau mati selama masa penelitian.

4.2.2 Sampel

Penelitian ini menggunakan jumlah sampel menurut WHO,⁷² untuk hewan coba yaitu 5 ekor, untuk menjamin kecukupan jumlah tikus dengan memperhatikan kriteria inklusi dan eksklusi maka hewan coba yang digunakan masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 6 ekor. Pada penelitian ini terdapat 4 perlakuan maka jumlah sampel seluruhnya adalah 24 ekor tikus.

4.2.3 Cara Pemilihan Sampel

Pemilihan sampel dilakukan pada tikus *Wistar* yang telah memenuhi kriteria inklusi sehingga cukup homogen. Sampel diambil secara acak dari tikus yang sudah adaptasi selama 7 hari. Random alokasi digunakan untuk menentukan tikus kelompok kontrol dan perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : Dosis ekstrak daun pepaya
2. Variabel Tergantung : a. Kadar IL-6
b. Kadar SOD

4.4 Definisi Operasional

4.4.1 Variabel bebas

Ekstrak daun pepaya didapatkan di sekitaran pedurungan kota Semarang merupakan ekstrak hasil ekstraksi menggunakan etanol 70% dengan metode maserasi yang dibuat di Laboratorium bagian kimia IBL oleh laboran. Etanol harus dievaporasi menjadi ekstrak kental, ekstrak kental diberikan per oral bersamaan setelah pemberian MSG kepada tikus jantan melalui sonde dosis 100mg/200gBB dan 200mg/200gBB, diberikan satu kali sehari selama 14 hari.

Skala data nominal.

4.4.2 Variabel terikat

4.4.2.1 Kadar IL6

Kadar IL-6 adalah kadar IL-6 pada serum yang diperoleh dari sampel serum darah. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke- 15 setelah perlakuan pada kantung *sinus orbitalis* tikus sebanyak 0,5ml untuk pemeriksaan kadar IL6 menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), akan menggunakan antibodi menangkap dan deteksi yang spesifik terhadap IL-6 Tikus (murine IL-6) antibodi ini biasanya berupa antibodi monoclonal atau polyclonal yang dapat dikenali

oleh sistem ELISA, dan akan mengikat IL-6 pada sampel untuk kemudian diukur konsentrasinya di laboratorium bagian biologi IBL oleh laboran. Satuan ukur ng/L dan skala data Rasio.

4.4.2.1 Kadar SOD

Kadar SOD adalah kadar serum SOD yang diperoleh dari sampel darah. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan pada kantung *sinus orbitalis* tikus sebanyak 0,5ml untuk pemeriksaan SOD dengan metode ELISA. Melibatkan penggunaan antibodi spesifik terhadap Isoenzim SOD yang ingin diukur (seperti SOD1, SOD2, atau SOD3), baik dari spesies manusia maupun tikus (*IL-10 immunoassay*), di laboratorium bagian biologi IBL oleh laboran. Satuan ukur ng/mL dan skala data Rasio.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Peralatan penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Peralatan pembuatan ekstrak daun pepaya terdiri dari *beaker glass*, vakum evaporator, oven, batang pengaduk, gelas ukur, blender, kain flannel. Peralatan untuk perlakuan hewan coba adalah kandang tikus, timbangan, dan jarum sonde.

Peralatan untuk perlakuan hewan coba dan pengambilan darah antara lain, tabungmikrohematokrit, timbangan elektrik, tabung *eppendof*, pipa kapiler, *mikro sentrifuge*, tabung reaksi. Peralatan yang digunakan untuk analisis antara lain: Tabung Erlenmeyer 50 mL, 100 mL, Tabung pyrex 10 mL, Rak tabung, Vortex labinco L 46, Mikropipet 5 – 50 μ l, 100 – 1000 μ l, pipet *Pasteur*, pipet

tetes, Alat gelas, *Centrifuge*, Balans, Spektrofotometer, dan ELISA reader.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *Monosodium glutamate*, serum tikus *Wistar*, Plasebo, Kit IL-6 serum, Kit SOD serum *Biofin antibody*, *HRP conjugate*, *Reagent substar*, *stop solution*, pellet, Aquadest.

4.5.2 Pembuatan ekstrak daun pepaya

Daun pepaya didapatkan di daerah Pedurungan Kota Semarang, kondisi daun pepaya yang digunakan dalam proses ekstraksi harus memenuhi kriteria tertentu untuk memastikan kualitas dan kandungan senyawa bioaktif tetap optimal. Daun yang dipilih adalah daun pepaya yang masih segar dan sehat, ditandai dengan tidak adanya gejala penyakit, bercak akibat infeksi jamur, maupun kerusakan fisik seperti sobekan atau perubahan warna. Selain itu, daun yang digunakan bukan berasal dari bagian pucuk yang terlalu muda maupun dari bagian bawah yang sudah tua, melainkan diambil dari bagian tengah tanaman, karena pada bagian ini umumnya kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan alkaloid berada dalam kadar yang stabil. Penting pula untuk memastikan bahwa daun bebas dari kontaminan lingkungan, seperti residu pestisida atau logam berat, guna menghindari gangguan terhadap hasil ekstraksi serta memastikan keamanan ekstrak yang dihasilkan, terutama jika digunakan untuk aplikasi biologis atau farmasi.

Sampel daun pepaya sebanyak 1 kg yang masih segar bersihkan, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C, selanjutnya dihaluskan sehingga dihasilkan serbuk simplisia. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menimbang simplisia daun pepaya yang sudah halus sebanyak 400g, serbuk simplisia di

maserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter. lalu direndam di dalam bejana dan terlindung dari cahaya selama 3 hari sambil di aduk secara berulang-ulang, setelah 3 hari ekstrak dipisahkan dari ampasnya dengan cara disaring dengan kertas saring. Filtrat diuapkan diatas *waterbath* hingga peroleh ekstrak kental.⁵⁹

4.5.3 Prosedur pemberian oral ekstrak daun pepaya

Prosedur pemberian *monosodium glutamat* (MSG) dan ekstrak daun pepaya secara oral menggunakan sonde pada tikus Wistar, berikut langkah-langkahnya:

- 1) MSG diberikan secara oral pada tikus Wistar dengan dosis 1 g/ekor (berat 200g) dalam 2 ml aquadest per hari dengan melarutkan 1g MSG dalam 2 ml aquadest steril per ekor.
- 2) Jarum tumpul khusus (sonde oral) digunakan dengan ukuran yang sesuai untuk tikus Wistar, syringe (1-5 ml) untuk menghubungkan sonde.
- 3) Setiap tikus ditimbang untuk memastikan volume pemberian sesuai berat badan, jika diperlukan penyesuaian.
- 4) Tikus dalam kondisi sehat dan tidak stres. Usahakan tikus berpuasa selama 4-6 jam sebelum pemberian untuk mengurangi risiko aspirasi.
- 5) Prosedur Pemberian

Posisi Tikus: Pegang tikus dengan hati-hati menggunakan tangan dominan: Genggam tengkuk tikus menggunakan ibu jari dan telunjuk, biarkan tubuh tikus menggantung dengan posisi kepala sedikit terangkat. Masukkan sonde oral secara perlahan melalui sisi mulut, hindari menekan

terlalu keras untuk mencegah cedera.

- 6) Sonde diarahkan ke esofagus dengan gerakan lembut:

Jangan paksakan jika ada hambatan. Perhatikan tanda-tanda distress seperti batuk atau gerakan tidak wajar.

- 7) Pemberian Larutan: Setelah sonde berada di posisi esofagus, berikan larutan secara perlahan menggunakan syringe. Pastikan pemberian berjalan lancar tanpa regurgitasi.
- 8) Tikus diamati selama 30 menit setelah pemberian untuk memastikan tidak ada efek samping langsung, seperti aspirasi, muntah, atau distress.
- 9) Setelah 30 menit berikutnya diberikan 200mg ekstrak ekstrak kental yang dilarutkan dalam 2 ml dengan aquadest diberikan kembali secara oral sesuai perlakuan tiap kelompok
- 10) Tikus memiliki akses ke air minum dan makanan setelah periode puasa.

4.5.4 Pengambilan darah dan pengumpulan serum

Pengambilan darah dilakukan melalui vena mata dengan menggunakan pipa kapiler. Darah ditampung dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 15 menit kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit, serum yang sudah terpisah dari endapan kemudian diambil dengan pipet 100 μ l.

4.6 Cara Penelitian

Penelitian menggunakan sampel sebanyak 24 ekor tikus Wistar jantan yang masuk dalam kriteria inklusi. Tikus Wistar diadaptasi selama 7 hari kemudian dibagi menjadi 4 kelompok dan diberi perlakuan:

- K1: Kelompok sehat (Tikus tanpa induksi MSG dan ekstrak daun pepaya

kemudian diberikan pakan standar selama 14 hari).

- K2: Kelompok kontrol negatif (Tikus diinduksi MSG dosis 1g/ekor tikus 200g) dalam 2ml aquadest/hari tanpa diberi ekstrak daun pepaya selama 14 hari).
- K3: Kelompok perlakuan 1 (Tikus diinduksi MSG dosis 1g/ekor tikus 200g) dalam 2ml aquadest/hari dan diberi ekstrak daun pepaya 100mg/200gBB selama 14 hari
- K4: Kelompok perlakuan 2 (Tikus diinduksi MSG 1g/ekor tikus 200g) dalam 2ml aquadest/hari dan diberikan ekstrak daun pepaya 200mg/200gBB selama 14 hari

Pada hari ke 15 dilakukan pengambilan darah pada semua tikus melalui sinus orbitalis mata, kemudian diproses untuk mendapatkan serum dan diukur kadar IL-6 dan SOD dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

4.6.1 Prosedur pengukuran kadar IL-6 dan SOD metode ELISA

Pada hari ke-15 dilakukan pengukuran kadar IL6 dan SOD setelah pemberian ekstrak daun pepaya sesuai masing-masing kelompok. Pengukuran kadar kadar IL6 dan SOD diperiksa dengan metode ELISA dengan cara sebagai berikut :

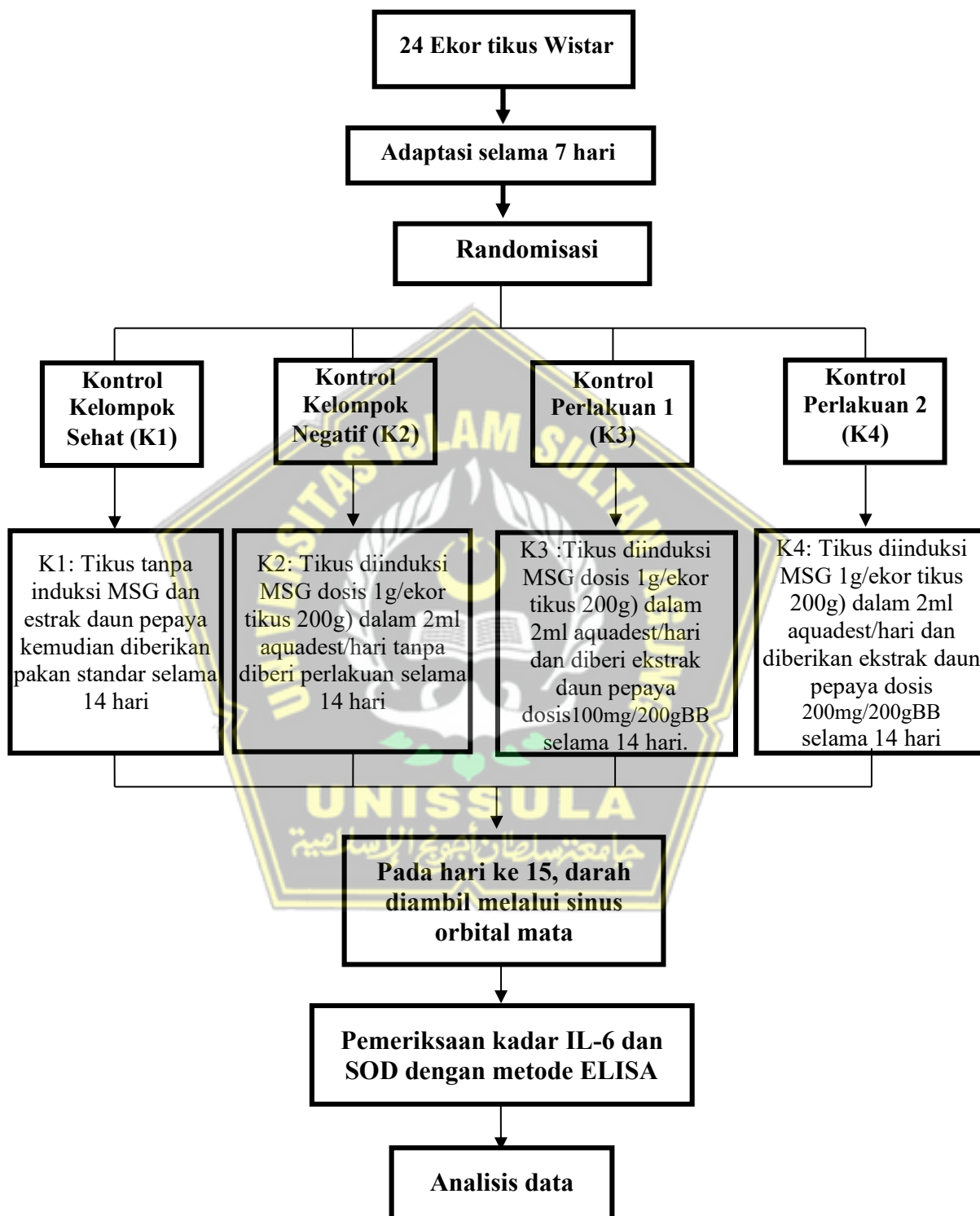
Siapkan semua reagen, larutan standar dan sampel ke suhu ruang sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu ruang. Menentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip yang tersisa ke dalam alumunium zip untuk disimpan Strip yang tidak

digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C. Tambahkan 50µl standar ke sumuran standar. Catatan: Jangan menambahkan antibodi ke standar karena larutan standar mengandung antibodi terlabel biotin. Tambahkan 40µl sampel ke sumuran sampel lalu tambahkan 10µl antibodi anti-IL-10 ke sumuran sampel, lalu tambahkan 50µl streptavidin-HRP ke sumuran sampel dan sumur standar (Bukan sumuran blanko). Campur dengan baik. Tutupi plate dengan sealer. Inkubasi 60 menit pada suhu 37°C.

Lepaskan sealer dan cuci sumuran 5 kali dengan wash buffer setidaknya 0,3ml selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian. Tambahkan 50µl larutan substrat A ke masing-masing sumuran dan kemudian tambahkan 50µl larutan substrat B ke setiap sumuran. Inkubasi plate yang ditutup dengan sealer baru selama 10 menit pada suhu 37°C di tempat gelap.

Tambahkan 50µl *Stop Solution* ke masing-masing sumuran, warna biru akan langsung berubah menjadi kuning. Tentukan nilai *Optical Density* (OD) masing-masing sumuran menggunakan *microplate reader* yang diset pada 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan stop solution.⁵⁵

4.6.2 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema alur penelitian

4.7 Analisis Data

Hasil data kadar IL-6 dan SOD pada penelitian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data dengan uji *Levene* karena jumlah sampel <50 sampel. Hasil rata-rata kadar IL-6 didapatkan tidak normal dan homogen ($P>0,05$), dilakukan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* untuk melihat perbedaan antar semua kelompok dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda.

Hasil rata-rata kadar SOD didapatkan normal dan homogen ($P>0,05$), sehingga dilakukan uji parametrik yaitu uji *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan antar semua kelompok. Hasil rata-rata kadar SOD yang tidak signifikan dengan uji *One Way Anova* ($p<0,05$) tidak dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*. Keputusan untuk diterima atau ditolak hipotesis penelitian berdasarkan α 5 % dan pengolahan analisis data dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 27.

4.8 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

4.8.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang.

4.8.2 Waktu Penelitian

Penelitian dimulai dari persiapan hewan coba sampai proses pengambilan data yaitu bulan Mei-Juli 2025.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian merupakan eksperimental *in vivo* dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Sebanyak 24 ekor tikus Wistar jantan dibagi secara acak menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok sehat (K1), kontrol negatif (K2), perlakuan dosis 100 mg/200gBB (K3), dan dosis 200 mg/200gBB (K4), semua subjek penelitian tidak mengalami sakit atau infeksi (*drop out*) selama proses perlakuan hingga analisis. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak daun pepaya terhadap kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG. Pengukuran kadar IL-6 dan SOD dilakukan pada hari ke-15 menggunakan metode ELISA.

5.1.1 Hasil rata-rata kadar IL-6 pada serum tikus yang diberikan *Monosodium glutamat* (MSG) peroral

Hasil analisis rata-rata kadar IL-6 dengan metode ELISA dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan Gambar 5.1.

Tabel 5.1 Rata-rata kadar IL-6 (ng/L), normalitas, homogenitas dan uji *Kruskal Wallis* antar kelompok perlakuan

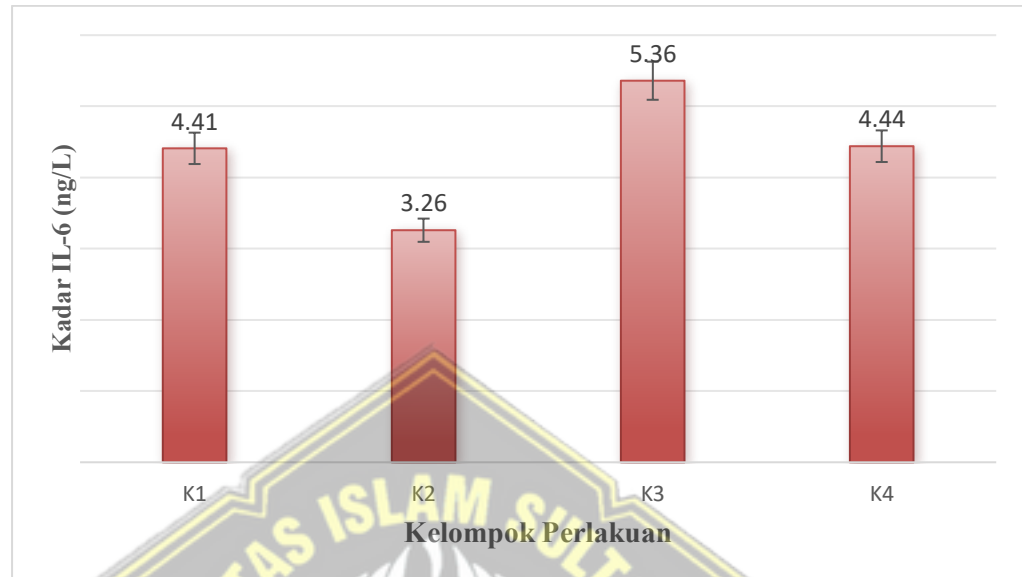
Kelompok	K1: Tikus sehat	K2: Kontrol negatif	K3:Ekstrak daun pepaya 100mg	K4: Ekstrak daun pepaya 200mg	<i>p value</i>
Rata-rata (n=6)	4,41	3,26	5,36	4,44	
SD	0,68	0,45	0,70	0,44	
<i>Shapiro wilk</i>	0,169	0,031	0,239	0,525	
<i>Levene's Test</i>					0,229
<i>Kruskal Wallis</i>					0,002

Keterangan :

**Uji Saphiro Wilk* ($p > 0,05$ = normal)

**Levene's Test* ($p > 0,05$ = homogen)

* *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$ = signifikan)



Gambar 5.1 Rata-rata kadar IL-6 antar kelompok perlakuan

Berdasarkan Tabel 5.1 dan Gambar 5.2, kadar IL-6 paling rendah terdapat pada kelompok kontrol negatif (K2) yaitu $3,26 \pm 0,45$ ng/L, diikuti kelompok sehat (K1) $4,41 \pm 0,68$ ng/L, kelompok perlakuan dengan dosis 200 mg/200 gBB (K4) $4,44 \pm 0,44$ ng/L, dan paling tinggi pada kelompok perlakuan dengan dosis 100 mg/200 gBB (K3) yaitu $5,36 \pm 0,70$ ng/L.

Berdasarkan Tabel 5.1 menunjukkan hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* pada kelompok K2 tidak terdistribusi normal ($p = 0,031$), sedangkan kelompok lainnya data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas varians dengan *Levene's test* menghasilkan nilai $p = 0,229$, yang menunjukkan bahwa data bersifat homogen ($p > 0,05$). sehingga analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*.

Berdasarkan Tabel 5.2 menunjukkan hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,002$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan secara

statistik antar kelompok perlakuan terhadap kadar IL-6. Hasil uji *Kruskal-Wallis* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk menentukan perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann-Whitney* terhadap kadar IL-6 menunjukkan perbedaan bermakna antara K2 dan K3 ($p = 0,002$), K2 dan K4 ($p = 0,002$), serta K3 dan K4 ($p = 0,041$). Sementara itu, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara K1 dan K3 ($p = 0,093$) maupun antara K1 dan K4 ($p = 0,937$).

Tabel 5.2 Uji *Mann Whitney* kadar IL-6 pada tiap kelompok

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.
K1	K2	0.009*
	K3	0.093
	K4	0.937
K2	K3	0.002*
	K4	0.002*
K3	K4	0.041*

Tanda * ($p < 0,05$) menunjukkan kelompok yang berbeda bermakna.

5.1.2 Hasil rata-rata kadar SOD pada serum tikus yang diberikan *Monosodium glutamat* (MSG) peroral

Hasil analisis rata-rata kadar SOD (ng/mL) dengan metode ELISA dapat dilihat pada Tabel 5.3 dan Gambar 5.2.

Tabel 5.3 Rata-rata Ekspresi SOD (ng/mL) dan Hasil Analisis dengan Uji *One way anova*

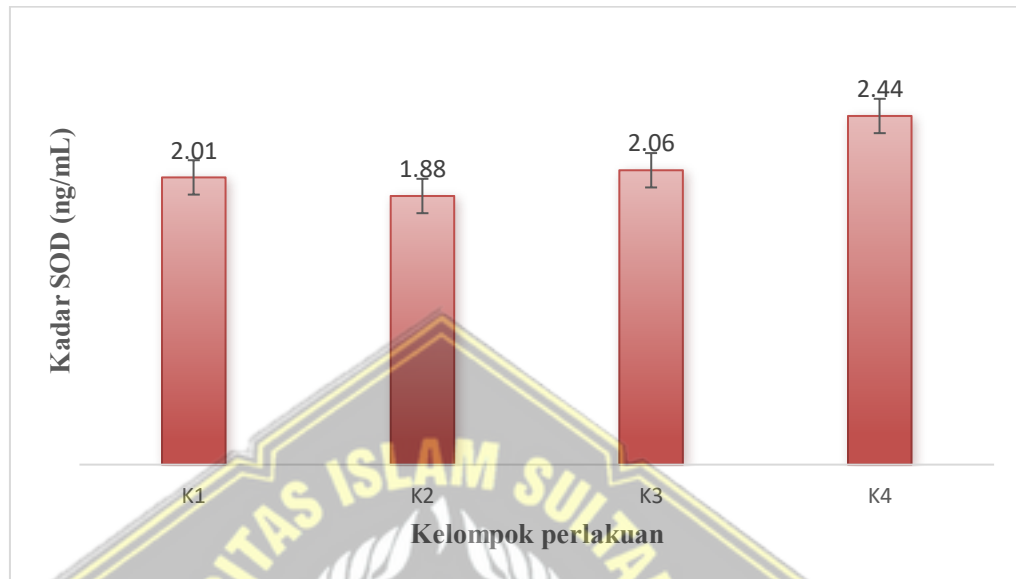
Kelompok	K1: Tikus sehat	K2: Kontrol negatif	K3:Ekstrak daun pepaya 100mg	K4: Ekstrak daun pepaya 200mg	<i>p value</i>
Rata-rata (n=6)	2,01	1,88	2,06	2,44	
SD	0,44	0,31	0,37	0,29	
<i>Shapiro wilk</i>	0,333	0,313	0,317	0,289	
<i>Levene's Test</i>					0,849
<i>One way anova</i>					0,069

Keterangan :

*Uji *Saphiro Wilk* ($p > 0,05$ = normal)

**Levene's Test* ($p > 0,05$ = homogen)

* *One way anova* ($p < 0,05$ = signifikan)



Gambar 5.2 Rata-rata kadar SOD (ng/mL) antar kelompok perlakuan

Berdasarkan Tabel 5.3 dan Gambar 5.2, kadar SOD paling rendah pada kelompok kontrol negatif (K2) yaitu $1,88 \pm 0,31$ ng/mL, diikuti kelompok sehat (K1) $2,01 \pm 0,44$ ng/mL, kelompok perlakuan dosis 100 mg/200 gBB (K3) $2,06 \pm 0,37$ ng/mL, dan paling tinggi pada kelompok perlakuan dosis 200 mg/200 gBB (K4) yaitu $2,44 \pm 0,29$ ng/mL.

Berdasarkan Tabel 5.3 uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data pada keempat kelompok memiliki distribusi normal, dengan nilai $p > 0,05$ (K1 = 0,333; K2 = 0,313; K3 = 0,317; K4 = 0,289). Uji homogenitas menggunakan *Levene's test* menunjukkan nilai $p = 0,849$ ($p > 0,05$), yang menunjukkan bahwa varians antar kelompok bersifat homogen, sehingga dilakukan uji parametrik *One Way Anova*.

Berdasarkan Tabel 5.3 hasil uji *One Way Anova* menunjukkan nilai $p =$

0,069. Karena nilai ini lebih besar dari 0,05, maka disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara kelompok perlakuan terhadap kadar SOD. Hasil yang tidak signifikan tidak dilanjutkan dengan uji perbandingan antar pasangan kelompok *Post hoc LSD*.

5.2 Pembahasan

Ekstrak daun pepaya diketahui mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin yang memiliki efek antioksidan dan imunostimulan yang mampu merangsang aktivitas sel imun dan produksi sitokin. Pada kelompok dengan dosis 200 mg/200gBB kadar IL-6 secara statistik tidak berbeda bermakna dibandingkan kelompok sehat, pemberian ekstrak daun pepaya dosis 200 mg memiliki efek restoratif terhadap kadar IL-6 mendekati kondisi fisiologis normal. Efek ini menunjukkan adanya potensi efek imunomodulasi dosis tinggi yang lebih seimbang, dibandingkan dosis rendah yang cenderung merangsang respons imun lebih aktif.^{58,73}

Perbandingan antara kelompok K3 (100 mg) dan K4 (200 mg) menunjukkan perbedaan bermakna, terdapat efek dua arah tergantung dosis dalam regulasi kadar IL-6. Pemberian dosis 100 mg cenderung memicu peningkatan IL-6 yang lebih tinggi dibandingkan dosis 200 mg, di mana pada dosis lebih tinggi terlihat kecenderungan menuju homeostasis imun. Selaras dengan konsep *biphasic dose-response* atau *hormesis*, yakni respons biologis yang berbeda, stimulatif pada dosis rendah dan supresif pada dosis tinggi.⁷⁴ Penelitian lain juga menunjukkan bahwa banyak ekstrak herbal memberikan efek ganda dari suatu zat dalam regulasi inflamasi melalui cara kerja tubuh dalam mengatur dan menyeimbangkan respon kekebalan yang

diharapkan dapat menjadi landasan untuk menentukan strategi dosis optimal.⁷⁵ Meskipun IL-6 dikenal sebagai sitokin pro-inflamasi, fungsinya bisa bersifat dualistik, dengan efek anti-inflamasi dan promyogenik pada kadar rendah, namun justru memicu respons pro-inflamasi pada kadar tinggi.⁷⁶

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar IL-6 yang signifikan antar kelompok perlakuan, IL-6 merupakan salah satu sitokin proinflamasi utama yang dihasilkan oleh makrofag, sel T, dan sel epitel sebagai respons terhadap stres oksidatif, toksin, atau kerusakan jaringan, dan berperan dalam mediasi proses inflamasi sistemik dan lokal.^{77,78} Pada kelompok kontrol sehat (K1), kadar IL-6 berada dalam rentang fisiologis normal. Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif (K2) yang hanya diinduksi dengan MSG tanpa perlakuan, kadar IL-6 tidak meningkat secara signifikan ($p=0,009$), justru menurun dibandingkan K1. Hal ini menunjukkan bahwa induksi MSG tidak berhasil menstimulasi respons inflamasi yang cukup untuk meningkatkan ekspresi IL-6. Kadar IL-6 dalam sirkulasi meningkat cepat pada fase inflamasi akut dan dapat mencapai puncaknya hanya dalam hitungan jam.⁷⁹ Studi eksperimental pada model hewan menunjukkan bahwa kadar IL-6 dapat meningkat secara signifikan dalam waktu sekitar tiga jam setelah paparan endotoksin, sebelum kemudian menurun kembali seiring resolusi inflamasi.⁷⁹ Hal ini mengindikasikan bahwa IL-6 adalah penanda inflamasi yang sensitif untuk fase akut, meskipun pada paparan berulang atau subakut kadar IL-6 dapat bertahan dalam kisaran rendah hingga sedang. Pengukuran IL-6 pada hari ke-14 tidak lagi mencerminkan puncak inflamasi akut, melainkan menunjukkan apakah inflamasi masih berlanjut (persisten) atau sudah mereda.⁷⁹

Mengingat sifat pleiotropik IL-6, sitokin ini memiliki fungsi ganda, bersifat pro-inflamasi saat kadarnya tinggi dan justru berperan anti-inflamasi, antioksidan, serta pro-myogenik pada kadar rendah atau terkontrol, sesuai prinsip hormesis atau respons biphasik.⁴³ Dalam konteks pemberian ekstrak daun pepaya, dosis rendah (100 mg/200 gBB) memicu kenaikan IL-6, mencerminkan efek stimulatif/imunostimulan, sementara dosis tinggi (200 mg/200 gBB) menormalkan kadar IL-6 mendekati kondisi fisiologis, menunjukkan efek restoratif dan imunomodulator yang menjaga homeostasis imun. Hal ini konsisten dengan konsep respons biphasik: dosis rendah memicu respons imun aktif, sedangkan dosis tinggi mendukung keseimbangan sistem imun melalui regulasi IL-6 ke kadar yang mendukung resolusi inflamasi dan fungsi fisiologis normal.⁸⁰

Pada kelompok sehat (K1), kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (K2), namun tidak bermakna. Peningkatan aktivitas SOD ini menunjukkan respons adaptif terhadap peningkatan pembentukan ROS.^{81,82} SOD merupakan enzim antioksidan utama yang mengkatalisis konversi anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2), sehingga berperan penting dalam pertahanan sel terhadap stres oksidatif.⁸³ Aktivasi SOD yang lebih tinggi dalam kelompok sehat dapat mencerminkan sistem pertahanan antioksidan dalam meredam stres oksidatif ringan atau sedang. Modulasi aktivitas SOD dan katalase sebagai respons terhadap MSG menunjukkan bahwa aktivitas SOD dan katalase meningkat secara signifikan di hati (liver) setelah paparan MSG, sementara aktivitas ini menurun di ginjal dan otak.⁸⁴ Kadar SOD yang lebih tinggi pada K1 menandakan bahwa meski terdapat potensi ekspos ROS, sistem

pertahanan antioksidan, khususnya SOD masih berfungsi optimal dalam menjaga homeostasis redoks, yang bisa saja berubah menjadi penurunan jika paparan oksidatif terus berlanjut.⁸³

Pada kelompok yang diberi ekstrak daun pepaya dosis 100 mg kadar SOD lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif, sedangkan pada kelompok dengan dosis 200 mg kadar SOD lebih tinggi, kadar SOD lebih tinggi ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya berpotensi meningkatkan sistem pertahanan antioksidan, sejalan dengan kandungan bioaktif daun pepaya seperti flavonoid, vitamin C, dan enzim papain, yang dikenal memiliki efek antioksidan.^{58,73}

Hasil kadar SOD antar kelompok tidak signifikan secara statistik meskipun kadar SOD berpengaruh lebih tinggi, terutama pada kelompok perlakuan dengan dosis 200 mg, besarnya perubahan tersebut belum cukup untuk mencapai signifikansi secara statistik. Secara deskriptif terlihat adanya efek dosis di mana ekstrak daun pepaya dosis 200 mg menghasilkan kadar SOD lebih tinggi di antara semua kelompok. Peningkatan dosis senyawa antioksidan yang mengandung flavonoid memang dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, efek ini tidak selalu linier dan dapat dipengaruhi oleh bioavailabilitas senyawa aktif serta durasi pemberian.⁸⁵ Meskipun peningkatan kadar SOD belum signifikan secara statistik, data ini tetap memiliki makna biologis, terutama dalam konteks pencegahan kerusakan sel akibat radikal bebas.⁸⁶

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan dimana durasi paparan MSG dan pemberian ekstrak daun pepaya selama 14 hari secara sistemik tergolong pada sub akut,^{87,88} Penggunaan IL-6 dan SOD sebagai parameter pada hari ke-14 dapat

memberikan gambaran yang berharga mengenai persistensi inflamasi dan kondisi pertahanan antioksidan sistemik. Namun, interpretasinya harus mempertimbangkan dinamika waktu masing-masing biomarker: IL-6 lebih merefleksikan inflamasi akut dan awal, kadar IL-6 dapat meningkat secara signifikan dalam waktu sekitar tiga jam setelah paparan, sebelum kemudian menurun kembali seiring resolusi inflamasi.⁷⁹ Sedangkan SOD lebih informatif untuk menilai stres oksidatif akibat paparan berulang atau jangka menengah.⁸⁹ Pemeriksaan pada hari ke-15 belum cukup untuk mendeteksi perbedaan signifikan, dan diperlukan durasi perlakuan yang lebih panjang agar dinamika adaptasi sistem antioksidan dapat terlihat secara jelas.⁴³ Inflamasi subakut merupakan fase transisi antara respons inflamasi akut dan kronis, dengan rentang waktu berlangsung sekitar 2–6 minggu (± 14 –42 hari). Dalam konteks toksikologi, terminologi subakut digunakan untuk menggambarkan paparan berulang selama 14–28 hari, yang merepresentasikan periode jangka menengah dalam evaluasi efek toksik sistemik.^{90,91} Selain itu, faktor usia, *genetic*, lingkungan laboratorium serta kondisi fisiologis individu hewan coba dapat memengaruhi respons biologis, namun tidak seluruhnya dapat dikendalikan selama penelitian berlangsung.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak daun pepaya tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6 dan kadar SOD pada tikus Wistar jantan yang diinduksi dengan MSG.
2. Rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus sehat masing-masing sebesar 4,41 ng/L dan 2,01 ng/mL.
3. Rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG tanpa pemberian ekstrak daun pepaya (kontrol negatif) adalah 3,26 ng/L dan 1,88 ng/mL.
4. Rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG dan diberikan ekstrak daun pepaya dosis 100 mg/200gBB adalah 5,36 ng/L dan 2,06 ng/mL.
5. Rata-rata kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang diinduksi MSG dan diberikan ekstrak daun pepaya dosis 200 mg/200gBB adalah 4,44 ng/L dan 2,44 ng/mL.
6. Terdapat perbedaan bermakna kadar IL6 pada kelompok K2 dengan K3, K2 dengan K4 dan K3 dengan K4.

6.2. Saran

1. Penelitian selanjutnya melakukan durasi lebih panjang ($\geq 4-6$ minggu) untuk mengevaluasi dinamika biomarker, khususnya SOD yang lebih informatif pada paparan jangka menengah hingga panjang.
2. Penelitian selanjutnya untuk kadar IL-6 diukur saat puncak terekspresi satu hingga tiga jam setelah perlakuan

3. Melakukan kontrol ketat terhadap faktor lingkungan laboratorium dan kondisi fisiologis hewan coba untuk meminimalisir variasi biologis.



DAFTAR PUSTAKA

1. Hidayati TK, Susilawati Y, Muhtadi A. Kegiatan farmakologis dari berbagai bagian Carica papaya Linn. ekstrak: buah, benih,uap, kulit dan akar. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2020;2(3):211-226. doi:10.33759/jrki.v2i3.97
2. Alfarabi M, Siagian FE, Cing JM, et al. Bioactivity and metabolite profile of papaya (Carica papaya) seed extract. *Biodiversitas*. 2022;23(9):4589-4600. doi:10.13057/biodiv/d230926
3. Somanah J, Bourdon E, Bahorun T. Extracts of Mauritian Carica papaya (var. solo) protect SW872 and HepG2 cells against hydrogen peroxide induced oxidative stress. *J Food Sci Technol*. 2017;54(7):1917-1927. doi:10.1007/s13197-017-2626-4
4. Nissa C, Kartasurya MI, Rahmawati B. Effects of Chlorophyll in Papaya Leaves on Superoxide Dismutation and Blood Glucose Level of Diabetic Rats. *Makara Journal of Health Research*. 2015;19(2). doi:10.7454/msk.v19i2.5179
5. Usmani J, Wasim M, Ansari MN, Hassan MJ, Sharma M, Ahmad R. Potential therapeutic effect of Carica papaya leaves extract on immune response, biochemical and hematological mechanisms on cecal ligation and puncture model of sepsis in rats: an in vivo study. *3 Biotech*. 2023;13(5):1-17. doi:10.1007/s13205-023-03567-2
6. Qurrota A, Laily AN. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (Carica papaya L .) Di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi , Kendalpayak , Malang The Phytochemical Analysis of Papaya Leaf (Carica papaya L .) at The Research Center of Various Bean and Tuber Crops Kendalpayak . Published online 2011:134-137.
7. Sharma A, Sharma R, Sharma M, et al. Carica papaya L. Leaves: Deciphering Its Antioxidant Bioactives, Biological Activities, Innovative Products, and Safety Aspects. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022(April). doi:10.1155/2022/2451733
8. Lestari SA, Wardani DPK, Sudarsono TA. Efek Monosodium Glutamat Terhadap Gambaran Histologi Hepar Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Galur Wistar. *Jurnal Media Analis Kesehatan*. 2021;12(1):56. doi:10.32382/mak.v12i1.2000
9. Santi TD. Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (Carica Papaya L) Sebagai Antiinflamasi. 2017;1(2):63-66.
10. Alyethodi RR, Sirohi AS, Karthik S, et al. Role of seminal MDA, ROS, and antioxidants in cryopreservation and their kinetics under the influence of ejaculatory abstinence in bovine semen. *Cryobiology*. 2021;98:187-193. doi:10.1016/j.cryobiol.2020.11.002
11. Vona R, Pallotta L, Cappelletti M, Severi C, Matarrese P. The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants*. 2021;10(2):1-26. doi:10.3390/antiox10020201
12. Sharma A. Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and

- possible mechanisms: A mini-review. *J Biomed Sci.* 2015;22(1):1-6. doi:10.1186/s12929-015-0192-5
13. Kyaw TS, Sukmak M, Nahok K, et al. Monosodium glutamate consumption reduces the renal excretion of trimethylamine N-oxide and the abundance of *Akkermansia muciniphila* in the gut. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022;630:158-166. doi:10.1016/j.bbrc.2022.09.038
 14. Mafra D, Borges NA, Lindholm B, Shiels PG, Evenepoel P, Stenvinkel P. Food as medicine: targeting the uraemic phenotype in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2021;17(3):153-171. doi:10.1038/s41581-020-00345-8
 15. Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int J Food Prop. Taylor and Francis Inc.* 2017;20:1807-1815. doi:10.1080/10942912.2017.1295260
 16. Kayode OT, Rotimi DE, Kayode AAA, Olaolu TD, Adeyemi OS. Monosodium glutamate (MSG)-Induced male reproductive dysfunction: A mini review. *Toxics.* 2020;8(1). doi:10.3390/toxics8010007
 17. Wahyudi W, Chodijah C, Sumarawati T, Afrianti D. Sungkai Leaf Extract (*Peronema canescens* Jack) Reduces MDA Levels and Increases IL-10 Levels in MSG-Induced Wistar Rats. *Poltekita : Jurnal Ilmu Kesehatan.* 2023;17(3):671-676. doi:10.33860/jik.v17i3.3015
 18. Suhaema, Sandubaya, Cermen. Pola konsumsi dengan terjadinya sindrom metabolik. Published online 2016.
 19. Hajihasani MM, Soheili V, Zirak MR, Sahebkar A, Shakeri A. Natural products as safeguards against monosodium glutamate-induced toxicity. *Iran J Basic Med Sci.* 2020;23(4):416-430. doi:10.22038/IJBMS.2020.43060.10123
 20. Owoyele B V., Adebukola OM, Funmilayo AA, Soladoye AO. Anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Carica papaya* leaves. *Inflammopharmacology.* 2008;16(4):168-173. doi:10.1007/s10787-008-7008-0
 21. Brillo V, Chiericato L, Leanza L, Muccioli S, Costa R. Mitochondrial dynamics, ROS, and cell signaling: A blended overview. *Life. MDPI AG.* 2021;11(4). doi:10.3390/life11040332
 22. Huchzermeyer B, Menghani E, Khardia P, Shilu A. Metabolic Pathway of Natural Antioxidants, Antioxidant Enzymes and ROS. *Antioxidants. MDPI.* 2022;11(4). doi:10.3390/antiox11040761
 23. Ikrima K, Amalia R, Levita J. *Ikrima K, Amalia R, Mutakim M, Levita J. Peran Spesies Oksigen Reaktif Pada Inflamasi Serta Antioksidan Alamai Sebagai Fitoterapi. Farmaka.* 2019;17(3):198-211. Vol 17.
 24. Rahma CSA, Ardini D, Endah RM. *Secondary Metabolite Profile of Sungkai Leaves and Antioxidant Activity of Sungkai Leaf Ethanol Extract (Peronema Canescens J) Using DPPH Method Profil Metabolit Sekunder Daun Sungkai. Jurnal Analis Farmasi* 192 – 210.; 2022.
 25. Od-Ek P, Deenin W, Malakul W, Phoungpetchara I, Tunsophon S. Anti-obesity effect of *Carica papaya* in high-fat diet fed rats. Preprint posted online 2020;13(4), 1-1.

26. Yahya Y, Nurliani A, Santoso HB. The Effect of Papaya (*Carica papaya* L.) Leaf Extract to the Number of Trypanosoma evansi Steel in Liver and Kidney of Mice (*Mus musculus* L. 1758). *KnE Life Sciences*. 2017;3(4):275. doi:10.18502/cls.v3i4.715
27. Yuniarti E. Pengaruh Latihan Submaksimal Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat. *Jurnal Sainstek Vol VI No 2: 189-192, Desember 2014*. 2014;VI(2):189-192.
28. Rose-John S, Winthrop K, Calabrese L. The role of IL-6 in host defence against infections: Immunobiology and clinical implications. *Nat Rev Rheumatol. Nature Publishing Group*. 2017;13(7):399-409. doi:10.1038/nrrheum.2017.83
29. Maulidia M, Wibowo JW, Sumarawati T. Effect of Virgin Coconut Oil Administration to Increase HDL, Decrease LDL and IL-6 in Hypercholesterol Male Wistar Rats. *Indonesian Journal of Medicine*. 2022;7(4):471-478. doi:10.26911/theijmed.2022.07.04.12
30. Wahyuniati N, Maulana R. Peran Interleukin-10 Pada Infeksi Malaria. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. Published online 2015:96-103.
31. Oky P, Tania A, Simamora D, et al. Kadar Interleukin 6 (IL-6) Sebagai Indikator Progresivitas Penyakit Reumatoid Arthritis (Ra). *Ilmiah Kedokteran*. 2014;3:40-47.
32. Suyasa IK. *Kadar Interleukin-6 Plasma Yang Tinggi Dan Rasio Kadar Interleukin-6 / Interleukin-10 Plasma Yang Tinggi Merupakan Faktor Risiko Terjadinya Osteoarthritis Lumbal Simtomatik Pada Penderita Wanita Pasca Menopause Defisiensi Estrogen.*; 2016.
33. Niu W, Liu Y, Qi Y, Wu Z, Zhu D, Jin W. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: A meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int J Cardiol*. 2012;157(2):243-252. doi:10.1016/j.ijcard.2011.12.098
34. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol*. 2011;30(1):16-34. doi:10.3109/08830185.2010.529976
35. Nishimoto N, Yoshizaki K, Tagoh H, et al. *Elevation of Serum Lnterleukin 6 Prior to Acute Phase Proteins on the Inflammation by Surgical Operation*. Vol 50.; 1989.
36. Fihn SD, Blankenship JC, Alexander KP, et al. ACC/AHA/AATS/PCNA/SCAI/STS Focused Update of the Guideline for the Diagnosis and Management of Patients With Stable Ischemic Heart Disease A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the. *Circulation*. 2014;130(19):1749-1767. doi:10.1161/CIR.0000000000000095
37. Masfufatun M, Tania POA, Raharjo LH, Baktir A. Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di Rattus norvegicus yang terinfeksi Candida albicans. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2018;30(1):19-23. doi:10.21776/ub.jkb.2018.030.01.4
38. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, Immunity, And disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(10).

- doi:10.1101/cshperspect.a016295
39. Kang S, Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*. 2019;50(4):1007-1023. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.026
 40. Mir MA, Mehraj U, Nisar S, Qayoom H. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Immunoglobulins, Magic Bullets and Therapeutic Antibodies*. 2020;3:273-298. doi:10.4049/jimmunol.109.1.129
 41. Amelia V, Marlina, Sudji IR. Analysis Of Interleukin-10 Levels In Mesenchymal Stem Cell Secretome Cream With ELISA Method. *Biotechnologi & Biosains Indonesia*. 2023;10(2):203-210.
 42. Çetin I, Çetin A, Şen A, et al. Comparison of ELISA and flow cytometry for measurement of interleukin-1 beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . *Turkish Journal of Biochemistry*. 2018;43(5):540-548. doi:10.1515/tjb-2017-0164
 43. Forcina L, Franceschi C, Musarò A. The hormetic and hermetic role of IL-6. *Ageing Res Rev*. 2022;80. doi:10.1016/J.ARR.2022.101697
 44. Bunsawat K, Clifton HL, Ratchford SM, et al. Cardiovascular responses to static handgrip exercise and postexercise ischemia in heart failure with preserved ejection fraction. *J Appl Physiol*. 2023;134(6):1508-1519. doi:10.1152/JAPPLPHYSIOL.00045.2023/ASSET/IMAGES/LARGE/JA PPLPHYSIOL.00045.2023_F002.JPEG
 45. Nahhas AF, Abdel-Malek ZA, Kohli I, Braunberger TL, Lim HW, Hamzavi IH. The potential role of antioxidants in mitigating skin hyperpigmentation resulting from ultraviolet and visible light-induced oxidative stress. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. Blackwell Publishing Ltd. 2019;35(6):420-428. doi:10.1111/phpp.12423
 46. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*. Rockefeller University Press. 2018;217(6):1915-1928. doi:10.1083/jcb.201708007
 47. Hwang J, Jin J, Jeon S, et al. SOD1 suppresses pro-inflammatory immune responses by protecting against oxidative stress in colitis. *Redox Biol*. 2020;37. doi:10.1016/j.redox.2020.101760
 48. Zheng M, Liu Y, Zhang G, Yang Z, Xu W, Chen Q. The Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase in Medicine, Food, and Cosmetics. *Antioxidants*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). 2023;12(9). doi:10.3390/antiox12091675
 49. Andarina R, Djauhari T. Antioksidan dalam dermatologi. *JKK*. 2017;4(1):39-48.
 50. Gęgotek A, Skrzydlewska E. The role of transcription factor Nrf2 in skin cells metabolism. *Arch Dermatol Res*. Springer Verlag. 2015;307(5):385-396. doi:10.1007/s00403-015-1554-2
 51. Altobelli GG, Van Noorden S, Balato A, Cimini V. Copper/Zinc Superoxide Dismutase in Human Skin: Current Knowledge. *Front Med (Lausanne)*. Frontiers Media S.A. 2020;7. doi:10.3389/fmed.2020.00183
 52. Fujiwara T, Duscher D, Rustad KC, et al. Extracellular superoxide

- dismutase deficiency impairs wound healing in advanced age by reducing neovascularization and fibroblast function. *Exp Dermatol*. 2016;25(3):206-211. doi:10.1111/exd.12909
53. Borgstahl GEO, Oberley-Deegan RE. Superoxide dismutases (SODs) and SOD mimetics. *Antioxidants.MDPI*. 2018;7(11). doi:10.3390/antiox7110156
 54. Sheilaadji MU, Listiawan MY, Ervianti E. Hubungan Kadar Antioksidan Superoxide Dismutase (SOD) dengan Indeks Bakterial (IB) pada Pasien Kusta Baru Tipe Multibasiler (MB) tanpa Reaksi (Correlation of Superoxide Dismutase (SOD) Antioxidant Level with Bacterial Index (IB) in New Multibacillary (MB). *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin – Periodical of Dermatology and Venereology*. 2019;31(3):200-209.
 55. Eh- CN. FineTest ® Human total SOD (superoxide dismutase) ELISA Kit. :1-16.
 56. Lee JY, Kim C Il, Lee SH. Assessment of zinc, manganese, copper, and magnesium intake levels in Koreans using the Korean Total Diet Study. *Food Sci Biotechnol*. 2023;33(4):945-954. doi:10.1007/S10068-023-01394-Y
 57. Li R, Yan X, Zhao Y, et al. Oxidative Stress Induced by Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (NRF2) Dysfunction Aggravates Chronic Inflammation Through the NAD⁺/SIRT3 Axis and Promotes Renal Injury in Diabetes. *Antioxidants*. 2025;14(3):267. doi:10.3390/ANTIOX14030267
 58. Kong YR, Jong YX, Balakrishnan M, et al. Beneficial role of carica papaya extracts and phytochemicals on oxidative stress and related diseases: A mini review. *Biology (Basel)*. 2021;10(4):1-20. doi:10.3390/biology10040287
 59. Herlina I, Mandar RSS, Puspawani Y, Meldawati M. Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. (*Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*). 2020;5(1):497-502. doi:10.37887/jimkesmas.v5i1.11105
 60. Nor TA, ID, & KSMJ. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*carica papaya l*) terhadap pertumbuhan bakteri *escherichia coli* secara in vitro. *Cendana Medical Journal*, 6(3), 327-337. *Cendana Medical Journal*. 2018;6(3):327-337.
 61. Abd-Elkareem M, Soliman M, Abd El-Rahman MAM, Abou Khalil NS. The protective effect of *Nigella sativa* seeds against monosodium glutamate-induced hepatic dysfunction in rats. *Toxicol Rep*. 2022;9:147-153. doi:10.1016/j.toxrep.2022.01.014
 62. Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int J Food Prop.Taylor and Francis Inc*. 2017;20:1807-1815. doi:10.1080/10942912.2017.1295260
 63. Lestari SA, Wardani DPK, Sudarsono TA. Lestari SA, Wardani DP, Sudarsono TA. Efek monosodium glutamat terhadap gambaran histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. *Jurnal Media Analisis*

- Kesehatan. 2021 Jun 29;12(1):56-63. *Jurnal Media Analis Kesehatan*. 2021;12(1):56. doi:10.32382/mak.v12i1.2000
64. Nahok K, Phetcharaburanin J, Li J V., et al. Monosodium glutamate induces changes in hepatic and renal metabolic profiles and gut microbiome of wistar rats. *Nutrients*. 2021;13(6). doi:10.3390/nu13061865
 65. Bera TK, Kumar Kar S, Yadav K, Mukherjee P, Yadav S, Joshi B. Effects of monosodium glutamate on human health: A systematic review. *World journal of pharmaceutical sciences*. 2017 Apr 26:139-44. 2017. <http://www.wjpsonline.org/>
 66. Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int J Food Prop. Taylor and Francis Inc*. 2017;20:1807-1815. doi:10.1080/10942912.2017.1295260
 67. Inovatif P, Keamanannya A, Mo GC, Gigi K, Gigi FK, Christian-albrecht U. Mengulas artikel Daun Carica papaya L . Menguraikan Bioaktif Antioksidan , Aktivitas Machine Translated by Google. 2022;2022(April).
 68. Nowicka-bauer K, Nixon B. Molecular changes induced by oxidative stress that impair human sperm motility. *Antioxidants.MDPI*. 2020;9(2). doi:10.3390/antiox9020134
 69. *Therapeutic Potentials of Superoxide Dismutase*.
 70. Ikrima K, Amalia R, Levita J, 2019. *Peran Spesies Oksigen Reaktif Pada Inflamasi Serta Antioksidan Alami Sebagai Fitoterapi*. *Farmaka*, 17(3), 198-211. Vol 17.
 71. Gottardo FM, Silva APA da, Santos LR dos, Colla LM, Reinehr CO. Use of monosodium glutamate in foods: the good, the bad, and the controversial side. *ABCS Health Sciences*. 2022;47:e022305. doi:10.7322/abcshs.2020155.1609
 72. Workman P, Aboagye EO, Balkwill F, et al. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *Br J Cancer*. 2010;102(11):1555-1577. doi:10.1038/sj.bjc.6605642
 73. Setiawan H, Wulandari SW, Fitriyani AN. Potensi Imunomodulator Herbal Ekstrak Etanol Daun Pepaya Varietas Calina terhadap Struktur Jaringan Limpa Tikus Putih Galur Wistar. *Jurnal Veteriner*. 2021;22(4):531-539. doi:10.19087/jveteriner.2021.22.4.531
 74. Jodynys-liebert J, Kujawska M. Biphasic dose-response induced by phytochemicals: Experimental evidence. *J Clin Med*. 2020;9(3). doi:10.3390/jcm9030718
 75. Calabrese EJ, Agathokleous E, Kapoor R, Kozumbo WJ, Rattan SIS. Re-analysis of herbal extracts data reveals that inflammatory processes are mediated by hormetic mechanisms. *Chem Biol Interact*. 2019;314:108844. doi:10.1016/j.cbi.2019.108844
 76. Forcina L, Franceschi C, Musarò A. The hormetic and hermetic role of IL-6. *Ageing Res Rev*. 2022;80(June). doi:10.1016/j.arr.2022.101697
 77. Hirano T. Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: A personal memoir. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2010;86(7):717-730. doi:10.2183/pjab.86.717
 78. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and

- Disease. 2014;6(Kishimoto 1989).
79. Song R, Kim J, Yu D, Park C, Park J. Kinetics of IL-6 and TNF- α changes in a canine model of sepsis induced by endotoxin. *Vet Immunol Immunopathol.* 2012;146(2):143-149. doi:10.1016/J.VETIMM.2012.02.008
 80. Grebenciucova E, VanHaerents S. Interleukin 6: at the interface of human health and disease. *Front Immunol.* 2023;14:1255533. doi:10.3389/FIMMU.2023.1255533/XML
 81. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology.* 2018;217(6):1915-1928. doi:10.1083/jcb.201708007
 82. Farhat F. Monosodium Glutamate Safety, Neurotoxicity and Some Recent Studies. *Al-Azhar Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2021;64(2):224-245. doi:10.21608/ajps.2021.187828
 83. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: Role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(6):1583-1606. doi:10.1089/ars.2011.3999
 84. Farombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: Modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Hum Exp Toxicol.* 2006;25(5):251-259. doi:10.1191/0960327106ht621oa
 85. Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules.* 2021;26(17):1-16. doi:10.3390/molecules26175377
 86. Anwar S, Sarwar T, Khan AA. Therapeutic Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase (SOD) in Different Pathogenesis. Published online 2025:1-51.
 87. Sutrisni NNW, Soewandhi SN, Adnyana IK, Sasongko LDN. Acute and Subchronic (28-day) Oral Toxicity Studies on the Film Formulation of k-Carrageenan and Konjac Glucomannan for Soft Capsule Application. *Scientia Pharmaceutica* 2019, Vol 87, Page 9. 2019;87(2):9. doi:10.3390/SCIPHARM87020009
 88. Anwar F, Saleem U, rehman A ur, et al. Acute Oral, Subacute, and Developmental Toxicity Profiling of Naphthalene 2-Yl, 2-Chloro, 5-Nitrobenzoate: Assessment Based on Stress Response, Toxicity, and Adverse Outcome Pathways. *Front Pharmacol.* 2022;12:810704. doi:10.3389/FPHAR.2021.810704/BIBTEX
 89. Candelario-Jalil E, Mhadu NH, Al-Dalain SM, et al. Time course of oxidative damage in different brain regions following transient cerebral ischemia in gerbils. *Neurosci Res.* 2007;41(3):233-241. Accessed August 21, 2025. <https://arxiv.org/abs/0708.0572v1>
 90. Erhirhie EO, Moke GE. Repeated Systemic Toxicity Tests: A Call for Proper Understanding of Tests Durations Nomenclature. *Asia Pac J Med Toxicol.* 2022;11(2):72-76. doi:10.22038/APJMT.2022.20402
 91. Patel C, Shukla P, Pande S, Punamiya R, Ranch K, Boddu SHS. Acute and sub-acute toxicity study of anti-obesity herbal granules in Sprague Dawley

rats. *Brazilian Journal of Biology*. 2024;84:e264320. doi:10.1590/1519-6984.264320

