Berita Biologi
LIPI
Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

10.14203/beritabiologi.v20i1.3991
P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751

EFEK ANTISPERMATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN PEPAYA CALINA TERHADAP KUALITAS SPERMA DAN MORFOLOGI EPIDIDIMIS TIKUS WISTAR

[*Antispermatogenic effect of Calina papaya ethanolic leaf extract on sperm quality and morphology of epididymis in wistar rats*]

Haris Setiawan[1]✉, Sri Wijayanti Wulandari[2], Maisa Nailufa Fachmi[1]

[1]Laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Daerah Istimewa Yogyakarta
[2]Laboratorium Bioteknologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Daerah Istimewa Yogyakarta
email : haris.setiawan@bio.uad.ac.id*

ABSTRACT

Indonesia is a country with a relatively high birth rate, so alternatives are needed to reduce the birth rate, such as the use of herbal contraceptives. This study aims to determine the effect of Calina papaya leaf ethanolic extract on sperm quality and morphology of epididymis Wistar rats. The study used 24 Wistar rats which were divided into 4 groups consisting of control (aquadest), extract dose of 100 mg/Kg BW, 200 mg/Kg BW, and 300 mg/Kg BW administered using a gastric probe (1ml) for 30 days. On the 31st day, the rats were dissected and the cauda epididymis was taken to determine sperm quality and made for histology preparations using the paraffin method (HE staining). The parameters of sperm quality consisted of motility, viability, number, and morphology of sperm. The epididymis morphological parameters consisted of epididymal cell thickness, diameter, and area of the epididymis. All parameters were analyzed using the one-way ANOVA followed by Duncan's test with a 95% confidence interval. The results showed that the administration of the extract at a dose of 100–300 mg/Kg BW caused the reduction motility, number, viability, and morphology of sperm significantly ($P<0.05$) compared to control. The morphology of the epididymis showed a reduction in epididymal thickness, diameter, and area of the epididymis at a dose of 100–300 mg/kg BW compared to controls ($P<0.05$). This study showed that the ethanolic extract of Calina papaya leaves has the potential as an antispermatogenic agent which was characterized by a reduction of sperm quality and morphology of the epididymis of Wistar rats.

Key words: Sperm quality, epididymis morphology, antispermatogenic, Wistar rat, Papaya leaf

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara dengan angka kelahiran yang relatif tinggi, sehingga dibutuhkan alternatif untuk menekan angka kelahiran, seperti penggunaan alat kontrasepsi berbahan herbal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina terhadap kualitas sperma dan morfologi epididimis tikus Wistar. Penelitian menggunakan 24 tikus Wistar, yang dibagi menjadi 4 kelompok terdiri dari Kontrol (akuades), ekstrak etanol daun papaya Calina dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, 300 mg/Kg BB yang diberikan secara oral menggunakan sonde lambung (1ml) selama 30 hari. Pada hari ke-31, tikus dibedah dan diambil cauda epididimis untuk pengamatan kualitas sperma dan pembuatan preparat histologis dengan metode parafin (pewarnaan HE). Parameter kualitas sperma terdiri dari motilitas, viabilitas, jumlah, dan morfologi sperma. Parameter morfologi epididimis terdiri dari tebal sel epitel, diameter dan luas epididimis. Seluruh parameter dianalisis menggunakan uji one way Anova dan dilanjutkan uji Duncan dengan selang kepercayaan 95%. Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dosis 100–300 mg/Kg BB berbeda secara nyata dibandingkan kontrol dengan menurunnya motilitas, jumlah, viabilitas dan morfologi sperma ($P<0,05$). Pada morfologi epididimis menunjukkan bahwa ekstrak dosis 100–300 mg/kgBB mengakibatkan menurunnya tebal sel epitel, diameter dan luas epididimis secara nyata dibandingkan dengan kontrol ($P<0,05$). Kesimpulan menunjukan bahwa ekstrak etanol daun pepaya Calina memiliki potensi sebagai agen antispermatogenik dengan menurunkan kualitas sperma dan morfologi epididimis tikus Wistar.

Kata kunci: Kualitas sperma, morfologi epididimis, antispermatogenik, tikus Wistar, daun pepaya Calina

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah penduduk yang padat dan berada pada peringkat ke-4 di dunia. Pada tahun 2017, Indonesia memiliki jumlah penduduk 261,9 juta jiwa (BPS, 2019). Jumlah penduduk yang terlalu padat dapat mempengaruhi tingkat kesejahteraan, seperti meningkatkanya angka kemiskinan, peningkatan persaingan lapangan kerja, penurunan angka kesehatan, dan penyempitan lahan. Salah satu upaya pemerintah dalam menekan laju pertumbuhan penduduk adalah dengan Program Keluarga Berencana (KB).

Program KB lebih banyak didominasi oleh wanita, sedangkan partisipasi pria masih rendah dalam program tersebut. Kontribusi pria sangat dibutuhkan untuk meningkatkan efektivitas program KB dalam mengurangi pertambahan penduduk (Siti, 2014). Salah metode yang digunakan adalah pemakaian alat kontrasepsi

*Kontributor Utama
*Diterima: 23 Juli 2021 - Diperbaiki: 19 Oktober 2021- Disetujui:

seperti kondom dan vasektomi. Kurangnya partisipasi pria disebabkan efek samping dari beberapa metode kontrasepsi tersebut seperti menimbulkan rasa tidak nyaman (saat pemakaian), penggunaan yang menyakitkan tubuh (invasif), dan gangguan imunoglobin (Hasanah dan Sukarjati, 2016). Oleh sebab itu, alat kontrasepsi yang aman, nyaman, mudah digunakan, dan tidak mempengaruhi perilaku seksual sangat diperlukan, antara lain pemanfaatan tanaman obat sebagai agen antifertilitas.

Pemanfaatan bahan herbal di Indonesia sebagai agen antifertilitas semakin berkembang. Beberapa senyawa yang terkandung pada tanaman seperti tannin, alkaloid dan flavonoid dapat bertindak sebagai agen antispermatogenik dengan mekanisme menurunkan kualitas sperma (Hasanah dan Sukarjati, 2016; Yohanes *et al.,* 2011). Salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa sebagai agen antifertilitas adalah daun pepaya. Daun pepaya mengandung senyawa fitokimia seperti terpenoid, tanin, alkaloid, saponin dan flavonoid (Wijayanti *et al*., 2016). Kandungan saponin dan flavonoid pada ekstrak etanol daun pepaya dapat menurunkan motilitas sperma (Laili, 2017). Ekstrak etanol daun pepaya juga dapat menurunkan indeks spermatogenesis tikus dan berpengaruh terhadap penurunan kualitas sperma (Setiawan *et al.,* 2021). Mekanisme spermatogenesis yang terganggu dan penurunan kualitas sperma dapat menyebabkan perubahan morfologis pada epididimis. Perubahan morfologis dapat diketahui seperti kosongnya lumen yang tidak terisi spermatozoa dan menurunnya ketebalan sel epitel pada epididimis (Madan, 2013).

Berbagai varietas tanaman pepaya telah di kembangkan di Indonesia, salah satunya adalah varietas Calina (California). Varietas Calina (California) merupakan salah satu varietas tanaman pepaya yang banyak dikembangkan karena memiliki karakteristik ukuran batang yang lebih pendek (±1,5 m) (Putri dan Ashari., 2018). Penelitian praklinis tentang potensi daun pepaya Calina sebagai agen antifertilitas alami masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun pepaya Calina sebagai kandidat agen antifertilitas terhadapat kualitas sperma dan morfologi epididimis pada tikus Wistar.

BAHAN DAN CARA KERJA

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pepaya Calina

Sampel daun pepaya diidentifikasi di Laboratorium Botani, Universitas Ahmad Dahlan (No:149/Lab.Bio/B/X/2019) dengan nama ilmiah *Carica papaya var papaya* L.cv calina. Daun pepaya Calina kemudian disortasi kemudian dipotong-potong dan dikeringkan dibawah sinar matahari menggunakan kering angin. Daun kering kemudian diblender menjadi serbuk simplisia halus. Serbuk simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari. Ampas disaring kemudian filtrat diuapkan dengan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 65℃ dan kecepatan 85 rpm. Ekstrak kental yang diperoleh berbentuk semi-padat berwarna hijau kehitaman dengan berat akhir ekstrak 83,7 g dan rendemen 8,37%.

Pemeliharaan Hewan Coba

Penggunaan hewan coba pada penelitian telah sesuai dengan standar baku perlakuan hewan coba dan telah disetujui oleh Komite Etik UAD dengan nomor 012002007. Tikus Wistar sebanyak 24 ekor (umur ±12 minggu; bobot ± 240 g, jenis kelamin jantan) diaklimatisasi selama 4 minggu. Pemberian pakan dan air minum dilakukan secara *ad-libitum*, serta pembersihan sekam dilakukan 3 hari sekali.

Perlakuan Hewan Coba

Tikus sebanyak 24 ekor (bobot ± 240 g) dibagi menjadi 4 kelompok, terdiri dari kelompok kontrol negatif (pemberian akuades), kelompok kontrol positif dengan pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina dosis 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, dan 300 mg/KgBB. Ekstrak dilarutkan dalam 1 ml aquadest diberikan secara oral menggunakan sonde lambung selama 30 hari. Pada hari ke-31 tikus dikorbankan dengan cara dibius menggunakan eter 10% dan dislokasi leher. Dilakukan laparotomi untuk pengambilan organ *cauda epididymis* dan pengamatan kualitas sperma.

Pengamatan Kualitas Sperma

Cauda epididymis dipotong kecil-kecil menggunakan gunting bedah dan dilarutkan ke dalam *Phospate buffer saline* (PBS) 10 ml suhu 37℃ untuk mendapatkan suspensi sperma. Parameter motilitas dan jumlah sperma dilakukan dengan mengambil suspensi sperma sebanyak 10 µL menggunakan mikropipet (Eppendorf) dan dimasukan ke dalam hemositometer pada bilik ukuran 0,04 mm, kemudian diamati dibawah mikroskop (Olympus Cx21). Motilitas sperma dikategorikan sebagai sperma tidak bergerak (tingkat 1), sperma bergerak ditempat (tingkat 2), sperma bergerak tidak linear (tingkat 3) dan sperma bergerak progresif (tingkat 4). Jumlah sperma dihitung pada bilik hitung dan kemudian dimasukan ke dalam rumus perhitungan sperma (Parhizkar *et al.,* 2013). Pengamatan viabilitas dan morfologi sperma dilakukan dengan mengambil suspensi sperma menggunakan pipet tetes dan dipulas pada *object glass* menggunakan pewarnaan eosin negrosin dan diamati mengunakan mikroskop

Olympus Cx21(Gambar 1). Pengamatan morfologi sperma terdiri dari sperma abnormal primer (kepala tanpa kait, kepala berbentuk pisang, tanpa kepala) dan sekunder (ekor melipat). Pengamatan viabilitas yaitu mengamati sperma yang hidup (*viable*) ditandai dengan tidak menyerap warna eosin-negrosin (Wayrobek *et al.,* 1975; Afiati *et al.*, 2015; Setiawan *et al.,* 2020).

Pengamatan Morfologi Epididimis

Epididimis ditimbang menggunakan timbangan digital kemudian dihitung rasio epididimis dengan bobot akhir tikus. Epididimis kemudian dicuci menggunakan NaCl 0,9% dan difiksasi menggunakan *Buffer Neutral Formalin* 10% (BNF) selama 24 jam dan dilanjutkan dengan pembuatan preparat histologi menggunakan metode paraffin dan pewarnaan *haematoxylin eosin.* Epididimis dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 6 µm. Pengamatan histologi epididimis pada setiap parameter dengan melihat 5 bidang pandang dengan perbesaran 400x dibawah mikroskop Olympus Cx21 dan Optilab. Parameter berupa tebal sel epitel, luas dan diameter epididimis serta luas lumen diukur menggunakan aplikasi Image Raster.

Analisis Data

Seluruh parameter data dianalisis menggunakan uji *one way* Anova, kemudian dilanjutkan dengan *post hoc Duncan* dengan selang kepercayaan 95%.

HASIL

Bobot Badan

Berat badan tikus pada akhir penelitian tidak berbeda secara nyata (P>0,05) pada semua perlakuan (Tabel 1). Bobot badan tikus menunjukan kenaikan secara normal dan tidak ada tikus yang mati selama perlakuan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun papaya Calina selama 30 hari tidak mempengaruhi proses metabolisme dan fisiologis tubuh, sehingga tidak terdapat perbedaan nyata pada bobot badan antar kelompok.

Tabel 1. Bobot badan tikus Wistar setelah pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina (*Body weight of Wistar rats after administration of Calina papaya leaf ethanolic extract*).

Minggu (*Weeks*)	**Bobot Badan (*Body Weight*) (g)**			
	Kontrol (*Aquadest*)	**100 mg/KgBB (*mg/ Kg BW*)**	**200 mg/KgBB (*mg/Kg BW*)**	**300 mg/KgBB (*mg/Kg BW*)**
0	234 ± 10,6	240 ± 14,86	242,83 ± 10,88	240 ± 12,26
1	238,5 ± 10,8	258 ± 15,54	241,83 ± 11,60	251,33 ± 10,02
2	253,83 ± 11,30	270,66 ± 14,42	262,66 ± 10,57	279,16 ± 12,26
3	266,66 ± 5,84	274,26 ± 13,20	281,66 ± 11,09	292,5 ± 12,54
4	286,66 ± 8,62	296,33 ± 16,16	286 ± 10,10	280,83 ± 13,02

Keterangan: Nilai pada baris tanpa superscript menunjukan tidak terdapat perbedaan secara signifikan (P>0,05). Rerata ± SD (*The value in the row without superscript shows that there is no significant difference (P>0.05). Mean ± SD*).

Kualitas Sperma

Hasil penelitian menunjukan bahwa terdapat penurunan kualitas sperma tikus Wistar setelah pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina. Motilitas sperma pada kelompok tikus dengan perlakuan ekstrak daun papaya calina berbeda secara nyata dengan perlakuan kontrol (P<0,05). Pemberian ekstrak daun papaya pada seluruh dosis menurunkan total kualitas sperma pada tikus Wistar. Persentase sperma progresif (tingkat 4) menurun secara signifikan (P<0,05) pada kelompok tikus yang menerima perlakuan ekstrak dengan dosis 200 dan 300 mg/Kg BB (Tabel 2). Sperma immotil lebih banyak ditemukan pada dosis 100 sampai dengan 300 mg/Kg BB dibandingkan dengan kontrol (P<0,05). Sperma yang bergerak ditempat (tingkat 2) dan bergerak *non linear* (tingkat 3) tidak berbeda nyata pada semua perlakuan (P>0,05).

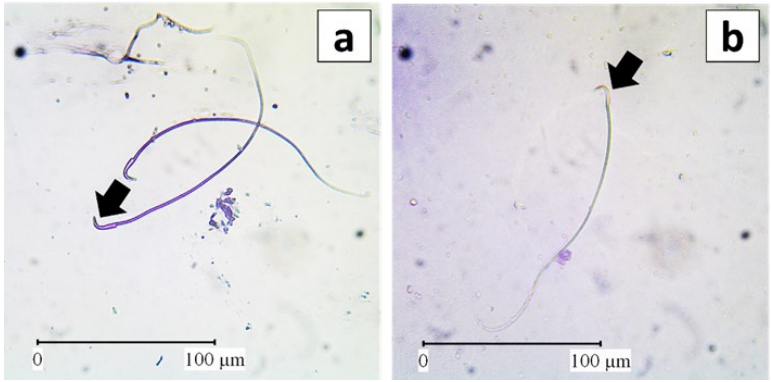
Jumlah sperma pada tikus Wistar dengan perlakuan ekstrak 100 mg/Kg BB (37,25 ± 5,69 $x10^6$ sel/ml) tidak berbeda nyata (P<0,05) dengan kontrol (49,25 ± 10,53 $x10^6$ sel/ml). Kelompok perlakuan dosis 300 mg/Kg BB menunjukan jumlah sperma yang paling rendah (20,92 ± 3,48 $x10^6$ sel/ml) dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Jumlah sperma yang hidup (terwarnai) pada dosis 100 mg/Kg BB lebih rendah dan berbeda secara nyata dibandingkan dengan kontrol (P<0,05) (Gambar 1). Presentase viabilitas sperma paling rendah ditemukan pada perlakuan dosis ekstrak 300 mg/Kg BB (34,33 ± 8,87 %). Pemberian dosis ekstrak 100 mg/Kg BB telah dapat mempengaruhi morfologi (bentuk) sperma, sehingga sperma

abnormal lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (P<0,05). Persentase sperma abnormal paling tinggi terdapat pada perlakuan dosis 300 mg/kg BB dengan beberapa kriteria seperti tanpa kait, kepala berbentuk pisang, tanpa kepala dan ekor melipat (Tabel 2).

Tabel 2. Kualitas sperma tikus Wistar setelah pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina (*Sperm quality of Wistar rats after administration of Calina papaya leaf ethanolic extract*).

Variabel (*Variable*)	Kontrol (*Aquadest*)	100 mg/kgBB (*mg/Kg BW*)	200 mg/kgBB (*mg/Kg BW*)	300 mg/kgBB (*mg/Kg BW*)
Motilitas sperma total (%) (*Sperm total motility*)	89,74±10,78^{a}	71,16± 16,67^{b}	59,53± 12,63^{b}	59,56± 12,30^{b}
Tingkat (*Grade*) 1	10,25 ± 10,77^{a}	28,8 ± 16,66^{b}	40,38 ± 12,64^{b}	40,43 ± 12,29^{b}
Tingkat (*Grade*) 2	23,61 ± 12,42	30,01 ± 17,08	30,06 ± 5,12	30,80 ± 14,61
Tingkat (*Grade*) 3	25,61 ± 15,03	26,24 ±18,18	26,24 ± 8,32	27,62 ± 14,95
Tingkat (*Grade*) 4	38,43 ± 31,78^{a}	15,48 ± 26,04^{ab}	3,24 ± 2,91^{b}	4,49 ± 8,73^{b}
Jumlah sperma (*Sperm count*) (x10^{6} sel/ml)	49,25 ± 10,53^{a}	37,25 ± 5,69^{b}	31,25± 8,16^{b}	20,92 ± 3,48^{c}
Viabilitas sperma (*Sperm viability*) (%)	89,16 ± 6,30^{a}	75,16 ± 7,70^{b}	65,33 ± 4,41^{c}	34,33 ± 8,87^{d}
Morfologi sperma normal (*Normal sperm morphology*) (%)	85 ± 3,30^{a}	74,33 ± 3,93^{b}	65,5 ± 1,97^{c}	56 ± 3,94^{d}
Morfologi sperma abnormal (*Abnormal sperm morphology*) (%)	15 ± 3,30^{a}	25,66 ± 3,93^{b}	34,5 ± 1,97^{c}	44 ± 3,94^{d}
Morfologi abnomalitas primer (*Primary abnormal morphology*)				
Tanpa kait (*without hooks*) (%)	4,50 ± 1,75^{b}	4,66 ± 2,58^{b}	5,33 ± 2,80^{b}	17,33 ± 7,47^{a}
Kepala berbentuk pisang (*like banana head*) (%)	0,50 ± 0,55^{c}	4,50 ± 3,83^{b}	1,50 ± 1,22^{c}	7,50 ± 2,07^{a}
Tanpa kepala (*without head*) (%)	0,83 ± 1,32^{c}	4,66 ± 3,14^{b}	9,166 ± 3,76^{a}	9,166 ± 3,76^{a}
Morfologi abnormalitas sekunder (*Secondary abnormal morphology*)				
Ekor terlipat (*folded tail*) (%)	9,00 ± 3,46^{b}	11,66 ± 7,22^{b}	18,50 ± 5,16^{a}	10,00 ± 3,89^{b}

Keterangan: Nilai pada baris diikuti superscript menunjukan perbedaan secara signifikan (P<0,05). Rerata ± SD. Tingkat 1 (Sperma tidak bergerak), Tingkat 2 (Sperma bergerak ditempat), Tingkat 3 (Sperma bergerak tidak linear), Tingkat 4 (Sperma bergerak progresif) (*The value in the row with superscript shows a significant difference (P<0.05). Mean ± SD. Grade 1 (immotile sperm), Grade 2 (Sperm don't move forward), Grade 3 (non-linear motility sperm), Grade 4 (progressive motility sperm)*).



Gambar 1. Morfologi sperma tikus Wistar (Pewarnaan eosin negrosin; *scale bar* 100 µm), a. sperma mati dengan kepala sperma terwarnai, b. sperma hidup dengan kepala sperma yang tidak terwarnai (*Sperm morphology of Wistar rats (eosin negrosin staining; 100 µm scale bar), a. non viability sperm with stained sperm heads, b. sperm viability with unstained sperm heads*).

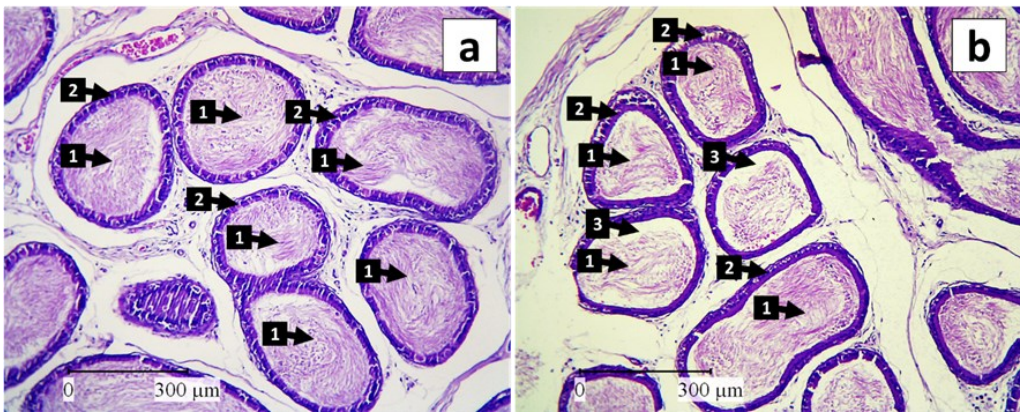
Morfologi Epididimis

Bobot epididimis dan rasio epididimis dengan bobot badan pada semua perlakuan tidak terdapat perbedaan secara nyata (P>0,05) (Tabel 3). Hasil tersebut menunjukan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina tidak mempengaruhi bobot organ epididimis maupun rasio dengan bobot badan. Pengamatan morfologi epididimis menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun pepaya Calina berbeda secara nyata (P<0,05) pada tebal sel epitel, diameter dan luas area epididimis dibandingkan dengan kontrol (Tabel 3). Sel epitel pada kelompok perlakuan ekstrak dosis 100–300 mg/KgBB cenderung mengalami pemendekan serta degradasi pada bagian silia dibandingkan dengan kontrol (P<0,05) (Gambar 3). Tabel 3 juga memperlihatkan bahwa diameter dan luas epididimis pada kelompok perlakuan ekstrak dosis 100 mg/kg BB lebih kecil dibandingkan dengan kontrol (P<0,05). Diameter dan luas epididimis yang mengecil juga diikuti dengan luasan area lumen yang besar pada dosis 100- 300 mg/Kg dibandingkan dengan kontrol (P<0,05). Lumen terlihat lebih luas dengan spermatozoa yang cenderung tidak terisi penuh (padat) (Gambar 2).

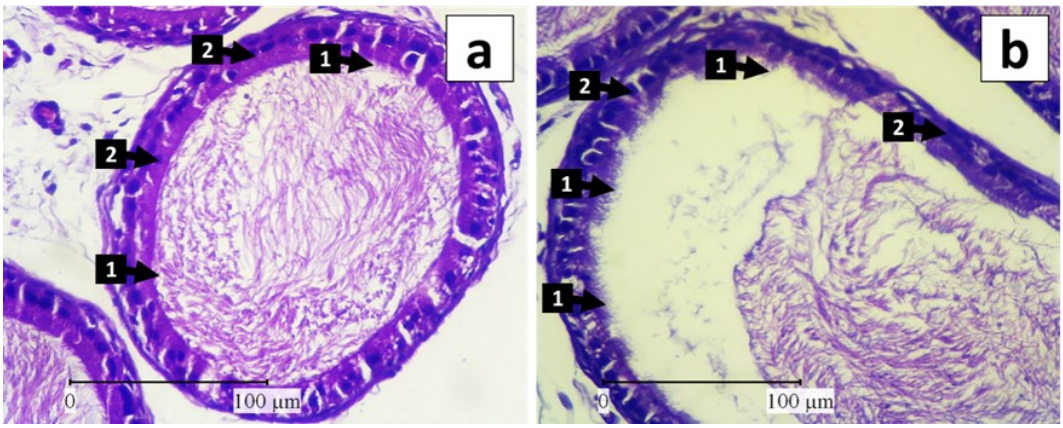
Tabel 3. Morfologi epididimis tikus Wistar setelah pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina (*Epydidimis morphology of Wistar rats after administration of Calina papaya leaf ethanolic extract*).

Variabel (*Variable*)	Kontrol (Aquadest)	100 mg/kgBB (*mg/Kg BW*)	200 mg/kgBB (*mg/Kg BW*)	300 mg/kgBB (*mg/Kg BW*)
Bobot epididimis (*Epididymal weight*) (g)	0,40 ± 0,04	0,39 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,33 ± 0,02
Rasio epididimis : bobot badan (*Epididymis : body weight ratio*) (%)	0,14 ± 0,14	0,13 ± 0,19	0,12 ± 0,20	0,11 ± 0,27
Tebal epitel epididimis (*Epididymal epithelium thickness*) (µm)	45,59 ± 2,87^{a}	30,10 ± 0,68^{b}	26,25± 0,65^{c}	24,49 ± 0,6^{c}
Luas epididimis (*Epididymal area*) (x10^{3}) (µm^{2})	83,66 ± 2,49^{a}	69,77 ± 4,4^{b}	58,73 ± 3,40^{c}	51,01 ± 2,48^{d}
Luas lumen (*Lumen area*) (x10^{3}) (µm^{2})	50,78 ± 1,59^{a}	36,27 ± 2,43^{b}	29,05 ± 1,14^{c}	27,55 ± 1,49^{c}
Diameter epididimis (*Epididymal diameters*) (µm)	301,12 ± 1,85^{a}	218,83 ± 6,25^{b}	185,61 ± 9,99^{c}	164,61 ± 15,67^{d}

Keterangan: Nilai pada baris diikuti superscript menunjukan perbedaan secara signifikan (P<0,05). Rerata ± SD (*The value in the row with superscript shows a significant difference (P<0.05). Mean ± SD*).



Gambar 2. Histologi epididimis tikus Wistar (Pewarnaan Hematoxylin eosin, *scale bar* 300 µm). a. kontrol (akuades), b. Perlakuan ekstrak etanol daun pepaya Calina, 1. Spermatozoa, 2. Epitel epididimis, 3. Lumen kosong. Beberapa lumen kosong dengan spermatozoa sedikit pada perlakuan dibandingkan dengan kontrol (*Histology of Wistar rats epididymis (Hematoxylin eosin staining, 300 m scale bar). a. control (aquadest), b. Treatment of Calina papaya leaf ethanolic extract, 1. Spermatozoa, 2. Epididymal epithelium, 3. lumen. Several lumens have fewer spermatozoa in the treatment of Calina papaya leaf extract compared to the control*).



Gambar 3. Histologi epididimis tikus Wistar (Pewarnaan Hematoxylin eosin, *scale bar* 100 µm), a. Kontrol (akuades), b. Perlakuan ekstrak etanol daun pepaya Calina, 1. Silia epitel epididimis, 2. Epitel epididimis. Perlakuan ekstrak memiliki silia yang tidak padat dengan lumen yang berisi sedikit spermatozoa dibandingkan kontrol (*Histology of Wistar rats epididymis (hematoxylin eosin staining, scale bar 100* µm*), a. Control (aquadest), b. Treatment of Calina papaya leaf ethanolic extract, 1. Epididymal cilia, 2. Epididymal epithelium The treatment of papaya leaf extraxt resulted in less dense cilia with a lumen containing fewer spermatozoa compared to the control*).

PEMBAHASAN

Senyawa antispermatogenik pada prinsipnya bekerja dengan dua cara yaitu efek sitotoksik dan efek hormonal. Salah satu efek hormonal pada antispermatogenik adalah sifat estrogenik yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen, namun tidak menstimulasi reseptor tersebut. Mekanisme tersebut menyebabkan kadar estrogen di dalam darah meningkat, sehingga menimbulkan umpan balik negatif pada hipotalamus dalam mensekresi *Gonadrotopin Releasing Hormone* (GnRH) (Alfian *et al.*, 2018). Umpan balik negatif tersebut mengakibatkan penurunan sekresi hormon GnRH, sehingga terjadi penurunan produksi hormon *Follice Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) di dalam tubuh. Penurunan FSH dan LH menyebabkan gangguan pada sel sertoli dan sel leydig yang berperan penting dalam proses spermatogenesis (Melyana *et al.*, 2016; Iryani *et al.*, 2019). Kadar hormon yang menurun menyebabkan terhambatnya proses spermatogenesis, sehingga sperma yang dihasilkan tidak fungsional dan berdampak pada penuruan kualitas sperma (Delfita, 2014). Terdapat beberapa senyawa fitokimia pada daun pepaya Calina yang bersifat antispermatogenik secara hormonal, seperti senyawa flavonoid dan saponin.

Flavonoid dan alkaloid memiliki kemampuan estrogenik dalam menghambat proses spermatogenesis secara hormonal (Susetyarini *et al.,* 2015; Iryani *et al*., 2019). Daun papaya memiliki senyawa flavonoid seperti luteolin dan flavonol (Keiler *et al.,* 2021). Senyawa tersebut menyebabkan terhambatnya pelepasan LH dan FSH pada hipofisis anterior, sehingga mempengaruhi fungsi dari sel leydig dalam memproduksi testosteron (Algazheer *et al.,* 2020). Kadar testosteron yang rendah akan mempengaruhi proses pematangan sperma di dalam tubulus seminiferous dan epididimis (Laili, 2017). Terganggunya proses pematangan sperma dapat menyebabkan penurunan fungsi sel, seperti menurunnya viabilitas dan bentuk morfologi sperma (Oguejiofor *et al.,* 2020).

Pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina dapat menurunkan produksi hormon testosteron dan menghambat diferensiasi sel, sehingga meningkatkan morfologi spermatozoa yang abnormal. Diferensiasi spermatozoa yang tidak sempurna menyebabkan jumlah sperma yang mati meningkat dan mengalami apoptosis, hal tersebut dapat menurunkan jumlah sperma di dalam epididimis (Tjiphanata *et al*., 2017; Delfita, 2014). Flavonoid diduga menekan sekresi testosteron dan *Androgen Binding Protein* (ABP) yang dihasilkan sel sertoli. Penurunan sekresi tersebut mengakibatkan kadar hormon testosteron yang dibawa oleh sel sertoli menuju epididimis menurun. Testosteron dan ABP yang terganggu mempengaruhi perubahan ultrastruktur, metabolisme sel dan menyebabkan meningkatnya morfologi sperma yang abnormal serta menurunkan viabilitas sperma (Pranoto, 2018). Morfologi sperma yang abnormal seperti tanpa kait, tanpa kepala, kepala sperma berbentuk pisang atau ekor melipat akan mempengaruhi motilitas (kemampuan gerak) sperma (Setiawan *et al.,* 2020). Ekstrak etanol daun pepaya Calina mampu menganggu diferensiasi sel sperma dengan meningkatkan jumlah morfologi abnormal, menurunkan viabilitas dan jumlah sperma tikus wistar selama 30 hari.

Saponin pada daun pepaya dapat menurunkan ukuran tubulus seminiferous dan menganggu mekanisme spermatogenesis pada tikus secara hormonal (Purushothaman *et al.,* 2020). Terhambatnya proses spermatogenesis mempengaruhi produksi jumlah sel sperma, sehingga berpengaruh pada rerata jumlah sperma tikus pada kelompok pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina (Cholifah *et al.,* 2014). Spermatogenesis yang terganggu juga dapat menurunkan viabilitas sperma di dalam epididimis (Julia *et al*., 2019). Saponin dapat menurunkan aktivitas hormon testosteron dalam pematangan sel spermatozoa, sehingga Jumlah sel sperma yang menurun menyebabkan penyusutan ukuran dan perubahan morfologis epididimis. Lumen epididimis terlihat lebih kosong tanpa sel spermatozoa yang terisi penuh. Hal tersebut juga dapat memicu degenerasi sel, sehingga mempengaruhi struktur silia dan penurununan ketebalan sel epitel pada epididimis. Diduga bahwa saponin yang terdapat pada ekstrak daun papaya Calina dapat menurunkan viabilitas dan jumlah sperma, serta menurunkan ketebalan epitel pada epididimis tikus Wistar.

Ekstrak etanol daun pepaya Calina diduga memiliki efek sitotoksik dalam menurunkan kualitas sperma dan morfologi epididimis tikus Wistar. Efek sitotoksik yang ditimbulkan yaitu dengan cara dan menganggu permeabilitas membran dan sirkulasi ion pada membrane sel sperma (Setiawan dan Yunianto, 2015; Nita *et al.,* 2019). Kandungan senyawa alkaloid dan saponin di dalam ekstrak daun pepaya diduga mampu menurunkan motilitas sperma secara sitotoksik (Wuwungan *et al.,* 2017). Adanya senyawa alkaloid di dalam ekstrak daun pepaya mampu mengganggu aktivitas enzim ATP-ase, sehingga energi yang digunakan dalam kontraksi fibril akan berhenti dan menurunkan kemampuan motilitas sperma (Melyana *et al.*, 2016). Sperma immotil ditemukan lebih banyak pada perlakuan pemberian ekstrak dibandingkan dengan kontrol. Alkaloid juga dapat menghambat perkembangan dan fungsi dari sel leydig. Alkaloid dapat menghambat aktifitas antioksidan di dalam sel leydig, sehingga menurunkan produksi testosteron dan menganggu spermatogenesis (Ruspawan *et al.,* 2021).

Saponin memiliki sifat sitotoksik terhadap sel yang sedang berkembang (proliferasi) dan menganggu permiabilitas membran sel (Alfian *et al*., 2018). Rusaknya membran plasma menyebabkan material intraseluler keluar dari sel. Permiabilitas membran sel sangat berkaitan erat dengan transportasi nutrisi dan metabolisme sel untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel sperma (Rohmah *et al*., 2018). Permeabilitas membran sel yang rusak dapat menurunkan kemampuan hidup sperma, sehingga viabilitas sperma menurun (Tjiphanata *et al.*, 2017; Julia *et al.*, 2018; A'ayun dan Laily, 2015). Hal tersebut menyebabkan penurunan motilitas dan jumlah sel sperma, serta terdapat banyak lumen kosong di dalam epididimis (Setiawan *et al.,* 2020). Mekanisme antispermatogenik secara sitotoksik tidak terlalu menunjukan pengaruh secara dominan, karena hanya beberapa senyawa yang berperan terhadap sitotoksik seperti saponin dan alkaloid. Efek sitotiksik yang tidak terlalu dominan juga diperlihatkan dengan bobot badan dan bobot epididimis yang tidak mengalami penurunan secara signifikan antar perlakuan. Efek antispermatogenik secara hormonal lebih dominan, disebabkan beberapa kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin dan alkaloid cenderung menghambat mekanisme siklus hormonal pada sistem reproduksi tikus Wistar jantan.

KESIMPULAN

Pemberian variasi dosis ekstrak etanol daun pepaya Calina dapat menurunkan kualitas sperma dan menurunkan tebal epitel, diameter dan luas epipidimis. Ekstrak etanol daun pepaya Calina memiliki potensi sebagai kandidat agen antifertilitas alami pada pria. Saran dari penelitian ini adalah diperlukan uji hormon testosteron, untuk mengetahui efek hormonal yang ditimbulkan dari pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina terhadap kualitas sperma dan morfologi epididimis tikus Wistar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Ahmad Dahlan yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

A'yun, Q. dan Laily, A., 2015. Analisis fitokimia daun pepaya (*Carica papaya* L.) di Balai Penelitian tanaman aneka kacang dan umbi, Kendalpayak, Malang. *Karya Ilmiah*. Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim Malang. Malang. pp. 134–137.

Afiati, F., Yulnawati., Riyadi, M. and Arifiantini, R.I., 2015. Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi penampungan berbeda. *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indo*, *1*(4), pp. 930–934.

Alfian, M.A.J., Sitasiwi, A. dan Djaelani., 2018. Efek antifertilitas ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap jumlah dan diameter Folikel de graff Mencit. *Jurnal Pro-life*, *5*(1), pp. 476–485.

Alghazeer, R., Elgahmasi, S., Aljazzaf, B., Alansari, W.S., Al-Griw, M., Sidati, M., Altarrah, D., elhensheri, M. and Elnfati, A.H.,

2020. Investigation of the potential anti fertility activity of A*rbutus pavarii* in male mice. *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*, *77* (5), pp. 725–735.

BPS., 2019. *Statistik Indonesia Statistical Yearbook of Indonesia*. https://www.bps.go.id/publication/2019/07/04/daac1ba18cae1e90706ee58a/statistik-indonesia-2019.html diakses pada 29 Oktober 2019 pukul 20.30 WIB.

Cholifah, S. dan Arsyad, S., 2014. Pengaruh pemberian ekstrak pare (*Momordica Charantia*, L) terhadap struktur histologi testis dan epididimis tikus jantan (*Rattus Norvegicus*) Spraque Dawley®. *MKS, 46*(2), pp. 149–157.

Delfita, R., 2014. Potensi antifertilitas ekstrak teh hitam pada mencit (*Mus musculus* L.) jantan. *Jurnal Saintek, 6*(2), pp. 181–188.

Hasanah, W. dan Sukarjati., 2016. Pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak daun mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* dan campuran ekstrak biji pepaya dan ekstrak daun mimba terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus Musculus*). *Wahana*, *67*(2), pp. 59–68.

Iryani, T., Carolia, N. and Saftarina., 2019. The effect of oral leunca fruti (*Solanum Nigrum* L.) ethanol extract to decrease sperma count of white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley Strain. *Medula*, 9(1), pp. 99–101.

Julia, D. dan Nita, S., 2019. Pengaruh ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*) terhadap jumlah, motilitas, viabilitas spermatozoa tikus jantan (*Rattus Norvegicus*). *Biomedical Journal Indoneisa , 5*(1), pp. 34–42.

Keiler, A.M., Frühauf, A., Aderhold, A., Kiene, F., Zierau, O., Chalkiadaki, M., Nikou, T., Halabalaki, M., Monizi, M., Neinhuis, C., and Lautenschläger, T., 2021. Investigation of in vitro lactogenic action of selected Angolan plants ethnobotanically described to affect human breast milk. *Journal of Medicinal Plants Studies*, *9*(4), pp. 92–99.

Laili, N., 2017. Penurunan pergerakan spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) yang diinduksi ekstrak etanol daun pepaya. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, *17*(2), pp. 390–395.

Madan, Z., 2013. Effect of ethanol extract of Carica papaya seeds on the histology of the epididymis of adult male albino mice. *International Journal of Scientific and Research Publications*, *3*(12), pp. 1–5.

Melyana, Y., Sudiastusi. dan Nugroho, R.A., 2016. Pengaruh rebusan daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.). *Bioprospek, 11*(2), pp. 32–40.

Oguejiofor, C.F., Eke, I.G. and Anya, K.O. 2020. Antifertility effects of *Azadirachta indica* methanol seed extract on canine spermatozoa in vitro. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. *9* (3), pp. 135–141.

Parhizkar, Sadaat, S., Maryam, J.Y. and Muhammad, A.D., 2013. Effect of *Paleria macrocarpa* on Sperm Characterisics in Adult Rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *3*(2), pp. 345–352.

Pranoto, H., 2018. Kualitas Spermatozoa dan Index Fertilitas Tikus Putih Dewasa (*Rattus novergicus* L.) setelah pemberian ekstrak daun wungu (*Graptophyllum pictum*. L. Grifft). *Biolink*, *4*(2), pp.162–169

Purushothaman, M., Soujanya, H., Jagadeeshwari, S. and Kumar, S.K., 2020. Analysis of papaya plant sample for antispermatogenic properties. *Int. J Pharm. Int. Biosci*. *5*(2), pp.41–43.

Putri, D. dan Ashari, S., 2018. Keragaman dua varietas pepaya (*Carica papaya* L.) berdasarkan karakter kuantitatif dan kualitatif. *Jurnal Produksi Tanaman*, *6*(7), pp. 1282–1287.

Qasim, S., Mushtaq, A. and Sarwat, J., 2018. Antifertility effect of methanolic leaf extract of Chenopodhium ambrosioides Hook. In Male Sprague Dawley Rats. *Andrologia*, *50*(10), pp.1–11.

Rohmah, L., Triana, I.N., Sunarso, A., Susilowati., Nove, H. dan Kurnijasanti, R., 2018. Pengaruh pemberian ekstrak kulit semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa tikus (*Rattus Norvegicus*) dengan paparan panas. *Ovozoa, 7*(2), pp.131–136.

Ruspawan, D.M., Bakta, I.M., Karmaya, I.N.M., Satriyasa, B.K. and Arijana, I.G.K.A., 2021. Ethanol extract of young papaya seeds (*Carica Papaya*, L) lower the level of testosterone, spermatozoa count and expression of androgen receptors in sertoli cells of adult mice (*Mus Musculus*). *Biomedical and Pharmacology Journal*, *14*(1), pp.207–213.

Setiawan, H. dan Yunianto, I., 2015. Aktivitas antispermatogenik ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap mencit (*Mus musculus*) sebagai materi pembelajaran Siswa SMA Kelas XI IPA untuk Mencapai KD 13.2 Kurikulum 13. *JUPEMASI-PBIO*, *1*(2), pp.212–218.

Setiawan, H., Maliza, R., Maulana, S.A. and Hisbullah, M.I., 2020. The effect of coffee fruit skin extract on sperm characteristics and testicular of mice with ethanol-induced. *Jurnal Biodjati 5*(2), pp. 259–270.

Setiawan, H., Wulandari, S.W. and Agustina, E.D., 2021. Antispermatogenic activity of ethanolic leaves extract of Calina Papaya on seminiferous tubules wistar tats.

Jurnal Kedokteran Hewan, *15*(1), pp. 21–26.

Siti, C., Arsyad. dan Salni., 2014. Pengaruh pemberian ekstrak pare (*Momordica Charantia* L.) terhadap struktur histologi testis dan epididimis tikus jantan (*Rattus Norvegicus*) Spraque Dawley. *MKS, 46*(2), pp. 146–155

Susetyarini, E., Fatmawati, D. and Miharja, F.J., 2015. The correlation between testosterone and spermatogenic cell on male wistar rats (*Ratus norwegicus*) after the treatment of active compunds of *Pluchea Indica*. *Adv. Environ. Biol.*, *9*(23), pp. 261–266.

Tjipanata, S., Queljoe, E.D. dan Sudewi, S., 2017. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun dadap ayam (*Erythrina variegate* L.) terhadap kualitas sperma tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmacon, 6*(3), pp. 91–98.

Wijayanti, D.N., Muslichah, S. dan Puspitasari, E., 2016. Pengaruh pemberian metanol biji pepaya tua dan ekstrak metanol biji pepaya muda (*Carica papaya L.*) terhadap kualitas dan kuantitas spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*). *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, *4*(3), pp. 495–500

Wuwungan., Queljo, E.D. dan Wewengkang., 2017. Kualitas spermatozoa tikus putih jantan galur wistar (Rattus norvegicus) setelah pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.). *Pharmacon, 6*(3), pp. 324–331.

Wyrobek, A.J. dan W.R., Bruce., 1975. Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci*, *72*(11), pp. 4425–4429.

Yohanes, E.G., Agus, H. dan Suatma., 2011. Efek ekstrak buah *Flagellaria indica* L. terhadap kualitas sperma dan penampilan histologi Tubulus Seminiferus Mencit Swiss Webster A. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, *4*(2), pp. 1–7.