



## Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol ekstrak biji Pepaya Muda dapat menghambat Spermatid Mencit Jantan (*Mus musculus*)

*Hexane fraction and methanol fraction of unripe papaya seed extract (Carica papaya Linn) inhibits spermatid cells of male mice (Mus musculus)*

Bagus Komang Satriyasa

Department of Pharmacology, UDAYANA UNIVERSITY School of Medicine, Denpasar-Bali

**KEYWORDS** *Carica papaya seeds; infertility; spermatid cells; male mice*

**ABSTRACT** *Hexane fraction of unripe papaya seed extract contains glycosides, alkaloid and triterpenoids, which is assumed to have an anti fertility effect, so it can be used as a male contraception, although the mechanism of action is not yet clear. Research is conducted at Animal Laboratory Unit, Department of Pharmacology Faculty of Medicine University of Udayana, and Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Wilayah VI Denpasar Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian. This study used the pre-test and post-test control group design, using 30 male mice of balb C strain, aged 12 weeks, weight 20-22 gram, subsequently grouped by random into 3 groups each consisting of 10 male mice. One control group (P0 = control group) was given double distilled water, and two treatment groups (P1 = treatment group) was given fraction of the hexane extract of young Carica papaya seed 20 mg/20gram/day, (P2 = treatment group) was given fraction of the methanol extract of young Carica papaya seed 20 mg/20 gram/day. After 36 days of treatment, evaluation of the testis, of the male mice was conducted. Data were analysed by normality test of Kolmogorov Smirnov Goodness of Fit, homogeneity test, and Anova test. This study showed that spermatid cells decreased significantly ( $p < 0,01$ ). It was concluded that hexane fraction and methanol fraction of unripe carica papaya seeds extract could decrease spermatid cells of male mice (*mus musculus*).*

Untuk menghindari terjadinya ledakan jumlah penduduk, maka program keluarga berencana (KB) dijadikan program nasional di Indonesia. Agar program keluarga berencana tersebut berhasil, maka program keluarga berencana harus dilakukan oleh semua pihak baik pria maupun wanita. Pada kenyataannya, program keluarga berencana masih didominasi oleh wanita sedangkan pria belum banyak berpartisipasi. Peranan pria dalam program KB sangat penting karena biasanya pria lebih dominan sebagai penentu kebijaksanaan dalam keluarga.

Meskipun kontrasepsi berhasil untuk wanita, bukan berarti pria sama sekali tidak bisa ikut ambil bagian dalam program KB dengan salah satu kontrasepsi yang memang efektif untuk pria (Hartono, 1996; Sumaryati, 2004). Salah satu alasan rendahnya partisipasi pria dalam keluarga berencana karena kontrasepsi pria yang tersedia sangat terbatas jenisnya. Masalah tersebutlah yang menjadi landasan mengapa perkembangan teknologi kontrasepsi perlu lebih mengarah pada pria (Wilopo, 2004). Sampai sekarang metode kontrasepsi pria yang ada adalah pantang berkala, senggama terputus (*coitus*

*interruptus*), penggunaan kondom, dan vasektomi (Moeloek, 2002; Sumaryati, 2004).

Kontrasepsi pria yang ada saat ini sangat terbatas, sehingga diupayakan pengembangan obat-obat kontrasepsi pria, salah satu di antaranya dengan mencari bahan alternatif dari bahan-bahan alam. Biji pepaya muda merupakan salah satu bahan alam yang mempunyai khasiat antifertilitas. Untuk menemukan obat kontrasepsi pria dari bahan alam yang ideal masih mengalami banyak kendala, mengingat bahwa obat kontrasepsi pria yang ideal harus memenuhi syarat-syarat antara lain: dapat menimbulkan keadaan azoospermia total; mudah digunakan; tidak menimbulkan efek samping dan efek toksik; tidak mengganggu libido maupun perilaku seksual serta bersifat sementara (Herrere, 1984; Sutjarso, 1992).

*Correspondence:*

Dr. dr. Bagus Komang Satriyasa, M. Repro., Department of Pharmacology, UDAYANA UNIVERSITY School of Medicine, Denpasar, Jalan P.B. Sudirman, Denpasar, e-mail: bsatriyasa@yahoo.com

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda mempunyai efek menghambat spermatid. Jika penelitian ini hasilnya bermakna, maka fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda lokal Bali kemungkinan dapat digunakan sebagai bahan kontrasepsi yang baru.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini ialah penelitian eksperimental dengan rancangan *Pre-test Post-test Control Group Design* (Campbell, 1968). Penelitian ini dilakukan di dua tempat yaitu: (1). Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, tempat pemeliharaan mencit, pengambilan testis mencit setelah selesai perlakuan; (2). Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Wilayah VI Denpasar Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, tempat pemeriksaan spermatid.

Sebanyak tiga puluh ekor mencit jantan Balb-C, kemudian dikelompokkan secara *simple random sampling* menjadi tiga kelompok:

1. Kelompok kontrol (P0), terdiri dari 10 ekor mencit jantan (5 ekor mencit dibunuh pada awal percobaan, sisanya 5 ekor lagi diberikan akua-bides per oral sebanyak 0,5 ml selama 36 hari);
2. Kelompok perlakuan 1 (P1), terdiri dari 10 ekor mencit jantan (5 ekor mencit dibunuh pada awal percobaan, sisanya 5 ekor lagi diberikan fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda per oral dengan dosis 20 mg/20grbb/hari sebanyak 0,5 ml selama 36 hari);
3. Kelompok perlakuan 2 (P2), terdiri dari 10 ekor mencit jantan (5 ekor mencit dibunuh pada awal percobaan, sisanya 5 ekor lagi diberikan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda per oral dengan dosis 20 mg/20grbb/hari sebanyak 0,5 ml selama 36 hari).

Pada awal percobaan dari masing-masing kelompok diambil 5 ekor mencit secara acak kemudian mencit

dibunuh, testisnya diambil untuk pemeriksaan sel-sel spermatid. Setelah perlakuan selama 36 hari, kelompok kontrol, kelompok perlakuan pertama (yang diberikan fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda) dan kelompok perlakuan kedua (yang diberikan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda) diambil lagi masing-masing 5 ekor mencit untuk diambil testisnya guna pemeriksaan sel-sel spermatid. Data yang diperoleh dari pemeriksaan terhadap 60 tubulus (30 tubulus dari testis kanan dan 30 tubulus dari testis kiri). Evaluasi dilakukan pada stadium VII siklus spermatogenesis mencit. Data kuantitatif: dihitung jumlah sel-sel spermatid.

Data yang diperoleh dianalisis sebagai berikut:

1. Analisis deskriptif untuk menyajikan data dari masing-masing kelompok percobaan;
2. Analisis normalitas untuk mengetahui distribusi data yang diperoleh sebelum perlakuan;
3. Analisis homogenitas untuk mengetahui varians dari data sebelum perlakuan;
4. Analisis Anova untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok;
5. Analisis komparasi untuk mengetahui perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan;
6. Derajat kemaknaan ditetapkan dengan  $\alpha \leq 0,05$ .

## HASIL

### Analisis normalitas data dan uji Homogenitas Varians

Hasil pengujian didapatkan bahwa jumlah rata-rata sel spermatid sebelum perlakuan terletak pada distribusi yang normal dan homogen ( $p > 0,05$ ).

### Analisis variabel tergantung setelah perlakuan

Hasil analisis data dengan uji *oneway* Anova dan LSD (*Least Significant Difference*) antar kelompok terlihat seperti pada tabel 1 dan 2 di bawah, sedangkan grafik histogram seperti pada gambar 1 di bawah.

Tabel 1. Hasil uji *oneway* Anova jumlah sel spermatid pada mencit Balb-C setelah diberikan 0,5 ml fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda selama 36 hari

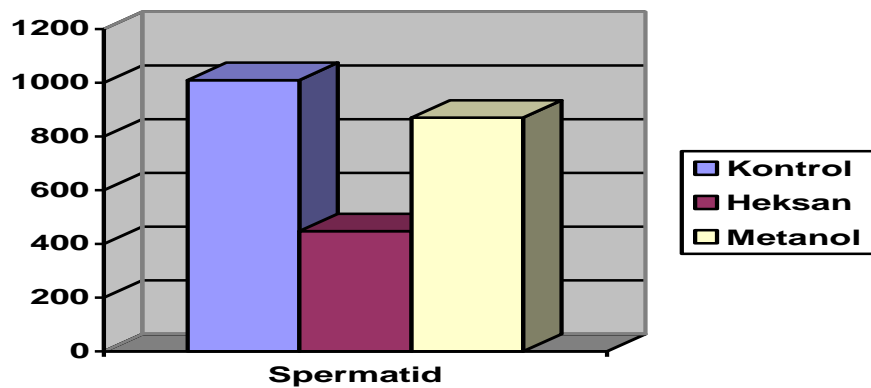
Variabel	Perlakuan	n	Mean	F	p
Spermatid	Kontrol	5	1010,00	48,32	0,000*
	Fr. eks. heksan	5	448,00		
	Fr. eks metanol	5	870,00		

• The mean difference is significant at the .05 level

Tabel 2. Resume hasil uji LSD (*Least Significant Difference*) jumlah sel spermatid pada mencit Balb-C setelah diberikan 0,5 ml fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda selama 36 hari

<i>Dependent Variable</i>	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	p
Spermatid	kelompok kontrol	kelompok heksan	562,0000*	0,000
		kelompok metanol	140,0000*	0,037
	kelompok heksan	kelompok metanol	-422,0000*	0,000

• The mean difference is significant at the .05 level



Gambar 1 Histogram jumlah sel spermatid pada mencit Balb-C setelah diberikan 0,5 ml fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda selama 36 hari.

### Peran fraksi Heksan dan Fraksi Methanol ekstrak biji pepaya muda terhadap jumlah sel spermatid

Dari hasil analisis *oneway* Anova didapatkan jumlah rata-rata sel spermatid kelompok kontrol adalah 1010, kelompok perlakuan pertama (yang diberikan fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda) adalah 448, kelompok perlakuan kedua (yang diberikan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda) adalah 870. Terlihat perbedaan jumlah rata-rata sel spermatid antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pertama sebesar 562, dan dengan kelompok perlakuan kedua sebesar 140, terjadi penurunan jumlah rata-rata sel spermatid. Sedangkan jumlah rata-rata sel spermatid antara kelompok perlakuan pertama dengan kelompok perlakuan kedua juga berbeda, yang mana kelompok perlakuan pertama lebih kecil lagi 422 dibandingkan kelompok perlakuan kedua. Terlihat ketiga kelompok mempunyai perbedaan sangat bermakna ( $p < 0,000$ ). Hasil analisis terlihat seperti pada Tabel 1.

Hasil analisis LSD (*Least Significant Difference*) didapatkan jumlah sel spermatid kelompok kontrol berbeda bermakna dengan kelompok pertama ( $p = 0,000$ ) dan dengan kelompok

kedua ( $p = 0,037$ ). Kelompok perlakuan pertama berbeda sangat bermakna dengan kelompok perlakuan kedua ( $p = 0,000$ ). Hasil analisis terlihat seperti pada Tabel 2.

### PEMBAHASAN

#### Fraksi heksan dan fraksi methanol ekstrak biji pepaya muda terhadap penurunan rata-rata sel spermatid

Jumlah rata-rata sel spermatid pada kelompok yang diberikan fraksi heksan ekstrak biji pepaya lokal Bali yang masih muda adalah 448, yang diberikan fraksi metanol ekstrak biji pepaya lokal Bali yang masih muda adalah 870, sedang pada kelompok kontrol adalah 1010. Setelah dilakukan uji Anova dan dilanjutkan dengan LSD terbukti bahwa pemberian fraksi heksan ekstrak maupun fraksi metanol ekstrak biji pepaya lokal Bali yang masih muda menurunkan jumlah sel spermatid secara sangat bermakna ( $p < 0,01$ ). Kelompok yang diberikan fraksi heksan ekstrak biji pepaya mengalami penurunan jumlah sel spermatid lebih banyak dibanding-

kan kelompok yang diberikan fraksi metanol ekstrak biji pepaya.

Penurunan jumlah sel spermatid tersebut kemungkinan disebabkan oleh zat aktif yang terkandung dalam fraksi heksan ekstrak maupun yang terkandung dalam fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda lokal Bali yang diduga bersifat antifertilitas. Zat aktif yang terkandung dalam biji pepaya tersebut bisa berefek sitotoksik, anti androgen atau berefek estrogenik. Efek sitotoksik ini akan menyebabkan metabolisme sel germinal terganggu (Lohiya *et al.*, 2002). Alkaloid yang terkandung dalam biji pepaya berefek sitotoksik. Efek sitotoksik tersebut menyebabkan gangguan metabolisme jumlah sel spermatid (Arsyad, 1990).

Penurunan spermatid ini mungkin karena terganggunya fungsi dari sel Sertoli yang menyebabkan suplai laktat dan piruvat akan menurun. Laktat dan piruvat merupakan sumber energi dari spermatid. Penurunan sel spermatid ini kemungkinan melalui beberapa mekanisme seperti adanya gangguan dalam proses meiosis, mungkin karena gangguan dalam proses spermiogenesis awal, kemungkinan karena lepasnya spermatid ke lumen tubulus seminiferus dan mungkin karena terjadinya apoptosis spermatid (Jutte *et al.*, 1981).

FSH berperan mengatur struktur sitoskeletal sel Sertoli yang sangat penting untuk mengikat spermatid. Sedangkan hormon testosteron berperan dalam mengatur asosiasi *ectoplasmic specialitation* (ES) dengan sel Sertoli melalui *cell adhesion molecules* (CAM-S) yang terdapat dalam sel Sertoli. Penurunan FSH akan menyebabkan perubahan struktur sitoskeletal sel Sertoli sehingga mengurangi kemampuan dalam mengikat spermatid, sedangkan penurunan hormon testosteron akan menyebabkan penurunan daya adhesi antara spermatid dengan sel Sertoli yang menyebabkan sel spermatid terlepas ke dalam lumen tubulus seminiferus (Donnell, 1996). FSH juga turut membantu pematangan spermatid menjadi spermatozoa selama proses spermatogenesis. Penurunan FSH dan testosteron tersebut akan menyebabkan sintesis protein spermatid terganggu yang akhirnya menyebabkan sel spermatid degenerasi (Matsumoto, 1996). Penelitian ekstrak kloroform biji pepaya dapat menyebabkan terjadinya penurunan secara signifikan sel spermatid, kehilangan organel-organel sitoplasma dan terjadi kerusakan membran sel (Lohiya *et al.* 2002) Pemberian ekstrak air biji pepaya yang diberikan secara oral pada rat jantan tidak terlihat adanya spermatid (Uche *et al.*, 2001).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian serta pembahasan dapat disimpulkan bahwa fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda dapat menurunkan sel-sel spermatid secara sangat bermakna pada mencit jantan strain balb C.

## SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek samping dari pemberian fraksi heksan dan fraksi methanol ekstrak biji pepaya muda pada hewan percobaan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek reversibilitas dari pemberian fraksi heksan dan fraksi methanol ekstrak biji pepaya muda pada hewan percobaan.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji toksisitas (LD<sub>50</sub>) fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda pada hewan percobaan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Udayana atas ijin yang diberikan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan. Terima kasih kepada Kepala Bagian Farmakologi pada Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang telah memberikan ijin menggunakan *Animal Laboratory Unit* sehingga penelitian ini bisa selesai dengan baik. Terima kasih yang sebesar-besarnya juga diucapkan kepada Pusat Riset dan Makanan, Badan POM Jakarta yang telah memberikan biaya untuk membiayai penelitian ini. Ucapan terima kasih yang tulus kepada Drh. Anton Budiantono, M.Si sebagai Koordinator Laboratorium Patologi Veteriner BPPV VI Denpasar yang telah memberikan bantuan tempat, saran dan prasarana dalam penelitian ini.

## KEPUSTAKAAN

- Arsyad KM 1990. Kemungkinan Pengembangan Kontrasepsi Pria. *Medika*. 12. (4). 42-51
- Campbell DT and Stanley JD 1968. *Experimental and Experimental Design for Research*. Chicago
- Donnell LO, McLachlan RL, Wreford NG, de Kretser DM, and Robertson DM. 1996. Testosterone Withdrawal Promotes Stage-Specific Detachment of Round Spermatids from the Rat Seminiferous Epithelium. *Biol. Reprod*; (55): 895-900.
- Hartono H 1996. *Keluarga Berencana dan Kontrasepsi*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta; 10-56.

- Herrera CL, Ramos EV & Villanueva BA 1984. Philippine Plants as Possible Sources of Antifertility Agents. *The Philippine Journal of Science*; 91 - 129.
- Jutte NHPM, Grootegoedja, Rommerts FFG, Van Der Mollen HJ 1981. Exogenous Lactate is Essential for Metabolic Activities in Isolated Spermatoocytes and Spermatogenesis. *J. Reprod Fert*; 62.: 399-405.
- Lohiya NK, Manivannan B, Mishra PK, Pathak N, Sriram S, Bhande SS, Panerdoss S 2002. Chloroform Extrac of Carica Papaya Seeds Induces Long-Term Reversible Azoospermia In Langur Monkey. *Asian J of Androl.*; 4 (1): 17-26.
- Matsumoto AM 1996. Spermatogenesis. In: Adashi EY, Rock JA. Zev, Philadelphia, Lippincott. Randen; 359-384.
- Moeloek N 2002. Perkembangan Kontrasepsi Pria Pertemuan Ilmiah Tahunan XIV Perkumpulan Andrologi Indonesia. Denpasar; 11-14.
- Sumaryati A 2004. Tahun Ini KB Pria Mulai Digalakkan. Badan Koordinator Keluarga Berencana Nasional (cited 2005 Oct 26). Available from: [http://www.bkkbn.go.id/article\\_detail.php](http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php).
- Sutyarso, Soeradi, Suhana, Asikin N 1992. Pengaruh Fraksi Buah Pare Terhadap Perkembangan Sel-sel Spermatogenik Tubulus Seminiferus Mencit Jantan dan Masa Pemulihannya. *Maj. Kedok Indonesia.*; Vol. 42. No. 7.
- Ucha - Nwachi EO, Ezeokoli DC, Adogwa AO, Offiah VN 2001. Effect of Water Extract of *Carica papaya* Seed on The Germinal Epitelium of The Seminiferous Tubules of Sprague Dewley Rats. *Kaibogaku Zasahi*; 76 (6): 517-21.
- Wilopo SA 2006. Perkembangan Teknologi Kontrasepsi Pria Terkini. *Gema Pria*. (cited 2006 Jun 18). Available from: <http://pikas.bkkbn.go.id/gemapria/article-detail.php>.