

Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai *Wound Healing* Menggunakan Ikan Zebra *Danio rerio* Hamilton, 1822 Yang Diinduksi Hiperglikemia sebagai Model

Falihah Nur Aini¹, Lina Elfita^{1*}, Narti Fitriana²

¹. Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

². Department of Biology, Faculty of Science and Technology, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

*Corresponding author: lina.elfita@uinjkt.ac.id

Received: 22 May, 2024; Accepted: 28 June, 2024

Abstract: Papaya leaves are known to have antidiabetic and wound-healing activities because they contain flavonoids, alkaloids, tannins, and saponins. Tests of the activity of papaya leaf extract in mouse models have been widely conducted. In this study, the wound healing activity of papaya leaves was carried out using zebrafish as a model, because of their ability to regenerate and 70% similarity to human glucose metabolism. This study aimed to analyze the potential of zebrafish as a model for healing diabetic wounds using 96% ethanol extract from papaya leaves. Zebrafish were divided into six groups, namely normal control, negative control, positive, and papaya leaf extract 125, 187.5, and 250 ppm. The parameters observed were a decrease in blood sugar levels, regeneration of the zebrafish caudal fin, and survival rate of the fish. The results showed that there was an effect of administering papaya leaf extract at doses of 125, 187.5, and 250 ppm respectively to reduce blood sugar levels by an average of 42.67; 44.33; and 72 mg/dL, an increase in fin length of 1; 1.3; 1 mm, and survival rate with a percentage of 91%, 91%, 64%. It was concluded that zebrafish could be used as a test model for diabetic wound healing. Apart from that, the use of 96% ethanol extract from papaya leaves affects the healing of diabetic wounds. Of the 3 doses given with 96% ethanol extract of papaya leaves, the best dose for healing diabetic wounds was 187.5 ppm.

Keywords: *Animal model, diabetic wound healing, papaya leaves, zebrafish*

Abstrak: Daun pepaya diketahui memiliki aktivitas antidiabetes dan penyembuhan luka karena kandungannya berupa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Uji aktivitas ekstrak daun pepaya pada model tikus sudah banyak dilakukan. Pada study ini, pengujian aktivitas penyembuhan luka daun pepaya dilakukan menggunakan ikan zebra sebagai model, karena kemampuannya dalam beregenerasi dan memiliki kemiripan 70% dengan metabolisme glukosa manusia. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi ikan zebra sebagai model pada penyembuhan luka diabetes menggunakan ekstrak etanol 96% daun pepaya. Ikan zebra dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol negatif, positif, ekstrak daun pepaya 125, 187,5 dan 250 ppm. Parameter yang diamati adalah penurunan kadar gula darah, regenerasi sirip ekor kaudal ikan zebra dan *survival rate* ikan. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak daun pepaya pada dosis 125, 187,5 dan 250 ppm berturut-turut menurunkan kadar gula darah rata-rata sebesar 42,67; 44,33; dan 72 mg/dL, memiliki pertumbuhan panjang sirip sebesar 1; 1,3; 1 mm, dan *survival rate* dengan persentase 91%, 91%, 64%. Disimpulkan bahwa ikan zebra dapat dijadikan model uji penyembuhan luka diabetes. Selain itu, penggunaan ekstrak etanol 96% daun pepaya memiliki pengaruh terhadap penyembuhan luka diabetes. Dari 3 dosis pemberian ekstrak etanol 96% daun pepaya, dosis terbaik untuk penyembuhan luka diabetes adalah 187,5 ppm

Kata Kunci: Daun pepaya, ikan zebra, hewan model, penyembuhan luka diabetes

DOI: 10.15408/pbsj.v6i1.38957

1. PENDAHULUAN

Penyembuhan luka diabetes lebih rumit dan persisten dibandingkan penyembuhan pada luka normal. Luka diabetes dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien, deformitas permanen, risiko sepsis, morbiditas, dan mortalitas (Oliver & Mutluoglu, 2022). Menurut Internasional Diabetic Federation (IDF), komplikasi

diabetik dan ekstremitas bawah dapat mempengaruhi 40 sampai 60 juta orang dengan diabetes secara global.

Pengobatan luka diabetes sudah dikembangkan seperti penggunaan antiseptik dan antibiotik, terapi oksigen, serta pembalutan luka modern. Namun, pengobatan

tersebut memiliki kendala pada biaya yang tinggi, terjadinya resistensi mikroba, efek samping dalam penggunaan jangka panjang, dan reaksi alergi. Saat ini sudah banyak penelitian dan pengembangan terkait tanaman herbal yang bisa dijadikan alternatif yang efektif dan aman, serta memiliki efek toksik yang minimal. Salah satu pengembangan pengobatan tradisional ini adalah penggunaan ekstrak pucuk daun mangga (Darniwa *et al.*, 2021), daun binahong (Karimatulhaji *et al.*, 2017), dan daun pepaya (Nayak *et al.*, 2007) sebagai penyembuhan luka.

Penelitian penyembuhan luka diabetes menggunakan model uji tikus sudah banyak digunakan. Namun, dalam beberapa tahun terakhir ikan zebra menjadi model uji yang populer dalam bidang biomedis, toksikologi, dan farmakologi. Keuntungan menggunakan ikan zebra sebagai hewan model adalah karena kemampuannya dalam bereproduksi yang tinggi, biaya rendah, dan waktu generasi pendek (Naomi *et al.*, 2021).

Selain itu, ikan zebra juga memiliki prinsip yang sama dalam menutupi luka pada kulit atau re-epitelisasi dan 70% memiliki kemiripan dalam metabolisme glukosa manusia. Kemampuan untuk meregenerasi dirinya sendiri terutama organnya, menjadikan ikan zebra sebagai hewan model yang memiliki potensi baik untuk pengembangan obat terkait regenerasi (Lin *et al.*, 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Darniwa *et al.* (2021), melaporkan bahwa penyembuhan luka diabetes dapat dilakukan menggunakan ekstrak pucuk daun mangga dengan menggunakan ikan zebra sebagai model. Ikan zebra diinduksi dengan 0,04% aloksan dan 0,2% glukosa untuk mendapatkan keadaan hiperglikemi. Berdasarkan potensi yang dimiliki ikan zebra sebagai model untuk *drug screening*, maka kami tertarik untuk menggunakan ikan zebra sebagai model untuk

penyembuhan luka diabetes (*diabetic wound healing*) yang diintervensi dengan ekstrak daun pepaya. Pada penelitian ini, ikan zebra dipaparkan dengan ekstrak etanol 96% daun pepaya dan diinduksi dengan 0,05% aloksan serta 2% glukosa untuk mendapatkan keadaan hiperglikemia. Parameter yang diamati adalah penurunan kadar gula darah, regenerasi sirip ekor kaudal ikan zebra dan *survival rate* hidup ikan. Parameter tersebut diukur dengan individu ikan yang sama dari awal hingga akhir penelitian.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa akuarium kaca 6L (20x20x15), seperangkat filter dan media filtrasi, pisau bedah, glukometer *Autocheck 3in1 Multi Monitoring System*, *sputit* 0,5cc dengan *needles* 30G, *ultrasonic cleaner* (Elmasonic), *rotary evaporator* (Eyela), dan peralatan gelas.

b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pepaya tua (*Carica papaya* L., var. California), etanol 96%, metformin, aloksan monohidrat, dan glukosa.

2.2 Model Uji

Model uji berupa ikan zebra *Danio rerio* (Hamilton, 1822) jantan dengan umur 4-6 bulan dengan ukuran 1-1,5 inci sebanyak 90 ekor yang didapatkan dari Pasar Ikan Hias Parung, Kabupaten Bogor. Dilakukan pemberkasan kode etik untuk perlakuan terhadap hewan model di Universitas Negeri Jakarta No. 017/KEH-BIO/UNJ/2023.

Kriteria inklusi adalah ikan dengan usia 4-6 bulan (Hardianti *et al.*, 2021), sehat berdasarkan keadaan

fisik dan aktivitas berenang, dan ikan jantan. Ikan yang digunakan jantan, untuk menghindari variasi yang dapat terjadi akibat perbedaan hormonal (Istriningsih & Solikhati, 2021). Kriteria eksklusi adalah ikan yang sakit atau mati saat penelitian.

2.3 Pemeliharaan Ikan Zebra

Ikan zebra hidup di air tawar, siklus gelap terang 12:12, jumlah pemberian pakan 2-3 kali sehari berupa *flakes pellet* (Khotimah *et al.*, 2020). Kondisi akuarium dijaga pada suhu 24-30 °C (Muchdar *et al.*, 2020), pH 6,5-8,0 (Indriyanti, 2020), dan kualitas air akuarium baik. Saat aklimatisasi ikan ditaruh dalam akuarium 60L. Air akuarium untuk aklimatisasi harus dikuras sebanyak 20% air setiap 3 hari sekali.

2.4 Ekstrak Daun Pepaya

Ekstrak dibuat dengan metode ultrasonik. Daun pepaya dikeringkan dan dihaluskan. Serbuk daun pepaya sebanyak 40 g dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang diisi dengan 200 ml etanol 96%. Lalu, diekstraksi dengan menggunakan *ultrasonic cleaner* dengan suhu 60°C selama 30 menit (Fauziah & Wakidah, 2019); (Gede Wiranata & Malida, 2022). Hasil ekstraksi selanjutnya dilakukan skrining fitokimia untuk membuktikan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder. Skrining fitokimia yang dilakukan berupa uji alkaloid, uji steroid, uji flavonoid, dan uji saponin.

2.4 Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Diabetes

a. Perlakuan Kelompok Kontrol

Setiap kelompok perlakuan berisikan 15 ekor ikan, yang terdiri dari kontrol normal, negatif, dan positif. Kontrol normal [KN] adalah kelompok ikan tidak diinduksi hiperglikemia. Kontrol negatif [K(-)] merupakan kelompok ikan diinduksi hiperglikemia dan tidak diberikan intervensi berupa metformin ataupun ekstrak daun pepaya. Kontrol positif [K(+)]

adalah kelompok ikan yang diinduksi hiperglikemia dan diberikan intervensi berupa metformin 20 µM (Darniwa, *et al.*, 2021).

b. Perlakuan Kelompok Uji

Hewan uji dibagi dalam 3 pemberian dosis ekstrak yang berbeda, setiap kelompok berisikan 15 ekor ikan dengan setiap kelompok diberikan induksi hiperglikemia dan intervensi dengan ekstrak daun pepaya sesuai dengan dosisnya. Dosis 1, 2, dan 3 diberikan ekstrak daun pepaya dengan dosis berturut-turut 125, 187,5, dan 250 ppm. Pada setiap kelompok, dilakukan pengecekan kadar gula darah dan amputasi.

c. Pembuatan Larutan Induksi Hiperglikemia

Larutan terbagi menjadi dua, yaitu aloksan dan glukosa. Larutan aloksan 0,05% dibuat dengan cara melarutkan 500 mg aloksan ke dalam 1 L air. Sebanyak 100 g glukosa dilarutkan ke dalam 5L air.

d. Induksi Hiperglikemia

Kelompok ikan yang diinduksi hiperglikemia akan dipaparkan dengan 0,05% aloksan selama 1 jam dan glukosa dengan konsentrasi 2% selama 23 jam, yang dilakukan berulang hingga 3 hari. Setelah 3 hari, dilakukan pengukuran kadar gula darah, dikatakan ikan hiperglikemia apabila berada diatas kadar gula darah normal (50-75 mg/dL) (Hayati *et al.*, 2017).

e. Pengukuran Kadar Gula Darah

Ikan dianestesi dengan memasukkan ikan pada air dengan temperatur 17°C, temperatur akan diturunkan perlahan menuju 12°C. Sebelum pengambilan darah mula-mula harus disiapkan spuit 0,5 cc yang sudah dibilas dengan Na-EDTA. Setelah ikan pingsan, badan ikan dikeringkan dengan tisu perlahan. Lalu, bagian badan hingga kepala ditutup dengan kapas tanpa ditekan. Ambil darah menggunakan spuit pada bagian dorsal aorta. Jika darah sudah terlihat ada bagian pangkal *needle*, maka darah tersebut diletakkan di atas

sudip untuk mempermudah penyerapan darah ke strip tes. Selanjutnya kadar gula darah dapat terbaca di alat.

f. Amputasi Sirip Kaudal

Setelah didapatkan ikan dalam keadaan hiperglikemia, sirip ikan diamputasi dari dorsal menuju ventral dengan setengah dari panjang sirip atau 0,3 cm dari bagian terluar sirip. Amputasi dilakukan dengan bisturi. Lalu, dibiarkan ikan di akuarium dengan temperatur normal (Darniwa *et al.*, 2021).

g. Intervensi Kelompok Uji

Setelah amputasi, ikan dibagi kedalam 6 kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok uji ekstrak daun pepaya 125 ppm, 187,5 ppm, dan 250 ppm. Setiap kelompok berisikan 15 ekor ikan. Kelompok kontrol positif diberikan paparan metformin 20 μ M dan kelompok uji ekstrak daun pepaya diintervensi dengan pemaparan ekstrak selama 2 jam setiap harinya. Perlakuan ini dilakukan sampai hari kelima pasca amputasi (Darniwa *et al.*, 2021).

h. Observasi Regenerasi Sirip dan Kadar Gula Darah

Observasi regenerasi sirip diamati pada hari ke-5 setelah diberikan metformin, dan ekstrak. Pengukuran dihitung dari pangkal sirip sampai bagian terluar sirip menggunakan milimeter blok (Darniwa *et al.*, 2021) dan pengukuran kadar gula darah menggunakan glukometer.

i. Pengamatan Survival Rate

Pengamatan *survival rate* untuk mengetahui sintasan ikan dilakukan dengan cara membandingkan jumlah ikan yang hidup pada akhir pemeliharaan dengan jumlah ikan pada awal pemeliharaan menggunakan rumus Effendi (1997), dengan rumus sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan:

SR = *survival rate*/kelangsungan hidup %

N_t = jumlah ikan pada akhir pemeliharaan (ekor)
 N_o = jumlah ikan pada awal pemeliharaan (ekor)

2.5 Euthanasia

Euthanasia dilakukan dengan cara memasukkan ikan ke dalam air dengan suhu 4°C selama kurang lebih 20 menit hingga tidak ada pergerakan pada sirip dan insang, lalu dilanjut dengan pembekuan ikan dalam *freezer*, kemudian ikan dibakar (IACUC, 2021).

2.6 Analisis Hasil

Hasil dari analisis dilihat dari kadar gula darah, panjang sirip, dan *survival rate*. Pengukuran kadar gula darah diproses dengan IBM SPSS Statistics versi 23 (Santoso, 2020). Data pengukuran kadar gula darah diproses menggunakan ANOVA One-Way untuk melihat adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol 96% daun pepaya (Darniwa *et al.*, 2021). Hasil analisis ANOVA yang memberikan hasil berbeda nyata dianalisis lebih lanjut dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).

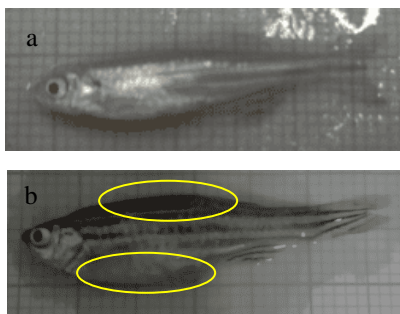
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen ekstrak daun pepaya yang diperoleh yaitu sebesar 15,5% sehingga memenuhi syarat Farmakope Herbal Indonesia (2017), yaitu nilainya tidak kurang dari 10%. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan, ekstrak etanol 96% daun pepaya mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan steroid.

Menurut Mahatriny (2017) ekstrak etanol daun pepaya yang diperoleh dari Daerah Ubud positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan tannin. Penelitian yang dilakukan oleh Ayun (2017) dengan daun pepaya di Balai Penelitian Tanaman Kendalpayak menghasilkan hasil positif pada saponin, alkaloid, tannin, terpenoid, dan steroid. Menurut Gogna (2015), flavonoid yang terkandung dalam daun pepaya antara lain kaempferol, hesperidin, quercetin, naringenin, dan rutin.

Sejalan dengan penelitian tersebut, terdapat perbedaan kandungan metabolit sekunder yang terkandung. Banyak faktor yang mempengaruhi kandungan metabolit sekunder, yaitu kondisi lingkungan tanaman seperti suhu, ketinggian daratan, kandungan unsur hara dalam tanah, pH, dan kelembaban tanah.

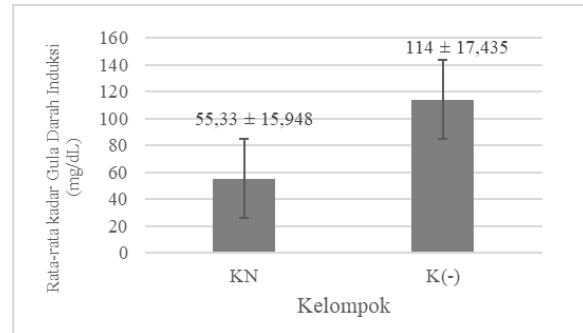
Studi pendahuluan induksi dilakukan untuk menentukan konsentrasi aloksan dan glukosa yang dapat menghasilkan hiperglikemia serta mengetahui kelangsungan hidup ikan selama proses induksi Menurut Hardianti *et al.* (2021), ikan yang hiperglikemia memiliki perbedaan fisik dengan ikan normal yaitu adanya peningkatan volume jaringan adiposa visceral, akumulasi lipid di hati, dan meningkatkan bobot badan secara signifikan.



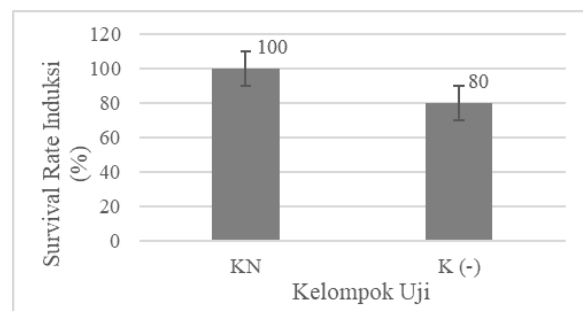
Gambar 1. Penampakan ikan normal (a); ikan diabetes (b). (Dokumentasi pribadi, 2023). Peningkatan volume jaringan adiposa visceral pada ikan diabetes ditandai dengan lingkaran merah. Gambar berskala 1:1,5 cm.

Setelah pemberian aloksan 0,05% selama 1 jam dan glukosa 2% selama 23 jam dalam 3 hari berturut-turut didapatkan hasil kadar gula darah dapat dilihat pada Gambar 2.

Merujuk pada Jörgens (2012), kadar gula darah normal pada ikan zebra yaitu sebesar 50-75 mg/dL. Oleh karena itu, pemberian aloksan 0,05% dan glukosa 2% dapat membuat ikan hiperglikemia.



Gambar 2. Rata-rata Kenaikan Kadar Gula Darah Induksi. Keterangan. KN = kontrol normal dan K(-) = kontrol negatif.



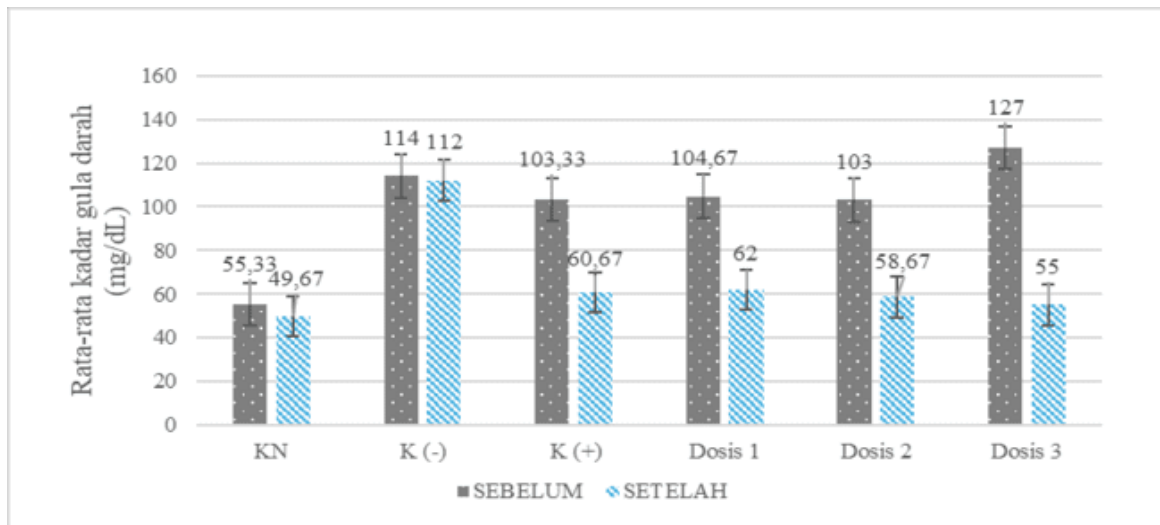
Gambar 3. Persentase Survival Rate Induksi. Keterangan. KN = kontrol normal dan K(-) = kontrol negatif.

Selama masa induksi, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif memiliki persentase *survival rate* 80% (**Gambar 3**). Berdasarkan Darniwa *et al.* (2021), kematian pada ikan dapat disebabkan oleh rendahnya kadar oksigen dalam air, sehingga ikan sulit untuk bernapas. Selain itu, faktor yang dapat menyebabkan kematian pada ikan adalah toksisitas dari aloksan 0,05% dan buruknya kualitas air saat pemaparan dengan glukosa 2%.

Pada Gambar 4. dapat dilihat bahwa terjadi penurunan berturut-turut dari dosis 3, dosis 2, dosis 1 ekstrak, kontrol positif. Kelompok kontrol normal memiliki rata-rata kadar gula darah 55,33 mg/dL dan 49,67 mg/dL, yang diketahui pada kadar gula darah tersebut berada pada rentang normal sesuai dengan literatur yaitu 50-75 mg/dL. Kelompok kontrol negatif memiliki kadar gula darah di atas ambang kadar gula darah normal sebesar 114 mg/dL setelah induksi dan

112 mg/dL setelah 5 hari tidak diberikan paparan apapun.

Lalu, didapatkan hasil uji LSD yaitu pemberian ekstrak daun pepaya dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula



Gambar 4. Rata-rata Kadar Gula Darah Sebelum dan Setelah Intervensi dengan Ekstrak Daun Pepaya.

Keterangan. KN = kontrol normal, K(-) = kontrol negatif, K (+) = kontrol positif, D1 = dosis 125 ppm, D2 = dosis 187,5 ppm, D3 = dosis 250 ppm.

Pada kelompok kontrol positif mengalami penurunan dengan selisih rata-rata kadar gula darah sebelum dan sesudah intervensi 42,66 mg/dL. Sejalan dengan kontrol positif, pada dosis 1, 2, dan 3 pemberian ekstrak etanol daun pepaya juga memiliki penurunan yang besar. Rerata penurunan kadar gula darah dosis 1, 2 dan 3 berturut-turut sebesar 42,67; 44,33 dan 72 mg/dL.

Hasil Uji ANOVA *One-Way* menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun pepaya terhadap penurunan kadar gula darah ($p < 0,05$).

darah dan kadar gula darah kembali berada di rentang normal.

Ikan yang sudah diamputasi akan beregenerasi sebagaimana normalnya. Namun, kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan terhambatnya proses penyembuhan luka sehingga memakan waktu yang lebih lama. Oleh karena itu, pada penelitian ini penyembuhan luka juga didasarkan pada percepatan pertumbuhan panjang sirip. Pengukuran panjang sirip dilakukan menggunakan milimeter block, sehingga dalam perhitungannya hanya dapat dilihat sampai 0,1 cm saja. Perbedaan rata-rata pertumbuhan panjang

Tabel 1 Hasil Pengukuran Pertumbuhan Panjang Sirip

| Kelompok Uji | Pertumbuhan panjang sirip (cm) | | | Rata-rata \pm SD |
|----------------------------|--------------------------------|--------|--------|--------------------|
| | Ikan 1 | Ikan 2 | Ikan 3 | |
| KN | 0,1 | 0,1 | - | 1,00 \pm 0,00 |
| K (-) | 0,1 | 0,1 | - | 1,00 \pm 0,00 |
| K (+) | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 1,00 \pm 0,00 |
| Ekstrak Etanol Daun Pepaya | D1 | 0,1 | 0,1 | 1,00 \pm 0,00 |
| | D2 | 0,1 | 0,2 | 1,33 \pm 0,577 |
| | D3 | 0,1 | 0,1 | 1,00 \pm 0,00 |

Keterangan. K(-) = kontrol negatif, K (+) = kontrol positif, D1 = dosis 125 ppm, D2 = dosis 187,5 ppm, D3 = dosis 250 ppm

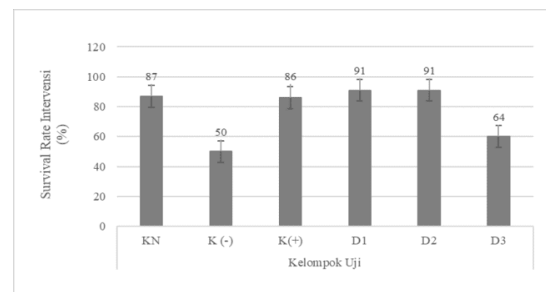
sirip kaudal ikan pada masing-masing kelompok tidak jauh berbeda. Namun, pada dosis 2 pertumbuhan panjang sirip pada ikan kedua mencapai 0,2 sehingga rata-rata pada kelompok tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok uji lainnya. Ikan ketiga pada kelompok kontrol normal mati pada hari kedua pasca amputasi. Kematian pada ikan kontrol normal bisa terjadi karena adanya infeksi setelah dilakukan amputasi. Kematian juga terjadi pada ikan ketiga kelompok kontrol negatif saat hari pertama pasca amputasi. Hal ini bisa terjadi karena adanya infeksi pada ikan.

Menurut penelitian Meherunisa *et al.* (2018), metformin memiliki aktivitas antibakteri gram positif dan negatif, serta memiliki aktivitas antijamur. Oleh karena itu, pada kelompok kontrol positif tidak ada kematian pada 3 ikan yang diamputasi dan diukur kadar gula darah. Sejalan dengan hal tersebut, ekstrak etanol daun pepaya juga memiliki efek antimikroba. Ekstrak etanol daun pepaya mengandung papain dengan chymopapain memiliki aktivitas sebagai antimikroba dan enzim proteolitik (Ramadhian & Widiastini, 2018).

Prosedur aseptis pada proses amputasi maupun pengukuran kadar gula darah sangat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Prosedur ini dapat dilakukan dengan cara sterilisasi meja kerja, pisau bedah, suntikan, penggunaan sarung tangan untuk peneliti, pembersihan area amputasi dan pengambilan darah pada ikan, serta memperhatikan air akuarium yang digunakan. Pada tahapan intervensi banyak ikan yang mati, bisa disebabkan oleh kualitas air akuarium yang buruk. Sebagaimana dapat dilihat pada **Gambar 5**. Kualitas air yang baik dapat dilihat dari suhu yang sesuai, kandungan oksigen yg baik dalam air, kadar nitrat dan nitrit dibawah ambang batas. Selain itu, kematian juga bisa berasal dari infeksi setelah diamputasi dan diukur kadar gula darah ataupun

kesalahan saat pengukuran kadar gula darah yang dapat melukai ikan.

Persentase *survival rate* paling rendah berada pada kelompok kontrol negatif, yaitu sebesar 50%. Hal ini bisa disebabkan oleh tingginya kadar gula darah ikan yang tidak diberikan pengobatan sehingga ikan beresiko mati. Presentase terendah lainnya yaitu kelompok pemberian ekstrak etanol daun pepaya dosis 3 atau 250 ppm. Kematian pada kelompok tersebut bisa diakibatkan pekatnya air akuarium yang dipaparkan ekstrak daun pepaya 250 ppm.



Gambar 5. Persentase Survival Rate Intervensi
Keterangan. KN = kontrol normal, K(-) = kontrol negatif, K (+) = kontrol positif, D1 = dosis 125 ppm, D2 = dosis 187,5 ppm, D3 = dosis 250 ppm.

Tabel 2 Pengukuran Kualitas Air Akuarium

| Kelompok Uji | Parameter | | | |
|--------------|-----------|-------|---------------|----|
| | Suhu °C | pH | Nitrat (mg/L) | |
| KN | 26-27 | 7,03 | 5 | |
| K (-) | 26-27 | 7,05 | 30 | |
| K (+) | 26-27 | 7 | 10 | |
| Ekstrak | D1 | 26-27 | 7,06 | 15 |
| Etanol Daun | D2 | 26-27 | 7,02 | 15 |
| Pepaya | D3 | 26-27 | 7,05 | 20 |

Keterangan. Pengukuran Kualitas Air Akuarium pada hari ke-5 setelah amputasi. K(-) = kontrol negatif, K (+) = kontrol positif, D1 = dosis 125 ppm, D2 = dosis 187,5 ppm, D3 = dosis 250 ppm

Dalam menunjang efek penyembuhan luka diabetes, senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid juga bermanfaat sebagai agen antiinflamasi (Putu *et al.*, 2021). Senyawa tersebut dapat menghambat enzim siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit sehingga mengurangi edema atau antiinflamasi (Karim, 2022). Tannin memiliki khasiat sebagai

antioksidan dengan cara menghambat produksi oksidan oleh neutrophil, monosit, dan makrofag. Tannin juga menghambat langsung oksidan relatif seperti asam hipoklorid dan radikal hidroksi (Putu *et al.*, 2021).

Pada pasien yang terkena luka diabetes mengalami ketidakseimbangan redoks yang disebabkan oleh berlebihnya stres oksidatif pada jaringan dan penurunan kemampuan antioksidan sehingga luka diabetes sulit disembuhkan. Jika terdapat efek antioksidan, stres oksidatif akan menurun sehingga terjadi peningkatan proses perbaikan luka (Deng *et al.*, 2021). Aktivitas antimikroba juga berperan penting dalam proses penyembuhan luka diabetes. Daun pepaya memiliki kandungan alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, tanin, steroid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Niza *et al.*, 2020).

4. KESIMPULAN

Ikan zebra dapat dijadikan model uji penyembuhan luka diabetes dengan melihat penurunan kadar gula darah, pertumbuhan panjang sirip kaudal, dan *survival rate*. Ekstrak etanol 96% daun pepaya memiliki pengaruh terhadap penyembuhan luka diabetes. Dari 3 dosis pemberian ekstrak etanol 96% daun pepaya, dosis terbaik untuk penyembuhan luka diabetes adalah 187,5 ppm dengan persentase *survival rate* 91%, rata-rata penurunan kadar gula darah 44,33 mg/dL, dan rata-rata pertambahan panjang sirip sebesar 0,13 cm.

5. REFERENSI

- Darniwa, A. V., Cahyanto, T., & Hidayah, S. N. (2021). *Effect of Mango Leaf Shoot Extract (Mangifera indica L.) on Zebra Fish (Danio rerio) Cell Regeneration Induced by Hyperglycemia*. *Jurnal Ilmu Hayat*, 5(2). <http://journal2.um.ac.id/index.php/jih/index>
- Effendi, M. (1997). *Biologi Perikanan*. Penerbit Yayasan Pustaka Nusanara.
- Farmakope Herbal Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia (Edisi II)*.
- Fauziah, L., & Wakidah, M. (2019). *Extraction of Papaya Leaves (Carica papaya L.) Using Ultrasonic Cleaner*. *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 35–45. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol19.iss1.art4>
- Gede Wiranata, I., & Malida, M. V. S. (2022). Pengaruh Pelarut Dan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Dan Nilai Ic50 Ekstrak Umbi Bit (Beta vulgaris L.) *Effect Of Solvent And Extraction Method On Secondary Metabolites And Ic50 Of Beetroot Extract (Beta vulgaris L.)*. In *Jurnal Integrasi Obat Tradisional* • (Vol. 2, Issue 1). <https://usadha.unmas.ac.id>
- Hardianti, M., Yuniarto, A., & Hasimun, P. (2021). Review: Zebrafish (Danio Rerio) Sebagai Model Obesitas dan Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(2), 69. <https://doi.org/10.25077/jsfk.8.2.69-79.2021>
- Hayati, F., Putri, C. A., Awaluddin, R., Maizulfiani, A., & Dwi Dharma, D. (2017). Pengembangan Metode Uji Antihiperqlikemia Dengan Zebrafish. *Menuju Masyarakat Madani Dan Lestari*.
- IACUC. (2021). *IACUC Policy 23: Use of Zebrafish for Research and Teaching*. <https://oacu.oir.nih.gov/sites/default/files/uploads/arac-guidelines/zebrafish.pdf>.
- Indriyanti, N. (2020). Zebrafish (Danio rerio) Sebagai Model Hewan Coba pada Pengujian Aktivitas Obat. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 11, 80–83.
- Istriningsih, E., & Solikhati, D. I. K. (2021). Aktivitas antidiabetik ekstrak rimpang kunyit (Curcuma domestica Val.) pada Zebrafish (Danio rerio). *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 60–65.
- Jörgens, K., H. J. L. , H. H. P. , & K. J. (2012). 22402952. *Zebrafish: A Model for Understanding Diabetic Complications*. , 120(4), 186–187.
- Karim, S. F. (2022). Formulasi Dan Uji Aktivitas Gel Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica PAPAYA L.) Pada Mencit Jantan Putih (Mus MUSCULUS). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 5(2), 112–121. <HTTPS://DOI.ORG/10.29313/JIFF.V5I2.8970>
- Karimatulhadj, H., Yuni Elfasyari, T., Arviana Ihsan, E., Adiyas Putra, T., Hariadi, P., & Ariani, C. (2017). *Effect of Diabetes Condition on Topical Treatment of Binahong Leaf Fraction in Wound Healing Process* Pengaruh Kondisi Diabetes pada Pemberian Topikal Fraksi Daun Binahong dalam

- Proses Penyembuhan Luka. *Traditional Medicine Journal*, 22(2).
- Khotimah, H., Wari, F. E., Noviasari, D., Octaviana, A., Supriadi, R. F., Norisa, N., Permata, T. R., Diestika, Y., Ali, M. M., & Kalsum, U. (2020). *Centella asiatica* alleviates neurotoxicity and development of lead-exposed zebrafish larvae. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 13(4), 1886–1898.
- Lin, B., Ma, J., Fang, Y., Lei, P., Wang, L., Qu, L., Wu, W., Jin, L., & Sun, D. (2023). *Advances in Zebrafish for Diabetes Mellitus with Wound Model*. *Bioengineering*, 10(3), 330. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10030330>
- Meherunisa, Jaiswal, S., & Seth, V. (2018). Study of *Metformin Effect on Antimicrobial Property*. *International Archives of BioMedical And Clinical Research*, 4. <https://doi.org/10.21276/iabcr.2018.4.3.00>
- Muchdar, F., Juharni, J., & Andriani, R. (2020). Utilization of Different Probiotics on Growth and Survival Rate of Blacktail Zebra fish (*Dascyllus melanurus*). *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 13(2), 222–231. <https://doi.org/10.29239/j.agrikan.13.2.222-231>
- Naomi, R., Bahari, H., Yazid, M. D., Embong, H., & Othman, F. (2021). *Zebrafish as a model system to study the mechanism of cutaneous wound healing and drug discovery: Advantages and challenges*. In *Pharmaceuticals* (Vol. 14, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ph14101058>
- Nayak, S., & Maureen Pinto Pereira, L. (2007). *Wound healing activity of Carica papaya L. In experimentally induced diabetic rats Evaluation of vitamin D relationship with type 2 diabetes and systolic blood pressure View project Diabetes in primary care View project*. In *Article in Indian Journal of Experimental Biology*. <https://www.researchgate.net/publication/5966189>
- Niza, S., Khumala, I. P., Advina Herdiyani, D., & Pramuningtyas, R. (2020). Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (Carica Papaya) Terhadap Luka Bakar Terinfeksi The Efficacy Of Papaya Leaf (Carica Papaya) Extract On Infected Wound Burn.
- Oliver, T. I., & Mutluoglu, M. (2022). *Diabetic Foot Ulcer*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). <http://europepmc.org/books/NBK537328>
- Putu, N., Sari, R., Bodhi, W., & Lebang, J. S. (2021). Anti-Inflammatory Activity Test Of Ethanol Extract Of Papaya Leaf (Carica Papaya L.) In White Male Rats (*Rattus Norvegicus*) Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica Papaya L.) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*).
- Ramadhian, M. R., & Widiastini, A. A. (2018). Kegunaan Ekstrak Daun Pepaya (Carica papaya) Pada Luka. *J Agromedicine* /, 5, 513.
- Santoso, S. (2020). *Panduan Lengkap SPSS 26*. Elex Media Komputindo.