

Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda Menghambat Spermatogonia Mencit (*Mus Musculus*) Jantan

*HEXANE FRACTION AND METHANOL FRACTION OF UNRIPE PAPAYA SEED EXTRACT
(CARICA PAPAYA, LINN) INHIBITS SPERMATOGONIA A
OF MALE MICE (MUS MUSCULUS)*

Bagus Komang Satriyasa¹, Wimpie I Pangkahila²

¹Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran

²Program Pascasarjana Universitas Udayana,
Jl. Sudirman, Denpasar-Bali, Telpn (0361) 225945
Email: bsatriyasa@yahoo.com

ABSTRACT

To avoid population booming, family planning program should be maintained in which men and woman have the same rights and obligations. However in execution of family planning the role of men is still low. Studies about contraception in men are limited. Male contraception that is known in society are condom and vasectomy. In the recent few years in particular, researches have been refocused on investigating traditional plants as anti fertility. In use researches many plants have been studied, including papaya seed. Some researches on herbal anti fertility properties of papaya seed have been carried out including those on the active compounds of anti fertility, on approlaki-lakite dosage of extract of carica papaya seed by animal experiments. Hexane fraction of unripe papaya seed extract contains glycosides, alkaloid and triterpenoids, which is assumed has an antifertility effect, so it can be used as a male contraceptive, 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 Veterian (BPPV) Wilayah VI Denpasar Direktorat Jenderal Peternakan, Department 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 Body wieght/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 Shapiro-will, homogeneity test, and Anova test. This study showed that cells of spermatogonia A decreased significantly ($p < 0,01$). It is concluded that hexan fraction and methanol fraction of unripe carica papaya seeds extract can decrease spermatogonia A cell of male mice (*mus musculus*).

Keyword : Fraction hexane extract of young Carica papaya seeds, fraction methanol extract of young Carica papaya seeds, spermatogonia A, male mice.

PENDAHULUAN

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 laki-laki maupun wanita. Pada kenyataannya, program keluarga berencana masih didominasi oleh wanita sedangkan laki-laki belum banyak berpartisipasi. Peranan laki-laki dalam program KB sangat penting karena biasanya laki-laki lebih dominan sabagai penentu kebijakan dalam keluarga.

Meskipun kontrasepsi berhasil untuk wanita, bukan berarti laki-laki sama sekali tidak bisa ikut ambil bagian dalam program KB dengan salah satu kontrasepsi yang memang efektif untuk laki-laki (Hartono, 1996; Sumaryati, 2004). Salah satu alasan rendahnya partisipasi laki-laki dalam keluarga berencana karena jenis kontrasepsi laki-laki yang tersedia sangat terbatas. Masalah tersebutlah yang menjadi landasan mengapa perkembangan teknologi kontrasepsi perlu lebih mengarah pada laki-laki (Wilopo, 2006). Sampai saat ini metode kontrasepsi laki-laki yang ada adalah pantang berkala, senggama terputus (*coitus interruptus*), penggunaan kondom, dan vasektomi (Moeloek, 2002; Sumaryati, 2004).

Untuk menemukan obat kontrasepsi laki-laki dari bahan alam yang ideal masih mengalami banyak kendala, mengingat bahwa obat kontrasepsi laki-laki 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 *reversible* (Herrera, 1984; Sutyarso, 1992). Kontrasepsi laki-laki yang ada saat ini sangat terbatas, sehingga diupayakan pengembangan obat-obat kontrasepsi laki-laki yang ideal, salah satu di antaranya dengan mencari bahan alternatif dari bahan-bahan alam.

Biji pepaya muda merupakan salah satu bahan alam yang mempunyai khasiat antifertilitas. Berdasarkan beberapa penelitian ekstrak biji pepaya muda yang telah dilakukan sebagai antifertilitas pada hewan coba, penelitian ekstrak metanol biji pepaya muda telah dilakukan dan mempunyai efek antifertilitas, sedangkan penelitian dengan fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda belum pernah dilakukan.

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda mempunyai efek menghambat spermatogonia A. 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.

METODE PENELITIAN

Buah pepaya yang masih muda dibuka dan diambil bijinya, kemudian dimasukkan ke

dalam etanol panas kurang lebih satu menit dengan tujuan menghentikan proses metabolisme sel dan reaksi enzimatik. Biji pepaya ditiriskan kemudian dikeringkan di tempat terbuka dengan sirkulasi udara yang baik dan terhindar kontak langsung dengan sinar matahari. Biji pepaya yang sudah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk biji pepaya.

Serbuk kering biji pepaya sebanyak 2,3 kg diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol PA sekitar 2,5 liter. Setelah 24 jam metanol ekstrak biji pepaya dipisahkan dengan cara disaring, kemudian pada residu/ampas ditambahkan pelarut metanol yang baru untuk proses ekstraksi berikutnya. Proses ekstraksi ini dilakukan sebanyak 7 kali sampai semua komponen senyawa/metabolit sekunder terekstraksi. Ekstrak metanol yang diperoleh tersebut selanjutnya dilarutkan dalam metanol-air (7:3) dengan volume 500 ml yang kemudian difraksionasi dengan 200 ml pelarut heksan PA menggunakan 3 buah corong pisah 500 mL. Lapisan heksan dipisahkan dan ditambahkan heksan baru pada lapisan metanol-air. Proses fraksionasi dengan heksan ini dilakukan berulang kali sampai didapatkan metabolit sekunder non polar, kemudian diuapkan dengan penguap putar vakum pada suhu 40 °C (Cordell, 1981).

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *Pre-test Post-test Control Group Design* (Campbell, 1968). Sebanyak tiga puluh ekor mencit jantan Balb-C, dikelompokkan secara *simple random sampling* menjadi tiga kelompok: Kelompok kontrol (P0) diberikan akuabides per oral sebanyak 0,5 ml selama 36 hari); Kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda per oral dengan dosis 20 mg/20grbb/hari sebanyak 0,5 ml selama 36 hari); Kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda per oral dengan dosis 20 mg/20grbb/hari sebanyak 0,5 ml selama 36 hari). Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit jantan (5 ekor tanpa perlakuan dan 5 diberi perlakuan).

Pada awal percobaan dari masing-masing kelompok diambil 5 ekor mencit secara acak kemudian mencit dibunuh, testisnya diambil untuk pemeriksaan sel-sel spermatogonia A. Hal yang sama juga dilakukan pada kelompok perlakuan setelah 36 hari. Data yang diperoleh dari pemeriksaan terhadap 60 tubulus (30 tubulus dari testis kanan dan 30 tubulus dari

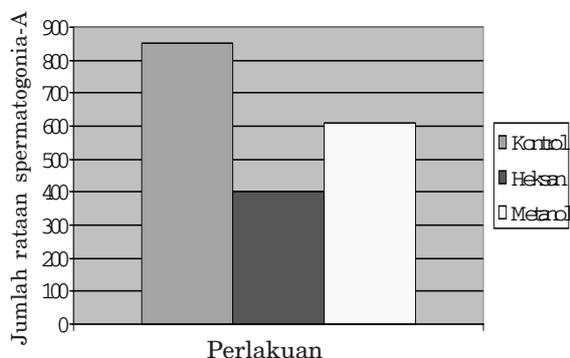
testis kiri) dievaluasi pada stadium VII siklus spermatogenesis mencit. Data kuantitatif, dihitung jumlah sel-sel spermatogonia A. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (*Anova*) dan uji komparasi dengan menggunakan SPSS. Derajat kemaknaan ditetapkan dengan $\alpha > 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peran Fraksi Heksan dan Fraksi Methanol Ekstrak Biji Pepaya Muda terhadap Jumlah Sel Spermatogonia A

Pada Gambar 1 disajikan jumlah sel spermatogonia A pada mencit Balb-C setelah diberikan 0,5 ml fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda selama 36 hari. Dari hasil analisis *oneway* Anova didapatkan jumlah rata-rata sel spermatogonia A kelompok kontrol adalah 852, kelompok perlakuan pertama adalah 402, kelompok perlakuan kedua adalah 610. Terlihat perbedaan jumlah rata-rata sel spermatogonia A antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pertama sebesar 450, dan dengan kelompok perlakuan kedua sebesar 242, terjadi penurunan jumlah rata-rata sel spermatogonia A. Jumlah rata-rata sel spermatogonia A antara kelompok perlakuan pertama dengan kelompok perlakuan kedua juga berbeda, yang mana kelompok perlakuan pertama lebih kecil 208 dibandingkan kelompok perlakuan kedua. Terlihat ketiga kelompok mempunyai perbedaan sangat bermakna ($p < 0,01$).

Hasil analisis LSD (*Least Significant Difference*) didapatkan jumlah sel spermatogonia A kelompok kontrol berbeda sangat bermakna



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

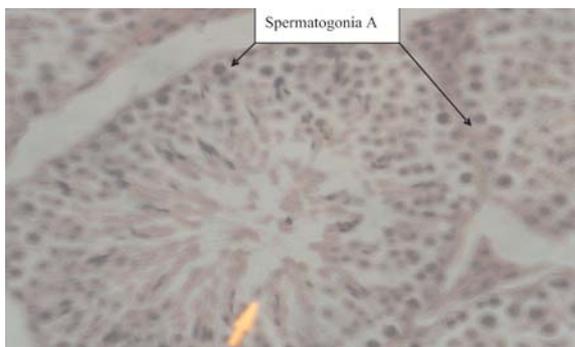
dengan kelompok pertama ($p=0,000$) dan dengan kelompok kedua ($p=0,002$). Kelompok perlakuan pertama berbeda sangat bermakna dengan kelompok perlakuan kedua ($p=0,006$).

Berdasarkan hasil penelitian ini terbukti bahwa fraksi heksan maupun fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda lokal Bali dapat menurunkan jumlah sel spermatogonia A (Gambar 4, 3 dan 2) secara sangat bermakna ($p < 0,01$). Penurunan sel-sel spermatogonia A tersebut kemungkinan disebabkan oleh zat-zat aktif yang terkandung dalam fraksi heksan ekstrak biji pepaya (steroid dan triterpenoid) maupun yang terkandung dalam fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda (alkaloid), zat-zat tersebut diduga berefek sitotoksik, antiandrogen atau berefek estrogenik. Efek sitotoksik ini akan menyebabkan metabolisme sel germinal terganggu (Lohiya, 2002). Alkaloid yang terkandung dalam biji pepaya berefek sitotoksik. Efek sitotoksik tersebut akan menyebabkan gangguan metabolisme sel spermatogenik (Arsyad, 1999).

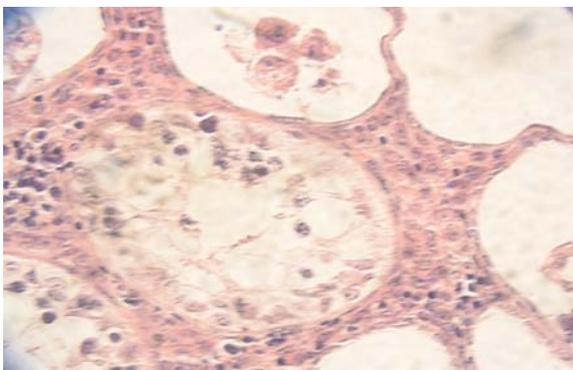
Penurunan jumlah spermatogonia A ini diduga juga karena kadar hormon estradiol (E2) sebanyak 396 pg/ml maupun hormon progesteron (P4) sebanyak 12,4 ng/ml yang tinggi terdapat dalam fraksi heksan biji pepaya (Satriyasa, 2007). Kedua hormon tersebut akan menyebabkan terganggunya sekresi FSH dan LH. Estradiol akan menyebabkan penekanan terhadap hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga menyebabkan GnRH dan hormon gonadotropin (FSH dan LH) terhambat (Turek, 2005). Hormon estrogen tersebut juga akan menghambat proses spermatogenesis karena mengakibatkan degenerasi terhadap epitel tubulus seminiferus (Granner, 1997). Hormon progesteron akan menghambat sekresi FSH yang mengakibatkan gangguan proses spermatogenesis (Golub, 2004).

Terhambatnya FSH ini akan menyebabkan terganggunya pula proses mitosis dan proliferasi spermatogonia A, karena FSH sangat diperlukan dalam aktivitas proliferasi sel-sel spermatogonia A. FSH melalui reseptornya pada spermatogonia A dapat menyebabkan daya tahan spermatogonia A optimal, dengan demikian dapat mempertahankan proses spermatogenesis dengan baik (Dupan, 1993). Jika FSH terganggu maka daya tahan spermatogonia terganggu sehingga proses spermatogenesis juga akan terganggu. Terganggunya produksi FSH ini juga mengakibatkan degenerasi dari sel-sel spermatogenik karena terjadinya hambatan

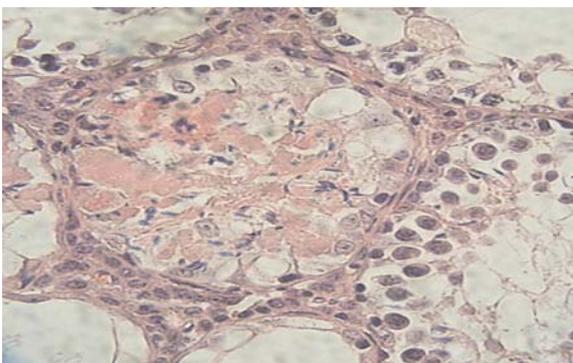
HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 2. Potongan melintang tubulus seminiferus sebelum perlakuan. Terlihat asosiasi jumlah sel spermatogonia A yang utuh (Pewarnaan HE, pembesaran 200x).



Gambar 3. Potongan melintang tubulus seminiferus setelah diberikan fraksi heksan ekstrak. Terlihat asosiasi jumlah sel spermatogonia A tidak utuh lagi (Pewarnaan HE, pembesaran 200x).



Gambar 4. Potongan melintang tubulus seminiferus setelah diberikan fraksi metanol ekstrak. Terlihat asosiasi jumlah sel spermatogonia A tidak utuh lagi (Pewarnaan HE, pembesaran 200x).

dalam pengangkutan glukosa ke dalam sel-sel spermatogenik. Bila pengangkutan glukosa terhambat maka sintesis protein akan terhambat juga, yang mengakibatkan perkembangan sel-sel spermatogonia A terganggu. FSH juga dapat meningkatkan kecepatan maturasi spermatogonia (Santen, 1994). Jika sekresi FSH terganggu maka maturitas spermatogonia akan terganggu. Gangguan maturitas dari sel-sel spermatogonia akan menyebabkan proses spermatogenesis terganggu. Sel-sel spermatogonia A merupakan sel induk yang mudah dipengaruhi oleh pengaruh luar tetapi umumnya lebih tahan dari sel-sel spermatogenik yang lainnya (Johnson, 1990).

Berdasarkan uraian tadi dapat disimpulkan bahwa pemberian fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda menurunkan jumlah sel spermatogonia A.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda dapat menurunkan sel spermatogonia A mencit jantan strain balb C dengan sangat bermakna.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek samping dari pemberian fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek reversibilitas dari pemberian fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda. Perlu dilakukan penelitian pemberian fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda terhadap manusia, apabila penelitian terhadap binatang percobaan sudah dianggap cukup

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini saya mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Udayana atas izin yang diberikan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada dr. I Wayan Harsana, MS. sebagai 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 saya ucapkan kepada Pusat Riset dan Makanan, Badan POM Jakarta yang telah memberikan biaya untuk membiayai penelitian ini. Saya juga menyampaikan 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.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsyad, KM. 1999. Terapi Medis Infertilitas Laki-laki. Post Graduate Course. Penatalaksanaan Infertilitas Laki-laki dan Analisis Sperma. Puslit Kesehatan Reproduksi Lemlit Unair bekerja sama dengan Litbangkes Depkes RI Surabaya.
- Campbell DT, Stanley JD. 1968. Experimental and Experiment quasi Experimental Design for Reasarch. Chicago
- Dupan MR, Campana. 1993. Phisiopathology of Spermatogenesis Arrest. *Fertil Steril.*; 60 (6) : 37-51.
- Granner DK. 1997. Hormon Gonad. Dalam: Murry RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell V W Editors. Harper's Biochemistry 24111 Ed (Terjemahan) Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC; 582- 597.
- Golub MS. 2004. Kaufman FL, Campbell MA, Hong Li. Progesterone Hazard Identification. In: Evidence on the Developmental and Reproductive Toxicity of Progesterone.
- Hartono H. 1996. Keluarga Berencana dan Kontrasepsi. Jakarta. Pustaka Sinar Harapan. Pp 10-56.
- Herrera CL, Ramos EV, Villanueva BA. 1984. Philippine Plants as Possible Sources of Antifertility Agents. *Philippine J Sci*; 91-129.
- Jonson M, Eviritt. 1990. *Essensial Reproduction*. 3 nd Ed. Edinburg. Blackwell Sci Pub. Pp 221-32
- 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 Androl* ; 4 (1): 17-26.
- Moeloek, N. 2002. Perkembangan Kontrasepsi Laki-laki Pertemuan Ilmiah Tahunan XIV Perkumpulan Andrologi Indonesia. Denpasar; 11-14.
- Santen RJ. 1994. *The Testis. Endocrinology and Metabolism*; 885-910
- Satriyasa BK, Aman IGM, Adnyana TAK, Budhi M, Jawi M, Sukadana IM. 2007. Pengaruh Fraksi Metanol Ekstrak dan Heksan Biji Pepaya (*Carica papaya*, Linn) terhadap Proses Spermatogenesis Mencit Jantan (*Mus Musculus*). Denpasar. Laporan Penelitian. Lab Farmakologi FK Unud.
- Sumaryati A. 2004. Tahun Ini KB Laki-laki Mulai Digalakkan. Badan Koordinator Keluarga Berencana Nasional (cited 2005 Oct 26). Available from: http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php.
- Sutyarso, Soeradi, Suhana, Nur Asikin. 1992. Pengaruh Fraksi Buah Pare Terhadap Perkembangan Sel-sel Spermatogenik Tubulus Seminiferus Mencit Jantan dan Masa Pemulihannya. *MKI* 42 (7).
- Turek PJ. 2005. Hypothalamic-Pituitary-Gonadal (HPG) Axis and Control of Spermatogenesis. In: Endocrine evaluation. Male Reproductive Laboratory Departement of Urology Universitas of California at San Francisco. San Francisco, California.; 12-20.
- Wilopo SA. 2006. Perkembangan Teknologi Kontrasepsi Laki-laki Terkini. Gema Laki-laki (cited 2006 Jun 18). Available from: <http://pikas.bkkbn.go.id/gemalaki-laki/article-detail.php>.