

---

# Efek Antifertilitas Fraksi *n*-Heksana, Fraksi Kloroform, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar

Siti Muslichah<sup>(a)\*</sup>, Wiratmo<sup>(a)</sup>

<sup>(a)</sup>Fakultas Farmasi Universitas Jember, Jember, Indonesia

Rendahnya partisipasi pria dalam program Keluarga Berencana disebabkan karena terbatasnya pilihan kontrasepsi untuk pria. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi metanol biji pepaya sebagai bahan kontrasepsi. Fraksi-fraksi tersebut diberikan secara oral dengan dosis masing-masing 100 mg/kgBB selama 20 hari. Sebanyak 20 ekor tikus jantan dengan berat badan 200-300 g berumur 2-2,5 bulan dikelompokkan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan jumlah, motilitas, viabilitas serta peningkatan abnormalitas spermatozoa yang signifikan dibandingkan kontrol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak biji *C. papaya* mempunyai efek terhadap reproduksi pria yang menunjukkan potensi tanaman ini sebagai pengatur kesuburan pria.

**Kata kunci:** biji *Carica papaya*, motilitas sperma, jumlah sperma, antifertilitas, abnormalitas sperma.

## ***Antifertility Effect of n-Hexane, Chloroform and Methanol Fractions of Carica papaya Seed on Male Wistar Rats***

*The low participation of men in Family Planning Program is caused by the limited choices of contraception for men. This study was aimed to evaluate the contraceptive potentials of n-hexane fraction, chloroform fraction and methanol fraction of papaya seed. The organic fractions were administered orally to the male rats with 100 mg/kg body weight dose respectively for 20 days. Twenty male rats weigh 200-300 g of 2-2.5 month old are grouped using Complete Random Design. A significant decline in sperm count and viability, total inhibition of sperm motility, and increased numbers of sperm abnormalities were evident after 20 days of treatment. The result showed that C. papaya seed extract has effect on male reproduction, thereby suggesting the potential of this plant in the regulation of male fertility.*

**Keywords:** *Carica papaya* seed, sperm motility, sperm count, antifertility, sperm abnormality.

---

\*Corresponding author: siti.m3@gmail.com

## PENDAHULUAN

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 dan 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).

Pepaya merupakan jenis tanaman yang bernilai ekonomis. Hampir semua bagian tanaman pepaya, dari daun sampai akarnya dapat dimanfaatkan dalam kehidupan manusia, namun manfaat biji pepaya masih belum banyak diketahui masyarakat kecuali sebagai bibit.

Menurut Wijayakusuma *et al.* (1992), biji pepaya berkhasiat sebagai obat cacangan, peluruh haid, karminatif, gangguan pencernaan, pembesaran hati dan limpa, abortivum, dan penyakit kulit. Beberapa penelitian juga membuktikan bahwa biji pepaya mempunyai efek antifertilitas. Lohiya *et al.* (2000) menyatakan bahwa ekstrak biji pepaya dapat mempengaruhi fertilitas sperma secara *in vitro*. Menurut Verma dan Chinoy (2002) ekstrak biji pepaya dapat mempengaruhi respon kontraksi kauda tubulus epididimis dan menyebabkan terjadinya infertilitas. Lohiya *et al.* (2005) melaporkan bahwa ekstrak metanol biji pepaya mempunyai efek antifertilitas. Lohiya *et al.* (2002) juga menyatakan bahwa ekstrak kloroform biji pepaya mempunyai efek azoospermia yang bersifat reversibel pada kelinci.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antifertilitas fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi metanol biji pepaya terhadap kualitas spermatozoa tikus jantan.

## METODE PENELITIAN

### Alat

*Rotary evaporator*, corong pisah, spuit oral 3,0 mL, alat-alat bedah, mikroskop, kamar hitung *Neubauer*, dan *Elisa reader*.

### Bahan

Biji pepaya berasal dari buah pepaya Bangkok matang diperoleh dari kebun pepaya di desa Sukorejo Bangsalsari Jember. Testosteron *kit* (DRG

Instruments GmbH Jerman), metanol, kloroform p.a, *n*-heksana, pewarna eosin. Hewan uji yang digunakan yaitu tikus jantan galur Wistar, umur 2-2,5 bulan yang diperoleh dari peternakan di Malang.

## Tahapan Penelitian

### Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Biji Pepaya

Biji pepaya dibersihkan lalu dikeringkan dan kemudian dilakukan pengecilan ukuran partikel selanjutnya ditimbang sebanyak 500 gram serbuk. Serbuk dimaserasi dengan metanol kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol sekitar 2,5 liter. Setelah 24 jam metanol ekstrak biji pepaya 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. Semua filtrat yang diperoleh diuapkan dengan penguap putar vakum hingga mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak metanol kental tersebut dilarutkan dalam metanol-air (7:3) kemudian difraksinasi dengan menggunakan *n*-heksana dengan perbandingan 1:1, dikocok lalu didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan *n*-heksana dipisahkan dan ditambahkan *n*-heksana baru pada lapisan metanol-air. Proses ini diulangi 3 kali. Bagian yang tidak larut *n*-heksana difraksinasi lagi dengan kloroform dengan cara yang sama dengan proses fraksinasi dengan *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform dan fraksi metanol diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental.

### Perlakuan pada Hewan Uji

Tikus diadaptasi terlebih dahulu selama seminggu serta diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok dipilih secara acak masing-masing 5 ekor. Kelompok I: pemberian kontrol CMC Na 1%. Kelompok II: pemberian fraksi *n*-heksana dosis 100 mg/kgBB. Kelompok III : pemberian fraksi kloroform dosis 100 mg/kgBB. Kelompok IV : pemberian fraksi metanol dosis 100 mg/kg BB. Kontrol CMC Na 1%, fraksi-fraksi diberikan pada hewan uji per oral dengan spuit 2 mL setiap hari selama 20 hari. Pada hari ke-21 tiap kelompok dinarkosis dengan kloroform, dibedah, lalu organ reproduksi yang meliputi testis, epididimis, vesika seminalis dan prostat diambil, dibersihkan lalu ditimbang. Sperma diambil dari kauda epididimis untuk penghitungan jumlah dan kualitas spermatozoa (motilitas, viabilitas, dan abnormalitas).

### Pengamatan Motilitas Spermatozoa

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan segera ketika spermatozoa diambil dari kauda epididimis. 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 mengikuti kategori WHO. Persentase motilitas spermatozoa

**TABEL 1. Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan Setelah Pemberian Bahan Uji Selama 20 Hari**

Perlakuan dengan Dosis 100 mg/kgBB	Bobot Organ		
	Testis	Epididimis	Vesika Seminalis dan Prostat
Kontrol	1,98 ± 0,39	0,66 ± 0,049 <sup>a</sup>	0,91 ± 0,35
Fraksi <i>n</i> -heksana	2,31 ± 0,33	0,58 ± 0,07 <sup>ac</sup>	0,79 ± 0,19
Fraksi kloroform	2,11 ± 0,26	0,56 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,91 ± 0,12
Fraksi metanol	1,94 ± 0,09	0,68 ± 0,09 <sup>abd</sup>	0,98 ± 0,27

**Keterangan :** \* = berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol (p<0,05).

**TABEL 2. Jumlah dan Kualitas Spermatozoa (Motilitas, Viabilitas, dan Abnormalitas)**

Parameter	Kontrol CMC-Na 1 %	Fraksi <i>n</i> -Heksana 100 mg/kgBB	Fraksi Kloroform 100 mg/kgBB	Fraksi Metanol 100 mg/kgBB
Jumlah (juta/mL)	67,6 ± 1,25 <sup>a</sup>	38,20 ± 1,31 <sup>b</sup>	20,60 ± 0,93 <sup>c</sup>	28,40 ± 0,77 <sup>d</sup>
Motilitas (%)	73,40 ± 1,66 <sup>a</sup>	27,20 ± 0,83 <sup>b</sup>	11,80 ± 0,57 <sup>c</sup>	15,60 ± 0,95 <sup>d</sup>
Viabilitas (%)	78,00 ± 2,00 <sup>a</sup>	65,20 ± 1,69 <sup>b</sup>	44,40 ± 1,79 <sup>c</sup>	59,60 ± 1,01 <sup>bd</sup>
Abnormalitas (%)	22,40 ± 1,48 <sup>a</sup>	25,20 ± 0,65 <sup>a</sup>	46,80 ± 1,08 <sup>b</sup>	38,00 ± 0,63 <sup>c</sup>

dihitung dengan menghitung jumlah spermatozoa yang bergerak cepat dan lurus dibanding jumlah total 100 spermatozoa.

**Perhitungan Jumlah Spermatozoa**

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 ditetaskan terlebih dahulu pada tisu, kemudian ditetaskan pada hemositometer yang sudah ditutup dengan kaca penutup, kemudian dilakukan pengamatan dan perhitungan spermatozoa dengan menggunakan mikroskop. Jumlah spermatozoa dihitung dengan menggunakan rumus :

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

**Pengamatan Abnormalitas dan Viabilitas Spermatozoa**

Melihat abnormalitas spermatozoa dengan cara 50 mikroliter cairan spermatozoa ditetaskan pada kaca obyek dan ditambahkan 50 mikroliter larutan eosin-Y 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, lalu dihitung persentase jumlah spermatozoa yang abnormal. Proses ini juga untuk melihat viabilitas spermatozoa yaitu persentase sperma yang mati dalam 100 spermatozoa.

**Analisis Data**

Hasil penghitungan jumlah, motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa disajikan dalam bentuk mean ± SE dan dianalisis dengan *one-way* Anova taraf kepercayaan 95%.

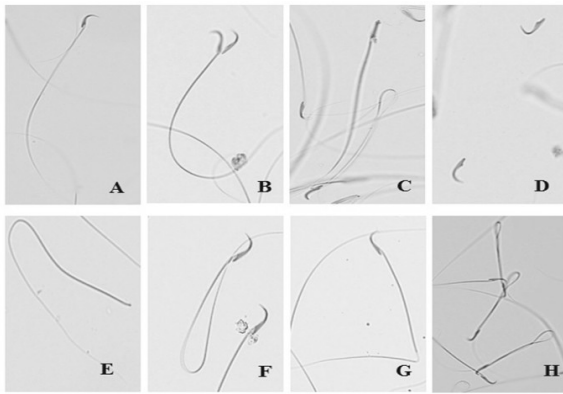
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian sebelumnya menyatakan potensi biji pepaya sebagai calon bahan kontrasepsi pria yang menjanjikan, mempengaruhi fertilitas namun bersifat terbalikkan. Ekstrak air biji pepaya dilaporkan memiliki pengaruh terhadap fertilitas tikus (Lohiya *et al.*, 1999), namun pengaruh tersebut bersifat terbalikkan (Chinoy *et al.*, 1994). Hamman *et al.* (2011) juga menyatakan bahwa ekstrak etanol biji pepaya dapat menurunkan fertilitas tikus jantan yang bersifat terbalikkan. Suatu bahan antifertilitas dapat bersifat sitotoksik atau bersifat hormonal dalam memberikan pengaruhnya.

Beberapa parameter yang mempengaruhi fertilitas diantaranya adalah bobot organ reproduksi, abnormalitas sperma, jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa. Sedangkan yang bersifat hormonal dapat dilakukan dengan mengukur kadar hormon yang berkaitan dengan organ reproduksi seperti testosteron, LH, dan FSH. Dalam penelitian Sari *et al.* (2014), pemberian biji pepaya pada berbagai fraksi dengan dosis 100 mg/kgBB terbukti hanya sedikit menurunkan kadar hormon testosteron (berbeda tidak signifikan di banding kontrol). Hormon testosteron sangat penting pada pria untuk perkembangan dan mempertahankan jaringan reproduksi pria serta berpengaruh terhadap libido. Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh data bobot organ reproduksi tikus jantan yang diberi perlakuan fraksi-fraksi biji pepaya menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada bobot organ epididimis namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap testis, vesika seminalis, dan prostat (**Tabel 1**).

Hasil uji statistik menggunakan *One-Way* Anova terhadap perubahan jumlah dan motilitas spermatozoa tikus jantan menunjukkan perbedaan yang signifikan (p<0,05) setelah pemberian fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol biji pepaya selama 20 hari (**Tabel 2**) Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa fraksi benzen biji pepaya yang diberikan secara oral dapat menekan jumlah dan motilitas sperma pada kauda epididimis tikus jantan (Pathak *et al.*, 2000). Biji pepaya mengandung alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Hasil penelitian Udoh *et al.* (2005) menyebutkan bahwa alkaloid dalam biji pepaya dapat menyebabkan degenerasi sel serta menurunkan jumlah sel sperma.

Ada perbedaan yang signifikan terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa (p<0,05, **Tabel 2**). Dari data tersebut diketahui bahwa kelompok perlakuan yang dipejani fraksi kloroform dosis 100 mg/kgBB mempunyai jumlah spermatozoa paling sedikit yaitu 20,60±0,93 juta/mL, sementara perlakuan dengan fraksi metanol dan fraksi *n*-heksana mempunyai jumlah spermatozoa berturut-turut adalah 26,40±0,77 juta/mL dan 38,20±1,31 juta/mL. Untuk data motilitas terjadi penurunan motilitas spermatozoa pada semua perlakuan, namun yang paling besar penurunannya adalah pada pemberian fraksi kloroform yaitu 11,80%. Viabilitas setelah perlakuan juga mengalami penurunan, sementara abnormalitas meningkat



**GAMBAR 1.** Morfologi sperma normal dan abnormal setelah perlakuan selama 20 hari dengan perbesaran 400x. **a)** spermatozoa normal; **b)** kepala ganda; **c)** kepala *tapered*; **d)** tanpa ekor; **e)** tanpa kepala; **f)** ekor melengkung; **g)** ekor patah; **h)** ekor *coil*.

secara bermakna setelah perlakuan (**Tabel 2**).

Proses spermatogenesis merupakan siklus yang rumit dan teratur dalam pembentukan spermatozoa. Selama proses tersebut berlangsung, aktivitas sel spermatogenik sangat tinggi yaitu terjadi perubahan morfologi dan biokimia untuk membentuk spermatozoa yang fungsional. Spermatozoa ini dalam perjalanannya menuju vas deferens tidak semuanya dapat mempertahankan kehidupannya sehingga ada sebagian yang mati. Gangguan keseimbangan hormonal selama spermatogenesis juga akan mempengaruhi viabilitas spermatozoa.

## PEMBAHASAN

Biji pepaya mengandung protein, beberapa enzim seperti papain, karpasemin, myrosin, alkaloid caricacin, *oleanolic glycoside* (sinigrin), carpain,  $\beta$ -sitosterol, dan glukosinolat (Milind dan Gurditta, 2011). Senyawa-senyawa tersebut terlarut dalam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, sehingga masing-masing fraksi menunjukkan aktivitas antifertilitas dengan kekuatan yang berbeda. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan mempunyai mekanisme yang berbeda-beda dalam memberikan efek antifertilitas. Pepaya juga mempunyai alkaloid karpain yang juga berpengaruh menurunkan jumlah spermatozoa.

Sinigrin dalam biji pepaya berefek anti-spermatogenesis yaitu dengan terjadinya penurunan steroidogenesis dalam testis tikus yang diberi ekstrak pepaya (Laksman dan Cangamma, 2012). Papain juga diduga dapat menurunkan total lipid pada jaringan testis dan epididimis. Lipid adalah sumber energi bagi sel mamalia. Ekstrak pepaya menurunkan aktivitas lipase pada testis dan epididimis yang menunjukkan penghambatan aktivitas lipase lipoprotein dan penghambatan absorpsi nutrisi dari gastrointestinal (Basha dan Cangamma, 2013). Energi tersebut dibutuhkan pada proses spermatogenesis di testis dan pematangan spermatozoa di epididimis.

Hasil pengamatan terhadap kualitas spermatozoa tikus menunjukkan fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform dan fraksi metanol biji pepaya

berpengaruh dalam menurunkan motilitas, viabilitas dan morfologi normal pada spermatozoa dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Motilitas spermatozoa berasal dari kemampuan spermatozoa mendorong diri maju ke depan akibat adanya substansi kontraktile pada bagian tubuh spermatozoa diteruskan ke seluruh bagian ekor spermatozoa. Gerakan ekor yang cepat dan kuat mampu mendorong spermatozoa masuk ke dalam membran serviks dan menembus sel telur (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Spermatozoa dapat menjadi motil karena adanya energi dari leher yang disalurkan ke bagian ekor. Bagian inilah yang menyebabkan spermatozoa dapat bergerak maju. Dengan demikian yang menjadi kunci untuk Bergeraknya spermatozoa adalah adanya produksi energi oleh mitokondria di bagian leher spermatozoa. Ada dugaan bahwa ekstrak biji pepaya menyebabkan abnormalitas organela sel pada bagian leher spermatozoa, yaitu vakuolisasi pada mitokondria dan abnormalitas struktur berupa leher bengkok (Lohiya *et al.*, 1999). Hal ini menyebabkan fungsi mitokondria dalam menghasilkan energi tidak maksimal dan akhirnya berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa.

Lohiya *et al.* (2005) menyatakan bahwa pengaruh ekstrak biji pepaya secara langsung adalah pada mekanisme pembentukan spermatozoa, sedangkan efek pada pematangan di epididimis bersifat tidak langsung. Hal ini dibuktikan dengan adanya korelasi antara jumlah dan motilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan lebih sedikit bila dibandingkan dengan jumlah dan motilitas spermatozoa kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa biji pepaya mempengaruhi spermatogenesis pada tahap metamorfosis spermatid menjadi spermatozoa. Bila spermatozoa yang dihasilkan mengalami abnormalitas dalam pembentukannya, tentu hal tersebut akan berpengaruh juga pada saat terjadi pemasakan di epididimis.

Pada penelitian ini juga terjadi penurunan jumlah spermatozoa normal setelah perlakuan dengan biji pepaya (**Gambar 1**). Menurut Sujoko dkk. (2009) bentuk morfologi sel spermatozoa berpengaruh terhadap pembuahan, jika jumlah abnormalitas spermatozoa terlalu tinggi maka akan menurunkan fertilitasnya. Menurunnya spermatozoa normal kemungkinan disebabkan oleh abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder.

Berdasarkan hasil pengamatan, abnormalitas primer yang banyak dijumpai adalah kelainan pada kepala seperti kepala ganda, tanpa ekor, tanpa kepala, dan kepala *tapered*, sedangkan abnormalitas sekunder yang banyak ditemukan adalah patahan pada ekor, ekor melengkung, dan ekor *coil*. Ditemukannya abnormalitas primer diduga karena adanya gangguan spermatogenesis pada fase spermiogenesis, yaitu saat pembentukan spermatozoa dari spermatid sedangkan abnormalitas sekunder terjadi diduga karena adanya gangguan maturasi spermatozoa dalam epididimis sehingga mengakibatkan ditemukannya spermatozoa abnormal (Ermayanti *et al.*, 2010).

Penelitian sebelumnya menyebutkan kemungkinan mekanisme ekstrak biji pepaya dalam menginduksi inhibisi motilitas sperma adalah disebabkan kandungan glikosinolat yang ada pada ekstrak biji pepaya yang mempengaruhi pembentukan plasma semen. Penelitian *bioassay* kandungan ekstrak biji pepaya menunjukkan terdapat glukosinolat dalam proporsi tinggi dari biji pepaya (Marfo *et al.*, 2003). Glukosinolat kemungkinan dapat menghambat pematangan spermatozoa dan mempengaruhi pembentukan plasma semen sebagai media dalam transport spermatozoa. Kemungkinan besar ekstrak biji pepaya mempengaruhi proses transportasi spermatozoa, yaitu dengan menggumpalkan semen sehingga motilitas dan viabilitas spermatozoa menurun (Nuraini *et al.*, 2012).

Beberapa parameter antifertilitas pada penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform dan fraksi methanol biji pepaya dapat menurunkan fertilitas tikus jantan dengan kekuatan yang berbeda-beda karena adanya kandungan senyawa kimia yang berbeda

dalam masing-masing fraksi sehingga mekanisme penurunan fertilitasnya kemungkinan juga berbeda, namun dapat dilihat pada semua parameter bahwa pemberian fraksi kloroform dosis 100 mg/kgBB memberikan efek antifertilitas paling baik.

## KESIMPULAN

Fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi metanol biji pepaya dosis 100 mg/kgBB mampu menurunkan jumlah spermatozoa, motilitas, meningkatkan abnormalitas spermatozoa dan menurunkan viabilitas spermatozoa secara signifikan dibandingkan kontrol. Fraksi kloroform biji pepaya memberikan efek antifertilitas paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada DIKTI melalui lembaga Penelitian Universitas Jember yang telah mendanai penelitian ini, sesuai dengan surat perjanjian No. 819/UN25.3.1/LT.6/2013.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allag LS dan Rangari K, 2002, Extragenomic Action of Steroids on Spermatozoa, Prospect for Regulation of Fertility, **Health Popul**, 25(1), 38-44.
- Basha SH dan Cangamma C, 2013, Effect of *Carica papaya* (L.) Seed on Lipid Metabolites in Male Albino Rats, **Int J Pharm Pharm Sci**, 5(4).
- Chinoy NJ, D'Souza JM, dan Padman P, 1994, Effect of Cr ude Aqueous Extract of *Carica papaya* Seed Extract on Male Albino Mice, **Reprod Toxicol**, 8, 75-80.
- Ermayanti NGA, Manik, dan Rai SNM, 2010, Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Perlakuan Infusa Kayu Amargo (*Quassia amara* Linn.) dan Pemulihannya, **J Biol**, 14 (1), 45-49.
- Hamman WO, Musa SA, Ikyembe DT, Umana UE, Adelaiye AB, Nok AJ, dan Ojo SA, 2011, Ethanol Extract of *Carica papaya* Seeds Induces Reversible Contraception in Adult Male Wistar Rats, **Br J Pharmacol Toxicol**, 2(5), 257-261.
- Laksman J dan Cangamma C, 2013, Antispermatogenic Effect of *Carica papaya* Seed Extract on Steroidogenesis in Albino Rats, **Int J Pharm Pharm Sci**, 5 (1).
- Lohiya NK, Goyal RB, Jayaprakash D, Ansari AS, dan Sharma S, 1999, Antifertility Effects of Aqueous Extract of *Carica papaya* Seed in Male Rats, **Planta Med**, 60, 400-404.
- Lohiya NK, Kothari LK, Manivannan B, Mishra PK, dan Pathak N, 2000, Human Sperm Immobilization Effect of *Carica papaya* Seed Extracts an In Vitro Study, **Asian J Androl**, 2, 103-109.
- Lohiya NK, Manivannan B, Mishra PK, Pathak N, Sriram S, Bhande SS, dan Panerdoss S, 2002, Chloroform Extract of *Carica papaya* Seeds Induces Long-Term Reversible Azospermia in Langur Monkey, **Asian J Androl**, 4(1), 17- 26.
- Lohiya NK, Pradyumna K, Mishra N, Pathak B, Manivannan S, Bhande S, Panneerdoss, dan Sriram S, 2005, Efficacy Trial on the Purified Compound of the *Carica Papaya* for Male Contraception In Albino Rat, **Repro Toxicol**, 20, 135-148.
- Marfo EK, Oke OL, dan Afolabi OA, 2003, Chemical composition of papaya (*Carica papaya*) seeds, **Food Chem**, 22(4), 259-266.
- Milind P and Gurditta, 2011, Basketful Benefit of Papaya, **Int Res Pharm**, 2(7), 6-12.
- Nuraini T, Kusmana D, dan Afifah E, 2012, Penyuntikan Ekstrak Biji *Carica papaya* L. Varietas Cibinong pada *Macaca fascicularis* L. dan Kualitas Spermatozoa serta Hormon Testosteron, **Makara Kes**, 16(1), 9-16.
- Pathak N, Mishra PK, Manivannan B, dan 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, 325-333.
- Prajogo B, Widjiati, dan Tandjung M, 2003, Pengaruh Fraksi Polifenol *Gendarussa vulgaris* Nees pada Penurunan Aktivitas Hialuronidase Spermatozoa Mencit melalui Uji Fertilisasi *in Vitro*, **J Penelit Med Eksakta**, 4(1).
- Salisbury GW dan Van Demark, 1985, **Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi**, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sari DP, 2014, Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan, **Skripsi**, Farmasi Universitas Jember
- Sujoko H, Setiadi MA, dan Boediono A, 2009, Seleksi Domba Garut Dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll, **J Vet**, 10(3), 125-134.
- Sumaryati A, 2004, **Tahun ini KB Pria Mulai digalakkan**, Badan Koordinator Keluarga Nasional, ([http://www.bkkbn.go.id/article\\_detail.php](http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php)).
- Udoh P dan Kehinde A, 1999, Studies on Antifertility Effect of Paw-paw Seed (*Carica papaya*) on the Gonads of the Male Albino Rats, **Phytother Res**, 13, 226-228.
- Udoh P, Essien I, dan Udoh F, 2005, Effect of *Carica papaya* (Paw-paw) Seed Extract on the Morphology of Pituitary-Gonadal Axis of Male Wistar Rats, **Phytother Res**, 19, 1065-1068.
- Wilopo SA, 2006, **Perkembangan Teknologi Kontrasepsi Pria Terkini**, Gema Pria, ([http://pikas.bkkbn.go.id/gemapria/article\\_detail.php](http://pikas.bkkbn.go.id/gemapria/article_detail.php)).
- Verma RJ dan Chinoy NG, 2002, Effect of *Carica papaya* Seed Extract on Contractile Response of Cauda Epididimal Tubules, **Asian J Androl**, 4(1), 77-78.
- Wijayakusuma, Dalimarta, dan Wirian, 1992, **Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia**, ed. 3, Pustaka Kartini, Jakarta.