

PENGARUH PENYUNTIKAN EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP KONSENTRASI SPERMATOZOA DAN KEADAAN SEL SPERMATOGENIK TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus* L.) STRAIN LMR.

Yurnadi, Puji Sari, Dwi Ari Pujianto, Oentoeng Soeradi

Bagian Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta 10430

Abstrak

Pria merupakan fokus baru untuk program keluarga berencana (KB) yang selama ini belum banyak diperhatikan. Sampai sekarang kontrasepsi untuk pria yang dianggap mantap adalah kondom dan vasektomi. Namun penggunaan kondom sebagai alat kontrasepsi menimbulkan keluhan psikologik, sedangkan vasektomi permanen. Alternatif lain yang dipakai sebagai cara kontrasepsi adalah cara hormonal, selain itu juga perlu dikembangkan obat kontrasepsi yang berasal dari tumbuhan dan mempunyai efek antifertilitas: salah satunya adalah biji pepaya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penyuntikan ekstrak biji pepaya terhadap konsentrasi spermatozoa vas deferens dan keadaan sel spermatogenik testis tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) Strain LMR. Metoda penelitian ini menggunakan biji pepaya varietas Bangka dengan dosis/kilogram berat badan yakni : 0,1 mg; 0,5 mg; 0,9 mg; 1,0 mg; 5,0 mg; 9,0 mg dengan ulangan 4 ekor tikus untuk tiap perlakuan. Penyuntikan ekstrak biji pepaya dilakukan secara intramuskuler pada paha tikus selama 20 hari (1,5 siklus epitel seminiferus). Adapun parameter yang diteliti adalah konsentrasi spermatozoa vas deferens, berat testis, diameter tubulus seminiferus, dan keadaan sel spermatogenik. Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari : dapat menyebabkan kenaikan konsentrasi spermatozoa vas deferens secara sangat bermakna ($p < 0,01$); mempengaruhi perkembangan sel spermatogonium A dan sel spermatosit primer preleptoten secara bermakna ($p < 0,05$); tidak mempengaruhi berat testis, diameter tubulus seminiferus, perkembangan sel spermatosit primer pakhten dan spermatid ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrolnya.

Abstract

The effect of injection with papaya (*Carica Papaya* L.) seed extract on sperm concentration and spermatogenic cells of male rats (*Rattus norvegicus* L.) Strain LMR. So far men as a subject in family planning program had no priority, however recently men become a focus. Established mothodes for male contraception are through condom and vasectomy. Using condoms create psychological complaints, whereas vasectomy although very effective has often permanent effect. An other method of contraception is hormonal; besides that it is important to develop contraception using plants with antifertility effect such as papaya seed. Therefore, the aim of this research is to know the effect of extract papaya seeds on concentration and viability of sperms in vas deferens of male rat Strain LMR. This research was done using papaya seed extract, Bangka variety with 7 treatments, doses/kg/body weight, including 0 mg; 0.1 mg; 0.5 mg; 0.9 mg; 1.0 mg; 5.0 mg; 9.0 mg for times each treatment. Administration of papaya seed extract was performed by intramuscular injection for 20 days (1,5 seminiferous epithelium cycles). Investigation were done on 1) sperms concentration of vas deferens, 2) weight of testis, 3) seminiferous tubules diametric, 4) condition of spermatogenic cells. Injection with papaya seed extract for 20 days increased sperm concentration of vas deferens significantly ($P < 0,01$), decreased population of spermatogonium A and primary spermatocytes preleptoten significantly ($p < 0,05$), did not give any significant effect on weight of testis, seminiferous tubules diametric, primary spermatocytes pachyten and spermatid ($P > 0,05$).

Keywords : sperms concentration, weight of testis, seminiferous tubules diametric, spermatogenic cells; contraception.

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk terbanyak ke-empat di dunia setelah RRC, India dan

Amerika Serikat : yaitu sekitar 200 juta jiwa di tahun 2000 dengan laju pertumbuhan penduduk sekitar 1,98 %¹. Untuk mencapai sasaran serta kebijaksanaan pada Pelita ke-enam dalam sektor kependudukan

dirumuskan berbagai kebijaksanaan, antara lain meliputi peningkatan kualitas penduduk, pengendalian pertumbuhan, dan kuantitas penduduk dalam rangka menekan dan mengendalikan pertumbuhan jumlah penduduk². Untuk menekan dan mengendalikan jumlah penduduk, maka pemerintah telah menggalakkan program keluarga berencana (KB) bagi pasangan suami istri (pasutri) usia subur. Selanjutnya untuk mensukseskan program tersebut diperlukan peran serta aktif dari pasutri tersebut. Pada saat ini, individu yang ikut serta dalam melaksanakan (akseptor) program KB mayoritas adalah para istri. Keikutsertaan para suami dalam melaksanakan KB masih sangat rendah yaitu sekitar 6 % dari seluruh akseptor KB. Rendahnya keikutsertaan suami (pria) dalam program KB mungkin disebabkan masih terbatasnya pilihan kontrasepsi untuk pria atau kontrasepsi pria yang ada masih belum memberikan hasil yang memuaskan³.

Pria merupakan fokus baru untuk program KB yang selama ini belum banyak diperhatikan. Sampai sekarang kontrasepsi untuk pria yang dianggap sudah mantap adalah kondom dan vasektomi. Namun penggunaan kondom sebagai alat kontrasepsi menimbulkan keluhan psikologik, sedangkan vasektomi walaupun merupakan kontrasepsi yang dapat diandalkan, seringkali menimbulkan efek samping yang permanen (*irreversible*) berupa kegagalan rekanalisasi. Apabila faktor akseptor yang menggunakan kontrasepsi tersebut ingin punya anak kembali, maka seringkali sulit dapat dilakukan rekanalisasi kembali. Alternatif lain dalam metode kontrasepsi untuk pria yaitu penggunaan hormon seperti dilakukan pada wanita, tetapi cara ini pada pria dianggap belum memuaskan dan masih terus dilakukan penelitian³⁻⁴.

Badan kesehatan dunia (WHO) telah membentuk suatu kelompok kerja (pokja) untuk mencari dan mengembangkan metode pengaturan kesuburan pria. Mandat yang diberikan kepada pokja tersebut adalah mengembangkan metode pengaturan kesuburan pria yang aman, efektif dan dapat diterima, serta memonitor keamanan dan keefektifitasannya. Salah satu strategi penelitian yang dilakukan oleh pokja WHO adalah mengembangkan kontrasepsi pria melalui bahan atau zat dari tumbuh-tumbuhan yang diduga mempunyai bahan aktif yang bersifat antifertilitas⁵. Dalam mencari obat alternatif untuk kontrasepsi pria, sebaiknya tidak hanya terbatas pada kontrasepsi hormonal, tetapi juga pada tanaman yang diperkirakan mengandung zat antifertilitas. Berdasarkan analisis yang pernah dilakukan pada sejumlah besar tanaman diketahui bahwa 25 % diantaranya mengandung satu atau lebih zat aktif, misalnya biji pepaya⁶.

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh para ahli dan dilaporkan bahwa biji pepaya mempunyai khasiat sebagai antifertilitas pada hewan. Menurut Das⁷,

ekstrak biji pepaya dapat menyebabkan penurunan fertilitas tikus jantan setelah disuntik dengan dosis 20 mg/0,2/tikus/hari selama 8 minggu. Fransworth⁸ yang memberikan ekstrak biji pepaya secara oral pada tikus jantan fertil dengan dosis 20 mg selama 8 minggu (\pm 4,5 siklus epitel seminiferus atau 1 siklus spermatogenesis), ternyata menunjukkan penurunan kemampuan untuk menghamili tikus betina sampai 40 %. Pada penelitian Chinoy & Rangga⁹ yang memberikan ekstrak biji pepaya terhadap tikus jantan secara *in vivo* menyebabkan infertilitas pada tikus tersebut. Selanjutnya Chinoy *dkk*¹⁰, memberikan ekstrak biji pepaya varietas *honey dew* (terdapat di India) pada tikus jantan dengan dosis tinggi (1 mg/0,2/hari) selama 15 hari dan dosis rendah (0,1 mg/0,2/hari) selama 7 hari ($\frac{1}{2}$ siklus epitel seminiferus) menimbulkan penurunan spermatozoa epididimis yang sangat berbeda bermakna dari 59 % menjadi 12 % setelah 15 hari penyuntikan dengan dosis tinggi, dan juga berbeda bermakna pada dosis rendah setelah 4 hari dari 62 % menjadi 31 %. Waktu pemulihan terjadi 2,5 - 3 bulan setelah penyuntikan dihentikan. Dari penelitian Amir¹¹ dilaporkan pula bahwa penyuntikan ekstrak biji pepaya gandum (pepaya gantung) pada mencit jantan menimbulkan penekanan terhadap spermatogenesis, mereduksi diameter tubulus seminiferus, dan berat badan, serta menurunkan jumlah anak yang dihasilkan dari perkawinan mencit jantan tersebut dengan betina normal. Dari penelitian Asmarinah, Sari dan Soeradi¹² yang memberikan perlakuan ekstrak biji pepaya terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa manusia secara *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya dapat menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Selanjutnya dari penelitian Asmarinah & Soeradi¹³ pada spermatozoa manusia yang diberi perlakuan ekstrak biji pepaya 70 mg/ml - 80 mg/ml secara *in vitro* menunjukkan penurunan motilitas spermatozoa dan integritas membran spermatozoa secara bermakna, serta tidak mampu melakukan penetrasi ke dalam getah serviks sapi. Menurut Kloppenburg-Versteegh yang dikutip oleh Amir¹¹, biji pepaya jangan sekali-kali termakan oleh orang yang sedang hamil muda karena dapat mengakibatkan keguguran. Orang yang keguguran akibat memakan biji pepaya ini biasanya sulit hamil kembali karena adanya pengeringan rahim akibat masuknya enzim proteolitik seperti papain, chymopapain A, chymopapain B, dan peptidase pepaya. Di samping mengandung enzim proteolitik, biji pepaya juga mengandung senyawa kimia yang lain seperti : lemak majemuk 25 %, lemak 26 %, protein 24,3 %, 17 % serat, karbohidrat 15,5 %, abu 8,8 %, dan air 8,2 %¹⁴.

Biasanya orang Indonesia selalu membuang biji pepaya atau bila ada yang mengumpulkan hanya akan digunakan sebagai bibit. Namun tidak demikian dengan

orang barat, sebab biji pepaya ini banyak mengandung khasiat ampuh sebagai obat¹⁵. Pepaya yang banyak dikonsumsi oleh penduduk adalah pepaya lokal. Jenis pepaya ini mempunyai biji yang banyak, dan salah satunya adalah pepaya Bangka. Apakah biji pepaya tersebut mempunyai khasiat yang sama seperti biji pepaya gandum (gantung) atau pepaya *honey dew* dan hal tersebut masih belum jelas. Hal ini sangat menarik untuk diteliti khasiatnya seperti pada penelitian sebelumnya sehingga nantinya jika berhasil dapat digunakan sebagai bahan kontrasepsi pria di Indonesia.

Untuk menjawab permasalahan di atas maka dilakukanlah suatu penelitian untuk mengetahui pengaruh penyuntikan ekstrak biji pepaya terhadap tingkat kesuburan dan perkembangan sel spermatogenik tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) Strain LMR. Adapun manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk menunjang program KB dengan menggunakan alat kontrasepsi yang berasal dari sumber daya hayati.

Metode Penelitian

Ekstraks biji pepaya yang dibuat dengan metoda Chinoy, diencerkan sesuai dengan dosis yang dipakai; Larutan NaCl fisiologis; Tikus jantan dewasa Strain LMR umur 2 - 3 bulan, sehat, dengan berat badan 250-300 gram dan fertil; Makanan dan minuman untuk mencit; Kandang tikus; *Blender* untuk menghancurkan biji pepaya; *Rotary evaporator*; *Therumo syringe* 1 ml dan 5 ml; Seperangkat alat bedah; Kaca arloji; Gelas objek dan kaper; Larutan fiksatif Bouin's; Zat warna HE; *Counter*; Mikroskop binokuler Nikon; Alat tulis; Kalkulator dot matriks LCD; Aether; Dan lain-lainnya.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dosis ekstrak biji pepaya yang terdiri atas : 1. Kontrol (0 mg); 2. P I (0,1 mg); 3. P II (0,5 mg); 4. P III (0,9 mg); 5. P IV (1,0 mg); 6. P V (5,0 mg); 7. P VI (9,0 mg) sehingga setiap perlakuan mempunyai jumlah ulangan 4 berdasarkan rumus Federer¹⁶.

Biji pepaya Bangka yang akan diproses berasal dari satu pohon. Adapun pembuatan ekstrak biji pepaya dilakukan sebagai berikut :

- Biji pepaya varietas Bangka dikeringkan pada suhu kamar.
- Diblender hingga halus sampai menjadi serbuk tepung.
- 15 gram serbuk biji pepaya dilarutkan dalam 1 liter akuades dan dipanaskan sampai mendidih.
- Ekstrak yang telah dingin disaring dengan kertas Whatman No. 1 dan sisanya diekstrak kembali (± 3 kali sampai larutannya jernih) dalam 1 liter akuades. Kemudian filtratnya dikumpulkan, diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai agak

- kental, kemudian dikeringkan dalam penangas air bersuhu 40-50⁰ C sampai terbentuk endapan padat
- Ekstrak biji pepaya yang padat tadi kemudian ditimbang sesuai dengan dosis yang dibutuhkan dan dilarutkan dengan menggunakan natrium klorida fisiologis dan ekstrak siap untuk disuntikkan.

Tikus percobaan disuntik secara intramuskuler pada bagian paha kiri atau kanan dengan dosis kontrol (NaCl/0,2/hari); PI (0,1 mg/0,2/hari); PII (0,5 mg/0,2/hari); PIII (0,9 mg/0,2/hari); PIV (1,0 mg/0,2/hari); PV (5,0 mg/0,2/hari); PVI (9,0 mg/0,2/hari). Penyuntikan dilakukan setiap hari pada waktu yang sama selama 20 hari atau $\pm 1,5$ siklus epitel seminiferus (1/3 siklus spermatogenesis).

Setelah cukup masa perlakuan (20 hari), dilakukan pembiusan terhadap tikus dengan menggunakan aether. Kemudian tikus dipreparasi untuk diambil semennya dengan menyerut vas deferennya yang telah dipotong dan ditampung di bawah cawan petri untuk dianalisis konsentrasi spermatozoanya. Selanjutnya testis tikus diambil, ditimbang dan difiksasi untuk dibuat menjadi preparat histologis. Adapun parameter yang akan diamati antara lain :

- Konsentrasi spermatozoa vas deferen
- Berat testis
- Diameter tubulus seminiferus
- Perkembangan sel-sel spermatogenik

Data yang diperoleh dari setiap parameter dievaluasi dengan menggunakan metoda statistik berupa¹⁷⁻¹⁹ :

- Uji normalitas (Shapiro dan Wilk) dan uji homogenitas (Bartlett)
- Jika data berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *analysis of variance* (ANOVA), dan jika terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Sebaliknya jika data tidak berdistribusi normal atau homogen perlu dilakukan transformasi data ($x = \sqrt{y}$). Jika data dianalisis kembali ternyata masih tetap tidak normal atau tidak homogen, maka dilakukan uji statistik non parametrik Kruskal-Wallis. Adapun taraf kemaknaan yang dipakai dalam penelitian ini adalah taraf kemaknaan 5 %.

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini ingin diketahui pengaruh penyuntikan ekstrak biji pepaya pada dosis rendah dan tinggi terhadap tikus pada parameter.

Dari hasil penghitungan konsentrasi spermatozoa vas deferen setelah dilakukan uji normalitas menunjukkan bahwa data konsentrasi spermatozoa vas deferen berdistribusi normal ($p > 0,05$), selanjutnya dari hasil uji

Tabel 1 : Uji ANOVA konsentrasi spermatozoa (juta/ml) vas deferens testis tikus setelah disuntik dengan ekstrak biji pepaya dosis rendah dan tinggi selama 20 hari

S K	db	JK	KT	FH.	FT 5%	1%
Plk	6	14289,484	2381,581	3,958**	2,57	3,81
Galat	21	12634,857	601,659			
Total	27	26924,341				

Keterangan.: S K = Sumber keragaman; db = Derajat bebas; JK = Jumlah kuadrat; KT = Kuadrat tengah; FH= F Hitung; Plk = Perlakuan; Glt = Galat; ** = Berbeda sangat bermakna.

homogenitas varians menunjukkan bahwa data konsentrasi spermatozoa vas deferens bervariasi homogen ($p > 0,05$). Dari hasil uji ANOVA diketahui bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang sangat bermakna (positif) terhadap konsentrasi spermatozoa vas deferens testis tikus ($p < 0,01$) seperti disajikan pada Tabel 1.

Dari hasil uji BNT diketahui bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang sangat bermakna (positif) terhadap konsentrasi spermatozoa vas deferens testis tikus ($p < 0,01$) seperti pada P IV, P III jika dibandingkan dengan kontrol dan memberikan pengaruh yang bermakna ($p < 0,05$) seperti pada P V yang berbeda dengan perlakuan kontrol.

Data hasil penimbangan berat testis setelah dilakukan uji normalitas menunjukkan bahwa data berat testis berdistribusi normal ($p > 0,05$), selanjutnya dari hasil uji homogenitas varians menunjukkan bahwa data berat testis bervariasi homogen ($p > 0,05$). Dari hasil uji ANOVA diketahui pula bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap berat testis tikus ($p > 0,05$) seperti disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 : Uji ANOVA berat testis tikus (mgr) setelah disuntik dengan ekstrak biji pepaya dosis rendah dan tinggi selama 20 hari

S K	db	JK	KT	FH.	FT 5%	1%
Plk	6	23093,52	3848,920	0,343 ^{ns}	2,57	3,81
Glt	21	235809,79	11229,038			
Total	27	258903,31				

Keterangan.: S K = Sumber keragaman; db = Derajat bebas; JK = Jumlah kuadrat; KT = Kuadrat tengah; FH= F Hitung; Plk= Perlakuan; Glt=Galat; ns = Tidak berbeda bermakna.

Tabel 3 : Uji ANOVA diameter tubulus seminiferus testis tikus setelah disuntik dengan ekstrak biji pepaya dosis rendah dan tinggi selama 20 hari

S K	db	JK	KT	FH.	FT 5%	1%
Plk	6	1393,733	232,289	2,119 ^{ns}	2,57	3,81
Glt	21	2301,937	109,616			
Total	27	3695,670				

Keterangan.: S K = Sumber keragaman; db = Derajat bebas; JK = Jumlah kuadrat; KT = Kuadrat tengah; FH= F Hitung; Plk= Perlakuan; Glt =Galat; ns = Tidak berbeda bermakna.

Data hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus setelah dilakukan uji normalitas menunjukkan bahwa diameter tubulus seminiferus berdistribusi normal ($p > 0,05$), selanjutnya dari hasil uji homogenitas varians menunjukkan bahwa data diameter tubulus seminiferus bervariasi homogen ($p > 0,05$). Dari hasil uji ANOVA diketahui pula bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap diameter tubulus seminiferus testis tikus ($p > 0,05$) seperti disajikan pada Tabel 3.

Data hasil penghitungan sel-sel spermatogenik seperti spermatogonium A, spermatosit primer preleptoten, spermatosit primer pakhiten, dan spermatid setelah dilakukan uji normalitas menunjukkan bahwa data sel spermatogonium A, spermatosit primer preleptoten dan pakhiten berdistribusi normal ($p > 0,05$) kecuali data spermatid. Selanjutnya dari hasil uji homogenitas varians menunjukkan bahwa data spermatogonium A, spermatosit primer preleptoten dan pakhiten bervariasi homogen ($p > 0,05$). Dari hasil uji ANOVA diketahui bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang sangat bermakna terhadap sel spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten ($p < 0,01$), namun perlakuan tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap sel spermatid ($p > 0,05$) seperti disajikan pada Tabel 4. Sedangkan data spermatid yang tidak normal setelah dilakukan transformasi data tetap menunjukkan ketidaknormalannya, untuk itu data dianalisis dengan statistik nonparametrik Kruskal-Wallis. Dari uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh bermakna terhadap sel spermatid, dimana χ^2 hitung (8,13) lebih kecil dibanding χ^2 Tabel 0,05 (12,6) atau $p > 0,05$.

Dari hasil uji ANOVA didapatkan bahwa penyuntikan berbagai ekstrak biji pepaya terhadap tikus memberikan hasil yang berbeda sangat bermakna terhadap sel spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten. Untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan

Tabel 4 : Uji ANOVA sel spermatogonium A (1), spermatis primer preleptoten (2), spermatis primer pakhiten (3) testis tikus setelah disuntik dengan ekstrak biji pepaya dosis rendah dan tinggi selama 20 hari

S K	db	JK	KT	FH.	FT 5%	1%
(1) Plk	6	1,286	0,214	5,219**	2,57	3,81
Glt	21	0,861	0,041			
Total	27	2,147				
(2) Plk	6	92,558	15,426	4,350**		
Glt	21	74,466	3,546			
Total	27	167,024				
(3) Plk	6	17,135	2,856	1,195 ^{ns}		
Glt	21	50,178	2,389			
Total	27	67,313				

Keterangan.: S K = Sumber keragaman; db = Derajat bebas; JK = Jumlah kuadrat; KT = Kuadrat tengah; FH = F Hitung; Plk = Perlakuan; Glt = Galat; ** = Berbeda sangat bermakna; ns = Tidak berbeda bermakna.

pada sel spermatogonium A maka dilakukan uji lanjut dengan uji BNT. Dari uji BNT ditemukan perbedaan yang sangat bermakna populasi sel spermatogonium A antara kelompok kontrol dengan kelompok PI, P II, P III, P V, dan P VI, tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok P IV. Untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan pada sel spermatis primer preleptoten maka dilakukan uji lanjut dengan uji BNT. Dari uji BNT ditemukan perbedaan yang sangat bermakna populasi sel spermatis primer preleptoten antara kelompok kontrol dengan kelompok PI, P II, P III, P IV, dan P V, tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok P VI.

Data yang diperoleh dari penghitungan konsentrasi spermatozoa vas deferens (juta/ml) dapat diketahui bahwa penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari tidak menurunkan konsentrasi spermatozoa vas deferens, tetapi sebaliknya terjadi peningkatan konsentrasi spermatozoa vas deferens secara bermakna ($p < 0,05$). Dari uji BNT dapat ditemukan perbedaan konsentrasi spermatozoa antara kelompok kontrol, P I, P II, dan P IV yang berbeda bermakna/sangat bermakna dengan kelompok P III, P V dan P VI. Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa penyuntikan ekstrak biji pepaya berpengaruh terhadap konsentrasi spermatozoa vas deferens. Hal ini berarti konsentrasi spermatozoa vas deferens dari tikus yang disuntik ekstrak biji pepaya selama 20 hari berbeda dengan tikus yang tidak disuntik dengan ekstrak biji pepaya.

Selama spermatogenesis, aktivitas sel-sel spermatogenik sangat tinggi dengan melibatkan proses perubahan morfologi dan biokimia dari sel-sel spermatogenik. Untuk mendukung aktivitas tersebut, sel-sel spermatogenik sangat tergantung pada sumber energi terutama glukosa. Khususnya untuk spermatis primer diketahui menggunakan sumber energinya secara tidak langsung bukan dalam bentuk glukosa melainkan dalam bentuk asam laktat dan piruvat yang disuplai oleh sel Sertoli. Adapun produk asam laktat dan piruvat tersebut terutama dipengaruhi oleh hormon FSH²⁰. Pada penelitian ini diduga bahwa ekstrak biji pepaya yang disuntikkan dapat menjadi media untuk merangsang pertumbuhan bakal sel spermatozoa, karena di dalam biji pepaya didapatkan adanya senyawa karbohidrat dan protein yang berfungsi sebagai bahan baku untuk spermatogenesis sehingga dapat memicu spermatogenesis untuk sementara waktu. Menurut Burkill¹⁴ bahwa di dalam biji pepaya terdapat kandungan senyawa kimia seperti (24,3%), karbohidrat, lemak, serat, air, dan mineral.

Dari data hasil penimbangan berat testis dan pengukuran diameter tubulus seminiferus testis tikus dapat diketahui bahwa penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari tidak mempengaruhi berat testis dan diameter tubulus seminiferus. Dari hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa berat testis dan diameter tubulus seminiferus tidak memperlihatkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kontrol. Hasil penelitian ini juga sesuai dengan Chinoy & Ranga⁹, dan Lohiya *dkk.*²¹ bahwa ekstrak biji pepaya tidak mempengaruhi berat testis dan diameter tubulus seminiferus, dinyatakan pula bahwa bahkan ekstrak biji pepaya tidak mempengaruhi struktur histologis dan fungsi testis, selain itu juga dilaporkan bahwa kadar hormon testosteron, FSH, LH dalam serum masih dalam batas normal.

Data yang diperoleh dari penghitungan populasi sel spermatogenik testis tikus dapat diketahui bahwa penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari dapat mempengaruhi dan bahkan menurunkan populasi sel spermatogonium A dan spermatis primer preleptoten secara sangat bermakna ($p < 0,01$) tetapi tidak mempengaruhi populasi sel spermatis primer pakhiten dan spermatid ($p > 0,05$) antara kelompok kontrol dan perlakuan. Dari uji BNT data sel spermatogonium A ditemukan perbedaan jumlah populasi antara kelompok kontrol dengan kelompok P I, P II, P V, P VI, dan P III. Sedangkan dari uji BNT pada data sel spermatis primer pre-leptoten ditemukan perbedaan jumlah populasi antara kelompok kontrol dengan kelompok P I, P II, P III, P IV, dan P V.

Telah diketahui bahwa sel spermatogonium adalah *stem cells* dari sel-sel spermatogenik. Jika sel spermatogonium berkurang maka *stem cells* atau sel

bakal spermatozoa mengalami degenerasi, sehingga dapat memicu kekosongan dari sel germinal. Jika hal tersebut terjadi, maka ada kecenderungan terjadi azoospermia. Dengan demikian ekstrak biji pepaya dapat menyebabkan penurunan jumlah *stem cells* yang ada pada tubulus seminiferus dan sekaligus dapat pula menurunkan jumlah sel spermatosit primer preleptoten, karena sel spermatosit primer preleptoten merupakan perkembangan awal dari sel spermatogonium. Jika terjadi penurunan sel spermatogonium A, maka otomatis terjadi pula penurunan jumlah sel spermatosit primer preleptoten. Dari penelitian Udoh dan Kehinde²² memperlihatkan penurunan sel-sel germinal atau degenerasi *stem cells* hanya terjadi pada pemberian ekstrak biji pepaya dengan dosis tinggi per oral yaitu 100 mg/kg berat badan/hari. Selain itu patut pula diduga bahwa terjadinya penurunan jumlah populasi sel spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten mungkin pula disebabkan oleh pengaruh senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak biji pepaya seperti enzim proteolitik (papain) dan peptidase. Ada beberapa hal yang mungkin dapat terjadi, sehingga ekstrak biji pepaya dapat menyebabkan penurunan jumlah populasi sel spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten, antara lain: 1. Ekstrak biji pepaya mengandung glukosida yang bersifat toksis, sehingga dapat menghambat proses perkembangan sel spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten. 2. Kemungkinan lain adalah spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten rentan terhadap perlakuan yang diberikan sehingga proliferasi spermatogonium A mengalami hambatan dan akibat selanjutnya akan menurunkan populasi spermatosit primer preleptoten. Penyusutan yang dialami sel-sel germinal pada akhir perlakuan menunjukkan tingkat kerentanan, kerusakan yang berbeda-beda diantara sel-sel germinal sehingga kemampuan memperbaiki kerusakan pada beberapa jenis sel berbeda pula, walaupun sel-sel tersebut berasal dari organisme yang sama²³. Pada sel spermatosit primer pakhiten dan spermatid, semua perlakuan tidak memperlihatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, hal ini dapat terjadi diduga pemberian ekstrak biji pepaya dengan berbagai dosis belum menunjukkan pengaruhnya terhadap perkembangan sel spermatosit primer pakhiten dan proses spermiogenesis (perubahan sel spermatid menjadi spermatozoa). Penelitian Lohiya *dkk*²¹ ekstrak biji pepaya dengan dosis pemberian 20 mg/150 hari dan 50 mg/150 hari memperlihatkan adanya penahanan (arestasy) perkembangan spermatogenesis pada tahap spermatosit.

Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan tentang pengaruh penyuntikan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap konsentrasi spermatozoa dan keadaan sel

spermatogenik testis tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) Strain LMR dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari (1,5 siklus epitel seminiferus) pada berbagai dosis terhadap tikus dapat meningkatkan konsentrasi spermatozoa vas deferens.
2. Penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari (1,5 siklus epitel seminiferus) pada berbagai dosis terhadap tikus dapat menurunkan populasi sel spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten.
3. Penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari (1,5 siklus epitel seminiferus) pada berbagai dosis terhadap tikus tidak mempengaruhi berat testis tikus dan diameter tubulus seminiferus.
4. Penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari (1,5 siklus epitel seminiferus) pada berbagai dosis terhadap tikus tidak mempengaruhi populasi sel spermatosit primer pakhiten dan spermatid.

Dari penelitian ini diketahui bahwa penyuntikan ekstrak biji pepaya selama 20 hari (1,5 siklus epitel seminiferus) pada berbagai dosis terhadap tikus belum dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa vas deferens, akan tetapi dapat menurunkan populasi sel spermatogonium A dan spermatosit primer preleptoten. Sebagai cikal bakal suatu kontrasepsi yang baik adalah tercapainya kondisi azoospermia pada hewan coba dan dari penelitian ini belum dicapai adanya kondisi azoospermia pada hewan coba. Untuk menjawab hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis yang lebih tinggi dan masa perlakuan yang lebih lama (1 atau beberapa siklus spermatogenesis).

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Lembaga Penelitian Universitas Indonesia yang telah bersedia membiayai penelitian ini melalui dana DIK-S MAK 5.250 tahun anggaran 2000 dengan nomor kontrak 059/23/2000, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik dan lancar.

Daftar Acuan

1. Biro Pusat Statistik, Badan Koordinasi Keluarga Berencana Nasional, DepKes, Macro International Inc, Survey Demografi dan Kesehatan Indonesia 1991: XXIV + 228.
2. GBHN, Bahan penataran dan referensi penataran, UI Press Jakarta 1993.
3. Moeleok N. Kontrasepsi pria : masa kini dan masa akan datang, *Medika* 1990; 16: 151-159.
4. Arsyad KM. Kemungkinan pengembangan kontrasepsi pria. *Medika* 1988; 12: 342-351.

5. Wang C, Waites GMH. Research strategy of the World Health Organization task force on methods for the regulation of male infertility and need for sperm function assays, In: Oshima H, Henry GB, editor. *Current Topics in Andrology*, Japan Society of Andrology, 1993: 294-299.
6. Fransworth NR, Bingel AS, Cordell GA. Potential value of plants as sources of new antifertility agents, *J Pharmac Sci* 1975: 64.
7. Das RP, Effect of Carica papaya seed on the genital organs and fertility of male rat, *Indiana J Exp Biol* 1980; 18: 405.
8. Fransworth RP. Current status of plant products reported to inhibit sperm, research frontier in fertility regulation, *J of Pharmac Sci* 1982.
9. Chinoy NJ, Ranga GM. Effects of Carica papaya seed extracts on the physiology of the vas deferens of albino rats, *Acta eur fertil* 1984; 15: 59-65.
10. Chinoy NJ, Ranga GMGM, Rao MV, *dkk*. The reversible antifertility effects of extracts of Carica papaya seed on male rats, In: T.A.C Kumar and G.M.H. Waites, *Methods for The Regulation of Fertility*. Indian Council Medical Research, New Delhi, 1985: 95-106.
11. Lohiya NK, Pathak N, Mishra PK, Manivannan B. Contraceptive evaluation and toxicological study of aqueous extract of the seed of carica papaya in male rabbits, *J Ethnopharmacol* 2000; 7091: 17-27.
12. Udoh P, Kehinde A. Studies on antifertility of pawpaw seed (Carica papaya) on the gonad of male albino rats, *Phytother Res* 1999; 13: 226-228.
13. Smith-Sonneborn J. DNA repair and longevity assurance in *Paramecium tetraurelia*, *Science* 1979; 203: 1115-1117.
14. Asmarinah, Soeradi O. Pengaruh biji pepaya (Carica Papaya L) in vitro terhadap kualitas spermatozoa manusia, Laporan Penelitian, Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1995.
15. Burkill IH. A dictionary of economic products of the malay peninsula, Vol the ministry of Agricultura and Cooperativa, Kuala Lumpur, 1966: 468.
16. Muljana W. Bercocok tanam pepaya. CV Aneka Ilmu, Semarang, 1985.
17. Federer WY. Experimental design. Theory and Application, Mac Millan, New York 1963.
18. Asmarinah P, Sari P, Soeradi O. Pengaruh ekstrak biji pepaya (Carica papaya L) terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa manusia in vitro (suatu penelitian pendahuluan), Laporan Penelitian, Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1993.
19. Stell RGD, Torrie JH. *Prinsip dan prosedur statistika: Suatu Pendekatan Biometrik* (terjemahan), ed. 3, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 1993.
20. Amir A. Pengaruh penyuntikkan biji pepaya gandum (Carica papaya L) terhadap sel-sel spermatogenik menciit dan jumlah anak hasil perkawinannya, Tesis Program Pendidikan Pasca Sarjana Universitas Indonesia, Jakarta, 1992.
21. Sokal RR, Rohlf FJ. Pengantar biostatistika (Terjemahan), Edisi ke-2, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1992.
22. Nazir M. Metode penelitian, Edisi ke-3, Ghalia Indonesia, Jakarta, 1988.
23. Jutte NHPM, Grootegoed JA, Rommerts FFG, Van del Mollen HJ. Exogenous lactate is essential for metabolic activities in isolated spermatocytes and spermatid, *J Reprod Fert* 1981; 62: 399-405.