

PENYUNTIKAN EKSTRAK BIJI *Carica papaya* L. VARIETAS CIBINONG PADA *Macaca fascicularis* L. DAN KUALITAS SPERMATOZOA SERTA KADAR HORMON TESTOSTERON

Tuti Nuraini^{1*}, Dadang Kusmana², Efy Afifah¹

1. Kelompok Keilmuan Dasar Keperawatan, Fakultas Ilmu Keperawatan, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia
2. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

*E-mail: tutinfik@gmail.com

Abstrak

Faktor penyebab kurangnya keikutsertaan pria dalam kontrasepsi antara lain adalah kurangnya pilihan jenis kontrasepsi pria yang memenuhi persyaratan. Penelitian ini bertujuan mengkaji efektivitas bahan alam untuk alternatif alat kontrasepsi pria, yaitu dengan penyuntikan ekstrak biji papaya (*Carica papaya* L.) varietas Cibinong pada monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis* L.). Penelitian dilakukan di Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor dengan jumlah sampel 8 monyet, dibagi dalam 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Penyuntikan ekstrak biji papaya secara intramuskular dilakukan selama 21 hari dengan dosis 40 mg/monyet, 80 mg/monyet, dan 120 mg/monyet. Analisis data kualitas spermatozoa (motilitas, viabilitas, bentuk) sebelum, setelah intervensi, dan pemulihan dilakukan menggunakan uji Cochran, sedangkan untuk data konsentrasi spermatozoa dan kadar hormon testosteron dianalisis menggunakan uji Friedman. Hasil menunjukkan terjadi penurunan motilitas, viabilitas, dan bentuk spermatozoa setelah penyuntikan ekstrak biji papaya dan meningkat ke arah normal pada tahap pemulihan ($p \leq 0,05$). Hasil ini didukung dengan terjadinya aglutinasi semen. Penyuntikan ekstrak biji papaya secara intramuskular yang paling efektif adalah dosis 40 mg/monyet/hari yang dapat menurunkan motilitas spermatozoa dari 87,5% menjadi 40% dan menurunkan kadar hormon testosteron dari 2,35 ng/mL menjadi 1,83 ng/mL. Meskipun menurun, kadar hormon testosteron tersebut masih dikategorikan baik.

Abstract

Injection of *Carica papaya* L. Seed Extract of Cibinong Variety to *Macaca fascicularis* L. and its Effect to Quality of Spermatozoa and Level of Testosterone Hormone. 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 natural material for alternative male contraception, by injecting papaya seed extract with Cibinong variety (*Carica papaya* L.) to long tail monkey (*Macaca fascicularis* L). The research was conducted at Primates Study Center, Institute of Agriculture, Bogor. Total samples of this research were 8 monkeys, with three intervention groups and one control group. Papaya seed extract was injected via intramuscular in 21 days, with dose for each group were 40 mg/monkey, 80 mg/monkey, and 120 mg/monkey. Data analysis of spermatozoa quality (motility, viability, morphology) was done by using Cochran test before and after intervention stages, and during recovery stage. Meanwhile, data analysis of spermatozoa concentration and testosterone hormone level was done by using Friedman test. Result of this research demonstrated reduction of motility, viability, and morphology of spermatozoa after injection of papaya seed extract and increase to normal level at recovery stage ($p \leq 0.05$). These results were supported with semen agglutination. The most effective dose was at 40 mg/monkey/day, with reduction of spermatozoa motility from 87.5 % to 40%, and reduction of testosterone level from 2.35 ng/mL to 1.83 ng/mL. Even though spermatozoa motility and testosterone hormone level reduced, but its conditions were still in good condition category.

Keywords: Macaca fascicularis L., male contraceptive, seeds of *Carica papaya* L., spermatozoa, testosterone hormone

Pendahuluan

Keluarga Berencana (KB) merupakan salah satu program yang digalakkan pemerintah untuk menekan laju pertumbuhan penduduk Indonesia. Kondisi kependudukan saat ini membutuhkan penurunan jumlah penduduk lebih besar dari sebelumnya. Pertumbuhan penduduk Indonesia saat ini berdasarkan data dari Bank Dunia masih cukup tinggi, yaitu mencapai 1,03 persen pertahun.¹ Kondisi kependudukan seperti ini merupakan masalah yang dapat mempengaruhi kehidupan sosial karena jumlah penduduk yang besar memerlukan perhatian dalam penyediaan bahan pangan, pendidikan, kesehatan, dan lapangan kerja.

Keberhasilan KB sangat terkait dengan penggunaan kontrasepsi. Namun, kurangnya keterlibatan pria dalam kontrasepsi dapat menyebabkan KB kurang efektif. Hal ini terjadi karena masih banyak keraguan mengenai potensi kontrasepsi pria dan saat ini belum ada produk kontrasepsi pria yang memenuhi persyaratan, yaitu efektif, aman, nyaman, *reversible*, murah dan dapat diterima.² Berbagai upaya penelitian telah dilakukan para peneliti untuk mendapatkan pilihan kontrasepsi pria yang memenuhi persyaratan.³ Penelitian kontrasepsi pria yang telah dilakukan pada hewan coba dan manusia antara lain kontrasepsi hormonal²⁻³ dan non hormonal.⁴⁻¹³ Salah satu jenis kontrasepsi pria non hormonal yang ideal adalah penggunaan bahan alam dari tanaman.⁵

Beberapa penelitian menunjukkan kontrasepsi dari biji pepaya di berbagai tingkat ekstraksi belum benar-benar sepenuhnya efektif pada tikus, kelinci, monyet, dan pria sukarelawan.⁶⁻¹⁰ Ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.), termasuk keluarga *Caricaceae*, dapat mengurangi populasi spermatogonium dan spermatosit primer tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.).⁶ Selain itu, efek dari ekstrak air biji pepaya dapat menurunkan tingkat kesuburan tikus pada tingkat post-testikular secara signifikan.⁷ Ekstrak biji pepaya juga dapat mengganggu fungsi reproduksi pada tikus jantan galur Wistar melalui poros hipofisis-gonad.⁸ Pada monyet *langur*, pemberian ekstrak kloroform biji pepaya mengakibatkan azoospermia setelah 90 hari pemberian.⁹ Penelitian serupa menunjukkan bahwa fraksi kromatografi benzena dari ekstrak kloroform biji pepaya menunjukkan keberhasilan kontrasepsi tanpa toksisitas yang merugikan melalui penghambatan motilitas sperma.¹⁰ Indonesia merupakan negara yang kaya tanaman obat termasuk pepaya varietas Cibinong. Pepaya Cibinong merupakan jenis pepaya khas Indonesia yang kurang dibudidayakan dibandingkan jenis pepaya Bangkok. Pepaya Cibinong memiliki keunggulan rasa yang manis segar, teksturnya keras, dan tahan selama pengangkutan. Pepaya Cibinong memiliki banyak manfaat, antara lain untuk konsumsi buah segar, buah matangnya dapat diolah menjadi saus pepaya, buah setengah matang biasanya dibuat manisan,

dan buah muda diambil getahnya untuk papain. Papain termasuk kelompok *protease*, yaitu enzim yang dapat memutus ikatan polipeptida yang mungkin dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan keefektifan kontrasepsi ekstrak biji pepaya varietas Cibinong pada monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) yang secara anatomi reproduksi dan fisiologi dekat dengan manusia.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 56 hari sejak awal November sampai akhir Desember 2008 di Pusat Studi Satwa Primata Lembaga Penelitian IPB. Sebelumnya, dilakukan persiapan pembuatan ekstrak biji pepaya di Universitas Indonesia dan Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, serta uji etik yang memerlukan waktu 5 bulan. Penelitian ini telah lolos uji etik hewan (ACUC 08-003-IR) dari Komisi Pengawasan Kesejahteraan dan Penggunaan Hewan Penelitian Pusat Studi Satwa Primata, Lembaga Penelitian, Institut Pertanian Bogor.

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, dengan masing-masing 2 kali ulangan. Dengan menggunakan rumus Frederer³, seharusnya dilakukan 6 kali ulangan. Namun, karena hewan coba yang digunakan termasuk hewan langka, maka jumlah ulangan dikurangi, uji nonparametrik digunakan serta lebih memfokuskan pada melihat kualitas data-data yang diperoleh selama penelitian. Hewan coba yang digunakan adalah *Macaca fascicularis* dewasa jantan dengan berat 5,25 kg-6,5 kg dan berusia 8-12 tahun (usia dibandingkan dengan manusia 1:3).¹⁴ Hewan coba ini dipelihara di Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor (PSSP-IPB) Lodaya, Jawa Barat, Indonesia. Sebelum kegiatan penelitian, hewan coba diaklimatisasi selama minimal 38 hari. Hewan coba diberi makan dua kali sehari dengan *monkey chow*, buah-buahan (pisang, jeruk, dan apel) dan air diberikan *ad libitum*. Hewan-hewan itu ditempatkan di kandang per individu (105 cm x 75 cm x 75 cm). Program pengawasan kesehatan rutin dilakukan. Perawatan dan pengawasan hewan lengkap diberikan sepanjang penelitian. Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor (PSSP-IPB) telah terakreditasi Internasional oleh AAAALAC (Asosiasi untuk Penilaian dan Akreditasi Perawatan Hewan Laboratorium). Semua perawatan hewan dan penggunaan prosedur dilakukan sesuai dengan panduan untuk perawatan dan penggunaan hewan laboratorium dan telah disetujui oleh PSSP-IPB. Dokter hewan mengamati gejala klinis kelainan, perilaku, nafsu makan, tanda nyeri, tidak nyaman, dan stres setiap hari untuk seluruh periode termasuk periode adaptasi, intervensi, dan pemulihan.

Pembuatan ekstrak biji papaya. Biji-biji papaya harus bebas dari kulit ari sebagai pembungkus. Kulit ari dari biji papaya dapat dihilangkan dengan cara menggosok-gosokkannya dan disiram dengan air. Kemudian, biji papaya dibilas kembali dengan air bersih. Biji papaya yang bersih dikeringkan dalam inkubator dengan suhu 37 °C, sampai berat biji konstan. Setelah biji papaya kering, biji papaya dimasukkan dalam toples dan dikirim ke Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor untuk dilakukan proses ekstraksi dengan etanol 70%. Ekstrak biji papaya yang sudah jadi dilarutkan dalam aquabidest untuk kebutuhan riset selama 3 hari. Jika sudah habis, dilakukan pelarutan kembali sesuai kebutuhan untuk 3 hari. Ekstrak biji papaya lebih tidak stabil jika langsung dilarutkan semua sehingga pelarutannya dilakukan sesuai kebutuhan pemakaian. Penyimpanan dilakukan dengan suhu 4 °C.

Tahap adaptasi. Sebelum penelitian, hewan coba melalui tahap adaptasi selama 14 hari. Dokter hewan mengamati gejala diare, perilaku, tes tuberkulin, dan jumlah makanan yang dimakan setiap hari selama tahap adaptasi. Setelah 14 hari, dilakukan pemeriksaan analisis semen (konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan bentuk spermatozoa) serta kadar hormon testosteron sebagai data awal sebelum intervensi. Sebelum tindakan pengambilan darah intravena dan semen dengan alat elektroejakulator, hewan coba dianestesi dengan ketamine HCl 10-20 mg/kg berat badan intra muscular (BB IM).

Tahap intervensi. Intervensi berupa penyuntikan ekstrak biji papaya secara intramuskular diberikan setiap hari selama 21 hari atau 2 siklus epitel seminiferous³ atau lebih dari satu siklus epididimis.^{3,15} Dalam penelitian ini, tiga kelompok intervensi diberikan 3 macam dosis ekstrak biji papaya yang berbeda, yaitu dosis 40 mg, 80 mg, dan 120 mg/monyet/hari. Kelompok kontrol hanya diberikan aquabidest 1 mL/hari. Penghitungan dosis berdasarkan rumus konversi dosis hewan (tikus pada penelitian sebelumnya) ke manusia (*Human equivalent doses*) didasarkan pada luas permukaan tubuh. Konversi dosis dari tikus ke monyet adalah: $0,162 \times \text{dosis pada tikus}$ yaitu, $5-10 \text{ mg/tikus}$ atau $20-40 \text{ mg/kg BB} = 6,48 \text{ mg/kg BB}$.¹⁶ Jadi dosis yang digunakan $6,48 \text{ mg} \times \text{BB monyet } 6 \text{ kg} = 38,88 \text{ mg/monyet}$ (dibulatkan jadi 40 mg).

Setelah intervensi, dilakukan pemeriksaan analisis semen (konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan bentuk spermatozoa), serta kadar hormon testosteron sebagai data setelah intervensi. Sebelum tindakan pengambilan darah intravena dan semen dengan alat elektroejakulator, hewan coba dianestesi dengan ketamine HCl 10-20 mg/kg BB IM.

Tahap pemulihan (recovery). Setelah intervensi, hewan coba masuk ke tahap pemulihan selama 21 hari. Setelah 21 hari pemulihan, dilakukan pemeriksaan analisis semen (konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan bentuk spermatozoa), serta kadar hormon testosteron sebagai data setelah pemulihan. Sebelum tindakan pengambilan darah intravena dan semen dengan alat elektroejakulator, hewan coba dianestesi dengan ketamine HCl 10-20 mg/kg BB IM.

Pengambilan data analisis semen. World Health Organization (WHO) telah menetapkan analisis semen sebagai standar pemeriksaan kualitas semen seorang pria.¹⁷ Analisis semen terdiri atas pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan makroskopik meliputi pengamatan waktu likuifaksi (semen menjadi lebih cair setelah beberapa saat diejakulasikan), pemeriksaan warna, pengukuran pH, pengukuran volume, pengamatan viskositas (kekentalan), dan aglutinasi spontan. Pemeriksaan mikroskopik meliputi penghitungan konsentrasi spermatozoa, persentase abnormalitas, persentase motilitas, dan viabilitas.¹⁷

Semen dari masing-masing monyet diambil dengan menggunakan alat elektro ejakulator. Monyet terlebih dahulu dibius dengan ketamin-HCl dengan dosis 10-20 mg/kg BB secara intramuskular di bagian femoral. *Probe (rectal-probe)* yang telah diolesi dengan *jelly-lubricant* kemudian dimasukkan ke dalam anus. Tegangan listrik pada alat ditetapkan untuk awal 10 volt jika tidak berhasil mengeluarkan sperma ditambah sampai maksimal 20 volt, dengan frekuensi 60 Hz dan jumlah arus listrik mulai dari 30 mA, 36 mA, dan 42 mA. Pada arus 30 mA itu, biasanya penis mulai ereksi, dan selanjutnya terjadi ejakulasi pada jumlah arus yang lebih besar.³ Semen kemudian ditampung dalam tabung dan selanjutnya setelah dilikuifaksi kemudian dilakukan analisis semen. Semen kemudian ditampung dalam tabung dan selanjutnya setelah dilikuifaksi dilakukan analisis spermatozoa (motilitas, bentuk, viabilitas, konsentrasi spermatozoa). Berikut ini akan diuraikan metode pemeriksaan kualitas spermatozoa (motilitas, bentuk, viabilitas, konsentrasi spermatozoa).¹⁷

Motilitas spermatozoa. Sebanyak 10 µL larutan semen diambil dengan menggunakan pipet mikro dan diteteskan pada kaca obyektif, kemudian ditutup dengan kaca penutup, serta langsung diamati dibawah mikroskop medan terang dengan pembesaran 1000 kali. Persentase jumlah spermatozoa motil dapat diketahui dengan menghitung jumlah spermatozoa motil dari 100 spermatozoa untuk setiap ulangan. Motilitas umumnya dipengaruhi oleh bentuk spermatozoa yang tidak normal (abnormal). Motilitas spermatozoa dikatakan normal jika spermatozoa yang motil lebih dari 50%.

Viabilitas spermatozoa. Sebanyak 10 μ L larutan spermatozoa diambil dengan menggunakan pipet mikro dan diteteskan pada kaca objek, teteskan larutan eosin-Y sebanyak 10 μ L, kemudian ditutup dengan kaca penutup serta langsung diamati di bawah mikroskop medan terang dengan pembesaran 400 kali. Prinsip pewarnaan tersebut dapat dilakukan karena membran plasma sel mati yang rusak dapat dimasuki oleh zat warna. Persentase jumlah spermatozoa hidup dapat diketahui dengan menghitung jumlah spermatozoa hidup dari 100 spermatozoa untuk tiap ulangan. Spermatozoa hidup tidak harus bergerak, tapi memiliki kepala berwarna hijau sedangkan yang mati berwarna merah. Jika jumlah spermatozoa yang *immotile* lebih dari 60%, harus dilakukan uji viabilitas untuk melihat berapa banyak spermatozoa yang hidup. Banyaknya spermatozoa hidup tetapi tidak motil menunjukkan adanya kelainan struktur pada flagel.

Konsentrasi spermatozoa. Sebanyak 10 μ L larutan spermatozoa diambil dengan menggunakan pipet mikro dan diencerkan dalam tabung mikro dengan larutan George sebanyak 90 μ L sehingga diperoleh pengenceran 10 kali. Campuran tersebut dikocok sampai homogen. Larutan spermatozoa diambil dengan menggunakan pipet mikro sebanyak 10 μ L dan diteteskan ke dalam kamar hitung hematositometer Improved Neubauer yang telah diberi kaca penutup. Perhitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa yang berada pada 25 kotak kecil dalam segi empat utama pada kamar hitung hematositometer dijumlahkan, dan selanjutnya dibagi dengan faktor koreksi hematositometer. Hasil pembagian tersebut merupakan jumlah spermatozoa total dalam juta per mL/ejakulat.¹⁷ Konsentrasi spermatozoa dalam semen harus cukup agar proses fertilisasi dapat terjadi. Semen seorang pria dianggap normal apabila konsentrasi spermatozoa lebih dari 20 juta per mL dan dianggap infertil apabila konsentrasi kurang dari 20 juta per mL. Jumlah spermatozoa di dalam semen yang kurang dari normal disebut oligozoospermia. Jumlah normal spermatozoa total per ejakulat adalah 40 juta atau lebih.¹⁷

Abnormalitas spermatozoa. Sebanyak 10 μ L spermatozoa diambil dengan menggunakan pipet mikro dan diteteskan pada kaca objek. Selanjutnya, sampel tersebut diwarnai dengan larutan eosin-Y kemudian dibuat sediaan oles dengan menggeserkan kaca objek lain di atasnya. Kaca objek yang digeser membentuk sudut 45° dan digeserkan hanya sekali geser. Sediaan oles spermatozoa selanjutnya dikeringanginkan. Sediaan oles yang telah dikeringinkan kemudian difiksasi dengan metanol 96% selama 5 menit. Selanjutnya sediaan diwarnai dengan larutan giemsa selama 30 menit dan dibilas dengan air mengalir. Sediaan kemudian dikeringanginkan pada suhu ruang. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400

kali. Jumlah spermatozoa abnormal dapat diketahui dengan menghitung spermatozoa abnormal dari 100 spermatozoa untuk setiap ulangan.¹⁷ Bentuk spermatozoa normal yang kurang dari 50% disebut teratozoospermia.¹⁷

Pemeriksaan kadar hormon testosteron dalam serum. Kadar hormon dalam serum diambil dari darah perifer sebanyak 2 mL dengan *syringe*. Darah kemudian dimasukkan dalam tabung plasma yang telah diberi Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), lalu disentrifugasi dengan kecepatan 2500-3000 g selama 15 menit. Plasma yang terpisah dari keping darah diambil dengan menggunakan pipet, kemudian dimasukkan dalam tabung mikro dan disimpan dalam *freezer* suhu -20 °C. Selanjutnya, sampel dibawa ke Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor, Jawa Barat untuk dilakukan pemeriksaan. Pemeriksaan dilakukan dengan perangkat RIA *coated tube*. *Coated tube* yang tersedia dalam kemasan sudah berisi anti serum. Seluruh tabung diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 3 jam dalam *water bath shaker*. Selanjutnya, supernatan dituangkan atau didekantasi dan dikeringkan. Setelah kering, dilakukan penghitungan dengan menggunakan pencacah gamma selama 1 menit.

Data yang diperoleh dari setiap parameter (analisis semen dan hormon testosteron) dievaluasi dengan menggunakan metode statistik berupa uji normalitas (Shapiro-Wilk) pada data sebelum intervensi. Selanjutnya dilakukan uji nonparametrik, yaitu uji Cochran untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna motilitas, viabilitas, dan bentuk spermatozoa pada tahap sebelum dan setelah intervensi, serta pemulihan. Untuk mengetahui kemaknaan kadar hormon testosteron dan konsentrasi spermatozoa berdasarkan sebelum dan sesudah intervensi serta pemulihan, digunakan uji Friedman. Selain uji Friedman, pada data kadar hormon testosteron dan konsentrasi spermatozoa juga diuji dengan uji Kruskal-Wallis untuk membandingkan dengan hewan kontrol. Taraf kemaknaan yang dipakai dalam penelitian ini adalah taraf kemaknaan 5%.¹⁸

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji normalitas pada data parameter spermatozoa (motilitas, viabilitas, bentuk, konsentrasi) dan kadar hormon testosteron sebelum intervensi menunjukkan $p < 0,05$, yang berarti data tidak normal sehingga uji yang digunakan adalah uji non parametrik. Hasil pemeriksaan kualitas spermatozoa dan hormon testosteron hewan coba sebelum intervensi termasuk kategori normal. Berat badan hewan coba selama dilakukan intervensi tetap stabil.

Hasil uji statistik (uji Cochran) terhadap perubahan motilitas dan viabilitas menunjukkan terdapat perbedaan

bermakna ($p \leq 0,05$) antara sebelum, setelah intervensi, dan pemulihan (Tabel 1). Kemudian dilakukan uji *post hoc* yang menunjukkan tidak ada perbedaan motilitas antara sebelum dan setelah intervensi ($p = 0,125$), setelah intervensi dan recovery ($p = 0,5$), dan sebelum intervensi dan pemulihan ($p = 0,5$). Motilitas dikategorikan menjadi baik dan buruk (asthenozoospermia). Motilitas baik jika jumlah spermatozoa yang bergerak lebih dari 50%, sebaliknya motilitas buruk jika jumlah spermatozoa yang bergerak kurang dari 50%. Bentuk spermatozoa dikategorikan menjadi bentuk normal dan abnormal (teratozoospermia). Pria dikatakan fertil jika bentuk spermatozoa baik lebih dari 50%.¹⁷

Ada perbedaan bermakna terhadap perubahan motilitas, viabilitas, dan bentuk spermatozoa sebelum dan setelah intervensi, dan pemulihan ($p = 0,05$; Tabel 1). Penurunan motilitas dan viabilitas terbesar terjadi setelah intervensi. Motilitas setelah intervensi turun dari 87,5% menjadi 40% pada dosis 40 mg/monyet/hari; 90% menjadi 62,5% pada dosis 80 mg/monyet/hari; dan 95% menjadi 47,5% pada dosis 120 mg/monyet/hari. Viabilitas setelah intervensi juga turun dari 72,5% menjadi 17,5% pada dosis 40 mg/monyet/hari; 75% menjadi 55% pada dosis 80 mg/monyet/hari; dan 75% menjadi 60% pada dosis 120 mg/monyet/hari. Hasil menunjukkan terjadi penurunan motilitas dan viabilitas

pada semua dosis, namun penurunan yang terbesar adalah pada dosis 40 mg/monyet/hari. Hal ini menunjukkan dosis yang paling efektif adalah 40 mg/monyet/hari. Umumnya semakin besar dosis yang diberikan, penurunan kualitas spermatozoa semakin besar. Pada keadaan ini terjadi hal yang berbeda, semakin besar dosis penurunan kualitas tidak semakin besar. Belum jelas mekanisme terjadinya hal tersebut. Kemungkinan keterbatasan jumlah sampel, yaitu dua ekor monyet per kelompok intervensi menyebabkan data tersebut terjadi.

Setelah dosis ditingkatkan, terjadi perbedaan penurunan motilitas pada kedua ekor monyet baik pada kelompok dosis 80 mg/monyet/hari maupun dosis 120 mg/monyet/hari. Pada penyuntikan dosis 120 mg/monyet/hari menunjukkan monyet pertama terjadi penurunan motilitas sampai 15%, sedangkan monyet kedua penurunan motilitas hanya sedikit, yaitu menjadi 80%, sehingga setelah dirata-ratakan hasilnya menjadi lebih tinggi, yaitu 47%. Keterbatasan jumlah sampel membuat hal tersebut terjadi. Kendati demikian, hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan motilitas dan viabilitas pada semua dosis yang diberikan. Demikian juga pada bentuk spermatozoa, terjadi penurunan jumlah bentuk spermatozoa yang baik ($p = 0,05$). Penurunan persentase bentuk normal spermatozoa akan mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Tabel 1. Kualitas Spermatozoa (Motilitas, Viabilitas, dan Bentuk) Sebelum, Sesudah Intervensi, dan Recovery

Parameter	Tahapan	Kontrol (%)		Dosis 40 mg (%)		Dosis 80 mg (%)		Dosis 120 mg (%)		p
		Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	
Motilitas	Sebelum intervensi	75	7,07	87,5	3,54	90	7,07	95	0	0,05
	Setelah intervensi	82,5	3,54	40	0	62,5	17,68	47,5	45,96	
	Pemulihan	62,5	10,61	80	0	60	14,14	57,5	31,82	
Viabilitas	Sebelum intervensi	61	1,41	72,5	10,61	75	7,07	75	7,07	0,05
	Setelah intervensi	70	14,14	17,5	3,54	55	35,36	60	14,14	
	Pemulihan	62,5	10,61	80	0	50	28,28	48,5	16,26	
Bentuk normal	Sebelum intervensi	90	0	90	0	85	7,07	92,5	3,54	0,05
	Setelah intervensi	75	7,07	37,5	3,54	57,5	31,82	60	14,14	
	Pemulihan	85	7,07	75	7,07	55	21,21	55	28,28	

Keterangan: SD=Standard Deviation

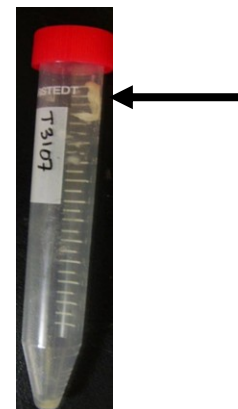
Hasil penelitian ini senada dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak biji papaya mempengaruhi kualitas spermatozoa, khususnya motilitas spermatozoa mencit, tikus, kelinci, dan monyet langur, baik tingkat testikuler dan post-testikuler sehingga dapat dijadikan pilihan kontrasepsi yang handal.⁶⁻¹⁰ Pada penelitian ini, dosis yang efektif adalah 6,5 mg/kg BB/hari atau 40 mg/monyet/hari sesuai dengan dosis efektif pada tikus, yaitu 5-10 mg/tikus atau 20-40 mg/kg BB setelah dikonversi.⁶

Mekanisme ekstrak biji papaya dalam menginduksi inhibisi motilitas sperma dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan kandungan glikosinolat yang ada pada ekstrak biji papaya yang mempengaruhi pembentukan plasma semen. Penelitian *bioassay* kandungan ekstrak biji papaya menunjukkan terdapat glukosinolat dalam proporsi tertinggi dari biji papaya.¹⁹ Glukosinolat kemungkinan dapat menghambat pematangan spermatozoa dan mempengaruhi pembentukan plasma semen sebagai media dalam transport spermatozoa. Hasil pengamatan bentuk semen memperlihatkan semen yang menjadi bergumpal-gumpal setelah intervensi (Gambar 1), Kemungkinan besar ekstrak biji papaya mempengaruhi proses transportasi spermatozoa, yaitu dengan menggumpalkan semen sehingga motilitas dan viabilitas spermatozoa menurun. Kendati demikian, penelitian ini belum menilai sampai post-testikuler untuk melihat bagaimana proses penggumpalan tersebut dapat terjadi.

Penggumpalan (aglutinasi) semen dapat mengganggu motilitas, morfologi, dan viabilitas spermatozoa. Mekanisme penggumpalan (aglutinasi) termasuk cara kerja agen antifertilitas pada tingkat epididimis, yaitu dengan cara mengganggu komposisi cairan epididimis dan mempengaruhi enzim-enzim yang dihasilkan oleh spermatozoa.^{10-12,20-21} Peneliti lain mengatakan bahwa semenogelin dan penghancur polipeptida merupakan inhibitor motilitas dalam plasma semen.¹⁵ Enzim papain yang terdapat pada ekstrak biji papaya termasuk kelompok enzim protease (salah satu jenis penghancur polipeptida) yang mungkin dapat menghambat motilitas spermatozoa dalam plasma semen. Penelitian lain yang dilakukan secara *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak biji papaya dapat mempengaruhi viabilitas dan motilitas spermatozoa atau dapat dikatakan bersifat spermatisid.²² Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan cara hemositometer.¹⁷ Terlihat adanya penurunan konsentrasi spermatozoa setelah intervensi meskipun penurunannya tidak bermakna secara statistik ($p = 0,607$; Tabel 2). Demikian juga jika dibandingkan dengan kontrol, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada konsentrasi spermatozoa ($p = 0,557$). Ekstrak biji papaya mengganggu sumbu gonad hipofisis yang mempengaruhi fungsi reproduksi pria sehingga pembentukan spermatozoa terhambat.³

Pada tahap pemulihan, kualitas spermatozoa (motilitas, viabilitas, konsentrasi dan morfologi spermatozoa) meningkat ke arah nilai normal. Kesimpulannya, ekstrak biji papaya bersifat *reversible* sesuai dengan persyaratan untuk kebutuhan kontrasepsi pria. Ekstrak etanol biji papaya terbukti memiliki khasiat kontrasepsi dengan mempengaruhi motilitas dan viabilitas spermatozoa. Selain *reversible*, yang terpenting adalah bebas dari toksisitas. Biji papaya sudah lama dikonsumsi orang untuk kelancaran sistem pencernaan. Kandungan biji papaya tidak bersifat toksik untuk manusia. Harganya pun murah karena mudah sekali didapatkan di Indonesia. Syarat kontrasepsi lain yang tidak kalah pentingnya adalah dapat diterima. Penelitian sebelumnya pada kontrasepsi pria, masalah yang berat adalah pria merasa tidak jantan atau mengalami penurunan libido setelah menggunakan kontrasepsi. Penyuntikan ekstrak biji papaya ini terbukti hanya sedikit menurunkan kadar hormon testosteron yang mempengaruhi kejantanan pria. Hormon testosteron sangat penting pada pria untuk perkembangan dan mempertahankan jaringan reproduksi pria, yaitu testis, epididimis, vesika seminalis, dan penis, serta karakteristik sekunder pria seperti meningkatkan kekuatan otot, pertumbuhan rambut, dan lain-lain.²³

Terjadi peningkatan kadar hormon testosteron total dalam darah setelah intervensi terutama pada dosis 80 mg, meningkat dari 2,23 ng/mL menjadi 2,35 ng/mL dan 120 mg meningkat dari 2,04 ng/mL menjadi 3,34 ng/mL, meskipun peningkatannya tidak bermakna ($p = 0,223$; Tabel 3). Pada dosis 40 mg terjadi penurunan kadar hormon testosteron dari 2,35 ng/mL menjadi 1,83 ng/mL. Penurunan kadar hormon testosteron ini dapat menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa karena fungsi dari hormon testosteron antara lain adalah mempengaruhi maturitas spermatozoa.²⁰ Namun demikian, penurunannya hanya sedikit dan masih dikategorikan normal. Pada kelompok



Gambar 1. Penggumpalan Semen Setelah Intervensi Penyuntikan Ekstrak Biji Papaya Dosis 40 mg/Monyet/Hari atau 6,5 mg/Kg BB/Hari selama 21 Hari

Tabel 2. Konsentrasi Spermatozoa pada Kelompok Kontrol dan Intervensi (Sebelum, Sesudah Intervensi, dan Pemulihan)

Parameter Spermatozoa	Tahapan	Kontrol (juta/mL)		Dosis 40 mg (juta/mL)		Dosis 80 mg (juta/mL)		Dosis 120 mg (juta/mL)		p
		Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	
Konsentrasi	Sebelum intervensi	355	36,06	300	84,85	348,5	135,06	332,5	53,03	0,607
	Setelah Intervensi	374	94,75	230,5	297,69	320,5	19,09	181	251,73	0,557
	Pemulihan	435,5	147,79	358,5	369,82	184,5	50,20	369	227,69	

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Hormon Testosteron pada Kelompok Kontrol dan Intervensi (Sebelum, Sesudah Intervensi, dan Pemulihan)

Parameter	Tahapan	Kontrol (ng/mL)		Dosis 40 mg (ng/mL)		Dosis 80 mg (ng/mL)		Dosis 120 mg (ng/mL)		p
		Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	
Hormon testosteron	Sebelum intervensi	1,38	0,87	2,35	1,44	2,23	0,43	2,04	2,06	0,223
	Setelah Intervensi	3,19	0,72	1,83	0,61	2,35	0,01	3,34	3,16	0,607
	Pemulihan	2,29	0,55	2,53	1,65	3,54	1,01	2,47	0,98	(uji Kruskal-Wallis)

Keterangan: SD = *Standard Deviation*

kontrol juga terjadi peningkatan hormon testosteron dari 1,38 ng/mL menjadi 3,19 ng/mL sehingga penurunan dan peningkatan hormon testosteron tidak bermakna antara kelompok kontrol dan intervensi ($p = 0,607$).

Injeksi intramuskular ekstrak biji papaya dapat meningkatkan dan menurunkan kadar hormon testosteron dalam serum, meskipun tidak bermakna. Pada dosis 40 mg terjadi penurunan kadar hormon testosteron dari 2,35 ng/mL menjadi 1,83 ng/mL. Penurunan kadar hormon testosteron ini dapat menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa, yaitu pada dosis 40 mg. Pada dosis 80 mg dan 120 mg terjadi peningkatan kadar hormon testosteron. Peningkatan ini memungkinkan untuk memberikan efek umpan balik negatif. Mekanisme umpan balik ini merupakan cara kerja kontrasepsi hormonal yang dapat menghambat pematangan spermatogonia. Matthiesson dan McLachlan (2006) serta Sutyarso (2000) menyatakan bahwa kontrasepsi hormon testosteron dan depo medroksiprogesteron asetat (DMPA) pada laki-laki dapat menghambat spermatogenesis pada pria.^{2,3} Kendati demikian, pada penelitian ini belum terbukti bahwa injeksi intramuskular ekstrak biji papaya dapat meningkatkan kadar hormon testosteron dalam serum karena pada kelompok kontrol juga terjadi peningkatan hormon testosteron.

Simpulan

Penyuntikan ekstrak biji papaya (*Carica papaya* L.) secara intramuskular pada dua ekor *Macaca fascicularis*

yang paling efektif adalah dosis 40 mg/monyet/hari atau 6,5 mg/kg BB yang dapat menurunkan motilitas spermatozoa hampir setengahnya. Pada dosis tersebut terjadi sedikit penurunan kadar hormon testosteron sebesar 22%. Namun demikian, kadar hormon testosteron tersebut masih dikategorikan baik jika dilihat dari nilai kadar hormon testosteron pada hewan kontrol sebelum intervensi sebesar 1,38 ng/mL lebih kecil daripada kadar hormon testosteron setelah intervensi pada dosis 40 mg/monyet/hari. Hormon testosteron diperlukan pria untuk mempertahankan kejantanan pria atau tidak menurunkan libido pria sehingga kadarnya diharapkan dalam batas normal setelah menggunakan kontrasepsi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada DRPM Universitas Indonesia yang telah memberikan kepercayaan kepada tim peneliti untuk melaksanakan penelitian ini dengan pendanaan Hibah Riset Unggulan Universitas Indonesia (RUUI) tahun 2007 dengan kontrak nomor 240 BH/DRPM-UI/N1.4/2008. Penulis juga berterima kasih kepada Kepala Pusat Studi Satwa Primata Lembaga Penelitian Institut Pertanian Bogor (PSSP LP IPB) dan rekan-rekan kerja di PSSP LP IPB.

Daftar Acuan

1. Bank Dunia. *Tingkat pertumbuhan penduduk Indonesia*. (internet) [cited 2012 Februari 16]. Available from: <http://www.google.co.id/>

- publicdata/explore?ds=d5bncppjof8f9_&met_y=sp_pop_grow&idim=country:IDN&dl=id&hl=id&q=pe
rtumbuhan+penduduk+indonesia
2. Matthiesson KL, McLachlan RI. Male hormonal contraception: concept proven, product in sight? *Hum Reprod Update*. 2006; 12(4):463-482.
 3. Sutyarso. *Pengaruh penyuntikan kombinasi hormon testosteron enantat (TE) dan depomedroksiprogesteron asetat (DMPA) terhadap spermatogenesis monyet ekor panjang (Macaca fascicularis)*. [Disertasi]. Jakarta: Program Doktor Ilmu Biomedik Universitas Indonesia; 2000.
 4. Anderson RA, Baird DT. Male contraception. *Endocr Rev*. 2002; 23(6):735-762.
 5. Elya B, Kusmana D. Pengaruh infus daun Puding (*Polyscias guilfoylei* L.H. Bailey) terhadap kualitas spermatozoa tikus jantan (*Rattus norvegicus*) Galur DDY. *Makara Sains*. 2002; 6(2):99-104.
 6. Yurnadi, -Sari P, Pujianto DA, Soeradi O. Pengaruh penyuntikan ekstrak biji papaya (*Carica papaya* L.) terhadap konsentrasi spermatozoa dan keadaan sel spermatogenik tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain LMR. *Maj. Kedokt. Ind*. 2001; 5(1):19-25.
 7. Chinoy NJ, D'Souza JM, Padman P. Contraceptive efficacy of *Carica papaya* seed extract in male mice (*Mus musculus*). *Phytoth Res*. 1995; 2:30-36.
 8. Udoh P, Essien I, Udoh F. Effects of *Carica papaya* (paw-paw) seed extract on the morphology of pituitary-gonadal axis of male Wistar rats. *Phytoth Res*. 2005; 19:1065-1068.
 9. Lohiya NK, Manivannan B, Mishra PK, Pathak N, Sriram S, Bhande SS, Panneerdoss S. Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in langur monkey. *Asian J Androl*. 2002; 4:17-26.
 10. Lohiya NK, Manivannan B, Goyal S, Ansari AS. Sperm motility inhibitory effect of the benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in langur monkey, *Presbytis entellus entellus*. *Asian J Androl*. 2008; 10:298-306.
 11. Gijzejewski Z, Szafranska B, Stepkowski Z, Panasiewicz, Ciereszko A, Koprowski H. Cottonseed feeding delivers sufficient quantities of gossypol as a male deer contraceptive. *Eur J Wildl Res*. 2008; 54:469-477.
 12. D'Cruz SC, Marthur PP. Effect of piperine on the epididimis of adult male rats. *Asian J Androl*. 2005; 7:363-368.
 13. Lue YH, Lasley BL, Laughlin LS, Swerdloff RS, Hikim AP, Leung A, Overstreet JW, Wang C. Mild testicular hyperthermia induces profound transitional spermatogenic suppression through increased germ cell apoptosis in adult cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Asian J Androl*. 2002; 23(6):799-805.
 14. Iskandar E. Indonesian primate profile: *Macaca fascicularis*. *The Indonesian Journal of Primatology*. 2008; 5:1.
 15. De Jonge CJ, Barratt CLR. *The sperm cell: production, maturation, fertilization, regeneration*. USA: Cambridge University Press; 2006.
 16. Hawk CT, Leary SL, *Formulary for Laboratory Animals*. 2nd ed. Ames: Iowa State University Press; 1999.
 17. World Health Organization. *WHO laboratory manual for the examination of human Semen and sperm-cervical Mucus interaction*. Cambridge: Cambridge University Press; 1992.
 18. Dahlan S. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika; 2011.
 19. Marfo EK, Oke OL, Afolabi OA. Chemical composition of papaya (*Carica papaya*) seeds. Elsevier Science Ltd; 2003, p 259-266.
 20. Cornwall, Gail A. New insight into epididymal biology and function. *Hum Reprod Update*. 2009; 15:213-227.
 21. Cooper TG, Yeung CH. Approaches to post-testicular contraception. *Asian J Androl*. 1999; 1:29-36.
 22. Asmarinah, Soeradi O. *Pengaruh ekstrak biji papaya (Carica papaya L.) terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa manusia in vitro*. Laporan Penelitian. Indonesia: Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995.
 23. Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S. *Testosterone: action, deficiency, substitution*. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2004.