



Contents list available at JKP website

Jurnal Kesehatan Perintis

Journal homepage: <https://jurnal.upertis.ac.id/index.php/JKP>



Ekstrak Air Buah Pepaya Muda (*Carica papaya.L*) terhadap Gambaran Folikel Sekunder, De Graaf dan Korpus Luteum Ovarium Tikus Betina (*Rattus norvegicus*)

Okti Satria*, Wira Meiriza

Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Perintis Indonesia, Sumatra Barat, Indonesia

Article Information :

Received 25 May 2024; Accepted 29 June 2024; Published online 30 June 2024

*Corresponding author: user.chiot@gmail.com

ABSTRAK

Pepaya mengandung polisakarida, alkaloid, saponin, flavonoid yang diduga mampu mengakibatkan gangguan jalur hipotalamus hipofise yang mengakibatkan gangguan sekresi GnRH yang berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya L.*) terhadap gambaran folikel sekunder, folikel de graaf dan korpus luteum ovarium tikus betina (*Rattus norvegicus*). Jenis penelitian adalah eksperimental dengan desain *Post Test Only Control Group*. Jumlah sampel sebanyak 24 ekor tikus betina berumur 12 minggu, berat 200-300 gram, dibagi secara acak dalam 4 kelompok. Setiap kelompok dilebihkan 2 ekor untuk mengantisipasi terjadi kematian, sehingga jumlah seluruh sampel 32 ekor. Kelompok (K-) tanpa diberikan perlakuan. Kelompok (P1) diberi ekstrak air buah pepaya muda 47 mg/200 gr BB. Kelompok (P2) diberi ekstrak air buah pepaya muda 93 mg/200 gr BB. Kelompok (P3) diberi ekstrak air buah pepaya muda 189 mg/200 gr BB. Setelah 20 hari perlakuan, dilakukan perhitungan jumlah folikel sekunder, folikel *de graaf* dan korpus luteum. Hasil analisis statistik menggunakan uji ANOVA dan *Kruskal-Wallis* didapatkan tidak ada pengaruh secara signifikan pemberian ekstrak air buah pepaya muda terhadap jumlah folikel sekunder ($p = 0,083$), tidak ada pengaruh secara signifikan pemberian ekstrak air buah pepaya muda terhadap jumlah folikel de graaf ($p = 0,069$), ada pengaruh pemberian ekstrak air buah pepaya muda terhadap jumlah korpus luteum ($p = 0,000$). Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian ekstrak air buah pepaya muda tidak berpengaruh terhadap jumlah folikel sekunder dan folikel de graaf, namun berpengaruh terhadap jumlah korpus luteum dengan dosis 189 mg/200 grBB.

Kata kunci : Ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya L.*), folikel sekunder, de graaf, korpus luteum, tikus betina (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

Papaya contains polysaccharides, alkaloids, saponins, and flavonoids, which are thought to disrupt the hypothalamic-pituitary pathway and result in impaired GnRH secretion, affecting the formation, development, and maturation of follicles. The research aims to determine the

administration of water extract from the young papaya fruit (*Carica papaya* L.) on the appearance of secondary follicles, de Graafian follicles, and corpus luteum of the ovaries of female rats (*Rattus novergicus*). This type of research is experimental with a Post Test Only Control Group design. The number of samples was 24 female mice aged 12 weeks, weighing 200-300 grams, divided randomly into 4 groups. To anticipate deaths, two animals were added to each group, so the total sample size was 32. Group (K-) without treatment. Group (P1) was given water extract of young papaya fruit 47 mg/200 gr BW. Group (P2) was given water extract of young papaya fruit 93 mg/200 gr BW. Group (P3) was given water extract of young papaya fruit 189 mg/200 gr BW. After 20 days of treatment, the number of secondary follicles, graafian follicles and corpus luteum were counted. The results of statistical analysis using ANOVA and Kruskal-Wallis tests showed that there was no significant effect of giving young papaya fruit water extract on the number of secondary follicles ($p = 0.083$), there was no significant effect of giving young papaya fruit water extract on the number of degraaf follicles ($p = 0.069$), there was an effect of giving water extract of young papaya on the number of corpus luteum ($p = 0.000$). This research concludes that administering water extract from young papaya fruit has no effect on the number of secondary follicles and graafian follicles, but does affect the number of corpus luteum at a dose of 189 mg/200 gr BW.

Keywords : Unripe arica papaya L. water fruit extracts, secondary folicle, de Graaf follice, corpus luteum Ovarian Female Rats (Rattus novergicus)

PENDAHULUAN

Penggunaan alat kontrasepsi di Indonesia masih kurang. Berdasarkan data tahun 2021 penggunaan kontrasepsi pada Pasangan Usia Subur (PUS) sebesar 57,4%. Penggunaan kontrasepsi dengan metode non Metode Kontrasepsi Jangka Panjang (MKJP) yaitu suntik 59,9%, pil 15,8% dan Kondom 1,8%, sedangkan metode MKJP yaitu IUD 8%, MOW 4,2 % dan MOP 0,2 % (Kemenkes RI, 2022). Pada tahun 2022 data penggunaan Kontrasepsi pada PUS sebesar 64,2%, penggunaan non MKJP 75,4 % dengan suntik 61,9%, 13,5% dengan pil dan kondom sebesar 2,3%, sementara untuk penggunaan MKJP sebesar 11,7% dengan IUD sebesar 7,7%, MOW 3,8% dan MOP 0,2%. Jenis non MKJP memiliki efektifitas rendah dalam pengendalian kehamilan dibandingkan dengan MKJP (Kemenkes RI, 2023).

Badan Pusat Statistik tahun 2022 melaporkan presentase wanita yang berumur 15-49 tahun yang menggunakan KB di Sumatera Barat sebesar 45,60% dengan pemakaian kontrasepsi tertinggi pada umur 35-39 tahun sebesar 51,55%. Pasangan usia subur yang tidak ingin punya anak lagi atau yang ingin menjarangkan kelahiran, tetapi tidak menggunakan kontrasepsi (*Unmet Need*) masih tinggi. Dari data tren penurunannya justru tidak mengalami perubahan di angka 11% dalam

10 tahun terakhir. Sementara target sebesar 7,4% pada tahun 2024 (Kemenkes RI, 2021).

Kontrasepsi merupakan upaya untuk mencegah terjadinya kehamilan. Adanya kepercayaan dari kontrasepsi yang memiliki efek samping merupakan salah satu alasan bagi Pasangan Usia Subur (PUS) untuk tidak menggunakan kontrasepsi dan lebih memilih untuk menggunakan kontrasepsi alami.

Bahan Alam tumbuhan disekitar kita memiliki khasiat sangat banyak yang dimanfaatkan sebagai obat herbal atau obat tradisional. Zat tumbuhan alami mempunyai sifat estrogenik yang bisa dijadikan kontrasepsi herbal (Adani et al., 2017).

Indonesia kaya akan tanaman obat, salah satunya adalah buah pepaya. Tanaman pepaya merupakan tanaman yang kaya akan manfaat mulai dari daun sampai akar. Meskipun pepaya banyak akan manfaat dalam berbagai bidang, namun masih sedikitnya informasi manfaat dari buah pepaya muda sebagai bahan kontrasepsi.

Selama bertahun-tahun seluruh bagian dari tanaman pepaya yang terdiri dari buah mentah maupun matang, daun, biji, serta sarinya telah digunakan sebagai obat tradisional karena aktivitas antioksidannya yang tinggi. Setiap $\frac{1}{4}$ buah pepaya ukuran sedang yang setara dengan 76 gram

mengandung 30 kalori, 89% air, 0,5 g protein, 8 g karbohidrat, 2 g serat, 1 mg kalium, 18 mg kalsium, 8 mg magnesium, 8 mg fosfor, 22 IU Vitamin A, 47 mg Vitamin C, 1 mg Vitamin E, 1mg niasin, 29 micrg folat. Biji pepaya memiliki kandungan karpain, caricin, glikotropakolin, alkaloid, flavanoid dan enzim papain. Pada daun pepaya mengandung senyawa Flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid, dan tritepnoid. Akar pepaya memiliki kandungan karposid, dan enzim mirosin (Mardhiah & Sabarina, 2021).

Kandungan senyawa pada tanaman *Carica papaya L.* mempunyai sifat antifertilitas. Biji, daun, batang, daging buah dan akar memiliki sifat antifertilitas (Cruz et al., 2020). Biji pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai antifertilitas sudah diketahui sejak tahun 1970 dapat menyebabkan kuantitas dan kualitas sperma menurun. Potensi antifertilitas ini diperkuat oleh adanya penelitian yang menunjukkan bahwa didalam biji pepaya terkandung senyawa antifertilitas yaitu saponin dan flavanoid (Pupitaari et al., 2014).

Daun pepaya mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, saponin dan tanin. Daun pepaya berkhasiat sebagai antioksidan, antidabetes antiinflamasi, antifertilitas, atibakteri, antimalaria. Beberapa senyawa yang diduga sebagai antifertilitas adalah flavanoid, alkaloid, isoflavanoid, steroid, xantom dan triterpen (Dewanti et al., 2020).

Pada penelitian Sindhu (2019) menyatakan bahwa, terdapat kandungan kimia pada pepaya yaitu enzim, likopen, karotenoid, alkaloid, monoterpenoid, flavonoid, mineral dan vitamin. Efek antifertilitas dari *Carica papaya L.* dalam penelitian ini adalah dengan memberikan buah pepaya yang masih mentah kepada tikus betina dapat mengganggu siklus estrus dan menyebabkan aborsi. Efek ini hilang ketika buah menjadi terlalu matang. Pepaya juga menunjukkan efek antiimplantasi dan aborsi.

Disamping itu buah pepaya muda (*Carica papaya L.*) juga mengandung senyawa multi enzim, diantaranya enzim papain, chymopapain, glutamine, cyclotransferase, peptidase A dan B dan lisozim, senyawa karotenoid, monoterpenoid, Saponin dan flavonoid (Heena & Sunil, 2019).

Bahan aktif pepaya yaitu triterpenoid saponin, alkaloid dan flavanoid mampu bekerja sebagai antifertilitas. Senyawa aktif tersebut memiliki sifat estrogenik ringan dan sifat anti estrogenik sehingga dapat digunakan sebagai pengatur kesuburan. Senyawa antifertilitas dapat menyebabkan kerusakan pada zigot, mencegah terjadinya ovulasi dan implantasi. Senyawa antifertilitas ini diduga mampu mengakibatkan gangguan pada jalur hipotalamus hipofise yang selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi hormon gonad, sekresi FSH dan LH yang kemudian akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel (Hakameri, et al., 2020).

Senyawa saponin dan flavonoid dapat disintesis menjadi antiestrogen di dalam tubuh menyebabkan ovarium inaktif sehingga mengganggu sekresi estrogen endogen. Terganggunya sekresi estrogen dan endogen menyebabkan proses mitotik sel telur juga akan terganggu mengakibatkan sel telur gagal berkembang dan matang. Pengaruh lain dari senyawa ini adalah kelenjar serviks menjadi sedikit dan lebih kental, keadaan ini akan mengganggu motilitas spermatozoa, maka tidak terjadi fertilisasi meskipun terjadi perkawinan. Efek lain antiestrogen menyebabkan atrofi endometrium, sehingga meskipun terjadi fertilisasi proses implantasi akan terganggu (Devi, et. al, 2015).

Salah satu senyawa yang diduga memiliki kemampuan sebagai antifertilas adalah senyawa flavanoid. Senyawa flavanoid bersifat estrogenik yang dapat mengganggu sekresi *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) sehingga perkembangan folikel yang berada di ovarium akan terhambat. Perkembangan folikel yang terhambat berdampak terbentuknya folikel atresia (Setiawan et al., 2022).

Berdasarkan latar belakang tersebut masih sedikitnya informasi mengenai potensi buah pepaya muda sebagai agen antifertilitas alami terutama pengaruhnya terhadap ovarium. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah dengan pemberian ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya L.*) berdampak terhadap jumlah folikel sekunder, de graaf dan korpus luteum ovarium tikus betina (*Rattus novergicus*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan desain *the post test only control group design*. Sampel yang dipilih dari populasi menggunakan teknik *simple random sampling*. Penelitian tentang pemberian ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya .L*) ini dilakukan pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang berjumlah 24 ekor tikus. Setiap kelompok diberikan 2 ekor sebagai cadangan untuk menghindari kriteria eksklusi dan drop out, jumlah tikus/kelompok yang akan digunakan pada penelitian ini adalah 8 ekor tikus. Sehingga jumlah tikus yang digunakan adalah 32 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol tanpa diberikan perlakuan, perlakuan terdiri dari P1 (diberi ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya L.*) 47 mg/200 gr BB), P2 (diberi ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya L.*) 93 mg/200 gr BB), P3 (diberi ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya L.*) 189 mg/200 gr BB). Variabel independen pemberian ekstrak air buah pepaya muda berbagai dosis. Variabel dependen gambaran folikel sekunder, folikel de graaf dan korpus luteum.

Bahan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus betina (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional II Bukittinggi, digunakan 32 ekor tikus betina yang mempunyai berat 200-300 gr dan umur 12 minggu. Makanan dasar tikus betina adalah pellet yang terbuat dari jagung, kulit padi, dedak, tepung tulang dan ikan. Minuman yang diberikan adalah akuades. Ekstrak air buah pepaya muda Ekstrak air buah pepaya muda yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pepaya muda yang diambil ekstraknya berbentuk cair. Pada waktu akan digunakan dilarutkan dengan akuades.

Reagensia yang digunakan : Akuades untuk melarutkan Ekstrak air buah pepaya muda. Alkohol 70%, 80%, 90%, 96% untuk fiksasi apusan vagina, larutan Giemsa untuk mewarnai apusan, eter untuk mematikan tikus, larutan Phosphate Buffered Saline (PBS) untuk membersihkan jaringan, larutan BNF 10%, xilol untuk menjernihkan sediaan histologi ovarium, paraffin dengan titik cair 55-60 °C yang digunakan untuk filtrasi dan

embedding jaringan ovarium, pewarna Hematoxylin Eosin (HE) untuk pewarnaan sediaan histologi ovarium, meyers albumin untuk meletakkan specimen ke gelas objek, kanada balsam untuk menempelkan kaca penutup dan membantu indeks bias cahaya.

Alat

Kandang untuk memelihara hewan percobaan dengan ukuran 60 cm x 40 cm x 20 cm pada setiap masing-masing perlakuan, lengkap dengan tempat makan dan minum , timbangan (*Ahause*) untuk menimbang tikus, gavage needle/sonde. Alat untuk pembedahan adalah perangkat alat bedah yang terdiri dari gunting, piset anatomis, pinset cirugie, pisau bedah dan toples beserta penutupnya untuk mematikan tikus betina, alat untuk ekstraksi secara infusa adalah *hot plate, rotary evaporator, vacuum dryer*, objek glass dan kaca penutup untuk sediaan histologi ovarium, mikroskop cahaya binokuler, botol tertutup untuk larutan ekstrak air buah pepaya muda, gelas ukur untuk mengukur volume reagensia yang dipakai, batang pengaduk, gelas objek dan penutupnya untuk sediaan histologi ovarium, mikrotom untuk memotong sediaan histologi ovarium, staining jar (bak pewarna), kertas tisu, botol dengan penutup untuk fiksasi organ ovarium.

Prosedur Kerja

Tahapan Hewan Coba

Hewan percobaan yang digunakan adalah Tikus betina *Rattus norvegicus* yang berumur 12 minggu dengan berat 200-300 gr, Tikus betina ditempatkan pada kandang yang terbuat dari plastik dan dialas dengan serbuk kayu serta ditutup dengan penutup yang terbuat dari besi, pada penutup tersebut terdapat tempat untuk meletakkan makanan dan botol minum. Alas kandang diganti setiap minggu. Suhu ruangan yang digunakan untuk kandang tikus $\pm 2^{\circ}\text{C}$, kelembaban 73%, dan siklus cahaya 12 jam terang dan 12 jam gelap. Pakan yang diberikan kepada hewan uji berupa pelet dan air minum berasal dari air ledeng. Persediaan makanan dan minum diberikan setiap hari secara *ad libitum*. Sebelum digunakan tikus betina tersebut diaklimatisasi terlebih dahulu didalam kandang selama 1 minggu.

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak air buah pepaya muda yang berbentuk cairan dengan konsentrasi P1 23,5 mg/ml, P2 46,5 mg/ml, P3 94,5 mg/ml. Pemberian ekstrak air buah pepaya muda (*Carica papaya.L*) pada penelitian ini diberikan secara *gavage* dan pelarut yang digunakan adalah akuades dikarenakan ekstrak pepaya muda digunakan untuk dikonsumsi. Untuk volume pemberian menggunakan rumus :
Volume sediaan yang diberikan kemasing-masing hewan :

$$\text{Volume Pemberian} = \text{BB Tikus} : \text{Persen Pemberian}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume Pemberian} &= \text{BB Tikus} : \text{Persen Pemberian} \\ &= 200 \text{ gram} \times 1\% \\ &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Volume pemberian ekstrak air buah pepaya muda

$$\text{VAO (ml)} = \frac{\text{dosis (mg/kg)} \times \text{BB (kg)}}{\text{C (mg/ml)}}$$

Keterangan :

- C : Konsentrasi sediaan (mg/ml)
- VAO : Volume pemberian (ml)

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak buah pepaya muda diekstrak menggunakan infundasi dengan menyaring zat kandungan aktif yang larut dalam air buah pepaya muda (Wijaya, et. al, 2018). Buah pepaya dibuang biji dan kulitnya kemudian ditimbang lebih kurang 3 kg, dicuci bersih dan dirajang. Hasil rajangan disalin ke becker glass yang selanjutnya dipanaskan dengan ditambahkan aquades secukupnya selama lebih kurang 15 menit sampai suhu mencapai 90° C sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk kemudian

dipekatkan pada rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental yang akan disimpan dalam botol gelap untuk menghindari sampel teroksidasi oleh cahaya. (Sariyem, et. al, 2015).

Pemberian Bahan Uji

Ekstrak air buah pepaya muda diberikan secara *gavage* pada tikus betina mulai dari masa estrus hari pertama sampai hari dua puluh. Pemberian ekstrak pepaya muda dilakukan satu kali sehari yaitu pada pukul 07.00-10.00 (pagi hari). Pemberian diberikan secara Oral *gavage* dengan memasukkan selang lambung makanan melalui mulut (tabel 1). Pemberian secara oral merupakan metode yang paling sering digunakan karena faktor kemudahan penggunaan dan kenyamanan, selain itu waktu yang diberikan dapat dikontrol sesuai jadwal yang kita tentukan (Zhang, 2021). Pemberian secara oral *gavage* diberikan mulai dari fase estrus sampai hari ke-20, untuk menentukan tikus dalam fase estrus maka dilakukan pemeriksaan vaginal smear. Apusan vagina pada saat estrus akan menunjukkan sel epitel yang menanduk (Sulastri, et. al, 2014). Waktu pemberian ekstrak air buah pepaya muda yang sudah dilarutkan dengan aquades diberikan 1 kali sehari pukul 08.00-10.00 WIB (pagi hari).

Pembuatan preparat vaginal Smear

Pembuatan preparat vaginal Smear ini menggunakan alat yang berupa *cotton bud*. Alat ini berfungsi untuk mengambil sel-sel epitel vagina sehingga dapat diamati bentuknya. Sel-sel epitel vagina yang telah terambil selanjutnya diletakkan objek glass dan diberi pewarna giemsa. Sel-sel epitel vagina tersebut untuk selanjutnya diamati dibawah mikroskop cahaya.

Mematikan Tikus Betina

Mematikan tikus betina dilakukan setelah 20 hari perlakuan diberikan. Tikus betina dimatikan dengan cara Anestesi

Tabel 1. Volume pemberian berdasar cara pemberiannya

Species	Volume maksimum sesuai jalur pemberian				
	IV	IM	IP	SC	PO
Mencit 20-30gr	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus 200 gr	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Kelinci 2,5kg	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0

(Stevani, 2016)

pembiusan dengan Eter. Caranya adalah dengan meletakkan larutan eter dengan larutan kepekatan dan pelarut 2% dalam NaCl atau 10-25% dalam NaCl dan dosis 300 mg/kg atau 1-1,25 g/kg pada dasar desikator, kemudian masukkan tikus betina kedalam wadah tertutup, ditunggu sampai tikus betina tidak bergerak, pupil midriasis dan mata tertutup. Apabila tikus betina sudah kehilangan kesadaran maka dikeluarkan. Untuk mematikan tikus dilakukan dengan melakukan penekanan leher serta menariknya kearah anterior (*dislokasio atlanto-occipitalis*) (Stevani, 2016).

Pembedahan

Tikus betina yang telah mati ditelentangkan diatas papan fiksasi, ke empat ekstremitas difiksasi. Lakukan laparatomi, identifikasi dan potong ovarium, dibilas dengan menggunakan Phosphate Buffered Saline (PBS) selanjutnya dimasukkan kedalam larutan BNF 10%.

Pembuatan Preparat Histologi Ovarium

Metode yang digunakan dalam pembuatan preparat histologi ovarium adalah dengan parafin. Tahapan metode parafin dimulai dengan fiksasi. Ovarium difiksasi di dalam larutan BNF 10% selama 24-48 jam, selanjutnya dipotong melintang dengan ketebalan \pm 2-3 mm dan dimasukkan ke kaset histologi dan diberikan kode yang sesuai dengan kode gross, jaringan kemudian diproses dengan alat Tissue Tex Prosesor selama 90 menit sampai alarm berbunyi menandakan selesai, selanjutnya diblok dengan paraffin sesuai dengan kode jaringan, jaringan disayat menggunakan alat microtome dengan ketebalan 3-5 mikron. Preparat yang sudah disayat kedalam oven selama 30 menit dengan suhu 70°-80°C, kemudian dimasukkan ke dalam 2 tabung xylol, masing-masing 20 menit. Kemudian dimasukkan ke 4 tabung alkohol dengan durasi 3 menit setiap tabung (hidrasi) dan diberikan air mengalir selama 15 menit. Proses pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) yaitu potongan jaringan dimasukkan ke cat utama Harris Hematosiklin selama 10-15 menit, cuci dengan air mengalir 15 menit, celupkan 2-5 kali alkohol asam 1%, celupkan 3-5 kali amonia lithium karbonat,

cat pembanding : Eosin 1% selama 10-15 menit. Proses dehidrasi dengan alkohol secara bertingkat dimulai dari alkohol 70%, 80%, 96% masing-masing selama 3 menit, Alkohol absolut selama 3 menit, proses penjernihan (Clearing) dengan Xylol selama 15 menit sebanyak 2 kali. Mounting dengan entelan dan coverglass, slide ditutup cover glass dan dibiarkan kering pada suhu ruang, setelah kering, slide siap untuk diamati dengan mikroskop.

Pengamatan dan Perhitungan Hasil Penelitian

Preparat Folikel

Pengamatan dilakukan dengan memeriksa 64 ovarium tikus betina yang dibuat hasil preparat histologi dengan menggunakan pewarnaan Hematoksilin Eosin. Dilakukan pengamatan dengan lapangan pandang secara acak menentukan folikel sekunder, *de graaf* dan korpus luteum.

Perhitungan Preparat Histologi Ovarium

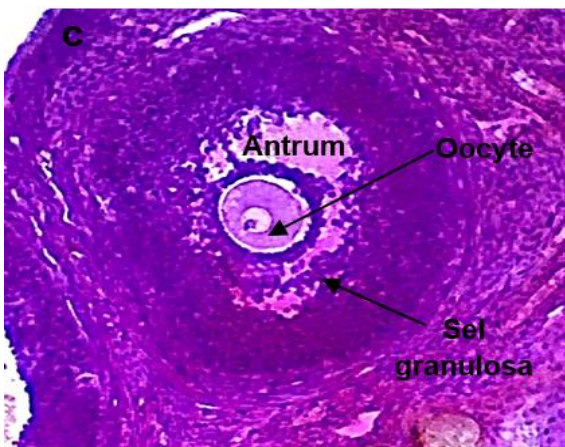
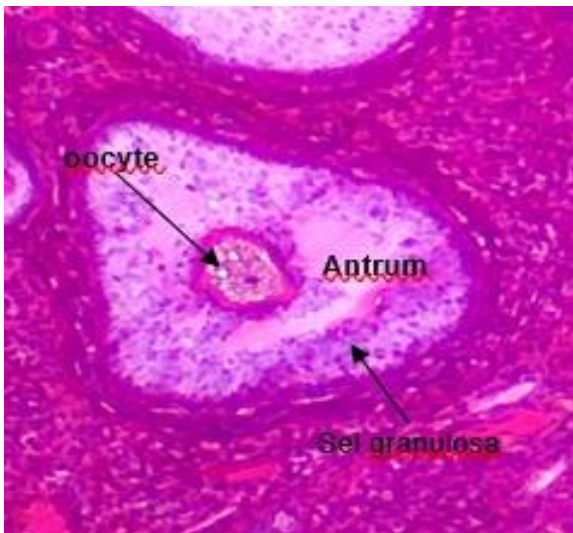
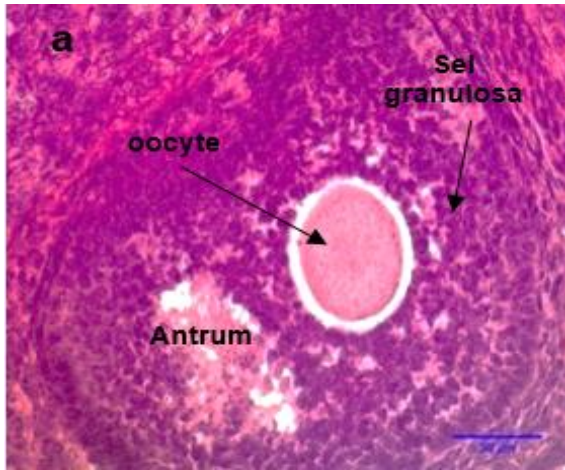
Preparat diamati dengan menggunakan mikroskop pada 10 lapang pandang untuk menghitung seluruh jumlah folikel folikel sekunder, folikel de graff dan korpus luteum pada sediaan ovarium dengan pembesaran 10x dan 40x

HASIL DAN PEMBAHASAN

Folikel Sekunder

Untuk mengetahui apakah pemberian Ekstrak Air Buah Pepaya Muda antar kelompok perlakuan memberikan pengaruh maka perlu dilakukan analisis perbandingan masing-masing kelompok perlakuan. Oleh karena itu sebelum melakukan analisis tersebut, data yang diperoleh diuji normalitas terlebih dahulu, uji normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro Wilk. Hasil uji normalitas didapat data tidak terdistribusi normal dengan nilai $p=0,006$ ($p \leq 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis.

Berdasarkan tabel 2 didapatkan bahwa rata-rata jumlah folikel sekunder yang paling tinggi ditemukan pada perlakuan ke-2 dan ke-3 dengan rata-rata 0,67. Hasil uji perbandingan jumlah folikel sekunder untuk semua kelompok subjek



Gambar 1: Folikel Sekunder, a. Kelompok Kontrol, b. Kelompok P1, c. Kelompok P2 (Perbesaran 40X, HE)

diperoleh nilai $p > 0,05$ (0,083) (gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Ekstrak Air Buah Pepaya Muda pada tikus betina tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah folikel sekunder pada struktur

ovarium tikus tersebut dan tidak dilanjutkan ke uji statistik selanjutnya.

Setelah di analisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Pada saat pengamatan jumlah folikel sekunder untuk masing-masing kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 tidak banyak ditemukan. Hal ini diduga karena tidak adanya penurunan kadar hormon estrogen dalam jumlah banyak didalam darah yang menyebabkan sekresi FSH oleh hipotalamus masih terhambat, walaupun pemberian ekstrak air buah pepaya muda dihentikan. Oleh karena itu sel folikel masih dalam jumlah yang relatif sama pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3.

Pemberian ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) yang mengandung senyawa saponin tidak memiliki pengaruh terhadap jumlah folikel sekunder. Hal ini disebabkan pertumbuhan folikel tidak tergantung pada hormon gonadotropin akan tetapi dipengaruhi oleh factor pertumbuhan yang diproduksi secara lokal melalui mekanisme parakrin (Williams & Gregory, 2020).

Penelitian Ayuningtyas et al. (2022) pemberian ekstrak etanol biji pepaya pada tikus betina Galur Wistar memberikan hasil bahwa tidak ada perbedaan secara signifikan penurunan jumlah folikel antral (primer dan sekunder). Hal ini disebabkan pertumbuhan folikel tidak tergantung pada hormon gonadotropin.

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi jumlah folikel yang berkembang antara lain spesies hewan, fase reproduksi, keadaan lingkungan, umur induk dan faktor genetik. Dugaan yang menjadi penyebab tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap jumlah folikel sekunder pada tikus dengan pemberian ekstrak air buah pepaya muda faktor umur induk dan faktor genetik.

Folikel de graaf

Untuk mengetahui apakah pemberian Ekstrak Air Buah Pepaya Muda antar kelompok perlakuan memberikan pengaruh maka perlu dilakukan analisis perbandingan masing-masing kelompok perlakuan. Oleh karena itu sebelum melakukan analisis

Tabel 2 Perbandingan Jumlah Folikel Sekunder Pada Kelompok Kontrol dan Ekstrak Air Buah Pepaya Muda

Kelompok Subjek	n	Rata-rata Jumlah Folikel Sekunder ± SD	p
Kontrol Negatif	6	1,50 ± 0,548	0,083 ^{ns}
Perlakuan 1	6	1,17 ± 0,983	
Perlakuan 2	6	0,67± 0,516	
Perlakuan 3	6	0,67± 0,516	

Ket: ns = tidak berbeda signifikan

tersebut, data yang diperoleh diuji normalitas terlebih dahulu, uji normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro Wilk. Hasil uji normalitas didapat data tidak terdistribusi normal $p=0,001$ ($p \leq 0,05$) (gambar 2). Dikarenakan data tidak terdistribusi normal maka uji statistik selanjutnya menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat pengaruh pemberian Ekstrak Air Buah Pepaya Muda terhadap jumlah folikel *de Graaf* pada semua kelompok perlakuan.

Dari tabel 3 menjelaskan bahwa rata-rata folikel *de Graaf* ditemukan paling banyak pada kelompok kontrol dengan nilai rata-rata 2,17 dan rata-rata jumlah folikel *de Graaf* pada kelompok perlakuan dengan dosis tertinggi 189 mg/200 grBB (1,00). Setelah dilakukan uji statistik diketahui bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan rata-rata jumlah folikel *de Graaf* antar kelompok perlakuan dengan nilai $p > 0,05$, sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut untuk *multiple comparison*.

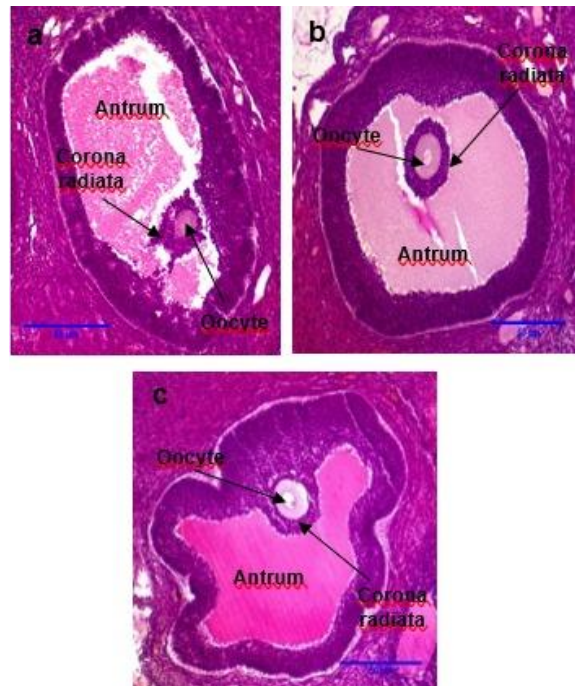
Hasil analisis perbandingan jumlah folikel *de graaf* dengan uji *Kruskal Wallis* memberikan pengaruh terhadap jumlah folikel, walaupun secara statistik tidak berpengaruh secara signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan1, perlakuan 2 dan perlakuan 3. Hal ini dikarenakan kurangnya dukungan hormonal untuk folikel mengalami perkembangan saat berovulasi, sehingga kadar estrogen meningkat yang menyebabkan penurunan sekresi FSH yang pada akhirnya perkembangan folikel menjadi dewasa yang siap untuk ovulasi menjadi terganggu. Kejadian tersebut dapat dikarenakan fase folikulogenesis yang terjadi pada ovarium telah berada pada fase diestrus, dimana semua folikel *de graaf* sudah mengalami ovulasi.

Penelitian Odirichukwu et al. (2016) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak methanol air buah pepaya muda pada dosis 450 dan 900 mg/kg bb memperpanjang

siklus metestrus dan diestrus sehingga mengurangi terjadi fase estrus pada siklus estrus tikus betina.

Terjadinya pengurangan fase estrus pada siklus estrus menunjukkan juga terjadinya pengurangan frekuensi ovulasi sehingga dapat mengganggu fertilitas tikus betina dikarenakan adanya senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak air buah pepaya muda, senyawa tersebut kemungkinan saponin.

Pengaruh ekstrak air dan biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap keteraturan Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus*) dengan umur 2,5 bulan, ditemukan bahwa paparan senyawa antifertilitas dalam biji pepaya terbukti mempengaruhi siklus estrus. Hal tersebut ditunjukkan dengan persentase Mencit (*Mus musculus*) yang mengalami gangguan keteraturan siklus estrus meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan senyawa



Gambar 2 Folikel *de Graaf*, a. Kelompok Kontrol, b. Kelompok P1 c. Kelompok P2 (Perbesaran 10X, HE)

Tabel 3 Perbandingan Jumlah Foliker *de Graaf* pada Kelompok Kontrol dan Ekstrak Air Buah Pepaya Muda

Kelompok Subjek	n	Rata-rata Jumlah Folikel <i>de Graaf</i> ± SD	P
Kontrol Negatif	6	2,17 ± 1,169	0,069 ^{ns}
Perlakuan 1	6	0,67 ± 0,816	
Perlakuan 2	6	0,50 ± 0,837	
Perlakuan 3	6	1,00 ± 1,265	

Ket: ns = tidak berbeda signifikan

antifertilitas dalam bahan uji. Persentase hewan uji yang diberikan senyawa antifertilitas dengan dosis P1 menunjukkan keteraturan siklus estrus yang relatif sama dengan K- dan kelompok kontrol positif K+, yaitu berkisar 83%. Hal tersebut dapat diartikan hewan uji yang memiliki siklus estrus tidak teratur berkisar 15-17% dari keseluruhan hewan uji (Sitaswi et al., 2016).

Hasil penelitian berbeda dengan yang dilaporkan oleh Alfian et al.(2018), jumlah folikel *de graaf* ovarium mencit mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis ekstrak air biji pepaya yang diberikan, penurunan jumlah folikel *de graaf* dikarenakan adanya senyawa antifertilitas biji pepaya yang dapat mempengaruhi sistem hormon pada hewan percobaan (mencit). Hasil temuan tersebut berbeda dengan hasil penelitian Odirichukwu et al., (2016) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak methanol air buah pepaya muda pada dosis 450 dan 900 mg/kg bb memperpanjang siklus metestrus dan diestrus sehingga mengurangi terjadi fase estrus pada siklus estrus tikus betina kelompok kontrol, dan rata-rata fase estrus menunjukkan penurunan yang signifikan ($p < 0,01$).

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi jumlah folikel yang berkembang antara lain spesies hewan, fase reproduksi, keadaan lingkungan umur induk dan faktor genetik. Hal ini diduga menyebabkan tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap jumlah folikel pada tikus dengan pemberian ekstrak air buah pepaya

muda dan tanpa pemberian ekstrak air buah pepaya muda.

Korpus Luteum

Berdasarkan uji normalitas data diketahui data jumlah korpus luteum terdistribusi secara normal dengan nilai $p=0,317$ ($p > 0,005$). Menurut uji normalitas data yang dilakukan, data korpus luteum untuk semua perlakuan tersebar secara normal, sehingga untuk melihat pengaruh Ekstrak Air Buah Pepaya Muda terhadap jumlah korpus luteum pada struktur histologi ovarium dilakukan uji perbandingan ANOVA.

Dari tabel 4 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah korpus luteum yang diamati pada struktur histologi ovarium pada kelompok perlakuan yang diberikan Ekstrak Air Buah Pepaya Muda mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol. Rata-rata jumlah korpus luteum tertinggi (24,17) terdapat pada kelompok perlakuan ke-3. Ekstrak Air Buah Pepaya Muda dengan dosis yang paling tinggi yaitu 189 mg/200 gr/BB. Berdasarkan tabel 2 dapat diamati juga bahwa setelah dilakukan analisis statistik ANOVA, perbandingan rata-rata jumlah korpus luteum untuk semua perlakuan berbeda signifikan dengan nilai $p < 0,05$, hal memberikan informasi pada penelitian ini bahwa pemberian Ekstrak Air Buah Pepaya Muda memberikan pengaruh terhadap jumlah korpus luteum pada struktur histologi ovarium tikus.

Analisis statistik lanjutan dari uji

Tabel 4 Perbandingan Jumlah Korpus Luteum pada Kelompok Kontrol dan Ekstrak Air Buah Pepaya Muda

Kelompok Subjek	n	Rata-rata Jumlah Korpus Luteum ± SD	p
Kontrol Negatif	6	7,17 ± 1,169	0,000*
Perlakuan 1	6	12,33 ± 2,338	
Perlakuan 2	6	17,17 ± 1,722	
Perlakuan 3	6	24,17 ± 4,401	

Tabel 5 Uji *Multiple Comparison Bonferroni* Jumlah Korpus Luteum pada Kelompok Kontrol dan Ekstrak Air Buah Pepaya Muda

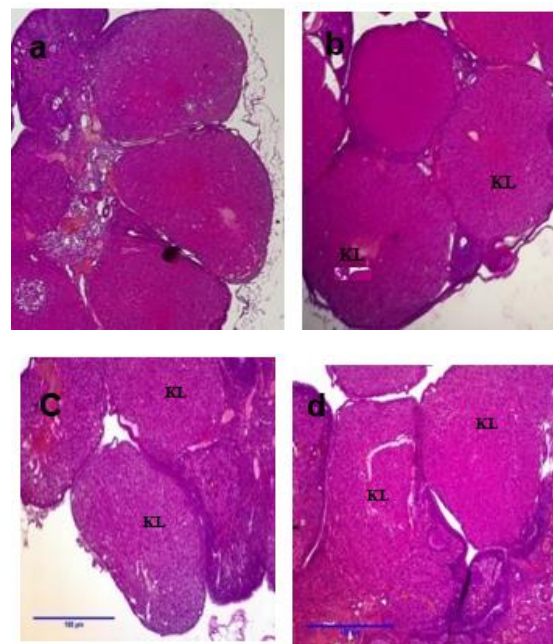
Kelompok	Kontrol	P1	P2	P3
Kontrol	-	0,21	0,00*	0,00*
P1	0,21	-	0,34	0,00
P2	0,00*	0,34	-	0,001*
P3	0,00*	0,00	0,001*	-

uji ANOVA yang digunakan untuk membandingkan perbedaan masing-masing perlakuan adalah Uji *Multiple Comparisons Bonferroni*. Hasil uji perbandingan masing-masing perlakuan pada tabel 5 menunjukkan bahwa untuk perbandingan antara perlakuan Ekstrak Air Buah Pepaya Muda dengan dosis tertinggi dengan kontrol, P2 dan P3 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ (gambar 3). Hal ini memberikan informasi pada penelitian ini bahwa perlakuan Ekstrak Air Buah Pepaya Muda yang sangat memberikan pengaruh terhadap jumlah korpus luteum tikus pada struktur histologi ovarium adalah pada dosis yang paling tinggi.

Berdasarkan hasil uji analisis ANOVA terdapat perbedaan yang signifikan korpus luteum antara kelompok kontrol dengan perlakuan. Setelah dilakukan uji lanjut perbedaan yang signifikan terlihat antara kelompok perlakuan dosis Ekstrak Air Buah Pepaya Muda tertinggi dengan kelompok kontrol, P2 dan P3.

Pepaya muda mengandung beberapa senyawa fitokimia seperti saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, triterpenoid, dan kuinon merupakan prekursor hormon progesteron (Nadiyah, et. al, 2016). Efek yang ditimbulkan jika diberikan secara berlebihan akan menyebabkan hormon progesteron yang dihasilkan akan meningkat dalam darah, sehingga dengan meningkatnya kadar hormon progesteron akan memberikan efek umpan balik terhadap hormon gonadotropin. Progesteron merupakan hormon yang dihasilkan oleh korpus luteum di dalam ovarium. Berperan dalam proses pembentukan lapisan endometrium pada dinding rahim untuk menerima ovum yang telah dibuahi. Meningkatnya jumlah progesteron diduga memicu perkembangan oosit didalam folikel de graaf terjadi dengan cepat. Selain itu

progesteron yang meningkat diduga menyebabkan folikel de graaf yang diproduksi didalam ovarium banyak terovulasi sebelum waktunya. Hal ini menyebabkan oosit sekunder yang di ovulasikan tidak matur. Penelitian Odirichukwu et al. (2016) melaporkan bahwa pemberian ekstrak methanol air buah pepaya muda pada dosis 450 dan 900 mg/kg bb memperpanjang siklus metestrus dan diestrus sehingga mengurangi terjadi fase estrus pada siklus estrus tikus betina. Fase diestrus merupakan fase korpus luteum bekerja secara optimal. Fase ini disebut juga fase persiapan uterus untuk kehamilan. Fase ini merupakan fase yang terpanjang di dalam siklus estrus. Terjadinya kehamilan atau tidak, korpus luteum akan berkembang dengan sendirinya menjadi organ yang fungsional yang menghasilkan sejumlah progesteron. Korpus luteum mensekresikan progesteron dan hormon progesteron yang dihasilkan sangat tergantung pada perkembangan korpus luteum, jika perkembangan korpus luteum berlangsung normal, akan dihasilkan kadar hormon yang normal. Sebaliknya jika selama proses perkembangan, jumlah korpus luteum meningkat mengakibatkan



Gambar 3. Korpus Luteum (KL) a. Kelompok Kontrol, b. Kelompok P1, c. Kelompok P2, d. Kelompok P3 (Perbesaran 10x, HE)

produksi progesteron terganggu. Hal ini sangat tergantung pada besarnya gangguan yang terjadi selama proses perkembangan korpus luteum.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan dari hasil penelitian ini bahwa pemberian Ekstrak Air Buah Pepaya Muda tidak berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah folikel sekunder dan folikel de graaf dibandingkan kelompok kontrol, namun memberikan pengaruh pada korpus luteum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional II Bukittinggi yang telah memberikan izin dan bantuan dalam proses pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

- Adani, M. F., Sitasiwi, A. J., & Isdadiyanto, S. (2017). Efek Antifertilitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan Pelarut Air terhadap Bobot Anak Mencit (*Mus Musculus L.*). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 2(1), 11. <https://doi.org/10.14710/baf.2.1.2017.11-16>
- Adnan Jafar Alfian, M., Janika Sitasiwi, A., & Anwar Djaelani, M. (2018). Efek Antifertilitas Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Jumlah Dan Diameter Folikel De Graaf Mencit (*Mus musculus*) Betina.
- Ayuningtyas, D., Anita, K. W., & Irwanto, Y. (2022). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Jumlah Folikel Preantral, Antral dan Berat Ovarium Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Journal of Issues in Midwifery*, 6(2), 63–75. <https://doi.org/10.21776/ub.JOIM.2022.006.02.1>
- Dewanti, E., Viviandhari, D., Lonica, N., & Mutia Isnarningtyas, S. (2020). Efek Antifertilitas dari Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley. *Jurnal Jamu Indonesia*, 5(1), 9–15. <https://doi.org/10.29244/jji.v5i1.182>
- Erich Dela Cruz, M. L., Prakash Babani, A., Julienne Lu, A. C., Kyla Del Rosario, R. P., & Gail Inson, J. M. (2023). *Anti-fertility Potential of Carica papaya L. (Pawpaw) in Males.*
- Heena, D., & Sunil, T. (2019). Carica papaya: Potential Implications in Human Health. *Current Traditional Medicine*, 5(4), 321–336. <https://doi.org/10.2174/2215083805666190705170022>
- Hendra Stevani. (2016). *Praktikum Farmakologi.*
- Kemendes RI. (2021). Pedoman Pelayanan Kontrasepsi Dan Keluarga Berencana.
- Kemendes RI. (2022). Profil Kesehatan Indonesia 2021.
- Kemendes RI. (2023). Profil Kesehatan Indonesia 2022.
- Mardhiah, A., & Sabarina. (2021). Pengolahan Pepaya Muda (*Carica papaya L.*) Menjadi Abon. *Jurnal Pendidikan, Sains, Dan Humaniora*, 9(3), 512–517.
- Odirichukwu, E. O., Uchechukwu, N. V. S., & Ogwu, D. (2016). *The Aqueous Methanolic Extract of Unripe Carica Papaya (Pawpaw) Fruit Distrupts Oestrous Cycle in Albino Rats.* 9(5), 57–62. <https://doi.org/10.9790/2380-0905025762>
- Pupitaari, Yenny., Suhita, B. M., Srianto, P., & Widjiati. (2014). Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Tikus Betina (*Rattus novergicus*) Sebagai Alternatif Bahan Antifertilitas Terhadap Folikulogenesis, Kualitas Sel Telur dan Angka Fertilisasi. *Media Kedokteran Hewan*, 30(1), 61–66.
- Setiawan, H., Wulandari, W., Aruan, S. Y., Ridho Prihandana, P., & Dahlan, A. (2022). *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Pepaya Calina terhadap Indeks Gonadosomatik dan Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Wistar (The Effect of Calina Papaya Leaf Ethanolic Extract on Gonadosomatic Index and Ovarian Follicle Development of Wistar Rats).* 10(3), 245–252. <http://www.journal.ipb.ac.id/index.php/actavetindones>
- Sindhu, G., Ragini, G., Sreehari, L., Gayathri, G., Thejaswee, A., Inthiyaz, S., Usha, T., Reddy, K., & Thyagaraju,

- K. (2019). Pharmacognostical And Pharmacological Profile Of Carica Papaya-A Review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(4), 675–694. <https://doi.org/10.20959/wjpps20194-13511>
- Sitasiwi, A. J., Mardiati, S. M., & Soedarto, J. (2016). *Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 1 Nomor 1 Agustus 2016* Efek Antifertilitas Ekstrak Air dari Biji Carica papaya terhadap Keteraturan Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus L.*)
- Hakameri, C. S., Usman, E., & Tofrizal. (2020). Science Midwifery Effect of Giving Young Papaya (Carica Papaya L.) Fruit Extract on Endometrial Histology of Female Rats (*Rattus Norvegicus*). *Science Midwifery*, 9(1), 181–186. www.midwifery.iocspublisher.org
- Zhang, L. (2021). Method for voluntary oral administration of drugs in mice. *STAR Protocols*, 2(1), 100330. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100330>