

# Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Pepaya Calina terhadap Indeks Gonadosomatik dan Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Wistar

(The Effect of Calina Papaya Leaf Ethanol Extract on Gonadosomatic Index and Ovarian Follicle Development of Wistar Rats)

Haris Setiawan<sup>\*</sup>, Sri Wijayanti Wulandari<sup>2</sup>, Syalimah Yani Aruan<sup>1</sup>, Pijar Ridho Prihandana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan

<sup>2</sup>Laboratorium Bioteknologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan

\*Penulis untuk korespondensi : haris.setiawan@bio.uad.ac.id

Diterima 15 Juni 2022, Disetujui 14 Oktober 2022

## ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah penduduk yang relatif tinggi, sehingga diperlukan upaya dalam menekan laju pertumbuhan penduduk seperti mengembangkan potensi obat antifertilitas berbahan dasar herbal. Daun pepaya Calina merupakan varietas tanaman pepaya di Indonesia yang memiliki beberapa kandungan fitokimia yang berpotensi sebagai agen antifertilitas. Penelitian bertujuan mengetahui potensi ekstrak etanol daun pepaya Calina sebagai agen antifertilitas terhadap Indeks Gonadosomatik (GSI) dan perkembangan folikel ovarium tikus Wistar. Penelitian dilakukan selama 30 hari menggunakan 25 ekor tikus Wistar betina umur  $\pm$  15 minggu. Perlakuan terdiri dari 5 kelompok yaitu kontrol (akuades), kontrol positif (pil kontrasepsi dosis 14,184 mg/kg BB), ekstrak etanol daun pepaya Calina dosis 200mg/Kg BB, 300 mg/Kg BB dan 400 mg/Kg BB yang diberikan secara *oral gavage* 1 ml. Parameter terdiri indeks gonadosomatik dan perkembangan folikel ovarium yang terdiri dari folikel primer, sekunder, *de graaf*, korpus luteum dan atresia. Pada hari ke 31 dilakukan pembedahan dan pengambilan ovarium pada tikus. GSI dihitung dengan membagi bobot ovarium dengan bobot badan tikus, sedangkan pengamatan folikel ovarium dilakukan dengan pembuatan preparat histologi menggunakan metode paraffin (Pewarnaan HE). Seluruh data dianalisis menggunakan *One Way Anova* dengan uji lanjut *Duncan*. Hasil menunjukkan bahwa dosis 300 mg/Kg BB dapat menurunkan bobot ovarium, menurunkan indeks gonadosomatik, menurunkan jumlah folikel primer dan sekunder, menurunkan luas folikel *de graaf*, serta meningkatkan jumlah folikel atresia dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Kesimpulan penelitian adalah ekstrak etanol daun pepaya Calina dosis 300 mg/Kg BB berpotensi menjadi agen antifertilitas alami dengan cara menurunkan GSI dan perkembangan ovarium tikus Wistar.

**Keywords:** Antifertilitas, Daun Pepaya Calina, Folikel Ovarium, Index Gonadosomatik, Tikus Wistar

## ABSTRACT

Indonesia is one of the countries with a relatively high population, so the amount needed to suppress the rate of population growth is to develop the potential for herbal-based antifertility drugs. Calina Papaya leaf is a papaya plant variety in Indonesia that contains several phytochemicals that have the potential as antifertility agents. This study aimed to determine the potential of the ethanolic extract of Calina papaya leaf as an antifertility agent on the Gonadosomatic Index (GSI) and ovarian follicle development of Wistar rats. The study was carried out for 30 days using 25 female wistar rats aged  $\pm$  15 weeks. The treatment consisted of 5 groups, namely control (aquadest), positive control (contraceptive pill dose 14,184 mg/kg BW), ethanol extract of calina papaya leaves at a dose of 200mg/Kg BW, 300mg/kg BW, and 400mg/kg BW given oral gavage 1 ml. Parameters consist of gonadosomatic index and follicular development consisting of primary follicles, secondary follicles, DeGraaf follicles, corpus luteum, and atresia follicles. On the 31st day, the rats were operated on and removed from the ovaries. GSI was calculated by dividing the weight of the ovary by the body weight, while the observation of ovarian follicles was carried out by making histological preparations using the paraffin method (HE staining). Data were analyzed using *One Way Anova* with a post hoc *Duncan* test ( $P < 0.05$ ). The results showed that a dose of 300 mg/Kg BW could reduce ovarian weight, decrease gonadosomatic index, decrease the number of primary and secondary follicles, decrease the area of DeGraaf follicles, and increase the number of atretic follicles compared to controls ( $P < 0.05$ ). The study concludes that the ethanolic extract of Calina papaya leaves at a dose of 300 mg/kg BW has the potential to be a natural antifertility agent by inhibiting ovarian follicle development, decreasing gonadosomatic index, and increasing the number of atretic follicles of Wistar rats. The study concludes that the ethanol extract of Calina papaya leaves at a dose of 300 mg/kg BW has the potential to be a natural antifertility agent by reducing GSI and ovarian development of Wistar rats.

**Keywords:** Antifertility, Calina Papaya Leaf, Gonadosomatic Index, Ovarian Follicle, Wistar Rats

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara berkembang dengan jumlah penduduk yang cukup tinggi (Devi et al., 2016). Kepadatan penduduk di Indonesia menjadi suatu masalah yang dihadapi oleh pemerintah. Salah satu upaya pemerintah untuk mengendalikan pertambahan jumlah penduduk yaitu melakukan program Keluarga Berencana (KB) dengan menggunakan berbagai macam alat kontrasepsi (Satiti, 2019). Kontrasepsi memiliki berbagai macam jenis seperti pil, suntikan, IUD, kondom dan vasektomi. Beberapa obat kontrasepsi tersebut memiliki efek samping seperti menimbulkan jerawat, menaikkan bobot badan, mempengaruhi siklus menstruasi, menimbulkan rasa sakit ketika berhubungan, menimbulkan sakit kepala, dan memicu mual (Setiawati, 2017). Diperlukan alternatif obat kontrasepsi yang aman dan nyaman seperti penggunaan tanaman herbal sebagai agen antifertilitas. Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan umumnya merupakan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan steroid (Ergina et al., 2014). Beberapa dari senyawa aktif tersebut memiliki kemiripan struktur dengan estrogen (estrogenik), sehingga dapat mengganggu mekanisme kerja hormon pada siklus reproduksi (Alfianti et al., 2019).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang diduga memiliki kemampuan antifertilitas alami (Dewanti et al., 2020). Flavonoid bersifat estrogenik, yaitu dapat mengganggu proses sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) di kelenjar hipofisis. Sekresi FSH yang terganggu dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan folikel, sehingga menghambat terjadinya ovulasi (Rejeki, 2017). Perkembangan folikel yang terhambat dapat memicu terbentuknya folikel atresia, yaitu merupakan folikel yang tidak dapat berkembang dan tidak dapat menghasilkan ovum (Hidayah et al., 2018).

Penelitian Chin-Chao et al. (2021), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji mimba secara oral dapat mengurangi jumlah folikel pada tikus. Penelitian Alfian et al. (2018) menunjukkan ekstrak biji pepaya dapat menurunkan jumlah folikel *de graaf* pada mencit. Diketahui bahwa daun pepaya Calina memiliki kandungan seperti flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tannin yang berpotensi sebagai agen antifertilitas (Rahayu & Tjitraresmi, 2016; Jati et al., 2019). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa fitokimia pada daun pepaya Calina tersebut dapat menurunkan kualitas sperma dan menghambat spermatogenesis di jaringan tubulus seminiferous tikus jantan (Setiawan et al., 2021a; Setiawan et al., 2022). Ekstrak etanol daun pepaya

Calina juga dapat menurunkan kualitas reproduksi tikus betina dengan cara menurunkan ketebalan endometrium dan mempercepat siklus estrus, sehingga masa subur tikus menjadi lebih pendek (Setiawan et al., 2021b). Berdasarkan latar belakang tersebut, masih sedikit informasi mengenai potensi daun pepaya Calina sebagai agen antifertilitas alami terutama pengaruhnya terhadap ovarium. Penelitian ini bertujuan mempelajari potensi ekstrak etanol daun pepaya Calina terhadap Indeks Gonadosomatik (GSI) dan perkembangan folikel ovarium tikus Wistar.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan, Universitas Ahmad Dahlan dan mendapatkan persetujuan dari Komite Etik UAD dengan nomor 012102008. Tanaman pepaya Calina diidentifikasi di Laboratorium Sistemika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada (No:014900/S.Tb/x/2020) dengan nama ilmiah *Carica papaya* L. Sebanyak 10 kg daun dibersihkan dengan air mengalir, kemudian dipisahkan dari batang dan dikeringkan selama 3 hari. Daun kemudian diblender dan diperoleh 770 g simplisia. Simplisia dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% selama  $\pm 7$  hari. Hasil maserasi kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* (suhu 50°C, kecepatan 70 rpm, dan tekanan 0,7 bar) hingga diperoleh ekstrak kental semi-padat seberat 193 g. Dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak.

Tikus Wistar betina (umur  $\pm 15$  minggu, bobot  $\pm 150$  g) sebanyak 25 ekor diaklimatisasi selama 4 minggu dengan kandang seluas 55 x 40 cm, suhu 19 – 23°C dan kelembapan 40-70%. Pemberian pakan dan air minum secara *ad libitum* dengan pergantian sekam dilakukan setiap 3 hari sekali. Dilakukan penimbangan bobot tikus setiap seminggu sekali menggunakan timbangan digital. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari Kontrol (akuades), Kontrol positif (pil kontrasepsi merek Andalan 14,184 mg), ekstrak etanol daun pepaya Calina dosis 200 mg/KgBB, 300 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB yang dilarutkan ke dalam 1 ml akuades dan diberikan secara *oral gavage*. Pemberian perlakuan setiap pukul 08.00 WIB selama 30 hari. Pada hari ke-31, tikus dianestesi menggunakan eter 10%, kemudian dilakukan dislokasi leher dan dibedah untuk mengambil ovarium menggunakan *dissection set*. Ovarium ditimbang dan dilakukan pengukuran GSI dengan rumus sebagai berikut;

$$\text{GSI (\%)} = \frac{\text{Bobot Gonad (g)}}{\text{Bobot Tubuh (g)}} \times 100\%$$

Ovarium kemudian dicuci menggunakan NaCl 0,9% untuk menghilangkan kotoran dan darah, kemudian difiksasi dengan larutan BNF 10% selama 24 jam. Setelah difiksasi, ovarium kemudian dibuat preparat sediaan histologis dengan metode paraffin dengan pewarnaan Haematoxylin-Eosin. Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop Olympus Cx21 dan optilab dengan pembesaran 4 dan 10 kali lensa obyektif. Parameter terdiri dari jumlah, diameter dan luas pada folikel primer, sekunder, de graaf, atresia dan korpus luteum dengan menggunakan aplikasi *Image Raster* (Yang *et al.*, 2019). Seluruh parameter pengamatan dilakukan analisis data menggunakan uji *one way Anova* ( $P < 0,05$ ) dan dilanjutkan uji *post hoc* menggunakan *Duncan* ( $P < 0,05$ ) untuk mengetahui perbedaan signifikan antar perlakuan.

## HASIL

Ekstrak etanol daun pepaya Calina memiliki beberapa kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin dan saponin. Seluruh senyawa menghasilkan reaksi positif, ditandai dengan masing-masing deteksi menunjukkan indikator warna yang positif (Tabel 1).

Pemberian ekstrak tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan bobot badan tikus wistar selama 4 minggu perlakuan pada seluruh kelompok ( $P > 0,05$ ) (Tabel 2). Ekstrak diduga tidak mempengaruhi nafsu makan tikus, ditandai dengan peningkatan bobot badan tikus setiap minggunya pada seluruh perlakuan. Hasil data menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina tidak mempengaruhi bobot badan dan aman digunakan pada hewan uji selama 30 hari.

Pemberian ekstrak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada bobot ovarium dan GSI antar perlakuan ( $P < 0,05$ ) (Tabel 3). Rerata tertinggi dari bobot ovarium dan GSI berada pada kelompok kontrol, sedangkan data terendah pada dosis 400 mg/KgBB. Hasil data menunjukkan bahwa terdapat penurunan GSI setelah pemberian ekstrak etanol daun pepaya Calina.

Hasil pengamatan memperlihatkan pada gambaran histologi ovarium, terlihat beberapa jenis folikel yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel *de graaf*, korpus luteum dan folikel atresia (Gambar 1). Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan secara signifikan pada jumlah folikel primer dan folikel sekunder pada seluruh perlakuan ( $P < 0,05$ ) (Tabel 4). Penurunan jumlah folikel primer dan sekunder secara signifikan terlihat berbeda nyata pada dosis 400 mg/Kg BB dibandingkan dengan kontrol. Pada diameter dan luas area folikel primer dan sekunder tidak menunjukkan

perbedaan secara signifikan antar perlakuan ( $P > 0,05$ ). Pada tabel 4 juga memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan luasan dan diameter folikel *de graaf* antar perlakuan ( $P > 0,05$ ). Folikel *de graaf* terlihat lebih kecil pada dosis 300 mg/KgBB dibandingkan dengan perlakuan lain.

Korpus luteum pada dosis 200 dan 300 mg/Kg BB memiliki luasan yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ) (Tabel 4). Hasil data juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan pada jumlah folikel atresia pada perlakuan dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Jumlah folikel atresia lebih banyak ditemukan pada dosis 300 dan 400 mg/KgBB dibandingkan perlakuan lain. Pada gambar 2, terlihat jumlah folikel atresia yang banyak dibandingkan dengan kontrol.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun pepaya Calina memiliki beberapa kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin dan saponin. Senyawa tersebut memiliki potensi sebagai agen antifertilitas yang berpengaruh terhadap siklus reproduksi tikus (Ye & Shaw, 2019; Mahatriny *et al.*, 2014, Setiawan *et al.*, 2021a). Bobot ovarium dan GSI pada perlakuan pemberian ekstrak mengalami penurunan diduga akibat dari senyawa saponin pada ekstrak yang menghambat proses kematangan gonad, termasuk pada ovarium (Sitasiwi *et al.*, 2019; Saputra *et al.*, 2020). Perubahan bobot ovarium juga bergantung pada jumlah folikel yang matang karena memiliki antrum yang berisi cairan, sehingga memberikan berat tambahan pada ovarium (Mardika *et al.*, 2018; Muslichah & Wiratmo, 2015). Hal tersebut terlihat pada perbedaan jumlah dan luas area folikel ovarium setelah pemberian ekstrak.

Penurunan jumlah dan luasan dari folikel diduga dipengaruhi oleh senyawa alkaloid dan flavonoid pada ekstrak. Senyawa Alkaloid dapat menghambat jalur oksigen dan menghambat pembentukan ATP, sehingga menyebabkan penurunan kemampuan sel pada folikel untuk melakukan proses diferensiasi dan proliferasi (Handayani & Gofur, 2019; Batubara *et al.*, 2017; Muchtaromah, 2011). Senyawa tersebut diduga menurunkan kemampuan diferensiasi sel oosit dan sel granulosa pada perkembangan folikel ovarium. Penurunan kemampuan sel granulosa dapat mempengaruhi kemampuan reseptor FSH, sehingga menghambat perkembangan folikel (Figueiredo *et al.*, 2018). Alkaloid juga berperan dalam menurunkan konsentrasi FSH dan estradiol dalam tubuh (Modupe, 2015). Alkaloid menyebabkan FSH tidak dapat

Tabel 1. Kandungan senyawa ekstrak etanol daun pepaya Calina

| Senyawa      | Deteksi             | Hasil | Indikator Warna |
|--------------|---------------------|-------|-----------------|
| Alkaloid     | Drangendorff        | +     | Jingga          |
| Flavonoid    | Sitroborat          | +     | Kuning          |
| Triterpenoid | Anisaldehyd         | +     | Merah Bata      |
| Tanin        | FeCl <sub>3</sub>   | +     | Hijau           |
| Saponin      | Liebermann-Burchard | +     | Hitam           |

Keterangan: (+) Positif mengandung golongan senyawa fitokimia

Tabel 2. Bobot badan tikus Wistar betina setelah perlakuan

| Minggu | Bobot Badan (g)             |                             |                             |                             |                             |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|        | K                           | K+                          | 200 mg/KgBB                 | 300 mg/KgBB                 | 400 mg/KgBB                 |
| 1      | 161,60 ± 26,74 <sup>a</sup> | 152,00 ± 30,86 <sup>a</sup> | 162,20 ± 29,40 <sup>a</sup> | 152,60 ± 17,09 <sup>a</sup> | 161,20 ± 24,02 <sup>a</sup> |
| 2      | 161,60 ± 20,03 <sup>a</sup> | 154,80 ± 30,87 <sup>a</sup> | 164,40 ± 27,77 <sup>a</sup> | 156,20 ± 30,19 <sup>a</sup> | 162,00 ± 23,88 <sup>a</sup> |
| 3      | 172,20 ± 37,49 <sup>a</sup> | 157,00 ± 15,36 <sup>a</sup> | 170,80 ± 13,44 <sup>a</sup> | 158,20 ± 23,70 <sup>a</sup> | 163,20 ± 7,79 <sup>a</sup>  |
| 4      | 179,00 ± 42,71 <sup>a</sup> | 163,80 ± 22,93 <sup>a</sup> | 174,00 ± 29,84 <sup>a</sup> | 168,00 ± 39,07 <sup>a</sup> | 164,40 ± 21,42 <sup>a</sup> |

Keterangan: <sup>a</sup>Huruf superskrip pada baris yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara signifikan antar perlakuan ( $P > 0,05$ ). K(akuades), K+ (pil kontrasepsi 14,184 mg/kgBB). Mean ± SD.

Tabel 3. Bobot ovarium dan GSI setelah perlakuan

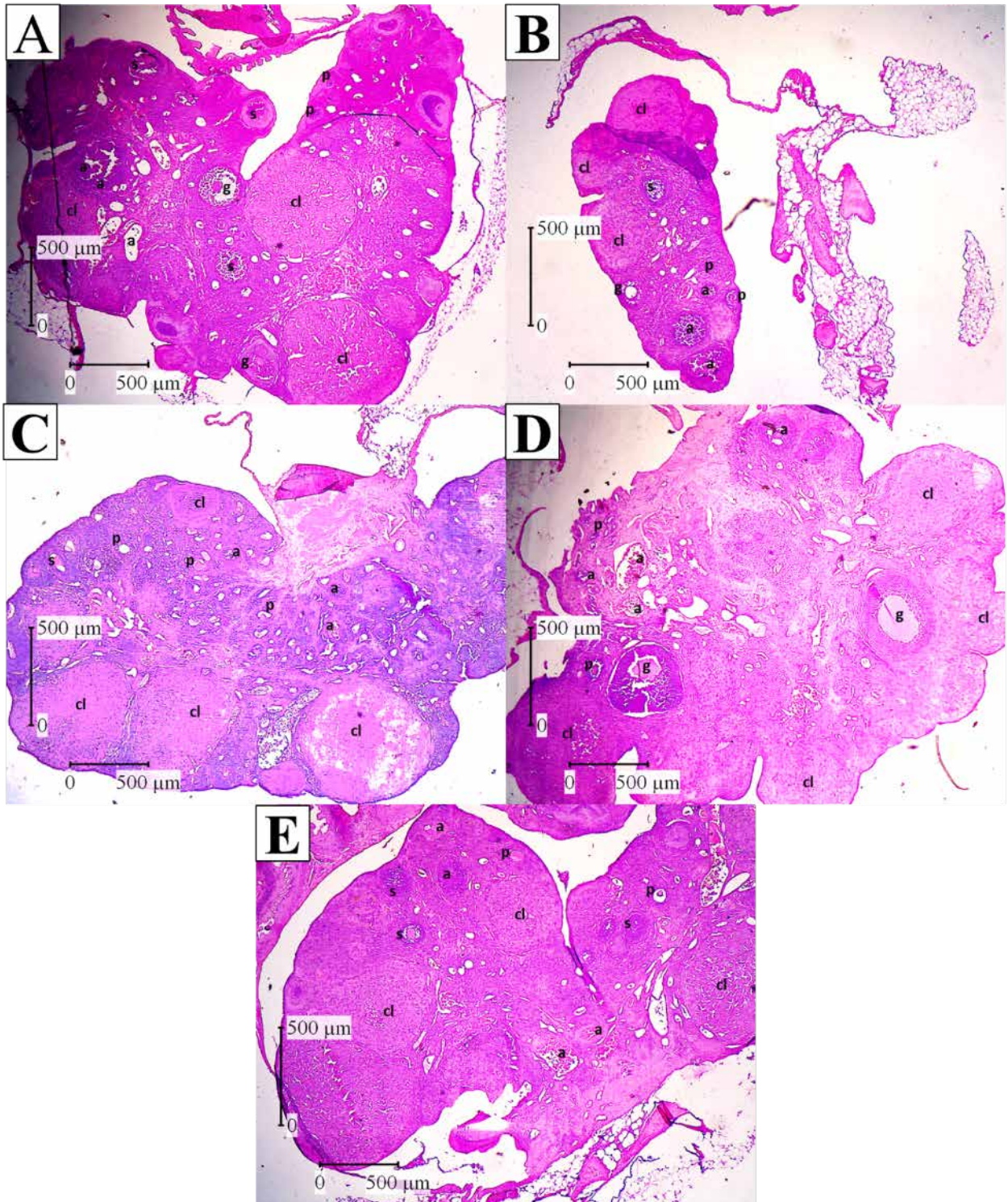
| Variabel    | Bobot Ovarium (g)        | GSI (%)                   |
|-------------|--------------------------|---------------------------|
| K           | 0,07 ± 0,01 <sup>b</sup> | 0,04 ± 0,01 <sup>b</sup>  |
| K+          | 0,05 ± 0,01 <sup>a</sup> | 0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>  |
| 200 mg/KgBB | 0,05 ± 0,01 <sup>a</sup> | 0,03 ± 0,01 <sup>ab</sup> |
| 300 mg/KgBB | 0,05 ± 0,01 <sup>a</sup> | 0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>  |
| 400 mg/KgBB | 0,04 ± 0,01 <sup>a</sup> | 0,02 ± 0,01 <sup>a</sup>  |

Keterangan: <sup>a-b</sup> Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan secara signifikan antar perlakuan ( $P > 0,05$ ); K:(dosis 0 mg/KgBB), K+:(pil KB 14,184 mg/KgBB). Mean ± SD.

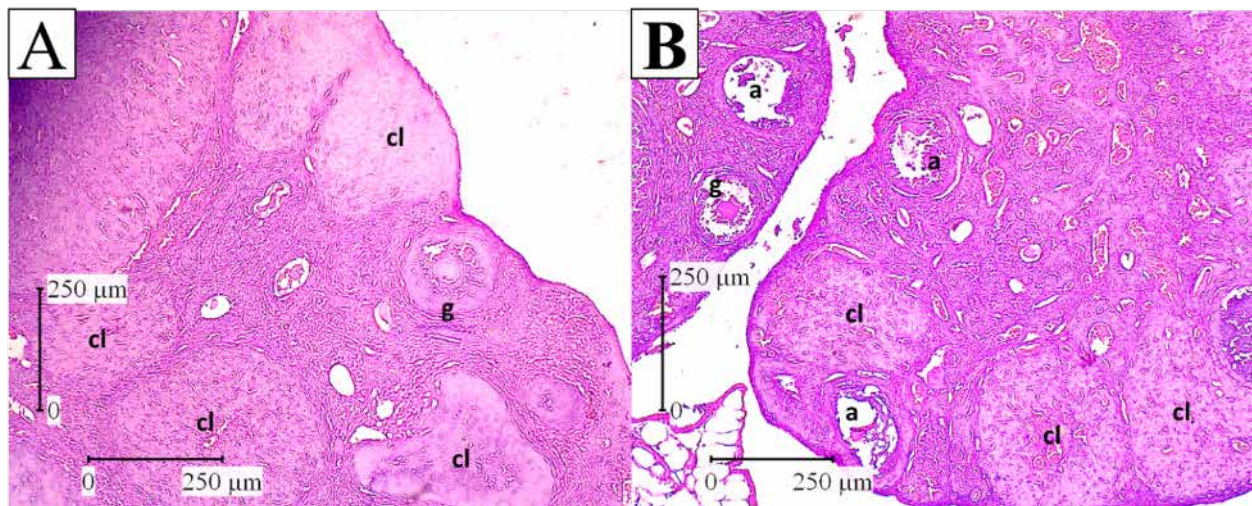
Tabel 4. Perkembangan ovarium tikus wistar setelah perlakuan

| Variabel         |                         | K                            | K+                           | 200 mg/KgBB                  | 300 mg/KgBB                  | 400 mg/KgBB                   |
|------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Folikel Primer   | Jumlah                  | 3,20 ± 0,83 <sup>b</sup>     | 1,40 ± 0,55 <sup>a</sup>     | 2,20 ± 1,30 <sup>ab</sup>    | 1,20 ± 1,30 <sup>a</sup>     | 1,00 ± 1,41 <sup>a</sup>      |
|                  | Diameter (µm)           | 96,93 ± 18,08 <sup>a</sup>   | 112,99 ± 33,15 <sup>a</sup>  | 83,55 ± 46,82 <sup>a</sup>   | 62,37 ± 57,93 <sup>a</sup>   | 61,22 ± 136,90 <sup>a</sup>   |
|                  | Luas (mm <sup>2</sup> ) | 0,62 ± 0,33 <sup>a</sup>     | 0,54 ± 0,53 <sup>a</sup>     | 0,54 ± 0,27 <sup>a</sup>     | 0,30 ± 0,26 <sup>a</sup>     | 0,14 ± 0,20 <sup>a</sup>      |
| Folikel Sekunder | Jumlah                  | 5,20 ± 2,86 <sup>c</sup>     | 2,80 ± 0,37 <sup>ab</sup>    | 3,40 ± 0,89 <sup>bc</sup>    | 2,00 ± 1,22 <sup>ab</sup>    | 1,00 ± 1,41 <sup>a</sup>      |
|                  | Diameter (µm)           | 191,27 ± 31,88 <sup>a</sup>  | 179,31 ± 39,92 <sup>a</sup>  | 189,99 ± 47,63 <sup>a</sup>  | 188,33 ± 70,36 <sup>a</sup>  | 128,37 ± 216,46 <sup>a</sup>  |
|                  | Luas (mm <sup>2</sup> ) | 2,94 ± 0,86 <sup>a</sup>     | 2,24 ± 0,88 <sup>a</sup>     | 2,17 ± 1,68 <sup>a</sup>     | 2,27 ± 1,88 <sup>a</sup>     | 3,95 ± 8,03 <sup>a</sup>      |
| Folikel De Graaf | Jumlah                  | 1,2 ± 0,57 <sup>a</sup>      | 0,6 ± 0,55 <sup>a</sup>      | 1,20 ± 0,83 <sup>a</sup>     | 0,60 ± 0,89 <sup>a</sup>     | 0,60 ± 0,55 <sup>a</sup>      |
|                  | Diameter (µm)           | 528,13 ± 173,41 <sup>b</sup> | 187,37 ± 176,97 <sup>a</sup> | 208,55 ± 118,48 <sup>a</sup> | 153,92 ± 218,18 <sup>a</sup> | 305,29 ± 278,87 <sup>ab</sup> |
|                  | Luas (mm <sup>2</sup> ) | 22,21 ± 13,15 <sup>b</sup>   | 3,95 ± 4,11 <sup>a</sup>     | 3,96 ± 2,39 <sup>a</sup>     | 5,96 ± 7,83 <sup>a</sup>     | 12,39 ± 11,39 <sup>ab</sup>   |
| Korpus Luteum    | Jumlah                  | 3,20 ± 0,83 <sup>a</sup>     | 1,60 ± 0,89 <sup>a</sup>     | 2,60 ± 0,89 <sup>a</sup>     | 2,40 ± 1,15 <sup>a</sup>     | 2,00 ± 1,41 <sup>a</sup>      |
|                  | Diameter (µm)           | 726,22 ± 87,80 <sup>a</sup>  | 403,51 ± 334,16 <sup>a</sup> | 463,46 ± 149,56 <sup>a</sup> | 428,34 ± 315,21 <sup>a</sup> | 548,44 ± 335,16 <sup>a</sup>  |
|                  | Luas (mm <sup>2</sup> ) | 45,695 ± 5,90 <sup>a</sup>   | 18,35 ± 12,88 <sup>b</sup>   | 14,58 ± 10,74 <sup>b</sup>   | 17,32 ± 9,78 <sup>b</sup>    | 41,67 ± 10,94 <sup>a</sup>    |
| Folikel Atresia  | Jumlah                  | 2,80 ± 0,84 <sup>a</sup>     | 8,00 ± 1,58 <sup>b</sup>     | 5,60 ± 2,19 <sup>ab</sup>    | 8,80 ± 3,27 <sup>b</sup>     | 8,80 ± 3,35 <sup>b</sup>      |
|                  | Diameter (µm)           | 134,38 ± 89,94 <sup>a</sup>  | 134,65 ± 14,05 <sup>a</sup>  | 131,22 ± 15,09 <sup>a</sup>  | 134,71 ± 35,14 <sup>a</sup>  | 134,33 ± 41,33 <sup>a</sup>   |
|                  | Luas (mm <sup>2</sup> ) | 26,63 ± 23,01 <sup>a</sup>   | 12,34 ± 3,65 <sup>a</sup>    | 18,68 ± 17,25 <sup>a</sup>   | 20,09 ± 10,46 <sup>a</sup>   | 21,50 ± 12,30 <sup>a</sup>    |

Keterangan: <sup>a-c</sup> Huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan terdapat perbedaan secara signifikan antar perlakuan ( $P > 0,05$ ); K:(dosis 0 mg/Kg BB), K+:(pil KB 14,184 mg/Kg BB). Mean ± SD.



Gambar 1. Struktur histologi ovarium pada berbagai macam perlakuan. Keterangan: A (Kontrol), B (Kontrol Positif), C (dosis 200 mg/KgBB), D (dosis 300 mg/KgBB), E (dosis 400 mg/KgBB), p (folikel primer), s (folikel sekunder), g (folikel *de graaf*), cl (korpus luteum), a (folikel atresia); Skala 500 µm; Pewarnaan HE.



Gambar 2. Perbandingan folikel de graaf dengan folikel atresia. Keterangan : A (Kontrol), B (dosis 400 mg/kgBB), a (folikel atresia), cl (korpus luteum), g (folikel de graaf); Skala 250 μm; Pewarnaan HE.

berikatan dengan reseptor pada sel granulosa, sehingga mengganggu proses folikulogenesis (Puspitasari *et al.*, 2014).

Ekstrak etanol daun pepaya *Calina* juga mengandung flavonoid yang memiliki sifat estrogenic (Setiawan *et al.*, 2021b). Kemampuan tersebut menyebabkan jumlah estrogen bebas meningkat di dalam darah, sehingga akan menimbulkan umpan balik negatif pada sekresi GnRH (Satyaningtijas *et al.*, 2014; Yulianita *et al.*, 2020). Gangguan sekresi GnRH akan menekan hormon FSH untuk merangsang pertumbuhan sel granulosa dan menyebabkan terhambatnya perkembangan folikel. Flavonoid menghambat FSH dan LH (*Leutheizing Hormone*) pada kelenjar hipofisis, sehingga menghambat perkembangan folikel ovarium. Menurunnya jumlah folikel pada ovarium juga disebabkan oleh senyawa triterpenoid dan tannin yang dapat memicu apoptosis sel, sehingga terjadi penipisan lapisan teka pada folikel ovarium (Wijayanti *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2018).

Jumlah folikel primer dan sekunder yang menurun setelah pemberian ekstrak dapat berdampak pada jumlah dan ukuran folikel de graaf yang matang (Palma *et al.*, 2012; Conti & Chang, 2016). Kandungan alkaloid dapat menghalangi FSH dan LH, sehingga menghambat pembentukan folikel de graaf. Diduga bahwa ekstrak mempengaruhi pembentukan folikel de graaf dengan menurunkan diameter dan luas area folikel tersebut. Korpus luteum merupakan fase pasca ovulasi dan menunjukkan masuknya fase fase luteal dengan memproduksi hormon progesteron dan estrogen. Fase estrus yang relatif pendek akan mempercepat mekanisme ovulasi, sehingga korpus luteum akan terdegenerasi dan mengecil. Diduga bahwa ekstrak tersebut mempercepat fase estrus

pada tikus betina, sehingga menurunkan ukuran korpus luteum (Na'ima *et al.*, 2012).

Folikel atresia merupakan folikel yang tidak berkembang dan mengalami degenarasi akibat terganggunya proses perkembangan ovarium pada fase folikular, sehingga mempengaruhi kematangan sel telur dan proses fertilisasi. Senyawa antifertilitas pada daun pepaya *Calina* diduga dapat meningkatkan jumlah folikel atresia (Yulianita *et al.*, 2020). Senyawa antifertilitas seperti alkaloid dapat menurunkan konsentrasi FSH dan estradiol di dalam tubuh, sehingga menyebabkan terhambatnya proses folikulogenesis dan menyebabkan terbentuknya folikel atresia. Senyawa triterpenoid, saponin dan tannin diduga menyebabkan apoptosis pada folikel dan sel granulosa (Wijayanti *et al.*, 2016). Senyawa tersebut mengaktifkan jalur apoptosis, menahan siklus sel dan memicu autofagositosis pada perkembangan ogenesis (Laili, 2016). Lapisan sel granulosa yang mengalami apoptosis akan menyebabkan folikel tidak mencapai tahap ovulasi, sehingga terbentuk folikel atresia (Liu *et al.*, 2016). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan mempengaruhi peningkatan jumlah folikel atresia pada ovarium tikus Wistar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki pengaruh yang sama dengan pil kontrasepsi (Kontrol Positif) dalam menurunkan index GSI dan perkembangan ovarium tikus Wistar. Ekstrak etanol daun pepaya *Calina* memiliki peran yang sama dengan pil kontrasepsi yang mengandung *ethinylestradiol* dan *levanogestrol* dalam menghambat perkembangan folikel di dalam ovarium (Farida, 2017). Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya *Calina* dapat

dijadikan sebagai kandidat agen antifertilitas herbal dalam mengganggu perkembangan ovarium tikus Wistar. Kesimpulan yang didapat adalah ekstrak etanol daun pepaya Calina dosis 300 mg/Kg BB berpotensi menjadi agen antifertilitas alami dengan menurunkan perkembangan folikel ovarium dan GSI tikus Wistar betina.

"Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak terkait dalam penelitian ini".

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfian MAJ, Sitaswi A J, Djaelani MA. 2018. Efek antifertilitas ekstrak air biji pepaya (*Carica Papaya* L.) terhadap jumlah dan diameter folikel de graaf mencit (*Mus musculus*) betina. *Jurnal Pro-Life Jurnal Pendidikan Biologi, Biologi, dan Ilmu Serumpun*. 5(1):476-486. <https://doi.org/10.33541/jpvol6lss2pp102>
- Alfianty A, Sitaswi AJ, Mardiaty SM. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Berat Uterus Dan Tebal Endometrium Mencit (*Mus musculus* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 4(1):82-89. <https://doi.org/10.14710/baf.4.1.2019.82-89>
- Batubara MS, Sabri E, Tanjung M. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Terhadap Gambaran Morfologi Ovarium Mencit (*Mus musculus* L.) Strain DDW. *Klorofil: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*. 1(1):5-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.30821/kfl:jibt.v1i1.1232>
- Chin-Chao H, Hsu L, Shuo- Yuan H, Ying-Chih L, Chang HH, Tien-Chao H. 2021. Ovarian Folliculogenesis and Uterine Endometrial Receptivity after Intermittent Vaginal Injection of Recombinant Human FOLLICLE-Stimulating Horone in Infertile Women Receiving In Vitro Fertilization and in Immature. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(19):1- 19. <https://doi.org/10.3390/ijms221910769>.
- Conti M, Chang RJ. 2016. Folliculogenesis, ovulation, and luteogenesis. *Endocrinology: adult and pediatric*. 7:2179-2191.
- Devi S, Fatchiya A, Susanto D. 2016. Kapasitas Kader dalam Penyuluhan Keluarga Berencana di Kota Palembang, Provinsi Sumatera Selatan. *Jurnal Penyuluhan*. 12(2):144-156.
- Dewanti E, Viviandhari D, Lonica N, Isnarningtyas SM. 2020. Efek Antifertilitas dari Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley. *Jurnal Jamu Indonesia*. 5(1):9-15.
- Ergina S, Nuryanti, Pursitasari ID. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan pelarut Air Dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. 3(3):165-172.
- Farida. 2017. Penggunaan Alat Kontrasepsi Suntik dan Pil Terhadap Peningkatan Berat Badan Pada Ibu Pasangan Usia Subur. *STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 6(2):43-47. <https://doi.org/10.30994/sjik.v6i2.1>
- Figueiredo JR, de Lima LF, Silva JRV, Santos RR. 2018. Control of growth and development of preantral follicle: insights from in vitro culture. *Animal Reproduction (AR)*. 15(1):648-659. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0019>
- Handayani N, Gofur A. 2019. The Potency of Pulutan (*Urena lobata* L). Leaves Decoction As Antifertility Based on Its Effect on Uterine Development of BALB C Mice (*Mus musculus*). *Jurnal Kedokteran Hewan*. 11(4):153-155.
- Hidayah N, Sitaswi AJ, Mardiaty SM. 2018. Efek Ekstrak Ethanol Daun Mimba Terhadap Gonadosomatic Index (GSI), Jumlah dan Ukuran Folikel Atresia pada Mencit (*Mus musculus* L.) Betina. *Jurnal Pro-Life*. 5(20):589- 597. DOI: <https://doi.org/10.33541/jpvol6lss2pp102>
- Jati NK, Prasetya AT, Mursiti S. 2019. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alkaloid pada Daun Pepaya. *Jurnal MIPA*. 42(1):1-6.
- Laili NDH, Nofianti T, Sari FI. 2016. Uji Antifertilitas Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) Terhadap Mencit Putih Betina Bunting Galur Swiss Webster. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 13(1):51-55. DOI: <http://dx.doi.org/10.36465/jkbth.v15i1.150>
- Liu J, Gao H, Tian Z, Wu Y, Wang Y, Fang Y, Lin L, Han Y, Wu S, Haq I, Zeng S. 2016. Effects of Chronic Heat Stress on Granulosa Cell Apoptosis and Follicular Atresia in Mouse Ovary. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 7(57):2-10. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0116-6>
- Mahatrinny NN, Payani NPP, Oka IBM, Astuti KW. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) yang Diperoleh dari Daerah Ubud, Kabupaten Gianyar. *Jurnal Farmasi Udayana*. 3(1):8-13.
- Mardika K, Setyawati I, Darmadi AAK. 2018. Panjang Siklus Estrus dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kaliandra Merah, *Jurnal Veteriner*. 19 (3):342-350. DOI: [10.19087/jveteriner.2018.19.342](https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.342)
- Modupe AE. 2015. Effects or Oral Administration of Decoction on Serum Levels of Leutinizing Hormone, Follicle Stimulating Hormone, Progesterone and Estradiol in Femlae Dutch-White Rabbits. *Research Journal of Medicinal Plant*. 9(3):141-145.

- Muchtaromah B, Adwiyah R. 2014. Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Dosis Tinggi Terhadap Profil Ovarium mencit (*Mus musculus*) Betina. *Berkala Penelitian Hayati Edisi Khusus*: 4D:47-53.
- Muslichah S, & Wiratmo. 2015. Efek Antifertilitas Fraksi n-Heksana, Fraksi Kloroform, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan*. 2(2):10-14. DOI: <https://doi.org/10.33508/jfst.v2i2.716>
- Na'ima M, Susanti R, Christijanti W. 2012. Efek Aktivitas Pemberian Minyak Sawit dan Minyak Lemuru Dalam Mempercepat Pubertas Tikus Betina. *Biosantifika*. 4(1):36-41. <https://doi.org/10.15294/biosantifika.v4i1.2266>
- Palma GA, Argañaraz ME, Barrera AD, Rodler D, Mutto AÁ, Sinowatz F. 2012. Biology and biotechnology of follicle development. *The Scientific World Journal*. 1-14 <https://doi.org/10.1100/2012/938138>
- Puspitasari Y, Suhita BM, Srianto P, Widjiati. 2014. Pemberian Ekstrak Ethanol Biji Pepaya (*Carica papaya*) pada Tikus Betian (*Rattus norvegicus*) Sebagai Alternatif Bahan Antifertilitas Folikulogenesis, Kualitas Sel Telur dan Angka Fertilisasi. *Veterinaria Medika*. 30(1):61-66.
- Rahayu AU, Tjitraesmi A. 2016. Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Kalkon dan Derivatnya. *Farmaka*. 15(1):1- 14. <https://doi.org/10.24198/jf.v15i1.11332>
- Rejeki TR, Harjana T, Sukiya. 2017. Pengaruh Ekstrak Daun Kenari (*Canaium indicum* L.) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus* L.). *Jurnal Prodi Biologi*. 6(3):1-10.
- Saputra AR, Sitaswi AJ, Saraswati T. 2020. Gonadosomatic Index Jantan (*Rattus norvegicus*) Setelah Paparan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Sebagai Senyawa Antifertilitas. *Jurnal Pro-Life*. 7(3):288- 298. <https://doi.org/10.33541/jpvol6iss2pp102>
- Satiti, S. 2019. Gerakan Ayo Sekolah Di Kabupaten Bojonegoro: Peningkatan Sumber Daya Manusia Melalui Pendidikan Untuk Menyongsong Bonus Demografi. *Jurnal Kependudukan Indonesia*. 14(1):77-92.
- Satyaningtjas AS, Maheshwari H, Achmadi P, Pribadi WA. 2014. Kinerja Reproduksi Tikus Bunting Akibat Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8(1):35- 37. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v8i1.1253>
- Setiawati E, Handayani O, Kuswardinah, A. 2017. Pemilihan Kontrasepsi Berdasarkan Efek Samping Pada Kedua Kelompok Usia Reproduksi. *Unnes Journal of Public Health*. 6(3):168-169. <https://doi.org/10.15294/ujph.v6i3.11543>
- Setiawan H, Wulandari SW, Agustina ED. 2021a. Antispermatogetic Activity Of Ethanolic Leaves Extract Of Calina Papaya On Seminiferous Tubules Wistar Rats. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol 15(1): 21-26. DOI: <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v15i1.18435>
- Setiawan H, Wulandari SW, Nurwidyantary FE, Dewantari I. 2021b. The Effects of Calina Papaya Leaf Ethanol Extract On Estrus Cycle And Uterus Morphology of Wistar Rats. *Journal of Biology & Biology Education*. 13(3):305-312. <http://dx.doi.org/10.15294/biosantifika.v13i3.31343>
- Setiawan H, Wulandari SW, Fachmi MN. 2022. Efek Antispermatogetic Ekstrak Etanol Daun Pepaya Calina Terhadap Kualitas Sperma dan Morfologi Epididimis Tikus Wistar. *Berita Biologi*. 21(1):19-27. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v21i1.4175>
- Sitaswi AJ, Isdadiyanto S, Mardiaty S. M. 2019. Pelacakan Ekspresi Protein pada Testis Mencit (*Mus musculus*) Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Sains Veteriner*. 37(1): 90-96. DOI: 10.22146/jsv.43027
- Shah SK, Jhade DN. 2018. Evaluation of Antifertility Potential of Piper Betle (Petiole) on Female Wistar Rats "Rising Approaches of Herbal Contraception. 2018. *ELSEVIER Biochemistry and Biophysics Reports*. 15:97-102. doi:10.1016/j.bbrep.2018.08.001.
- Wijayanti DN, Muslichah S, Puspitasari E. 2016. Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda (*Carica papaya* L.) Terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 4(3):495-500.
- Yang YZ, Yao Y, Cao ZF, Gu TT, Xu Q, Chen GH. 2019. Histological Characteristics of Follicles and Reproductive Hormone Secretion During Ovarium Follicle Development in Laying Geese. *ELSEVIER*. 98(11):6063-6070. <https://doi.org/10.3382/ps/pe2278>.
- Ye H, Shaw I. 2019. Food flavonoid ligand structure/estrogen receptor- $\alpha$  affinity relationships – Toxicity or food functionality?. *Food and Chemical Toxicology*. 129. [10.1016/j.fct.2019.04.008](https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.04.008).
- Yulianita E, Effendi M, Triastinurmatiningsih. 2020. Kajian Mekanisme Estrogenik Kombinasi Ekstrak Kemangi dan Adas Melalui Histopat Ovarium dan Uterus. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 18(2):213-21