

**EFEK ANTIFERTILITAS FRAKSI N-HEKSANA, FRAKSI KLOOROFORM
DAN FRAKSI METANOL BIJI SAGA (*Abrus precatorius* L.) dan BIJI
PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP TIKUS JANTAN GALUR WISTAR**

Siti Muslichah*, Wiratmo*

Sumber Dana : BOPTN/DIPA UNEJ Tahun Anggaran 2013

- *Fakultas Farmasi Universitas Jember

ABSTRAK

Biji saga (*Abrus precatorius*) dan biji pepaya (*Carica papaya*) merupakan tanaman yang secara tradisional digunakan sebagai kontrasepsi pria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antifertilitas dari fraksi n-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi methanol biji saga dosis 75 mg/kg bb, dan fraksi-fraksi yang sama dari biji pepaya dosis 100 mg/kg bb yang diberikan pada tikus jantan galur Wistar. Parameter yang digunakan adalah jumlah, motilitas, morfologi, viabilitas sperma, bobot organ reproduksi, dan kadar testosteron. Semua bahan uji diberikan selama 20 hari secara peroral. Data jumlah, kualitas sperma, bobot organ reproduksi, dan kadar testostosterone diuji secara statistik menggunakan Anava dilanjutkan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil peneltian menunjukkan bahwa pemberian fraksi-fraksi biji saga dosis 75 mg/kg bb memberikan penurunan yang signifikan terhadap jumlah dan kualitas sperma dan kadar testosteron, serta bobot epididimis, prostat dan vesika seminalis, namun yang paling efektif adalah fraksi methanol. Pemberian fraksi-fraksi biji pepaya memberikan penurunan yang signifikan pada jumlah dan kualitas sperma, namun tidak menurunkan kadar testosteron dan bobot organ reproduksi kecuali pada fraksi kloroform. Secara umum fraksi biji pepaya yang paling efektif sebagai antifertilitas adalah fraksi kloroform dosis 100 mg/kg bb.

Kata kunci: antifertiltas, kualitas sperma, kadar testosteron, biji saga, biji pepaya

**EFEK ANTIFERTILITAS FRAKSI N-HEKSANA, FRAKSI KLOOROFORM
DAN FRAKSI METANOL BIJI SAGA (*Abrus precatorius* L.) dan BIJI
PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP TIKUS JANTAN GALUR WISTAR**

Siti Muslichah*, Wiratmo*

Sumber Dana : BOPTN/DIPA UNEJ Tahun Anggaran 2013

Kontak Email : siti.m3@gmail.com

*Fakultas Farmasi Universitas Jember

Latar Belakang

Meningkatnya populasi manusia di seluruh dunia utamanya di negara berkembang dan terbelakang akan mempengaruhi sistem kehidupan di bumi. Pengaturan kesuburan melalui kontrasepsi dan manajemen infertilitas merupakan komponen penting kesehatan reproduksi (Allag and Rangari, 2002). Program Keluarga Berencana (KB) telah dicanangkan oleh pemerintah sebagai program nasional. Salah satu usaha yang telah dilakukan dalam program KB adalah penyediaan sarana kontrasepsi.

Sarana kontrasepsi lebih banyak ditujukan pada kaum wanita, sedangkan pada pria pilihannya masih sangat terbatas. Metode kontrasepsi pria yang ada saat ini antara lain adalah pantang berkala, kondom, senggama terputus dan vasektomi (Sumaryati, 2004). Hal ini merupakan salah satu alasan rendahnya partisipasi pria dalam program KB (Wilopo, 2006). Salah satu usaha untuk meningkatkan peran pria dalam program KB adalah dengan jalan mencari metode kontrasepsi pria yang dapat diterima dan memenuhi syarat kontrasepsi yang ideal, yaitu bersifat reversibel, efektif dan tidak menimbulkan efek samping (Prajogo *et al.*, 2003; Wilopo, 2006).

Biji saga (*Abrus precatorius*) dan biji pepaya (*Carica papaya*) merupakan bahan alam yang berpotensi sebagai obat kontrasepsi pria. Dari beberapa penelitian menunjukkan ekstrak biji saga yang diberikan pada tikus dapat menurunkan jumlah dan motilitas sperma serta berpengaruh pada perubahan morfologi sperma, terjadinya

penurunan bobot testis dan terganggunya proses spermatogenesis yang dikaitkan dengan penurunan fertilitas (Kulshrestha and Mathur, 1990). Ekstrak biji pepaya juga memberikan efek antifertilitas pada binatang percobaan. Lohiya *et al.* (2005) melaporkan bahwa ekstrak metanol biji pepaya muda mempunyai efek antifertilitas. Lohiya *et al.* (2002) juga menyatakan bahwa ekstrak kloroform biji pepaya mempunyai efek azoospermia yang bersifat reversibel pada kelinci. Karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antifertilitas ekstrak biji saga dan biji pepaya yang dipartisi dengan n-heksana, kloroform dan metanol.

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui efek fraksi n-heksana, kloroform, dan metanol biji saga terhadap kualitas dan kuantitas sperma tikus jantan, kadar testosteron serta bobot organ reproduksi.
2. Untuk mengetahui efek fraksi n-heksana, kloroform, dan metanol biji pepaya terhadap kualitas dan kuantitas sperma tikus jantan, kadar testosteron serta bobot organ reproduksi.
3. Untuk mengetahui fraksi yang paling aktif dalam memberikan efek antifertilitas dari biji saga dan biji pepaya

Metodologi Penelitian

Biji saga dikeringkan, biji yang sudah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk., kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol sekitar 2,5 liter. Setelah 24 jam metanol ekstrak biji papaya dipisahkan dengan cara disaring, kemudian pada residu/ ampas ditambahkan pelarut metanol yang baru untuk proses ekstraksi berikutnya. Proses ekstraksi ini dilakukan berulang kali sampai semua komponen senyawa/metabolit sekunder terekstraksi. Ekstrak yang diperoleh dipartisi berturut-turut dengan n-heksana, kloroform, dan metanol. Perlakuan ini dilakukan juga untuk biji pepaya. Semua fraksi lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Sebanyak 35 ekor tikus jantan galur Wistar dikelompokkan secara *simple random sampling* menjadi 7 kelompok yang masing-masing 5 ekor tikus. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 diberikan fraksi n-heksana dari ekstrak metanol biji saga peroral dengan dosis 75 mg/kg BB/hari selama 20 hari, kelompok perlakuan fraksi kloroform biji saga dosis 75 mg/kg BB selama 20 hari, kelompok perlakuan fraksi methanol dengan dosis 75 mg/kg BB selama 20 hari, kelompok perlakuan fraksi n-heksan biji pepaya dengan dosis 100 mg/kg BB selama 20 hari, kelompok perlakuan fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kg BB, kelompok perlakuan fraksi methanol dosis 100 mg/kg BB.

Sediaan uji diberikan secara peroral sesuai dosis selama 20 hari. Pemberian dilakukan pada pagi hari antara pukul 08.00 - 09.00. Setelah 20 hari, tikus dianestesi dengan kloroform untuk selanjutnya dibedah, diambil darahnya melalui jantung untuk pemeriksaan kadar testosteron dan dilakukan pengujian parameter antifertilitas yang meliputi :

a. Penimbangan bobot testis, epididimis, vesika seminalis dan prostat tikus galur Wistar

Dilakukan pembedahan pada tikus dengan membuka isi perut sehingga nampak prostat dan vesika seminalis. Testis dibuka dengan cara membuka skrotum dan menariknya dari lapisan pembungkusnya. Testis, epididimis, vesika seminalis dan prostat dipisahkan dari jaringan lainnya lalu ditimbang dan dihitung persentase beratnya terhadap berat badan tikus. Pada kauda epididimis yang telah ditimbang selanjutnya disayat dan dihisap dengan pipet hematokrit untuk pengambilan dan pemeriksaan spermatozoa.

b. Prosedur perhitungan jumlah spermatozoa tikus galur Wistar

Jumlah spermatozoa dihitung dengan cara menghisap spermatozoa dari kauda epididimis memakai pipet hematokrit sampai tanda 0,5 lalu diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis sampai tanda 101 (pengenceran 200 kali), dan pipet dikocok. Beberapa tetes spermatozoa dari pipet hematokrit diteteskan terlebih dahulu pada tisu, kemudian diteteskan pada hemositometer yang sudah ditutup dengan kaca penutup, kemudian dilakukan pengamatan dan perhitungan spermatozoa dengan

menggunakan mikroskop (Kuel-ying, *et al.*, 2008). Jumlah spermatozoa dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah spermatozoa terhitung} \times 200 \times 10^4 = \text{juta/ml}$$

c. Pengamatan abnormalitas spermatozoa tikus galur Wistar

Melihat abnormalitas spermatozoa dengan cara 50 mikroliter cairan spermatozoa diteteskan pada kaca obyek dan ditambahkan 50 mikroliter larutan eosin-negrosin lalu ditutup dengan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali untuk mengetahui apakah ada kelainan pada bentuk kepala dan ekor terhadap terhadap 100 sperma dengan 6 lapang pandang yang secara berurutan digeser dari kiri ke kanan, lalu dihitung persentase jumlah spermatozoa yang abnormal.

d. Pengamatan motilitas spermatozoa tikus galur Wistar

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan segera ketika spermatozoa diambil dari kauda epididimis, karena kalau terlalu lama dikhawatirkan spermatozoa akan mati. Motilitas spermatozoa diamati dan dihitung terhadap 100 sperma dengan 6 lapang pandang yang secara berurutan digeser dari kiri ke kanan lalu dihitung persentase spermatozoa yang motil. Kategori spermatozoa yang motil adalah jika spermatozoa bergerak cepat dan lurus ke depan (WHO, 2010).

4.4 Pengukuran kadar testosterone dengan metode ELISA

Pada akhir perlakuan darah tikus diambil sebanyak 2 ml dengan mikrohematokrit dari jantung, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel darah tersebut dibiarkan pada suhu kamar selama 1 jam. Tabung reaksi tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serumnya. Serum diambil dan ditampung dalam tabung 1,5 ml untuk pengukuran kadar testosteron. Pengukuran kadar testosteron menggunakan metode ELISA dengan prosedur mengikuti instruksi manual dari pembuat kit testosteron .

Hasil dan Pembahasan

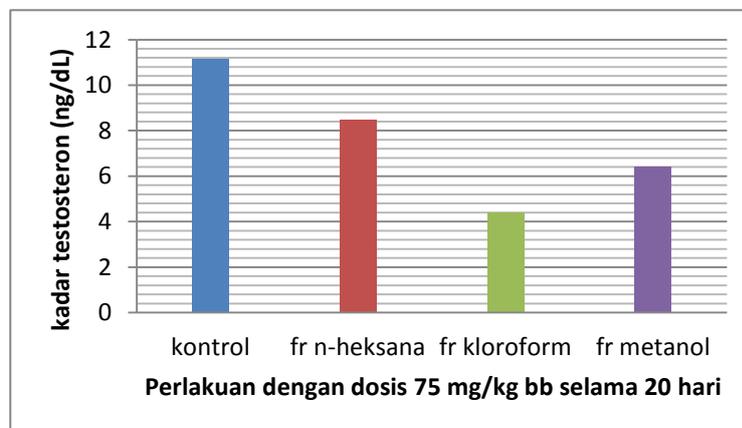
a. Hasil pengujian pada fraksi-fraksi biji saga

Penurunan jumlah sperma yang signifikan didapatkan pada penghitungan jumlah sperma yang diambil dari kauda epididimis akibat pemberian biji saga dalam berbagai fraksi dengan dosis 75 mg/kg bb dibandingkan kontrol yaitu berturut-turut dari kontrol $59,60 \pm 6,39$, $17,80 \pm 1,92$, $14,00 \pm 2,24$, $9,00 \pm 3,16$ (juta/ml). Begitu juga motilitas sperma terdapat perbedaan yang signifikan dibandingkan kontrol ($65,40 \pm 6,46$, $10,80 \pm 5,40$, $7,40 \pm 5,18$, $3,40 \pm 1,67$). Terdapat perbedaan yang signifikan terhadap morfologi (abnormalitas) serta viabilitas sperma akibat pemberian biji saga sebagaimana Tabel 1.

Tabel 1. Morfologi dan Viabilitas sperma tikus akibat pemberian biji saga selama 20 hari

Parameter	Kontrol	Fraksi n-heksana	Fraksi Kloroform	Fraksi metanol
Morfologi (%)	$13,2 \pm 1,30^e$	$24,00 \pm 4,18^f$	$32,00 \pm 6,52^{gh}$	$37,60 \pm 5,59^h$
Viabilitas (%)	$6,40 \pm 2,70^a$	$28,00 \pm 6,16^{bc}$	$31,00 \pm 6,96^c$	$43,00 \pm 2,92^d$

Untuk pengukuran kadar testosteron juga terjadi penurunan yang signifikan dibandingkan kontrol sebagaimana Gambar 1.



Gambar 1. Histogram purata kadar testosteron akibat pemberian biji saga

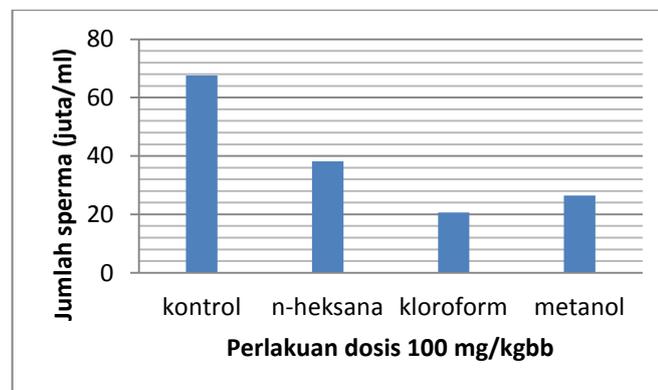
Pengaruh pemberian fraksi-fraksi biji saga terhadap bobot organ reproduksi terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bobot organ reproduksi akibat pemberian biji saga selama 20 hari pada tikus

Perlakuan	Bobot Organ (gram)		
	Testis	Epididimis	Vesika seminalis dan prostat
Kontrol	2,09 ± 0,21	0,69 ± 0,12 ^a	1,21 ± 0,24 ^a
Fraksi n-heksana	2,16 ± 0,19	0,48 ± 0,12 ^b	0,75 ± 0,36 ^b
Fraksi kloroform	2,03 ± 0,22	0,49 ± 0,04 ^b	0,76 ± 0,25 ^b
Fraksi metanol	2,28 ± 0,21	0,59 ± 0,06 ^{ab}	0,96 ± 0,19 ^{ab}

b. Hasil pengujian pada fraksi-fraksi biji pepaya

Penurunan jumlah sperma yang signifikan didapatkan pada penghitungan jumlah sperma yang diambil dari kauda epididimis akibat pemberian biji pepaya dalam berbagai fraksi dengan dosis 100 mg/kg bb dibandingkan kontrol sebagaimana Gambar 3. Begitu juga motilitas sperma terdapat perbedaan yang signifikan dibandingkan kontrol. Terdapat perbedaan yang signifikan terhadap morfologi (abnormalitas) serta viabilitas sperma akibat pemberian biji saga sebagaimana Tabel 3.



Gambar 3. Jumlah sperma tikus setelah pemberian biji pepaya

Tabel 3. Data Morfologi dan Viabilitas sperma tikus akibat pemberian biji pepaya

Parameter	Kontrol	Fraksi n-heksana	Fraksi Kloroform	Fraksi metanol
Morfologi (%)	22,4 ± 7,40 ^a	25,20 ± 3,27 ^a	46,80 ± 5,40 ^b	38,00 ± 3,16 ^c
Viabilitas (%)	22,0 ± 1,00 ^e	34,80 ± 8,42 ^f	55,60 ± 8,99 ^g	40,4 ± 5,03 ^h

Untuk pengukuran kadar testosteron tidak terdapat perbedaan yang signifikan dibandingkan control kecuali pada fraksi kloroform.

Dari data-data di atas dapat dilihat bahwa semua fraksi baik pada biji saga maupun biji pepaya memberikan efek antifertilitas dengan kekuatan yang berbeda-beda. Hal ini diduga karena senyawa aktif didalam biji saga dan biji pepaya yang berefek antifertilitas bukan senyawa tunggal. Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan masing-masing fraksi dengan kromatografi berdasarkan aktivitas ini masih diperlukan. Efek antifertilitas ini kemungkinan terkait dengan kandungan yang ada pada biji saga yaitu saponin, abrin, flavonoid, steroid, dan tannin yang terlarut pada pelarut yang berbeda dan memberikan efek yang berbeda pula dalam menurunkan kuantitas maupun kualitas sperma. Begitu juga kandungan enzim, alkaloid, protein, dan senyawa lain dalam biji pepaya kemungkinan berpengaruh menurunkan kualitas dan kuantitas sperma tikus jantan dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Kesimpulan dan Saran

Fraksi aktif dari biji saga yang memberikan efek optimal adalah fraksi methanol dosis 75 mg/kg bb, sedangkan fraksi yang paling aktif dari biji pepaya adalah fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kg bb.

Masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif berdasarkan aktifitas antifertilitas masing-masing fraksi.

Kata Kunci: antifertilitas, kualitas sperma, kadar testosteron, biji saga, biji pepaya

Daftar Pustaka

- Allag LS, and Rangari K, 2002, Extragenomic Action of Steroids on Spermatozoa, Prospect for Regulation of Fertility, *Health Popul*, 25(1):38-44
- Chinoy NJ, D'Souza JM, Padman P, 1994, Effect of Crude Aqueous Extract of *Carica papaya* Seed Extract on Male Albino Mice, *Reprod Toxicol*, 8:75-80
- Hamman WO, Musa SA, Ikyembe DT, Umana UE, Adelaiye AB, Nok AJ, and Ojo SA, 2011, Ethanol Extract of *Carica papaya* Seeds Induces Reversible Contraception in Adult Male Wistar Rats, *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 2(5): 257-261
- Lohiya, NK, Goyal RB, Jayaprakash, D, Ansari, AS., Sharma, S., 1994, Antifertility Effects of Aqueous Extract of *Carica papaya* Seed in Male Rats, *Planta Med*, 60:400-4
- Lohiya NK, Kothari LK, Manivannan B, Mishra PK, & Pathak N, 2000, Human Sperm Immobilization Effect of *Carica papaya* Seed Extracts an In Vitro Study, *Asian J of Androl*, 2 : 103-109
- Lohiya NK, Manivannan B, Mishra PK, Pathak N, Sriram S, Bhande SS, Panerdoss, S., 2002 Chloroform Extract of *Carica Papaya* Seeds Induces Long-Term Reversible Azoospermia In Langur Monkey. *Asian J of Androl*, 4 (1): 17- 26,
- Lohiya, N.K., Pradyumna, K., Mishra, N., Pathak, B., Manivannan, S., Bhande, S., Panneerdoss and Sriram, S. 2005. "Efficacy Trial on The Purified Compound of The *Carica Papaya* for Male Contraception In Albino Rat". *Reproductive Toxicology*. Vol. 20 : 135-148
- Pathak N, Mishra, PK, Manivanan, B., Lohiya, NK, 2000, Sterility due to Inhibition of Sperm Motility by Oral Administration of Benzene Chromatographic Fraction of The chloroform Extract of The Seed of *Carica Papaya* in Rat, *Phytomedicine*, 7:325-33
- Prajogo, B., Widjiati dan Tandjung, M., 2003, Pengaruh Fraksi Polifenol *Gendarussa vulgaris* Nees pada Penurunan Aktivitas Hialuronidase Spermatozoa Mencit melalui Uji Fertilisasi in Vitro, *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*; 4 (1)
- Partodihardjo, S., 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara Jakarta
- Ratnasooriya WD, Amarasekera AS, Perera NSD, and Premakumara GAS, 1991, Sperm Antimotility Properties of a Seed Extract of *Abrus precatorius*, *J Ethnopharmacology*, 38:85-90

- Satriyasa, BK., tanpa tahun, Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Biji Pepaya Muda dapat menghambat Spermatisit Primer Pakhiten Mencit Jantan (*Mus musculus*), Laporan Penelitian
- Sinha R, 1990, Post Testicular Antifertility Effects of *Abrus precatorius* Seed Extract in Albino Rats, *J Ethnopharmacology*, 28(2), 173-181
- Sumaryati A. Tahun Ini KB Pria Mulai Digalakkan. Badan Koordinator Keluarga Berencana Nasional 2004. Available from: http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php.
- Sutyarso, Soeradi, Suhana, Nur Asikin. 1992, Pengaruh Fraksi Buah Pare Terhadap Perkembangan Sel-sel Spermatogenik Tubulus Seminiferus Mencit Jantan dan Masa Pemulihannya. *Maj. Kedok Indonesia*. 1992; Vol. 42. No. 7.
- Toelihere, M.R., 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Angkasa Press
- Wilopo SA. Perkembangan Teknologi Kontrasepsi Pria Terkini. Gema Pria 2006. Available from: <http://pikas.bkkbn.go.id/gemapria/articledetail> php.
- Winarno dan Dian, 1997, Informasi Tanaman untuk Kontrasepsi Tradisional, Depkes. Jakarta