

## Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus

### (Effect of the Methanol Extract, Hexane Fraction and Methanol Fraction of Papaya Seeds (*Carica papaya* L.) on Rat Spermatozoa Motility)

Novi Prasetyaningrum, Siti Muslichah, M. Amrun Hidayat  
Fakultas Farmasi, Universitas Jember  
Jln. Kalimantan No. 37 Jember 68121  
e-mail: noviprasetyaningrum@gmail.com

#### **Abstract**

*Lack of contraceptive choices which meet the requirements is one of the contributing factors to less participation of man in contraceptive use. This research aimed to study the effectiveness of papaya seeds on rat spermatozoa motility. The rats were separated into 4 groups: negative control group (CMC-Na 1%), methanol extract of papaya seeds (100 mg/kg BW) treatment group, n-hexane fraction of papaya seeds (100 mg/kg BW) treatment group, and methanol fraction of papaya seeds (100 mg/kg BW) treatment group. Each treatment group consisted of 5 rats. Each group was administered orally for 20 days. On 21<sup>st</sup> day, the rats were sacrificed, the spermatozoa were and were observed on their motility. The data then was analyzed using Anova followed with LSD. The sperms which moved progressively in negative control, methanol extract, n-hexane fraction and methanol fraction were 67.6%, 29.8%, 38% and 10.6% respectively the methanol fraction of papaya seeds is more potent in reducing sperm motility.*

**Keywords:** antifertility, papaya seeds, spermatozoa motility

#### **Abstrak**

Faktor penyebab kurangnya keikutsertaan pria dalam kontrasepsi antara lain adalah kurangnya pilihan jenis kontrasepsi pria yang memenuhi persyaratan. Penelitian ini bertujuan mengkaji efektivitas biji pepaya pada motilitas spermatozoa tikus. Tikus jantan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (CMC-Na 1%), kelompok perlakuan ekstrak metanol biji pepaya (dosis 100 mg/kg BB), kelompok perlakuan fraksi n-heksana biji pepaya (dosis 100 mg/kg BB), dan kelompok perlakuan fraksi metanol biji pepaya (dosis 100 mg/kg BB). Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 tikus. Seluruh kelompok diberi perlakuan secara per oral selama 20 hari. Pada hari ke-21, dilakukan pembedahan untuk mengambil sperma dari kauda epididimis kemudian dilakukan pengamatan motilitas spermatozoa. Hasil pengukuran motilitas spermatozoa diuji statistik menggunakan *One-Way* Anova dan dilanjutkan dengan LSD. Spermatozoa dengan pergerakan progresif dari kontrol negative, ekstrak metanol, fraksi n-heksana dan fraksi metanol yaitu 67.6%, 29.8%, 38% dan 10.6% disimpulkan bahwa fraksi metanol biji pepaya lebih poten dalam menurunkan motilitas spermatozoa.

**Kata kunci:** antifertilitas, biji pepaya, motilitas spermatozoa

#### **Pendahuluan**

Tingginya tingkat pertumbuhan penduduk di negara berkembang seperti Indonesia banyak menimbulkan masalah seperti pertumbuhan

yang tidak terkendali. Pertumbuhan penduduk Indonesia saat ini berdasarkan data dari Bank Dunia pada tahun 2012 masih cukup tinggi, yaitu mencapai 1,03 persen pertahun.

Berdasarkan sensus penduduk tahun 2010, jumlah penduduk Indonesia mencapai 237.641.326 jiwa [1]. Kondisi pertumbuhan yang tidak terkendali ini merupakan masalah yang dapat mempengaruhi kehidupan sosial karena jumlah penduduk yang besar memerlukan perhatian dalam penyediaan bahan pangan, pendidikan, kesehatan dan lapangan kerja.

Keluarga Berencana (KB) merupakan salah satu program pemerintah untuk menekan laju pertumbuhan penduduk Indonesia. Dalam merealisasikan program keluarga berencana diperlukan partisipasi oleh semua pihak baik pria maupun wanita. Partisipasi kaum pria dalam KB dirasa kurang karena di pasaran banyak alat kontrasepsi ditujukan kepada wanita sebagai sasaran utama dibanding kontrasepsi untuk pria, sehingga hanya sedikit pilihan untuk alat kontrasepsi untuk pria. Sampai sekarang metode kontrasepsi pria yang ada adalah pantang berkala, senggama terputus (*coitus interruptus*), penggunaan kondom, dan vasektomi[8]. Selain penggunaan kondom ada beberapa mekanisme dalam penggunaan kontrasepsi pria seperti agen penghambat spermatogenesis [11].

Penelitian untuk menciptakan kontrasepsi perlu dikembangkan dengan memanfaatkan bahan alam karena Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam. Penelitian mengenai tanaman antifertilitas mulai dikembangkan dengan mengkaji informasi dari pengetahuan obat tradisional. Pemanfaatan bahan alam sebagai agen antifertilitas harus memenuhi beberapa syarat, yaitu aman bagi kesehatan, dapat menurunkan jumlah spermatozoa, mempunyai efek samping sekecil-kecilnya, dapat dipulihkan kembali dalam jangka waktu tertentu, dan bekerja spesifik [4].

Biji pepaya merupakan salah satu bahan alam yang mempunyai khasiat antifertilitas [6]. Biji pepaya dapat menghambat populasi spermatozonium dan spermatozoid primer tikus jantan *Rattus norvegicus* L [12]. Selain itu, ekstrak air biji pepaya yang diberikan secara intramuskular mempengaruhi komposisi senyawa dalam epididimis pada tikus albino jantan [2]. Pemberian ekstrak kloroform biji pepaya mengakibatkan azoospermia setelah 90 hari perlakuan pada monyet *langur* [5]. Penelitian serupa menunjukkan bahwa fraksi benzena dari ekstrak kloroform biji pepaya menunjukkan keberhasilan kontrasepsi tanpa toksisitas yang merugikan melalui penghambatan motilitas sperma [7]. Ekstrak metanol biji pepaya diduga mengandung alkaloid, triterpenoid, dan steroid dalam biji pepaya

mengingat pelarut metanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik sebagian besar senyawa-senyawa kimia yang dikandung oleh suatu simplisia [10].

Penelitian Satriyasa [9], menunjukkan bahwa fraksi metanol dan fraksi n-heksana biji pepaya dapat menghambat spermatogonia mencit jantan, pada penelitian kali ini akan dilakukan uji aktivitas antifertilitas biji pepaya dengan membandingkan antara ekstrak total metanol dengan fraksi n-heksana dan fraksi metanol dari biji pepaya pada tikus putih jantan dengan melihat dari parameter motilitas spermatozoa.

## Metode Penelitian

### Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah: biji pepaya tua yang diperoleh dari desa Sukorejo kecamatan Bangsalsari Jember, n-heksana, metanol (PT. Labtech Citra Persada Surabaya), suspensi CMC Na 1%, akuades, larutan garam fisiologis 0.9%, eosin 1%, formalin, dan kloroform. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop *Olympus BX53F*, kamar hitung *Neubauer*, rotary evaporator, timbangan digital, alat gelas, maserator, alat bedah, spuit injeksi dan sonde.

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental dengan variabel bebas adalah ekstrak metanol biji pepaya pada dosis 100 mg/kg BB, fraksi n-heksana biji pepaya 100 mg/kg BB, dan fraksi metanol biji pepaya dosis 100 mg/kg BB. sedangkan variabel terikatnya adalah motilitas spermatozoa. Penelitian dilakukan dengan tahap pertama pembuatan ekstrak metanol biji pepaya. Biji pepaya diekstraksi secara metode maserasi dengan pelarut metanol (1:6). Serbuk simplisia sebanyak 250 gram direndam dalam metanol sebanyak 6 kali dari berat serbuk simplisia (1,5 liter). Dilakukan maserasi sebanyak 3 kali. Setelah didapatkan ekstrak cair lalu dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator suhu 45°C hingga didapatkan ekstrak kental.

Tahap kedua pembuatan fraksi metanol dan fraksi n-heksana. Ekstrak kental metanol dilarutkan dalam metanol (1:1), kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Pelarut n-heksana dengan volume sama banyak dengan pelarut metanol (1:1) ditambahkan ke dalam corong pisah. Campuran digojog selama 15 menit, kemudian dibiarkan hingga membentuk dua lapisan terpisah. Lapisan teratas

merupakan fraksi *n*-heksana sedangkan lapisan bawah merupakan metanol.

Tahap ketiga dilakukan pengujian aktivitas antifertilitas ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol pada hewan uji. Tikus sebanyak 20 ekor disiapkan dengan pemberian makan dan minum *ad libitum*. Setelah diadaptasikan, tikus dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang dipilih secara acak. Tikus ditimbang dan diberi tanda pengenal pada bagian ekor. Kemudian diberikan perlakuan setiap harinya selama 20 hari dengan prosedur sebagai berikut:

1. Kelompok 1 (K1): tikus diberi CMC Na 1%
2. Kelompok 2 (P2): Tikus diberi suspensi ekstrak metanol dosis 100 mg/kg BB secara peroral (p.o)
3. Kelompok 3 (K3): Tikus diberi suspensi fraksi *n*-heksana dosis 100 mg/kg BB secara p.o
4. Kelompok 4 (K4): Tikus diberi suspensi fraksi metanol dosis 100 mg/kg BB secara p.o

Selanjutnya pada hari ke-21 dilakukan pembedahan hewan coba dan pengambilan sperma pada kauda epididimis yang didapatkan dengan menghisap sperma dari kauda epididimis dengan pipet hematokrit sampai tanda 0,5 kemudian diencerkan dengan NaCl fisiologis sampai tepat tanda (pengenceran 200 kali).

Pengamatan motilitas dilakukan dengan meneteskan sediaan sperma pada kamar hitung, kemudian diamati di bawah mikroskop Olympus BX53F dengan pembesaran 400 kali. Menurut WHO terdapat beberapa karakteristik motilitas spermatozoa yaitu:

- Progresif :Spermatozoa yang bergerak progresif, ditandai dengan adanya pergerakan yang aktif dan cepat.
- Non-progresif :Spermatozoa yang bergerak, namun lambat dan hanya berputar pada tempat yang tidak jauh.
- Non-motil :Spermatozoa yang tidak bergerak sama sekali.

Perhitungan motilitas spermatozoa pada penelitian ini dengan menghitung persentase spermatozoa kategori progresif yaitu sperma yang gerakannya lurus ke depan dan cepat dalam 100 spermatozoa.

Analisis penelitian ini menggunakan software khusus statistik yaitu SPSS. Metode yang dipakai adalah oneway ANOVA pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji LSD.

## Hasil Penelitian

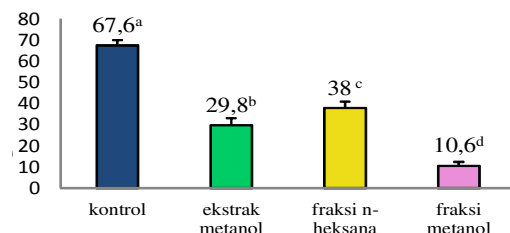
### Pembuatan Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-Heksana dan Fraksi Metanol Biji Pepaya

Pada pembuatan ekstrak metanol biji pepaya, rendemen ekstrak metanol biji pepaya yang diperoleh sebesar 9,02%. kemudian dilanjutkan dengan membuat fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol biji pepaya menggunakan corong pisah. Ekstrak dan fraksi kental yang diperoleh kemudian ditimbang. Berdasarkan hasil penimbangan diperoleh rendemen fraksi *n*-heksana biji pepaya sebesar 18,17%, sedangkan rendemen fraksi metanol biji pepaya sebesar 20,29%.

### Motilitas Sperma

Motilitas spermatozoa erat kaitannya dengan kemampuan spermatozoa untuk menembus membran serviks dan melakukan pembuahan pada sel telur. Motilitas ini dipengaruhi oleh nutrisi, abnormalitas spermatozoa dan usia spermatozoa.

Pengamatan motilitas spermatozoa ini ditemukan sperma yang termasuk sperma asthenozoospermia (motilitas sperma kurang dari 40%). Asthenozoospermia terbanyak pada sperma tikus pada perlakuan fraksi metanol biji pepaya. Gambar 1 memperlihatkan persen motilitas sperma akibat pemberian biji pepaya.



Gambar 1. Persen motilitas spermatozoa (rata-rata ± SD) setelah pemberian perlakuan selama 20 hari dengan n= 5, notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (p= 0,05) berdasarkan uji LSD.

Rata-rata persen motilitas spermatozoa pada masing-masing perlakuan menunjukkan adanya penurunan dibandingkan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi CMC-Na 1% (Gambar 1). Diantara ketiga perlakuan, fraksi metanol memiliki motilitas spermatozoa yang paling rendah yaitu dengan nilai 10,6±4,16 %.

## Pembahasan

Penelitian ini menggunakan sampel sejumlah 20 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan. Kontrol normal digunakan sebagai pembanding atau memastikan bahwa hewan uji memiliki sperma dengan motilitas normal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi metanol biji pepaya mampu menurunkan motilitas spermatozoa paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol dan fraksi metanol.

Motilitas spermatozoa menunjukkan pergerakan spermatozoa oleh adanya flagella yang mendapat energi dari bagian leher spermatozoa yang kaya akan mitokondria. Hasil penelitian tentang motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya sangat mempengaruhi motilitas (Gambar 1).

Spermatozoa yang dilepaskan dari testis masuk ke dalam epididimis belum dapat dikatakan matang oleh karena belum motil dan belum dapat dipergunakan untuk membuahi ovum (fertil). Proses pematangan spermatozoa terjadi dalam epididimis melalui tahap konsentrasi dan pematangan. Dari hasil penelitian [6], diperoleh hasil ekstrak biji pepaya berpengaruh terhadap struktur histologis epididimis, yaitu terjadinya penyempitan tubulus, namun tidak mempengaruhi fungsi sekresi dan absorpsi dari sel-sel epididimis. Dengan demikian ada dugaan bahwa menurunnya motilitas spermatozoa tidak disebabkan oleh tahap pematangan di dalam epididimis, melainkan sudah terjadi ketika masih di dalam testis. Hal yang berperan dalam menentukan motilitas spermatozoa adalah tahap spermiogenesis. Bila pada saat metamorfosis spermatid menjadi spermatozoa berjalan tidak normal, maka pembentukan akrosom dan mitokondria akan mempengaruhi keberhasilan motilitas dalam epididimis [3].

Spermatozoa dapat menjadi motil karena adanya energi dari leher yang disalurkan ke bagian ekor. Bagian inilah yang menyebabkan spermatozoa dapat bergerak maju. Dengan demikian yang menjadi kunci untuk Bergeraknya spermatozoa adalah adanya produksi energi oleh mitokondria di bagian leher spermatozoa. Ada dugaan bahwa ekstrak biji pepaya menyebabkan abnormalitas organela sel pada bagian leher spermatozoa, yaitu vakuolisasi pada mitokondria dan abnormalitas struktur berupa leher bengkok [7]. Hal ini menyebabkan fungsi mitokondria dalam menghasilkan energi tidak maksimal dan akhirnya berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Lohiya *et al.*

menyatakan, bahwa pengaruh ekstrak biji pepaya secara langsung adalah pada mekanisme pembentukan spermatozoa, sedangkan efek pada pematangan di epididimis bersifat tidak langsung. Bila spermatozoa yang dihasilkan mengalami abnormalitas dalam pembentukannya, tentu hal tersebut akan berpengaruh juga pada saat terjadi pematangan di epididimis [6].

## Simpulan dan Saran

Ekstrak metanol, fraksi n-heksana dan fraksi metanol biji pepaya dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Fraksi metanol biji pepaya lebih poten dalam menurunkan motilitas spermatozoa. Dari penelitian ini disarankan untuk melakukan isolasi kandungan senyawa aktif biji pepaya dalam kaitannya dengan efek penurunan motilitas spermatozoa.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditlitabmas DIKTI yang telah mendanai penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- [1] Badan Pusat Statistik. Penduduk Indonesia menurut Provinsi 1971, 1980, 1990, 1995, 2000, dan 2010. <http://www.bps.go.id/> (diakses tanggal 10 Januari 2014).
- [2] Chinoy NJ. The reversible antifertility effect of extract of *Carica papaya* L. seeds on male rats. Dalam : methods for the regulation of male fertility. proceeding of simposium organized by the Indian Council of Medical Research and WHO at the Institute for Research in Reproduction. Published by India Council of Medical Research, New Delhi;1995.
- [3] Cooper TG dan Young CH. Approaches to post-testikular contraception. *Asian Journal Andrologi*. 1999;1:29-36.
- [4] Ermayanti NGAM. Pengaruh infus kayu amargo (*Quassia amara* Linn.) terhadap kadar hormon testosteron, spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.). Tesis. Yogyakarta: UGM;2000.
- [5] Lohiya NK, Manivannan B, Mishra PK, Pathak N, Sriram S, Bhande SS, dan Panerdoss, S. Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in Langur monkey. *Asian Journal of Androl*; 2002; 4 (1): 17-26.

- [6] Lohiya NK, Pradyumna K, Mishra N, Pathak B, Manivannan S, Bhande S, Panneerdoss and Sriram S. Efficacy trial on the purified compound of the *Carica papaya* for male contraception in Albino rat. *Reproductive Toxicology*; 2005;20: 135-148.
- [7] Lohiya, Manivannan, Goyal, dan Ansari. Sperm motility inhibitory effect of the benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in Langur monkey (*Presbytis entellus*). *Asian Journal of Androl*; 2008: 10: 298-306.
- [8] Moeloek N. Perkembangan kontrasepsi pria Pertemuan Ilmiah Tahunan XIV. perkumpulan Andrologi Indonesia. Denpasar 2002; 11-14.
- [9] Satriyasa BK dan Pangkahila W. Fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda menghambat spermatogonia mencit (*Mus Musculus*) jantan. *Jurnal Veteriner*. Denpasar-Bali; 2010. 11 (1): 37-39.
- [10] Sukadana IM, Santi SR, dan Juliati NK. Aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid dari biji pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Kimia* 2 : 15-18; 2008.
- [11] Sumaryati A. Badan Koordinator Keluarga Berencana Nasional 2004. [http://www.bkkbn.go.id/](http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php) article\_detail.php (diakses tanggal 4 feb 2014).
- [12] Yunardi. Pengaruh penyuntikan ekstrak biji pepaya (*Carica Papaya* L.) terhadap konsentrasi spermatozoa dan keadaan sel spermatogenik tikus jantan (*Rattus norvegicus*). *Majalah kedokteran Indonesia*; 2001: 5(1): 19-25.