



**UJI ANTIFERTILITAS KOMBINASI FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA  
(*Carica papaya* Linn.) DENGAN FRAKSI METANOL BIJI SAGA (*Abrus  
precatorius* Linn.) TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS JANTAN  
GALUR WISTAR**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Zainah Rajab**

**NIM 112210101010**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2014**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah memberikan kekuatan lahir batin dan kesempatan untuk menuntut ilmu beserta Nabi Muhammad SAW sebagai Rasul-Nya yang selalu menjadi panutan dalam setiap langkah.
2. Ummi Azizah Amar dan Abi Fathi tercinta yang telah memberikan do'a, dukungan, bimbingan, kasih sayang, kerja keras, perjuangan, dan pengorbanan untukku.
3. Guru dan dosen yang telah mendidikku dengan penuh kasih sayang dan kesabaran dari sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTO**

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.  
Maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah  
dengan sungguh-sungguh urusan yang lain.  
dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.  
(Q.S Alam Nasrah ayat 5-8)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Zainah Rajab

NIM : 112210101010

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Uji Antifertilitas Kombinasi Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn.) dengan Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* Linn.)**” terhadap Spermatogenesis Tikus Jantan Galur Wistar” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Maret 2015  
Yang menyatakan,

Zainah Rajab  
NIM 112210101010

**SKRIPSI**

**UJI ANTIFERTILITAS KOMBINASI FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA  
(*Carica papaya* Linn.) DENGAN FRAKSI METANOL BIJI SAGA (*Abrus  
precatorius* Linn.) TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS JANTAN  
GALUR WISTAR**

Oleh

**Zainah Rajab**

**NIM 112210101010**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., Apt., M.Farm

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Uji Antifertilitas Kombinasi Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn.) dengan Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap Spermatogenesis Tikus Jantan Galur Wistar” dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Jum'at  
Tanggal : 20 Maret 2013  
Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.  
NIP. 197305132005012001

Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., Apt., M.Farm  
NIP. 198204152006042002

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Diana Holiday, S.F., M.Fram., Apt.  
NIP. 197812212005012002

Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 198403082008012003

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Fram.  
NIP. 197604142002122001

**Uji Antifertilitas Kombinasi Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn.) dengan Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap Spermatogenesis Tikus Jantan Galur Wistar; Zainah Rajab, 112210101010; 2015; 79 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.**

Permasalahan terbesar yang dihadapi hampir di setiap negara berkembang terutama Indonesia yaitu pertumbuhan penduduk yang tidak terkendali. Program Keluarga Berencana (KB) bagi pasangan suami istri merupakan cara untuk menanggulangi laju pertumbuhan penduduk di Indonesia. Salah satu program KB yaitu kontrasepsi untuk pasangan suami istri. Dua tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai antifertilitas yaitu biji Saga (*Abrus precatorius*) yang termasuk famili Fabaceae dan biji pepaya (*Carica papaya*) yang termasuk famili Caricaceae. Fraksi metanol biji saga memiliki khasiat sebagai antifertilitas yang baik pada dosis pemberian 75 mg/Kg BB, sedangkan fraksi kloroform biji pepaya memiliki khasiat antifertilitas yang baik pada dosis pemberian 100 mg/Kg BB. Pada penelitian ini dilakukan uji antifertilitas kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga terhadap spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar, serta mengetahui reversibilitas dari pemberian kombinasi tersebut.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode rancangan acak lengkap yang terbagi atas 1 kelompok kontrol (CMC-Na 1%) dan 4 kelompok perlakuan dosis kombinasi dengan perbandingan fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga yaitu P1 sebesar 100 mg/kgBB:75 mg/kgBB, P2 sebesar 100 mg/kgBB:50 mg/kgBB, P3 sebesar 50 mg/kgBB:75 mg/kgBB, P4 sebesar 50 mg/kgBB:50 mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus jantan galur wistar dengan bobot 200-250 gram, kemudian diberi perlakuan hingga 28 hari. Pada hari ke-29 masing-masing kelompok dibagi dua sama banyak, 4 ekor tikus masing-masing kelompok dilakukan pembedahan dan pengambilan testis. Empat ekor tikus sisanya masing-masing kelompok dilanjutkan

tanpa diberi perlakuan hingga hari ke-56, kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan testis pada hari ke-57. Testis yang diperoleh dilakukan pemeriksaan histologi untuk mengetahui skor spermatogenesis. Hasil penelitian ini dilakukan uji statistik *Kruskall-Wallis*, dilanjutkan dengan uji Mann-whitney untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan. Tingkat kepercayaan yang digunakan adalah 95%.

Hasil rata-rata skor kelompok yang diberi perlakuan selama 28 hari. Diketahui rata-rata skor spermatogenesis kelompok kontrol (P0) yaitu sebesar 9,41. Skor rata-rata spermatogenesis kelompok P1, P2, P3, dan P4 berturut-turut sebesar 7,41; 8,46; 8,08 dan 6,78. Hasil uji *Kruskall-Wallis* kelompok yang diberi perlakuan selama 28 hari menunjukkan nilai signifikansi 0,008 ( $p < 0,05$ ). Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok yang memiliki perbedaan antar kelompok yaitu kelompok P0 dengan kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4 dengan nilai signifikansi 0,020 ( $p < 0,05$ ), kelompok P2 dengan P4 dengan nilai signifikansi 0,021 ( $p < 0,05$ ) dan kelompok P3 dengan P4 dengan nilai signifikansi 0,043 ( $p < 0,05$ ).

Hasil rata-rata skor kelompok selama 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan diketahui rata-rata skor spermatogenesis kelompok kontrol (P0) yaitu sebesar 9,26. Skor rata-rata spermatogenesis kelompok P1, P2, P3, dan P4 berturut-turut sebesar 8,54; 8,81; 9,05 dan 9,12. Hasil analisis statistik *Kruskal-walis* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna kelompok perlakuan dengan kontrol dengan nilai signifikansi 0,367 ( $p > 0,05$ ). Hasil penelitian ini dapat disimpulkan kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dapat menurunkan skor spermatogenesis, dimana kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB memiliki skor penurunan spermatogenesis lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lain yaitu sebesar 6,78, sedangkan pengaruh pemberian kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dapat bersifat reversibel atau tidak tetap.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Antifertilitas Kombinasi Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn.) dengan Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap Spermatogenesis Tikus Jantan Galur Wistar”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusun ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Fram selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember
3. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., Apt., M.Farm selaku dosen Pembimbing anggota yang telah banyak membantu, meluangkan waktu, dan pikiran serta perhatiannya untuk membimbing penulisan ini.
4. Ibu Diana Holidah, S.F., M.Fram., Apt. dan Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji atas kesediaannya untuk turut memberikan saran dan penilaian terhadap hasil penelitian ini.
5. Kepala Laboratorium Biologi dan Biomedik Universitas Jember beserta staf dan kerjasamanya
6. Ummi Azizah Amar dan Abi Fathi Rajab, serta kakak Zahirah Rajab dan adikku Irfaniah Rajab tercinta yang selalu berdo'a untuk kesuksesan dan keberhasilanku
7. Teman dekatku Thoriq Sa'adan yang selalu memberikan dukungan dan do'a untuk kesuksesan dan keberhasilanku.
8. Teman-teman “*Antifertilitas Grup*” Vita, Arum, Rara, Dyah atas kerjasamanya, kebaikan dan bantuan yang kalian berikan.

9. Sahabat-sahabatku Arum, Yazida, Fitriana, Husnul, Nurul Imamah, Nur, Lintang, Tintia atas kerjasamanya, susah dan senang kuliah serta praktikum di Fakultas Farmasi kita lalui bersama.
10. Rekan-rekan angkatan 2011 “Asmef” semuanya atas kebaikan dan bantuan yang kalian berikan.
11. Dan akhirnya kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuannya dalam menyelesaikan penelitian ini dan mendo’akan kesuksesan ujian skripsi ini.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya dan hanya Allah yang dapat membalas semua kebaikannya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis menerima segala keritik dan saran dari pembaca sekalian. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jember, 20 Maret 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Peneliti .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan tentang Tanaman Saga .....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Saga.....	5
2.1.2 Deskripsi Tanaman Saga.....	5
2.1.3 Manfaat Tanaman Saga.....	6
2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Saga .....	6
<b>2.1 Tinjauan tentang Tanaman Pepaya .....</b>	<b>7</b>
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya .....	7
2.1.2 Deskripsi Tanaman Pepaya .....	8

2.1.3 Manfaat Tanaman Pepaya .....	9
2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Pepaya .....	9
<b>2.3 Tinjauan tentang Fertilitas dan Antifertilitas .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4 Sistem Reproduksi Jantan.....</b>	<b>10</b>
2.4.1 Organ Reproduksi Jantan .....	10
2.4.2 Hormon yang Berpengaruh pada Reproduksi .....	12
<b>2.5 Proses Spermatogenesis .....</b>	<b>13</b>
2.5.1 Spermatogenesis.....	13
2.4.2 Miosis .....	14
2.4.3 Spermiogenesis.....	15
<b>2.6 Spermatozoa .....</b>	<b>16</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>18</b>
<b>3.4 Jumlah Sampel .....</b>	<b>20</b>
<b>3.5 Alat dan Bahan .....</b>	<b>20</b>
3.5.1 Alat .....	20
3.5.2 Bahan.....	21
3.5.3 Subjek Uji.....	21
<b>3.6 Variabel Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.6.1 Variabel Bebas .....	21
3.6.2 Variabel Terikat.....	21
3.6.3 Variabel Terkendali .....	22
<b>3.7 Definisi Operasional .....</b>	<b>22</b>
<b>3.8 Prosedur Kerja .....</b>	<b>24</b>
3.8.1 Tahapan Persiapan Fraksi Metanol Biji Saga .....	24
3.8.2 Tahapan Persiapan Fraksi Kloroform Biji Pepaya.....	25
3.8.3 Pembuatan Mucilago Na-CMC 1 % .....	26

3.8.4 Pembuatan Suspensi Uji .....	26
3.8.5 Tahap Perlakuan terhadap Hewan Coba .....	26
3.8.6 Pembuatan Preaparasi Sayatan Testis Tikus .....	27
<b>3.9 Analisis Data .....</b>	<b>30</b>
<b>3.10 Skema Pelaksanaan Penelitian.....</b>	<b>31</b>
3.10.1 Skema Preparasi Fraksinasi.....	31
<b>3.11 Skema Kerja Penelitian Antifertilitas .....</b>	<b>32</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Hasil .....</b>	<b>33</b>
4.1.1 Gambaran Hasil Histologi Testis Tikus .....	33
4.1.2 Penilaian Skor Spermatogenesis .....	33
<b>4.2 Analisis Data .....</b>	<b>37</b>
<b>4.3 Pembahasan .....</b>	<b>37</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>43</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>43</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>43</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>48</b>

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Biji Saga ( <i>Abrus precatorius</i> ) .....	5
2.2 Buah dan Biji Pepaya ( <i>Carica papaya</i> ) .....	8
2.3 Organ Reproduksi Jantan .....	11
2.4 Proses Spermatogenesis .....	16
2.5 Proses Spermiogenesis .....	17
3.2 Standarisasi <i>Johnsen-like score</i> dalam Tubulus Seminiferus Potongan Melintang .....	24
4.1 Gambaran Proses Spermatogenesis Tikus Jantan yang Diberi Perlakuan Selama 28 hari .....	34
4.2 Gambaran Proses Spermatogenesis Tikus Jantan Selama 28 hari setelah Penghentian Perlakuan .....	35
4.3 Struktur Abrin .....	40

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 <i>Johnsen-like score</i> untuk menilai spermatogenesis tikus diadaptasi dari <i>Johnsen</i> .....	23
4.1 Skor rata-rata spermatogenesis tiap klompok perlakuan selama 28 hari .....	36
4.2 Skor rata-rata spermatogenesis tiap klompok selama 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan .....	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>A. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan fraksi.....</b>	<b>48</b>
A1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kloroform Biji Pepaya .....	48
A2. Perhitungan Rendemen Fraksi Kloroform Biji Pepaya.....	48
A3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Biji Saga .....	48
A4. Perhitungan Rendemen Fraksi Metanol Biji Saga .....	48
<b>B. Perhitungan Volume dan Dosis Pemberian Sediaan Uji.....</b>	<b>48</b>
B1. Sediaan Kontrol.....	48
B2. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 1 .....	48
B3. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 2 .....	49
B4. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 3 .....	49
B5. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 4 .....	50
<b>C. Tabel Hasil Pengamatan Spermatogenesis berdasarkan kriteria <i>Johnsen Like -Score</i>.....</b>	<b>51</b>
C1. Tabel Hasil Pengamatan Spermatogenesis Tikus yang Diberi Perlakuan selama 28 hari .....	51
C2. Tabel Hasil Pengamatan Spermatogenesis Tikus selama 28 hari setelah Penghentian Pemberian Perlakuan.....	53
<b>D. Hasil Analisis Statistik.....</b>	<b>55</b>
D1. Hasil Analisis Statistik Kelompok yang Perlakuan selama 28 hari .....	55
D2. Hasil Analisis Statistik Kelompok yang Perlakuan selama 28 hari setelah Penghentian Pemberian Perlakuan.....	60
<b>E. Gambar Penelitian .....</b>	<b>62</b>

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Permasalahan terbesar yang dihadapi hampir di setiap negara berkembang terutama Indonesia yaitu pertumbuhan penduduk yang tidak terkendali. Data sensus penduduk terakhir tahun 2010 menunjukkan bahwa jumlah penduduk Indonesia saat ini sebanyak 237,64 juta jiwa dengan laju pertumbuhan penduduk rata-rata sebesar 1,49 % setiap tahun. Jika persen rata-rata pertumbuhan sebesar 1,49 tidak disertai dengan aspek pengendalian kuantitas penduduk dan peningkatan kualitas penduduk, maka Indonesia berpotensi mengalami ledakan penduduk (BKKBN, 2013).

Program Keluarga Berencana (KB) bagi pasangan suami istri merupakan cara untuk menanggulangi laju pertumbuhan penduduk di Indonesia. Program KB bertujuan untuk meningkatkan kesejahteraan ibu dan anak, mewujudkan keluarga kecil yang bahagia, sejahtera, terciptanya penduduk yang berkualitas, serta sumber daya manusia yang bermutu melalui pengendalian kelahiran dan pengendalian pertumbuhan penduduk Indonesia (BKKBN, 2013). Salah satu program KB yaitu kontrasepsi untuk pasangan suami istri. Alat kontrasepsi kebanyakan ditujukan pada wanita, sedangkan alat kontrasepsi untuk pria sedikit. Hal ini mengakibatkan rendahnya partisipasi pria dalam KB karena kontrasepsi pria yang tersedia sangat terbatas (Satriyasa and Pangkahila, 2010).

Menurut Pokharkar *et al.*, (2009) kontrasepsi yang tersedia untuk laki-laki yaitu senggama terputus, kondom, vasektomi. Senggama terputus memiliki keterbatasan secara psikologis mengurangi kenikmatan, menimbulkan gangguan hubungan seksual dan kemungkinan ada sedikit cairan yang mengandung sperma masuk kedalam vagina, sehingga dapat terjadi kehamilan. Kondom memiliki keterbatasan mudah sobek dan bocor, dapat menyebabkan alergi bagi pasangan yang sensitif dengan bahan karet serta secara psikologis kemungkinan mengganggu kenyamanan. Vasektomi memiliki keterbatasan dapat terjadinya komplikasi seperti pendarahan, nyeri, infeksi serta dapat mengakibatkan problem

psikologis dalam hubungan seksual (Ekarini, 2008). Keterbatasan alat kontrasepsi tersebut dapat diatasi dengan pencarian kontrasepsi yang aman, efektif, reversibel, dan tidak memiliki efek pada libido.

Penggunaan tanaman obat sudah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia. Penggunaan ekstrak yang berasal dari lebih dari satu tanaman (poliherbal) sering digunakan masyarakat. Poliherbal merupakan kombinasi dua atau lebih tanaman obat yang digunakan untuk terapi berbagai penyakit. Poliherbal memiliki kelebihan efek terapi yang optimum dengan efek samping lebih rendah bila dibandingkan monoterapi (Atangwho *et al.*, 2010).

Dua tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai antifertilitas yaitu biji Saga (*Abrus precatorius*) yang termasuk famili Fabaceae dan biji pepaya (*Carica papaya*) yang termasuk famili Caricaceae. Saga adalah tanaman asli Indonesia yang tumbuh didaerah tropis dan subtropis. Secara tradisional biji saga dimanfaatkan untuk mengobati penyakit kandung kemih, diare, infeksi mata, kejang, batuk, pilek, kontrasepsi (Jahan *et al.*, 2009a; Jahan *et al.*, 2009b; dan Abu *et al.*, 2010). Biji saga merupakan antifertilitas terbaik di negara-negara Asia Selatan. Khasiat antifertilitas disebabkan oleh kandungan kimia yang dimiliki yaitu alkaloid abrin dengan mekanisme inaktivasi RNA pada sel sehingga menghambat sintesis protein sel sertoli dan sel leydig atau langsung berinteraksi dengan membran mitokondria spermatid menyebabkan penghambatan proses spermatogenesis (Abu *et al.*, 2010; Bagaria *et al.*, 2006; Jahan *et al.*, 2009a). Proses spermatogenesis merupakan proses yang kompleks melibatkan pembelahan sel mitosis, miosis, dan proses spermiogenesis. Akhir dari proses kompleks spermatogenesis akan menghasilkan spermatozoa (De Kretser *et al.*, 1998). Jahan *et al.* (2009b) melaporkan bahwa biji saga dapat mempengaruhi jumlah spermatogonia, jumlah spermatosid primer, jumlah spermatosid sekunder, jumlah spermatid, jumlah spermatozoa, ketebalan tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus.

Tanaman pepaya (*Carica papaya*) merupakan jenis tanaman yang ekonomis, dimana hampir semua bagian dari daun hingga akar dapat dimanfaatkan. Salah satunya yang dapat dimanfaatkan yaitu biji pepaya. Secara

tradisional biji pepaya memiliki khasiat sebagai obat cacing, peluruh haid, karminatif, gangguan pencernaan, pembesaran hati dan limfa (Siburian *et al.*, 2012). Kandungan kimia yang terdapat pada biji pepaya yaitu golongan fenol, triterpenoid, flavonoid, alkaloid, dan saponin (Sukadana *et al.*, 2008). Adanya kandungan senyawa aktif tersebut, biji pepaya memiliki sifat antifertilitas dan dapat digunakan sebagai bahan kontrasepsi pria (Basha *et al.*, 2013; Sukadana *et al.*, 2008; Satriyasa and Pangkahila, 2010). Basha *et al.* (2013) menyatakan biji pepaya dapat mempengaruhi susunan tubulus seminiferus yaitu kerusakan pada epitel germinal, degenerasi spermatosid dan spermatid.

Pada penelitian Muslichah dan Wiratmo. (2014) menyatakan fraksi metanol biji saga memiliki khasiat sebagai antifertilitas yang baik pada dosis pemberian 75 mg/Kg BB, sedangkan fraksi kloroform biji pepaya memiliki khasiat antifertilitas yang baik pada dosis pemberian 100 mg/Kg BB. Atas dasar potensi tersebut dilakukan penelitian tentang kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga terhadap spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar, serta mengetahui reversibilitas dari pemberian kombinasi tersebut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan Uraian diatas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan antara lain :

1. Bagaimanakah pengaruh perbedaan pemberian dosis kombinasi fraksi kloroform biji papaya (*Carica papaya* Linn.) dengan fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap skor spermatogenesis kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol?
2. Apakah pengaruh pemberian kombinasi fraksi kloroform biji papaya (*Carica papaya* Linn.) dengan fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap spermatogenesis bersifat reversibel?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh perbedaan pemberian dosis kombinasi fraksi kloroform biji papaya (*Carica papaya* Linn.) dengan fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap skor spermatogenesis kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi fraksi kloroform biji papaya (*Carica papaya* Linn.) dengan fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap spermatogenesis bersifat reversibel.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah

Memberikan informasi potensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya (*Carica papaya* Linn.) dengan fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) sebagai antifertilitas pria.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Umum tentang Tanaman Saga

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Saga

Penggolongan klasifikasi dari tanaman saga (*Abrus precatorius* Linn) berdasarkan *United States Departement of Agriculture* (2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Fabales
Suku	: Fabaceae
Marga	: Abrus
Jenis	: <i>Abrus precatorius</i> L.



Gambar 2.1 Biji saga (*Abrus precatorius*) (BPOM, 2008)

#### 2.1.2 Deskripsi Tanaman Saga

Tanaman saga (*Abrus precatorius*) memiliki nama umum saga atau saga manis yang ditunjukkan pada gambar 2.1 (BPOM, 2008). Saga merupakan

tanaman asli Indonesia yang dapat tumbuh di tempat subtropis dan tropis (Abu *et al.*, 2010). Habitus berupa perdu merambat, membelit dengan panjang 6-9 m. Batang bulat, berkayu, percabangan simpodial, bila masih muda warnanya hijau dan setelah tua berwarna hijau kecoklatan. Daun majemuk, berselang-seling, menyirip ganjil, anak daun 8-18 pasang, bentuk daun bulat telur, ujung meruncing dan pangkalnya bulat, tepi daun rata dengan panjang 6-25 mm dan lebar 3-8 mm, berwarna hijau. Bunga majemuk berbentuk tandan, bagian bawah berkelamin dua, bagian atas hanya terdiri dari bunga jantan, kelopak bunga bergerigi pendek, berbulu, berwarna hijau, benang sari menyatu pada tabung, panjang tangkai sari  $\pm 1$  cm, berwarna putih, warna kepala sari kuning, tajuk bunga bersayap, berkuku pendek, lebar  $\pm 1$  cm, pangkal bunga berlekatan pada tabung sari, berwarna ungu muda hingga kemerah-merahan. Buah polong, panjangnya 2-5 cm, jumlah buah 3-6 buah dan berwarna hijau. Bentuk biji bulat telur, keras, panjangnya 6-7 mm dan tebalnya 4-5 mm, warnanya merah bernoda hitam. Akar tunggang dan berwarna coklat kotor (BPOM, 2008 )

### 2.1.3 Manfaat Tanaman Saga

Abu *et al.* (2010) melaporkan tanaman saga dimanfaatkan untuk mengobati sakit kepala, keracunan bisa ular, konjungtifitis, batuk, diare, gastritis, ginggifitis dan antifertilitas. Dalam pengobatan ayurveda daun tanaman saga digunakan sebagai pencahar, ekspektoran, pertumbuhan rambut, dan afrodisiak. Akarnya dimanfaatkan untuk pengobatan kolik akut, demam, dan diare (Sandhya *et al.*, 2012). Biji saga dimanfaatkan sebagai pengobatan infeksi mata dan kontrasepsi yang potensial (Jahan *et al.*, 2009a)

### 2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Saga

Kandungan kimia yang terdapat pada biji saga yaitu alkaloid, *fixed oil*, steroid, lektin, flavonoid, dan antosianin (Abu *et al.*, 2010). Menurut Jahan *et al.* (2009a) melaporkan kandungan kimia yang terdapat pada biji saga yaitu

glikosida, asam abrasit, haemagglutini, protein yang beracun, dan abrin. Minyak biji saga hanya terdapat 2,5% yang mengandung asam oleat dan asam linoleat. Kandungan steroid pada biji saga yaitu  $\alpha$ -sitosterol, stigmasterol, asam 5 $\alpha$ -cholic, abricin, dan kolesterol (Abu *et al.*, 2010).

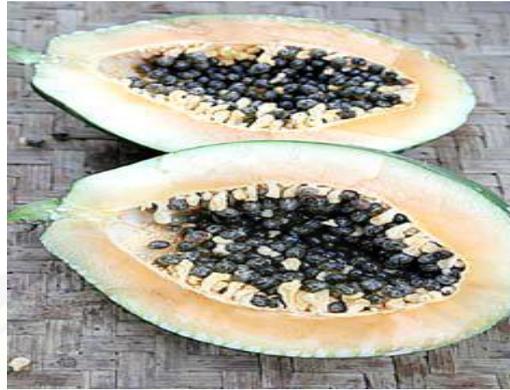
Menurut Abhilasha *et al.*(2013) melaporkan bahwa kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak metanol biji saga yaitu tanin, alkaloid, dan glikosida. Alkaloid dari biji saga yaitu abrin, hypaphorin, kolin, dan precatorin. Lektin merupakan kandungan utama dari biji saga yang menghasilkan abrin. Lektin menghasilkan dua senyawa yaitu abrin yang beracun dan abrus aglutinin yang tidak beracun. Khasiat antifertilitas disebabkan oleh kandungan kimia yang dimiliki yaitu alkaloid abrin (Abu *et al.*, 2010). Mekanismenya dengan cara inaktivasi RNA pada sel sehingga menghambat sintesis protein sel sertoli dan sel leydig (Bagaria *et al.*, 2006) atau langsung berinteraksi dengan membran mitokondria spermatid menyebabkan penghambatan proses spermatogenesis (Jahan *et al.*, 2009a).

## 2.2 Tinjauan Umum tentang Tanaman Pepaya

### 2.2.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya

Penggolongan klasifikasi tanaman pepaya (*Carica papaya* Linn) berdasarkan *United States Departement of Agriculture* (2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Violales
Suku	: Caricaceae
Marga	: Carica
Jenis	: <i>Carica papaya</i> L.



Gambar 2.2 Buah dan Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn) (BPOM, 2008)

### 2.2.2 Deskripsi Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya memiliki nama umum yaitu pepaya. Habitat tanaman pepaya tersebar hampir di seluruh kepulauan di Indonesia dan tumbuh pada ketinggian 1-1000 m dpl. Tumbuh paling baik pada ketinggian 100 m dpl. Tumbuh di dataran rendah yang tidak keras dan bersuhu tidak terlalu dingin, hidup tidak lebih dari delapan tahun, di tempat terbuka dan mendapat penyinaran matahari dengan suhu antara 15-35°C. Tersebar di daerah tropis dan subtropis, seperti: Indonesia, India, Malaysia, Filipina, Amerika Selatan, Afrika Selatan dan Hawaii (BPOM, 2010)

Habitus berupa perdu dengan tinggi  $\pm 10$  m. Batang tidak berkayu, silindris, berongga berwarna putih kotor. Daun tunggal, bentuknya bulat, ujungnya runcing, pangkalnya bertoreh dan tepinya bergerigi dengan diameter 25-27 cm, pertulangan menjari dengan panjang tangkai 25-100 cm berwarna hijau. Bunga tunggal, bentuknya bintang, terdapat di ketiak daun, berkelamin satu atau berumah dua. Bunga jantan terletak pada tandan yang serupa malai, kelopak kecil dengan kepala sari bertangkai pendek atau duduk dan warnanya kuning, bentuk mahkotanya terompet, tepinya bertajuk lima dan bertabung panjang dengan warna putih kekuningan. Bunga betina berdiri sendiri, mahkotanya lepas, kepala putiknya lima, duduk, bakal buahnya beruang satu dan warnanya putih kekuningan. Buah buni, bentuknya bulat memanjang, bergading, warna hijau muda bila masih muda dan jingga bila sudah tua (BPOM, 2008).

Biji pepaya terletak dalam rongga buah yang terdiri dari lima lapisan. Lapisan luar yang melindungi biji disebut sarkotesta dan di bagian dalam biji disebut endosperm. Banyaknya biji tergantung dari ukuran buah. Bentuk biji agak bulat atau bulat panjang dan kecil serta bagian luarnya dibungkus oleh selaput yang berisi cairan. Biji berwarna putih jika masih muda dan berwarna hitam setelah tua. Permukaan biji agak keriput dan dibungkus oleh kulit ari yang sifatnya seperti agar serta transparan (BPOM, 2010)

### 2.2.3 Manfaat Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya dapat dimanfaatkan dalam kehidupan manusia, mulai dari daun sampai akarnya. Salah satu yang bagian dari pepaya yaitu biji pepaya banyak dimanfaatkan sebagai obat cacangan, peluruh haid, karminatif, gangguan pencernaan, abortivum, penyakit kulit, pembesaran hati dan limfa (Siburian *et al.*, 2012). Ekstrak dari biji pepaya memiliki efek sebagai antifertilitas (Lohiya *et al.*, 2005)

### 2.2.4 Kandungan Kimia Tanaman Pepaya

Kandungan kimia pada tanaman ini adalah papain, karpain, pseudokarpain, nikotin, kontinin, miosmin, glikosida karposida, kriptoksantin 6,7-epoksilinalol, sitrat, malat, á-glutarat, tartarat, asam askorbat dan asam galakturonat, bensilglukosinolat, Papain, kimopapain A dan B, proteinase A dan B, peptidase A, lisozim, khitotransferase, glikosidase kalase, pektinesterase, lipase, fosfatase, siklologase, karpain, pseudokarpain, prunasin (glikosida sianogenat), saponin, fisin (BPOM, 2010).

Biji pepaya mengandung *fatty acids*, *crude fiber*, *carpain*, *papaya oil*, *caricin*, dan enzim *myrosin* (Krisna *et.al.*,2008). Daun mengandung alkaloid poliketida; karpain, pseudokarpain, glukosinolat, prunasin, saponin, fisin. Akarnya dilaporkan mengandung kimopapain, papain, fitokinase, asam malat, kalsium maleat dan karpain serta glikosida sianogenik (BPOM, 2010).

### 2.3 Tinjauan tentang Fertilitas dan Antifertilitas

Fertilitas adalah derajat kemampuan reproduksi baik jantan maupun betina (Ihsan and Wahjuningsih, 2012). Fertilitas memiliki pola pertumbuhan alami, di mana pertumbuhan penduduk semakin lama akan semakin berkurang sampai akhirnya terhenti pada suatu titik setelah sebelumnya telah melewati fase lonjakan pertumbuhan (Kresnawati, 1999). Fertilitas merupakan masalah dunia yang dapat dikontrol dengan adanya kontrasepsi untuk laki-laki (Abu *et al.*, 2010).

Istilah antifertilitas digunakan untuk mencegah kehamilan dan juga disebut sebagai pengendali kelahiran. Tujuan adanya obat antifertilitas yaitu untuk mencegah terjadinya pembuahan atau fertilisasi dan untuk mengontrol kehamilan (Abu *et al.*, 2010)

### 2.4 Sistem Reproduksi Jantan

#### 2.4.1 Organ Reproduksi Jantan

Sistem reproduksi pria terdiri atas testis, saluran dari testis, kelenjar-kelenjar yang berhubungan dengan sistem reproduksi (Tambajong, 1995). Testis adalah bangunan berbentuk lonjong atau mirip buah kenari, yang merupakan kelenjar tubuler kompleks (Bajpai, 1989). Panjang testis  $\pm 4$  sampai 5 (1,5 inci sampai 2 inci) dan diameter 2,5 cm (1 inci) (Sloane, 2003). Testis merupakan kelenjar ganda karena secara fungsional bersifat eksokrin dan juga endokrin. Bagian eksokrin terutama menghasilkan sel kelamin (sel benih), sehingga testis dianggap sebagai kelenjar sitogenik. Bagian endokrin menghasilkan sekret internal yang dilepaskan oleh sel-sel khusus (Tambajong, 1995). Testis berfungsi untuk menghasilkan hormon testosteron dan sperma (Setiadi, 2007). Setiap testis dibungkus *simpai* jaringan ikat padat fibrosa (Bajpai, 1989). *Simpai testis* terdiri atas tiga lapisan yaitu:

1. Lapisan terluar, *tunica vaginalis*

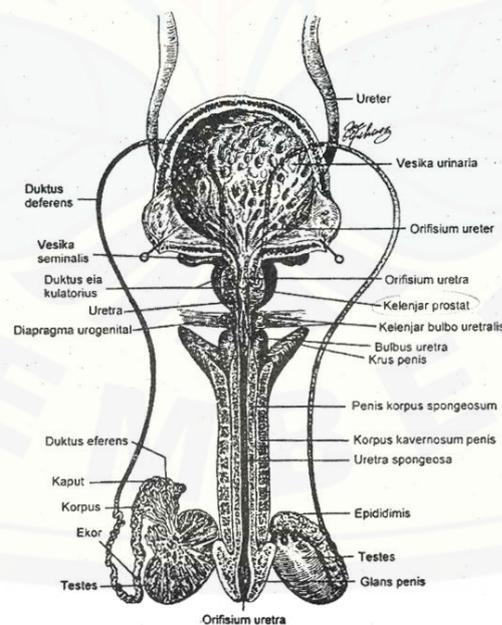
Merupakan selapis sel mesotel gepeng. Lapisan ini terletak di atas lamina basal yang memisahkan dari lapisan tengah.

## 2. Lapisan tengah, *tunica albuginea*

Lapisan tebal yang terdiri atas jaringan ikat padat fibroelastis dan juga sejumlah sel otot polos. Tunia albuginea menebal pada permukaan posterior testis dan menjorok masuk kedalam kelenjar sebagai mediastinum testis. Sekat-sekat fibrosa yang tipis menyebar dari mediastinum testis kearah simpai testis dan membagi permukaan dalam testis menjadi kurang lebih 250 lobuli testis. Tiap lobulus terdiri dari satu sampai empat *tubulus seminiferus* yang sangat berkelok kelok (Tambajong, 1995). Tubulus seminiferus ditunjang oleh jaringan ikat longgar yang mengandung sel interstitial (leydig). Jumlah seluruh tubulus yang terdapat di dalam satu testis berkisar antara 400 sampai 600, masing-masing dengan panjang 70 samapi 80 dan garis tengah 0.1 sampai 0.3 mm (Bajpai, 1989).

## 3. Lapisan terdalam, *tunica vaskulosa*

Terdiri atas jala-jala kapiler darah yang terdapat didalam jaringan ikat (Tambajong, 1995).



Gambar 2.3 Organ Reproduksi Jantan (Setiadi, 2007)

#### 2.4.2 Hormon yang Berpengaruh pada Reproduksi

Hormon yang berpengaruh terhadap sistem reproduksi laki-laki yaitu hormon testosteron, *luteinizing hormone* (LH) dan *Foicel Stimulating Hormone* (FSH). Testis juga mensekresi sedikit androstenedion yaitu prekursor untuk estrogen pada laki-laki dan dehidro-testosteron (DHT) yang penting untuk pertumbuhan prenatal dan diferensiasi genitalia laki-laki. Pada janin, sekresi testosteron menyebabkan terjadinya diferensiasi duktus internal, genitalia eksternal dan menstimulasi penurunan testis kedalam skrotum selama dua bulan terakhir gestasi. Dari lahir sampai pubertas, hanya sedikit atau bahkan tidak ada testosteron yang diproduksi. Testosteron saat pubertas bertanggung jawab atas perkembangan dan pemeliharaan karakteristik seks sekunder laki-laki (Sloane, 2003).

Gonadotropin hipofisis menghasilkan *luteinizing hormone* (LH) dan *Foicel Stimulating Hormone* (FSH). FSH memiliki reseptor pada tubulus seminiferus dan diperlukan dalam spermatogenesis, sedangkan LH memiliki reseptor pada sel interstisial dan menstimulasi produksi serta sekresi testosteron. LH juga disebut dengan ICSH (*Interstitial Cell Stimulating Hormone*) atau hormon perangsang sel interstisial pada laki-laki (Sloane, 2003).

Hipothalamic gonadotropin releasing hormone (GnRH) berinteraksi dengan testosteron, FSH, LH, dan Inhibin dalam mekanisme umpan balik negatif yang mengatur sintesis dan sekresi testosteron. Penurunan konsentrasi testosteron yang bersirkulasi menstimulasi produksi GnRH hipotalamik yang kemudian menstimulasi sekresi FSH dan LH. FSH menstimulasi spermatogenesis dalam tubulus seminiferus dan LH menstimulasi sel interstisial untuk memproduksi testosteron. Peningkatan kadar testosteron dalam darah memberikan kendali umpan balik negatif pada sekresi GnRH, LH dan FSH. Inibin disintesis dan disekresi oleh sel sertoli untuk merespon terhadap sekresi FSH. Hormon ini bekerja melalui umpan balik negatif langsung pada kelenjar hipofisis untuk menghambat sekresi FSH. Pelepasan LH tidak dipengaruhi oleh inhibin (Sloane, 2003)

## 2.5 Proses Spermatogenesis

### 2.5.1 Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan proses terbentuknya spermatozoa dari spermatogonium melalui perkembangan yang kompleks dan teratur. Spermatogenesis terjadi didalam tubulus seminiferus testis (Widotama, 2008). Menurut Susetyarini (2013) menyatakan bahwa spermatogenesis merupakan serangkaian proses meliputi proliferasi, differensiasi dan pematangan sel-sel spermatogenik, jika terjadi hambatan pada satu tahap perkembangan akan mempengaruhi perkembangan selanjutnya. Spermatogenesis dapat dibedakan dua tahap, yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis adalah proses pembentukan spermatogonia menjadi spermatid. Spermiogenesis adalah proses pembentukan spermatid menjadi spermatozoa. Laki-laki dikatakan fertil ketika mampu memproduksi sejumlah besar spermatozoa normal yang dihasilkan dari proses spermatogenesis (De Kretser *et al.*, 1998).

Siklus spermatogenesis membutuhkan waktu 64 hari untuk manusia, dimulai dengan spermatogonia yang letaknya tepat di atas lamina basal. Spermatogonia merupakan satu-satunya sel benih yang ada sampai masa pubertas. Tiap spermatogonium mengandung jumlah kromosom diploid dalam inti selnya (Tambayong, 1995). Setiap siklus dari spermatogenik pada tikus terjadi selama 9-12 hari, sedangkan total durasi spermatogenesis pada tikus selama 40-54 hari (Hess and de Franca, 2009). Pada manusia setiap siklus spermatogenik terjadi selama 22 hari (Junquera, 2007), sedangkan total durasi spermatogenesis selama 70 hari. (Hess and de Franca, 2009).

Pada proses ini dimulai dari sel benih primif yaitu spermatogonium berada dekat lamina basal epitel. Sel spermatogonium mengalami mitosis dan menghasilkan generasi sel yang baru (Junquera, 2007). Tiap spermatogonium mengandung jumlah kromosom diploid dalam inti selnya (44 autosom dan 2 kromosom seks, X Y) (Tambayong, 1995).

Sel induk spermatogonium disebut juga dengan spermatogonium tipe A. Spermatogonium tipe A akan berdiferensiasi selama mitosis mejadi

spermatogonium tipe B (Junquera, 2007). Tambayong (1995) melaporkan terdapat tiga jenis spermatogonia yang dilihat dari gambaran inti selnya yaitu:

- a) Spermatogonia gelap tipe A, dengan inti sel lonjong berwarna gelap. Sel-sel tersebut membelah diri secara berkala untuk mempertahankan jumlah spermatogonia dan juga untuk membentuk spermatogonia pucat tipe A
- b) Spermatogonia pucat tipe A, membelah diri secara mitosis untuk menjadi spermatogonia tipe B dan juga untuk menjadi spermatogonia pucat tipe A lainnya
- c) Spermatogonia tipe B mempunyai inti bulat yang mengandung massa kromatin padat yang berhubungan dengan membran inti. Bila spermatogonia tipe B membelah diri dengan cara mitosis, maka sel-sel tersebut akan menjadi sel spermatosit primer

Spermatosit primer memiliki 46 kromosom ( $44 + XY$ ). Spermatosit primer merupakan sel terbesar dan ditandai dengan adanya kromosom, kemudian sel-sel ini masuk ke tahap profase dari pembelahan meiosis (Junquera, 2007).

### 2.5.2 Miosis

Pada tahap ini sel spermatosit primer akan membelah menjadi sel spermatosit sekunder yang ukurannya lebih kecil (Junquera, 2007). Pembelahan yang terjadi pada spermatosit primer adalah pembelahan reduksi (miosis pertama) yaitu seluruh kromosom bergerak ke kutub kumparan yang berlawanan. Pembelahan meiosis mengakibatkan 23 kromosom (22 autosom ditambah satu kromosom seks X atau Y) masuk ke dalam setiap sel anakan yaitu spermatosit sekunder. Kedua spermatosit sekunder kemudian membelah diri secara meiosis menjadi empat sel spermatid (Tambayong, 1995). Profase pembelahan meiosis berlangsung selama 22 hari, sehingga pada sediaan akan tampak seluruh sel saat berada pada fase tersebut (Junquera, 2007).

Volume spermatosit sekunder kira-kira separuhnya spermatosit primer. Spermatosit sekunder jarang terlihat pada potongan melintang tubulus

seminiferus, karena umur yang pendek dan cepat membelah menjadi spermatid. Pembelahan kali ini yaitu meiosis kedua terjadi tanpa didahului oleh duplikasi asam deoksiribonukleat (DNA), sehingga spermatid bersifat haploid (Tambajong, 1995).

Selama proses pergantian dari tahap spermatosit ke tahap spermatid, 46 kromosom spermatozoa dibagi ke masing-masing spermatid. 23 kromosom diberikan ke satu kromosom dan 23 lainnya diberikan ke sel spermatid lainnya (Guyton, 2007).

### 2.5.3 Spermiogenesis

Spermiogenesis merupakan tahap akhir produksi spermatozoa. Spermiogenesis yaitu proses transformasi spermatid menjadi spermatozoa. Spermatid dapat dikenali dari ukurannya yang kecil (garis tengah 7-8  $\mu\text{m}$ ) dan intinya dengan daerah kromatin padat. Letak spermatid di dalam tubulus seminiferus yaitu didekat lumen (Junquera, 2007). Ketika spermatid dibentuk pertama kali, spermatid tetap memiliki sifat-sifat lazim dari sel epiteloid, tetapi spermatid tersebut segera berdiferensiasi menjadi spermatozoa (Guyton, 2007).

Pada tahap spermiogenesis dibagi menjadi 3 fase yaitu :

a) Fase Golgi

Granul proakrosom berkumpul di kompleks golgi membentuk satu granul akrosom yang terdapat pada vesikel akrosom. Sentriol bermigrasi ke posisi di dekat permukaan sel dan berhadapan dengan akrosom yang sedang terbentuk.

b) Fase Akrosom

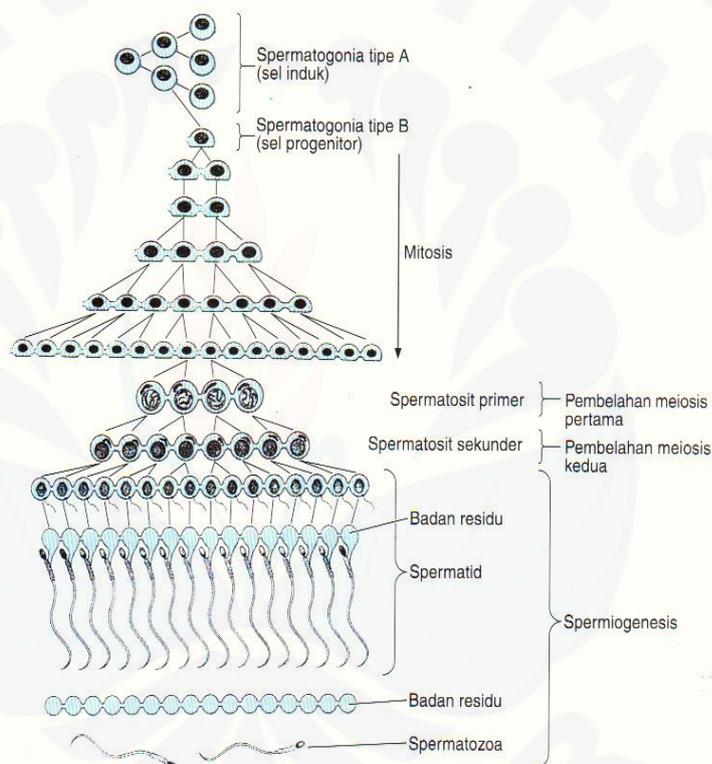
Vesikel dan granul akrosom menyebar untuk menutupi belahan anterior inti yang memadat yaitu disebut akrosom. Akrosom mengandung beberapa enzim hidrolitik yang berfungsi melepaskan sel dari korona radiata dan mencerna zona pelusidasi (struktur yang mengelilingi oosit). Flagelum terbentuk dari sentriol yang tumbuh secara bersama-sama. Mitokondria berkumpul disekitar bagian proksimal flagelum dan membentuk bagian

tebal yang dikenal sebagai bagian tengah yaitu tempat bangkitnya pergerakan spermatozoa.

c) Fase Pematangan (Maturasi)

Sitoplasma residu dibuang dan difagositosis oleh sel sertoli, kemudian spermatozoa matang dilepaskan ke lumen tubulus (Junquera, 2007).

Sperma normal mampu bergerak dalam medium cair dengan kecepatan 1 sampai 4 mm/menit. Kecepatan ini akan memungkinkan sperma untuk bergerak melalui traktus genitalia wanita untuk mencapai ovum.



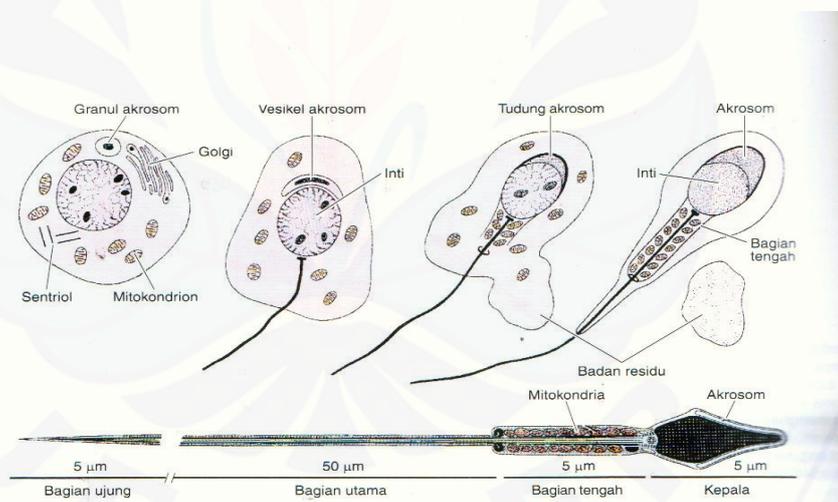
Gambar 2.4 Proses Spermatogenesis (Junquera, 2007)

## 2.6 Spermatozoa

Spermatozoa adalah sel benih jantan yang dihasilkan ketika hewan jantan sudah dewasa. Proses pematangan sperma terjadi melalui proses perubahan morfologi dan fungsi, yang bertujuan untuk mendapatkan sperma motil dan fertil,

sehingga dapat membuahi sel telur (Cristijanti, 2009). Spermatozoa terdiri atas kepala dan ekor. Kepala terdiri atas inti sel yang padat dengan sedikit sitoplasma dan lapisan membran sel di sekeliling permukaannya. Ekor sperma disebut flagelum memiliki tiga komponen utama : (1) kerangka pusat dibentuk dari 11 mikrotubulus, yang secara keseluruhan disebut akrosonema, (2) membran sel tipis yang menutupi aksonema, dan (3) sekelompok mitokondria yang mengelilingi aksonema dibagian proksimal ekor (Guyton, 2007).

Sperma terbentuk di tubulus seminiferus, sperma membutuhkan waktu untuk melewati tubulus epididimis yang panjangnya 6 meter. Sperma yang bergerak dari tubulus seminiferus merupakan sperma yang tidak motil dan tidak dapat membuahi ovum. Setelah sperma berada dalam epididimis selama 18 sampai 24 jam sperma memiliki kemampuan motilitasnya (Guyton, 2007). Pada proses spermatogenesis tikus mampu memproduksi spermatozoa sebanyak 4096 (França *et al.*, 1998).



Gambar 2.5 Proses Spermiogenesis (Junquera, 2007)

## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

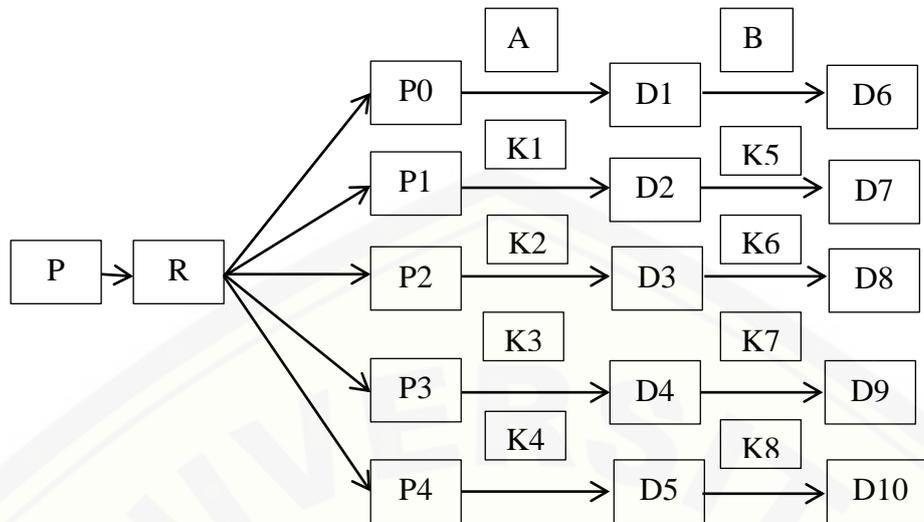
Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium bertujuan untuk mengetahui pengaruh atau akibat yang timbul sebagai adanya perlakuan tertentu. Jenis penelitian eksperimental laboratorium ini untuk menguji aktivitas antifertilitas kombinasi fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya dengan parameter pengamat proses spermatogenesis testis tikus jantan galur wistar dan menguji pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya dengan parameter pengamat proses spermatogenesis testis tikus jantan galur wistar bersifat reversibel

### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Tempat pelaksanaan penelitian ini adalah Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Waktu penelitian dilakukan mulai bulan Mei 2014 - Februari 2015.

### **3.3 Rancangan Penelitian**

Pada penelitian ini digunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terbagi atas 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan dosis masing-masing diulang sebanyak 8 ekor hewan coba. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

P : Populasi

R : Randomisasi

P0 : Kelompok perlakuan dengan mucilago *Carboxy Methyl Cellulose* Na (CMC-Na) 1 % selama 28 hari

P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari

P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari

P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari

P4 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari

A : Pemberian mucilago Na-CMC 1% selama 28 hari

K1 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari

K2 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari

K3 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari

K4 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 50

- mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- D<sub>1-5</sub> : Data kelompok P0, P1, P2, P3, P4 setelah diberikan perlakuan pada 4 ekor tikus masing-masing kelompok
- B : Penghentian pemberian mucilago Na-CMC 1% selama 28 hari pada 4 ekor tikus sisanya pada masing-masing kelompok
- K5 : Penghentian pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- K6 : Penghentian pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- K7 : Penghentian pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- K8 : Penghentian pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- D<sub>6-10</sub> : Data kelompok P0, P1, P2, P3, P4 setelah penghentian pemberian Perlakuan

### 3.4 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian memiliki kriteria yaitu tikus berkelamin jantan galur wistar, berat badang 200-250 gram dan berumur 2-3 bulan. Pada penelitian ini menggunakan 40 ekor tikus, dimana tiap kelompok kontrol dan perlakuan digunakan masing-masing 8 ekor tikus.

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu: (1) maserator; (2) *rotary vacum evaporator* (Heidolph-Laborota 4000); (3) mikroskop (olympus); (4) corong pisah; (5) corong bucher; (6) alat gelas (pyrex); (7) timbang digitalis; (8) pisau bedah; (9) Papan fiksasi; (10) chamber pembiusan; (11) pinset steril; (12) gunting; (13) spuit injeksi; (14) sonde; (15) kertas saring; (16) tisu; (17) *cover glass*

### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah (1) biji pepaya yang berasal dari petani di daerah Sukorejo Kecamatan Bangsalsari Kabupaten Jember ; (2) biji saga yang berasal dari petani di daerah Andongrejo Kecamatan Tempurejo Kabupaten Jember; (3) kloroform, n-heksan dan metanol (PT. Labtech Citra Persada Surabaya); (4) suspensi CMC Na 1%; dan (5) aquadest

### 3.5.3 Subjek Uji

Pada penelitian ini digunakan subjek uji yaitu tikus jantan galur wistar dengan berat 200-250 gram dan umur 2-3 bulan

## 3.6 Variabel Penelitian

### 3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga. Perbandingan dosis sebagai berikut:

- 1) Kelompok P1 fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari
- 2) Kelompok P2 fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari
- 3) Kelompok P3 fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari
- 4) Kelompok P4 fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari

### 3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah skor dari spermatogenesis

### 3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu : Cara ekstraksi dan fraksinasi, jenis kelamin hewan coba (jantan), umur hewan coba (2-3 bulan), berat badan tikus (200-250 gram), pemeliharaan hewan coba, waktu dan lama perlakuan, cara pemberian (per-oral), frekuensi dan volume pemberian.

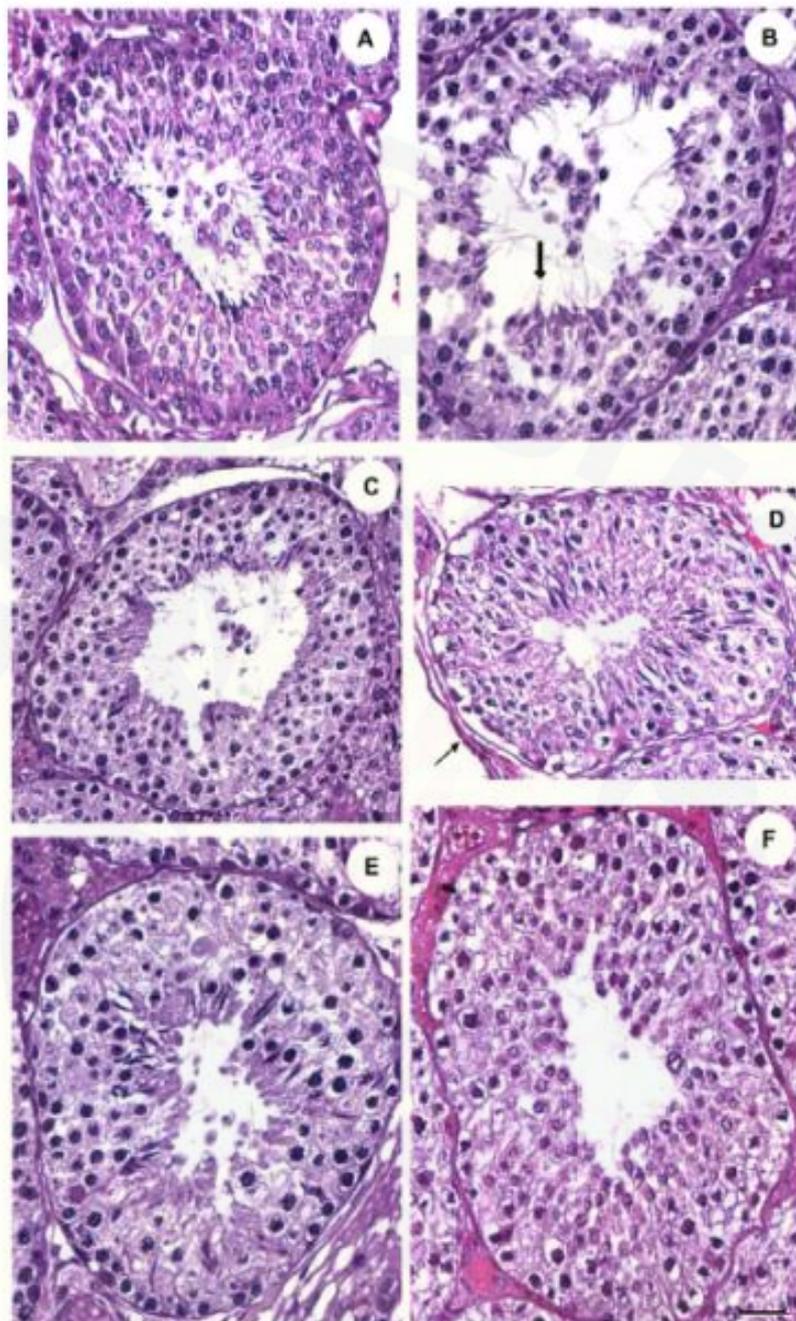
### 3.7 Definisi Operasional

Definisi operasional yang terdapat dalam penelitian kali ini antara lain sebagai berikut :

1. Fraksi metanol biji saga yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak metanol biji saga menggunakan corong pisah dengan pelarut metanol
2. Fraksi kloroform biji pepaya yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak metanol biji pepaya menggunakan corong pisah dengan pelarut kloroform.
3. Perlakuan uji pada tikus menggunakan waktu selama 56 hari
4. Spermatogenesis diamati dengan menggunakan *Johnsen-like score*

Tabel 3.1 *Johnsen-like score* untuk menilai spermatogenesis tikus diadaptasi dari *Johnsen* (1970)

Skor	Kriteria Histologi
10	Spermatogenesis yang lengkap serta sel sperma yang matang
9	Beberapa sel sperma, dengan epitelium yang tidak teratur
8	Terdapat sedikit sperma (< 5 sampai 10)
7	Tidak terdapat sel sperma, tetapi terdapat banyak spermatid
6	Tidak terdapat sel sperma, tetapi terdapat sedikit spermatid (< 5 sampai 10)
5	Tidak terdapat sel sperma atau spermatid, tetapi banyak spermatosit
4	Tidak terdapat sel sperma atau spermatid, sedikit spermatosit (<5)
3	Hanya terdapat spermatogonia
2	Hanya terdapat sel sertoli
1	Tidak tampak sel dalam tubulus potongan melintang



Gambar 3.2 Standarisasi *Johnsen-like score* dalam tubulus seminiferus potongan melintang dari kelompok kontrol dengan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE). **A.** *Johnsen-like score* 10. **B.** *Johnsen-like score* 9. **C.** *Johnsen-like score* 8. **D.** *Johnsen-like score* 7. **E.** *Johnsen-like score* 6. **F.** *Johnsen-like score* 5. Panah tipis = lamina basal; panah tebal = spermatozoa.

### 3.8 Prosedur Kerja

#### 3.8.1 Tahapan Persiapan Fraksi Metanol Biji Saga

##### a) Persiapan dan preparasi fraksi metanol Biji Saga

Biji saga diperoleh dari petani saga. Biji saga dikeringkan dibawah sinar matahari, kulitnya dipisahkan dari biji dengan cara menghancurkan biji, biji dihaluskan dengan cara diblender, diayak, dan ditimbang untuk proses selanjutnya.

##### b) Pembuatan fraksi metanol Biji Saga

Serbuk simplisia diekstraksi dengan cara remaserasi dengan pelarut metanol (1:7). Serbuk simplisia sebanyak 500 gram direndam dalam metanol sebanyak 7 kali dari berat serbuk simplisia (3,5 liter). Dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali. Maserat disaring dengan kertas saring dengan bantuan corong buchner. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* 45 °C sampai diperoleh ekstrak maetanol. Ekstrak metanol tersebut selanjutnya ditambah air dengan perbandingan 7:3, dimasukan kedalam corong pisah. Kemudian ditambahkan pelarut N-heksana kedalam corong pisah dengan perbandingan pelarut 1:1, dikocok, campuran dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi N-heksana dan lapisan bawah merupakan metanol. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi metanol yang didapat ditambah pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1. Lapisan atas merupakan fraksi metanol dan lapisan bawah merupakan kloroform. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi metanol yang telah terambil kemudian dipekatkan diatas penangas air pada suhu dibawah titik didih metanol hingga semua pelarut menguap dan didapatkan hasil akhir berupa fraksi metonol Biji Saga kental. Fraksi metonol Biji Saga kental yang diperoleh kemudian ditimbang.

### 3.8.2 Tahapan Persiapan Fraksi Kloroform Biji Pepaya

#### a) Persiapan dan Preparsi Fraksi Kloroform Biji Pepaya

Biji pepaya diperoleh dari petani pepaya. Biji pepaya dikeringkan dibawah sinar matahari, biji dihaluskan dengan cara diblender, diayak, dan ditimbang untuk proses selanjutnya.

#### b) Pembuatan Fraksi Kloroform Biji Pepaya

Serbuk simplisia diekstraksi dengan cara remaserasi dengan pelarut metanol (1:6). Serbuk simplisia sebanyak 750 gram direndam dalam metanol sebanyak 6 kali dari berat serbuk simplisia (4,5 liter). Dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali. Maserat disaring dengan kertas saring dengan bantuan corong buchner. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* 45 °C sampai diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak metanol tersebut selanjutnya ditambah air dengan perbandingan 7:3, dimasukkan kedalam corong pisah. Kemudian ditambahkan pelarut N-heksana kedalam corong pisah dengan perbandingan pelarut 1:1, dikocok, campuran dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi N-heksana dan lapisan bawah merupakan metanol. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi metanol yang didapat ditambah pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1. Lapisan atas merupakan fraksi metanol dan lapisan bawah merupakan kloroform. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi kloroform yang terambil kemudian dipekatkan diatas penangas air pada suhu dibawah titik didih kloroform hingga semua pelarut menguap dan didapatkan hasil akhir berupa fraksi kloroform Biji Pepaya kental. Fraksi kloroform Biji pepaya kental yang diperoleh kemudian ditimbang

### 3.8.3 Pembuatan Mucilago Na-CMC 1 %

Na-CMC sebanyak 1 gram ditaburkan diatas air panas sebanyak 20 ml hingga mengembang. Kemudian diaduk sampai membentuk massa yang kental dan ditambahkan air hingga 100 ml.

### 3.8.4 Pembuatan Suspensi Uji

- a) Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kg BB dalam Na-CMC 1 %  
Sebanyak 500 mg fraksi kloroform biji pepaya ditambah 375 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dalam Na-CMC 1% sebanyak 50 ml
- b) Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kg BB dalam Na-CMC 1 %  
Sebanyak 500 mg fraksi kloroform biji pepaya ditambah 250 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dalam Na-CMC 1% sebanyak 50 ml
- c) Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kg BB dalam Na-CMC 1 %  
Sebanyak 250 mg fraksi kloroform biji pepaya ditambah 375 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dalam Na-CMC 1% sebanyak 50 ml
- d) Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kg BB dalam Na-CMC 1 %  
Sebanyak 250 mg fraksi kloroform biji pepaya ditambah 250 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dalam Na-CMC 1% sebanyak 50 ml

### 3.8.5 Tahap Perlakuan terhadap Hewan Coba

- a) Adaptasi Hewan Coba  
Sejumlah 20 ekor tikus putih galur wistar ditempatkan dalam kandang dengan diberi makanan konsentrat dan minum *ad libitium*, tikus diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari di laboratorium.
- b) Perlakuan terhadap Hewan Coba

Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan cara randomisasi 40 ekor tikus, masing-masing kelompok 8 tikus. Kemudian diberi perlakuan setiap hari selama 28 hari. Prosedur pemberian perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok 1 (P0) : tikus diberi mucilago Na-CMC 1% secara peroral;
2. Kelompok 2 (P1) : tikus diberi suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kg BB
3. Kelompok 3 (P2) : tikus diberi suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kg BB
4. Kelompok 4 (P3) : tikus diberi suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kg BB
5. Kelompok 5 (P4) : tikus diberi suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kg BB dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kg BB

Pada hari ke-29 4 ekor tikus masing-masing kelompok dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan kloroform dan dibedah untuk memperoleh organ testis tikus. 4 ekor tikus sisanya masing-masing kelompok tidak di korbankan dan dihentikan pemberian perlakuan hingga hari ke-56. Hari ke-57 dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan kloroform dan dibedah untuk memperoleh organ testis tikus

### 3.8.6 Pembutan Preparat Sayatan Testis Tikus

Tahapan pelaksanaan pembutan preparat testis sebagai berikut:

1. Fiksasi

Testis tikus diambil kemudian dimasukkan kedalam cairan fiksatif (formalin 10 %). Tujuan dari fiksasi mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi seperti sewaktu hidup, mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak agar memudahkan pembuatan irisan tipis, mencegah terjadinya pembusukan, dan autolisis dari sel.

## 2. Dehidrasi

Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga jaringan nantinya dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan cairan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Tahapan pelaksanaan sebagai berikut:

- a. Alkohol 70% = 15 menit
- b. alkohol 70% = 15 menit
- c. alkohol 70% = 15 menit
- d. alkohol 95% = 15 menit
- e. alkohol 95% = 15 menit
- f. alkohol 95% = 15 menit
- g. alkohol 100% = 15 menit
- h. alkohol 100% = 15 menit
- i. alkohol 100% = 15 menit

## 3. Pembeningan

Pembeningan merupakan suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Xylol yang dipakai sebagai zat pembening, metodenya adalah sebagai berikut:

- a. Jaringan dikeluarkan dari cairan dehidrasi (alkohol) kemudian dimasukkan kedalam xylol I selama 1 jam. Jaringan akan menjadi bening

- b. jaringan kemudian dipindahkan ke cairan xylol II untuk menyakinkan bahwa seluruh cairan alkohol telah keluar,. Lama inkubasi dalam xylol selama 1 jam.
- c. jaringan kemudian direndam dalam parafin cair di dalam oven selama kira-kira ½ jam. Setelah itu jaringan siap untuk dimasukkan kedalam blok parafin.

#### 4. Pembenaan (*Impregnasi*)

Pembenaan (*impregnasi*) bertujuan untuk mengeluarkan cairan pembening dari jaringan dan diganti dengan parafin. Hal ini karena sisa cairan pembening dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek. Jaringan di impregnasi dengan parafin cair yang mempunyai temperatur lebur 56-59<sup>0</sup> C. Proses pembenaan sebagai berikut

- a. jaringan dbenamkan ke dalam parafin I selama 2 jam
- b. jaringan kemudian dipindahkan kedalam parafin II selama 1 jam
- c. akhirnya jaringan dimasukkan kedalam parafin III selama 2 jam.

#### 5. Pengecoran (*Blocking*)

Pengecoran (*Blocking*) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom. Prosesnya dilakukan dengan cara histoplate dari plastik diletakkan di atas piringan logam (seperti cetakan membuat es batu). Tuangkan sedikit cairan parafin ke dalam cetakan tersebut. Secepatnya masukkan jaringan dengan menggunakan pinset yang telah dipanaskan (agar parafin tak beku) dan diatur posisinya di dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituangkan kembali hingga menutupi seluruh cetakan tersebut.

#### 6. Pemotongan jaringan (*Sectioning*)

Pemotongan bertujuan untuk mengeblok preparat dengan menggunakan mikrotom dan potongan jaringan yang didapat tidak koyak, sehingga mendapatkan jaringan yang baik.

#### 7. Pewarnaan (*Staining*)

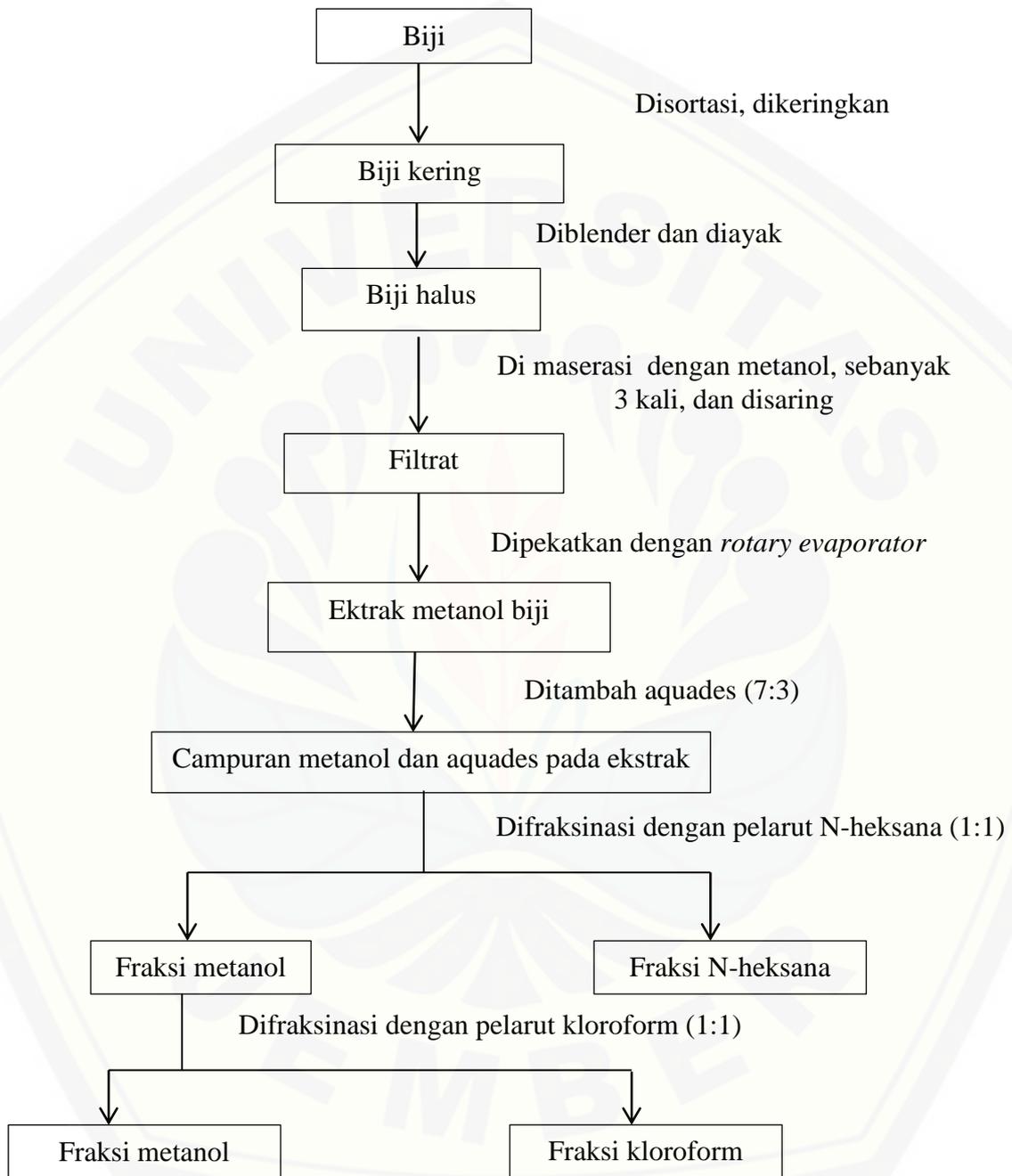
Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat dikenali atau diamati dengan mikroskop. Pewarnaan dengan menggunakan hematoksin-eosin (HE). Pada pulasan HE digunakan 2 macam zat warna yaitu hematoksin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta eosin yang merupakan counterstaining hematoksin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel.

### 3.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif dan uji statistik non-parametrik. Analisis deskriptif untuk menganalisis gambaran proses spermatogenesis dengan metode *Johnsen like-score*. Analisis non-parametrik yaitu Uji *Kruskall-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dengan perbandingan dosis yang telah ditentukan terhadap skor spermatogenesis menurut kriteria *Johnsen-like score* dan dilanjutkan dengan uji Mann-whitney untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan. Pengujian sifat reversibilitas menggunakan analisis *Kruskall-Wallis* kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol setelah dihentikan pemberian perlakuan (Singh *et al.*, 2008; Sari *et al.*, 2013). Tingkat kepercayaan yang digunakan adalah 95%.

### 3.10 Skema Pelaksanaan Penelitian

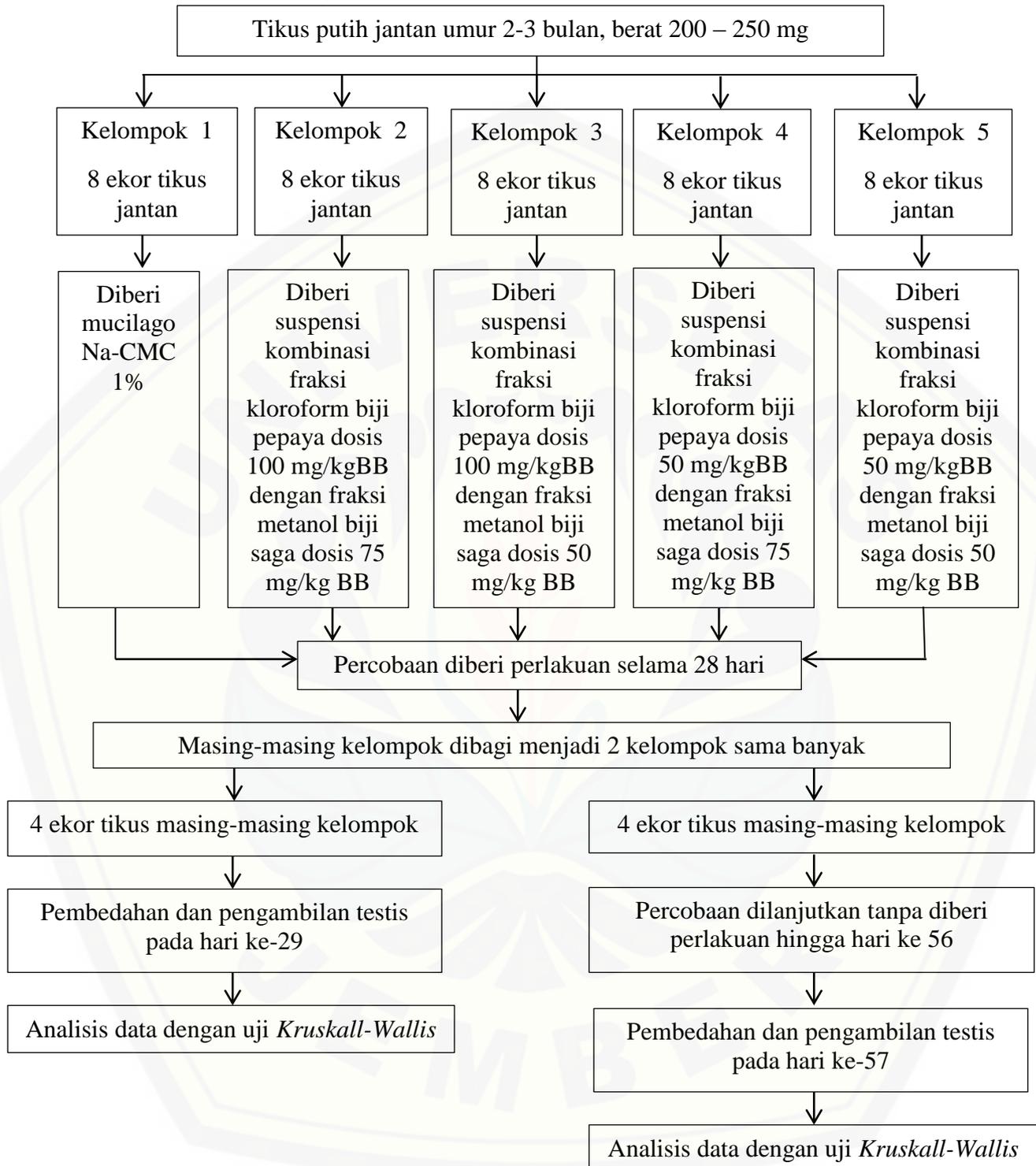
#### 3.10.1 Skema Preparasi Fraksi Metanol Biji Saga dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya



Gambar 3.3. Skema Preparasi Fraksinasi

Pada biji pepaya fraksi yang diambil yaitu fraksi kloroform, sedangkan pada biji saga yang diambil yaitu fraksi metanol.

### 3.11 Skema Kerja Penelitian Antifertilitas



Gambar 3.5 Skema Kerja Penelitian Antifertilitas

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Fraksi Kloroform Biji Pepaya dan Fraksi Metanol Biji Saga

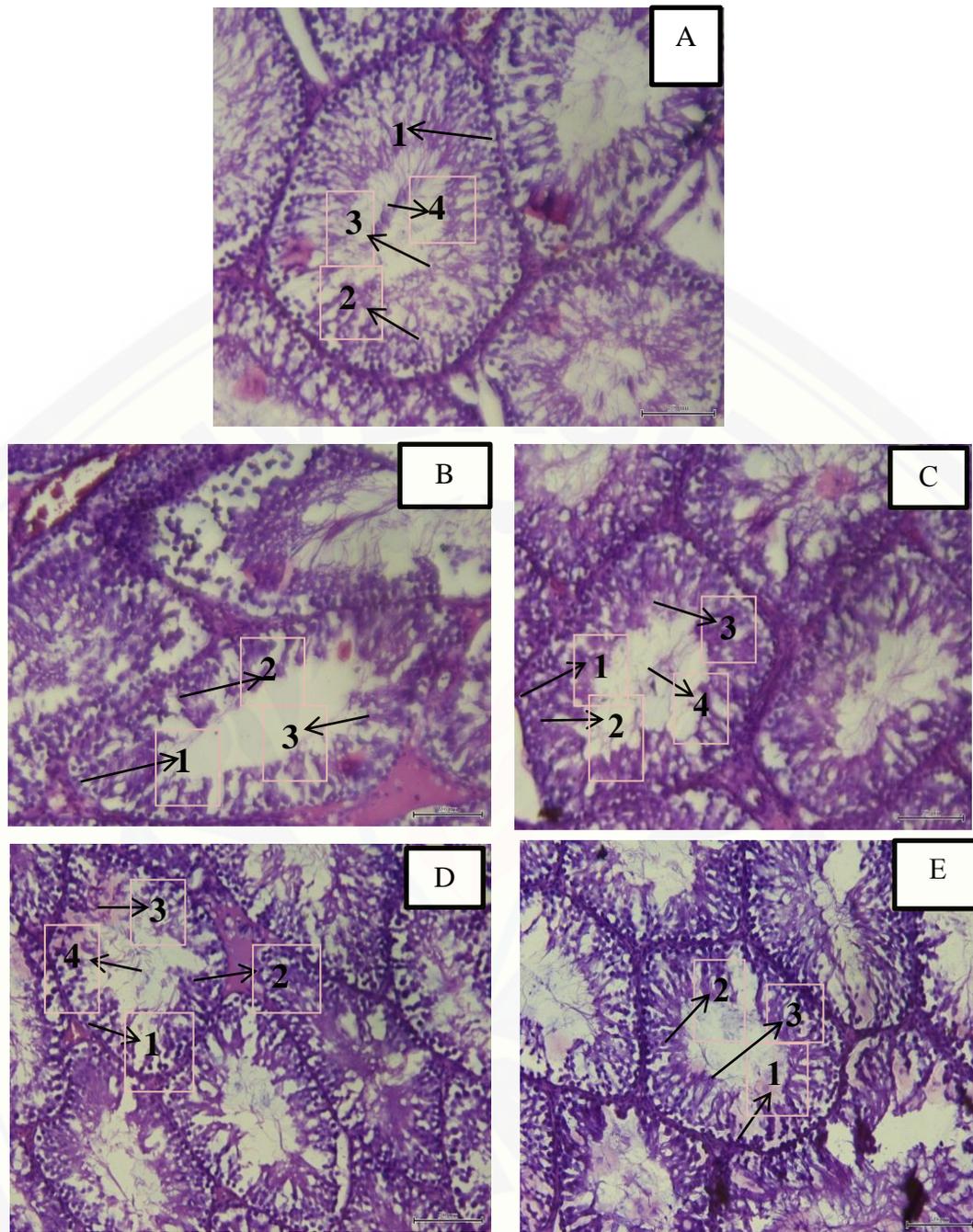
Fraksi kloroform biji pepaya yang diperoleh dari ekstraksi kloroform biji pepaya memiliki rendemen sebesar 3,812 %. Fraksi metanol biji saga yang diperoleh dari ekstraksi metanol biji saga memiliki rendemen sebesar 3,254 %.

#### 4.1.2 Gambaran Hasil Histologi Testis Tikus

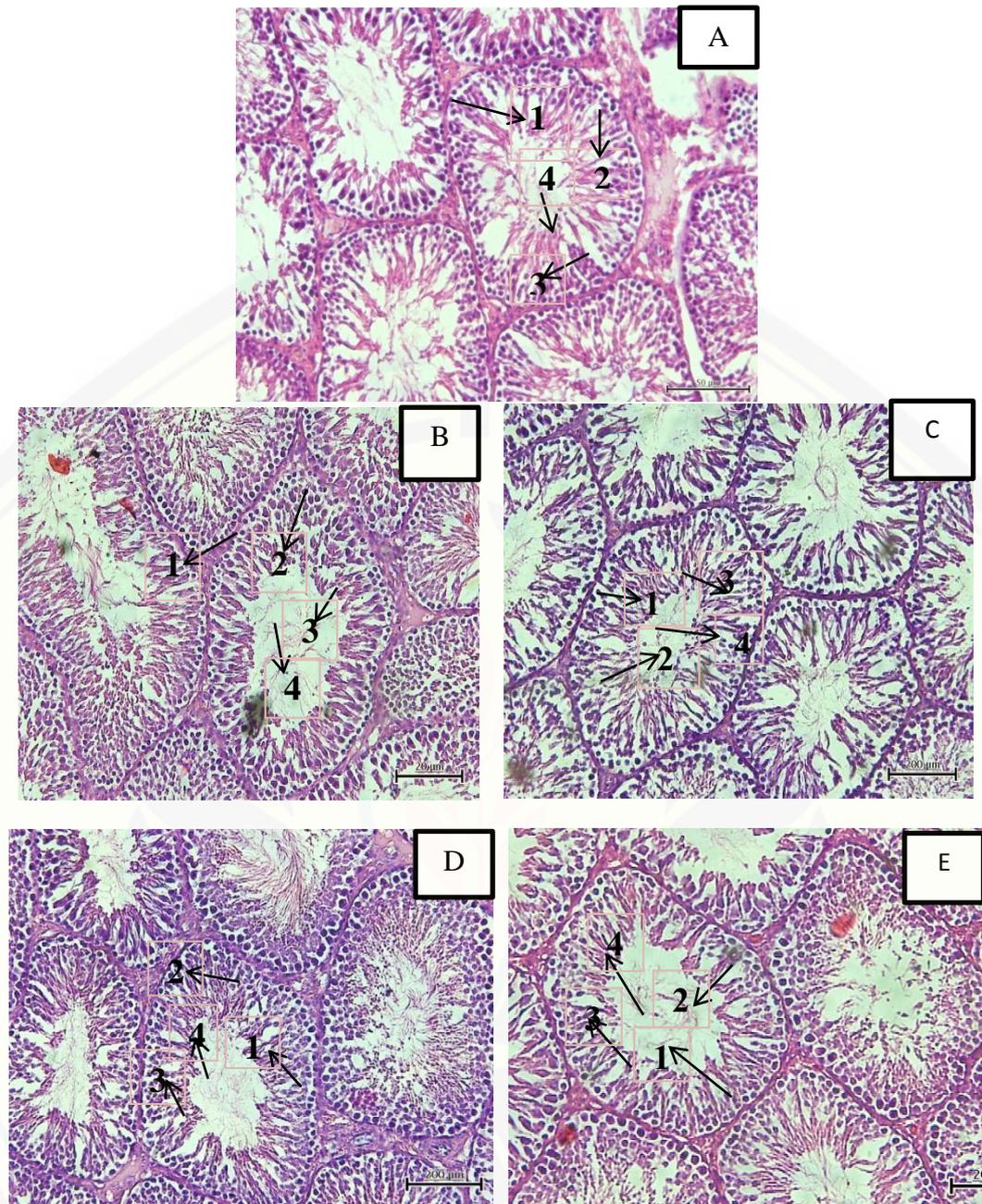
Testis tikus yang diperoleh pada perlakuan selama 28 hari dan 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan dibuat preparat histologi dengan sayatan melintang. Gambaran hasil histologi testis tikus yang diberi perlakuan selama 28 hari tertera pada gambar 4.1, sedangkan gambaran hasil histologi testis tikus yang diberi perlakuan selama 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan tertera pada gambar 4.2.

#### 4.1.3 Penilaian Skor Spermatogenesis

Hasil histologi testis tikus yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menilai spermatogenesis dengan cara skor. Metode skoring yang digunakan yaitu metode *Jonhsen like-score*. Penilaian skor spermatogenesis tikus yang diberi perlakuan selama 28 hari tertera dalam Tabel 4.1, sedangkan penilaian skor spermatogenesis tikus selama 28 hari setelah penghentian perlakuan tertera dalam Tabel 4.2.



Gambar 4.1 Gambaran spermatogenesis tikus jantan yang diberi perlakuan selama 28 hari dengan pewarnaan Hematosilin Eosin (HE) (perbesaran mikroskop 200x); A. Kontrol negatif (CMC-Na 1%); B. Perlakuan kombinasi fraksi 100 mg/kg :75 mg/kg; C. Perlakuan kombinasi fraksi 100 mg/kg : 50 mg/kg; D. Perlakuan kombinasi fraksi 50 mg/kg :75 mg/kg; E. Perlakuan kombinasi fraksi 50 mg/kg : 50 mg/kg; 1. Spermatogonia; 2. Spermatosit; 3. Spermatid; 4. Spermatozoa



Gambar 4.2 Gambaran spermatogenesis tikus jantan selama 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan dengan pewarnaan Hematosilin Eosin (HE) (perbesaran mikroskop 200x); A. Kontrol negatif (CMC-Na 1%); B. Perlakuan kombinasi fraksi 100 mg/kg :75 mg/kg; C. Perlakuan kombinasi fraksi 100 mg/kg : 50 mg/kg; D. Perlakuan kombinasi fraksi 50 mg/kg :75 mg/kg; E. Perlakuan kombinasi fraksi 50 mg/kg : 50 mg/kg; 1. Spermatogonia; 2. Spermatosit; 3. Spermatid; 4. Spermatozoa

Tabel 4.1 Skor rata-rata spermatogenesis tiap kelompok perlakuan selama 28 hari

Kelompok	N	Perlakuan	Skor (rata-rata) $\pm$ SEM
Po	4	Kontrol	9,41 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
P1	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 100 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB	7,41 $\pm$ 0,60 <sup>b,c</sup>
P2	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 100 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB	8,46 $\pm$ 0,22 <sup>b</sup>
P3	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB	8,08 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>
P4	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB	6,78 $\pm$ 0,52 <sup>c</sup>

Keterangan : SEM = *Standart Error of Mean*

Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda bermakna ( $p < 0,005$ ) dengan tingkat kepercayaan 95 %

Tabel 4.2 Skor rata-rata spermatogenesis tiap kelompok selama 28 hari setelah penghentian perlakuan

Kelompok	N	Perlakuan	Skor (rata-rata) $\pm$ SEM
Po	4	Kontrol	9,26 $\pm$ 0,16
P1	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 100 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB	8,54 $\pm$ 0,35
P2	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 100 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB	8,81 $\pm$ 0,23
P3	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB	9,09 $\pm$ 0,33
P4	4	Kombinasi fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB	9,12 $\pm$ 0,26

Keterangan : SEM = *Standart Error of Mean*

Tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok ( $p > 0,05$ )

## 4.2 Analisis Data

Analisis data yang digunakan yaitu uji statistik non-parametrik dengan tingkat kepercayaan 95%. Uji *Kruskall-Wallis* yang digunakan untuk mengetahui efek kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dengan perbandingan dosis yang telah ditentukan terhadap skor spermatogenesis menurut kriteria *Johnsen-like score*. Hal ini karena data yang digunakan merupakan skala ordinal berupa data skor yang diklasifikasikan. Hasil uji *Kruskall-Wallis* kelompok yang diberi perlakuan selama 28 hari menunjukkan paling tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok dengan nilai signifikansi 0,008 ( $p < 0,05$ ). Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna, maka dilakukan uji *Mann-Whitney* dengan syarat signifikansi  $p < 0,05$ . Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok yang memiliki perbedaan antar kelompok yaitu kelompok P0 dengan kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4 dengan nilai signifikansi 0,020 ( $p < 0,05$ ), kelompok P2 dengan P4 dengan nilai signifikansi 0,021 ( $p < 0,05$ ) dan kelompok P3 dengan P4 dengan nilai signifikansi 0,043 ( $p < 0,05$ ). Hasil uji *Kruskall-Wallis* kelompok yang dihentikan pemberian perlakuan selama 28 hari menunjukkan tidak memiliki perbedaan yang bermakna antar kelompok dengan nilai signifikansi 0,367 ( $p > 0,05$ ).

## 4.3 Pembahasan

Pada penelitian ini awalnya dilakukan pembuatan ekstrak metanol biji pepaya kemudian dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi kloroform biji pepaya. Setelah itu dilakukan pembuatan ekstrak metanol biji saga kemudian dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi metanol biji saga. Kedua fraksi tersebut diberikan secara kombinasi dengan perbandingan yang berbeda pada tikus jantan galur wistar untuk mengetahui aktivitas antifertilitas dengan parameter spermatogenesis.

Spermatogenesis merupakan proses terbentuknya spermatozoa dari spermatogonium melalui perkembangan yang kompleks dan teratur (Widotama, 2008). Evaluasi spermatogenesis menggunakan kriteria *Johnsen-like score*, skor

yang dimiliki yaitu 1 hingga 10. Skor 10 menyatakan bahwa tubulus memiliki spermatogenesis yang kompleks, sedangkan skor 1 menyatakan bahwa tidak tampak sel dalam potongan tubulus melintang. Pemberian kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dapat mengakibatkan gangguan pada proses spermatogenesis. Ketika tahap awal perkembangan sel terganggu maka tahapan sel berikutnya akan terpengaruh. Akibatnya skor spermatogenesis dapat mengalami penurunan setelah pemberian kombinasi.

Data spermatogenesis yang diperoleh berasal dari tikus jantan galur wistar yang diberi perlakuan selama 28 hari dan 28 hari setelah penghentian perlakuan. Menurut Oakberg. (1956) menyatakan bahwa estimasi 28 hari pada tikus telah mewakili waktu spermatosit primer berkembang hingga menjadi spermatozoa. Spermatogenesis terdiri dari 4 siklus (Oakberg, 1956), setiap siklus dari spermatogenik pada tikus terjadi selama 9-12 hari (Hess and de Franca, 2009). Sel spermatogenik adalah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa yang terletak pada tubulus seminiferus yang menandakan adanya proses spermatogenesis yang terjadi di dalam testis (Susetyarini, 2013). Oleh karena itu 28 hari sudah dapat digunakan untuk mengamati proses spermatogenesis pada tikus.

Hasil rata-rata skor kelompok yang diberi perlakuan selama 28 hari terdapat pada tabel 4.1. Berdasarkan tabel 4.1 tersebut diketahui rata-rata skor spermatogenesis terbesar adalah kelompok kontrol yaitu sebesar 9,41. Hal ini menunjukkan bahwa spermatogenesis berlangsung dengan baik tetapi dengan epitelium yang tidak beraturan. Rata-rata skor spermatogenesis masing-masing perlakuan dengan kombinasi fraksi kloroform biji pepaya : fraksi metanol biji saga memiliki hasil yang berbeda-beda. Skor rata-rata spermatogenesis P1 dengan perbandingan dosis (100mg/kgBB:75mg/kgBB) sebesar 7,41 menunjukkan bahwa tidak terdapat sel sperma tetapi banyak spermatid. Skor rata-rata spermatogenesis P2 dengan perbandingan dosis (100mg/kgBB:50mg/kgBB), P3 dengan perbandingan dosis (50mg/kgBB:75mg/kgBB), berturut-turut sebesar 8,46 dan 8,08 menunjukkan bahwa terdapat sedikit spermatozoa. Skor rata-rata spermatogenesis P4 dengan perbandingan dosis (50mg/kgBB:50mg/kgBB)

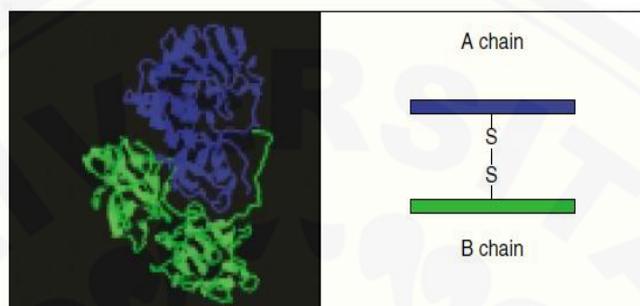
sebesar 6,78 menunjukkan bahwa tidak terdapat sel spermatozoa, tetapi banyak spermatid.

Pemberian kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dapat menurunkan proses spermatogenesis yang ditandai dengan penurunan skor. Penurunan skor spermatogenesis dapat diduga karena zat aktif yang terdapat pada kedua fraksi tersebut. Biji pepaya mengandung alkaloid, steroid, triterpenoid memiliki sifat sebagai antifertilitas (Satriyasa, 2008), sedangkan biji saga mengandung abrin yang berpotensi sebagai agen antifertilitas (Abu *et al.*, 2010).

Menurut Eke *et al.* (2014) ekstrak kloroform pada biji pepaya mengandung alkaloid, tanin, dan antraquinon, sehingga diduga pada fraksi kloroform biji pepaya mengandung semua senyawa tersebut. Alkaloid dapat menghambat pengeluaran hormon reproduksi, akibatnya proses spermatogenesis terhambat (Winarno dan Sundari, 1997). Proses spermatogenesis tergantung pada kerja hormon FSH dan LH. Ketika hormon FSH terganggu mengakibatkan rangsangan pada sel sertoli yang memiliki reseptor pada tubulus seminiferus akan berkurang sehingga proses spermatogenesis terhambat. Ketika hormon LH terganggu mengakibatkan rangsangan pada sel leydig akan berkurang sehingga proses pematangan spermatozoa (spermiogenesis) akan terhambat (Janqueria, 2002). Ekstrak kloroform biji pepaya menyebabkan vakuolisasi pada sitoplasma sel sertoli dan rusaknya beberapa organela dalam sitoplasma, sehingga akan mengurangi aktivitas metabolismenya. Selanjutnya abnormalitas sel sertoli akan menghambat deferensiasi dan pematangan sel spermatogenik terutama spermatid dan spermatozoa (Lohiya *et al.*, 2002).

Ekstrak metanol pada biji saga ditemukan mengandung abrin. Pelarut metanol merupakan pelarut polar dan pelarut tersebut digunakan untuk mendapatkan senyawa polar seperti asam amino dan derivatnya yaitu abrin (Ratnasooriya *et al.*, 1991). Hal ini dapat diduga pada fraksi metanol juga terdapat abrin. Abrin pada biji saga merupakan suatu toksin yang terdiri dari dua rantai yaitu rantai A dan rantai B. Subunit rantai A memiliki bobot molekul 30 kDa dan subunit rantai B memiliki bobot molekul 35 kDa. Kedua rantai tersebut

dihubungkan oleh ikatan kovalen dari disulfida tunggal (gambar 4.3) (Bagaria *et al.*, 2006). Rantai A dapat menghambat sintesis protein dari sel dengan cara menginaktivasi ribosom subunit 60S dan terjadi inaktivasi dari faktor elongasi (Olsnes *et al.*, 1974). Ketika proses sintesis protein pada sel sertoli dan sel leydig terhambat, maka akan terjadinya penghambatan pada proses spermatogenesis (Jahan *et al.*, 2009).



Gambar 4.3 Struktur Abrin, rantai A berwarna biru dan rantai B berwarna hijau (Dickers *et al.*, 2003)

Menurut Susetyarini *et al.* (2013) bahwa senyawa antifertilitas dari tumbuhan obat bekerja dengan 2 cara, yaitu melalui efek sitotoksik dan melalui efek hormonal yang menghambat laju metabolisme sel spermiogenesis dengan cara mengganggu keseimbangan sistem hormon. Fraksi kloroform biji pepaya bekerja dengan cara hormonal yaitu menghambat pengeluaran hormon reproduksi akibatnya proses spermatogenesis terhambat karena diduga adanya senyawa alkaloid. Ketika hormon FSH terganggu maka rangsangan pada sel sertoli akan berkurang. Fungsi dari sel sertoli yaitu membentuk *Blood Testis Barrier* yang menyebabkan terbentuknya *mikroenvironment* yang optimal untuk berlangsungnya proses spermatogenesis. Jika fungsi dari sel sertoli terganggu maka sekresi ABP (*Androgen Binding Protein*), suplei nutrien, faktor pertumbuhan, asam laktat akan terganggu yang mengakibatkan proses spermatogenesis menurun. Hal ini karena zat-zat tersebut dibutuhkan dalam proses spermatogenesis (Satriyasa dan Pangkahila, 2010). Ketika hormon LH terganggu maka rangsangan pada sel leydig akan terganggu akibatnya pengeluaran hormon testosteron akan menurun. Penurunan hormon testosteron mengakibatkan terjadi penurunan adhesi/daya tarik spermatid dengan sel sertoli, sehingga terjadi pelepasan spermatid ke

epitelium, pemanjangan spermatid akan berkurang, dan pematangan spermatid akan berkurang (Mclachlan *et.al.*, 2002; Zirkin., 1998).

Fraksi metanol biji saga bekerja dengan efek sitotoksik yang diduga adanya senyawa abrin akibatnya sintesis protein dari sel sertoli dan sel leydig terhambat, maka akan terjadinya penghambatan pada proses spermatogenesis (Jahan *et al.*, 2009a). Sel leydig mengeluarkan hormon testosteron dengan cara mensintesis enzim-enzim yang terdapat pada mitokondria dan retikulum endoplasma. Ketika sintesisnya terhambat maka pengeluaran hormon testosteron menurun. Sel sertoli akan mensekresi ABP. Ketika ABP disekresi maka proses spermatogenesis akan maksimal (Janqueria, 2002). Selain itu adanya ABP akan berfungsi untuk mengikat testosteron yang ada di membran tubulus menuju lumen untuk digunakan menstimulasi tahap perubahan spermatid menjadi spermatozoa. Ketika sintesis protein pada sel sertoli terhambat maka sekresi ABP akan berkurang, akibatnya proses spermatogenesis terhambat, transport testosteron akan terganggu dan jumlah spermatid yang berubah menjadi spermatozoa akan berkurang (Cristijanti, 2009).

Semua perlakuan kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga menghasilkan penurunan rata-rata skor spermatogenesis. Kelebihan dari kombinasi ini yaitu memiliki efek terapi yang lebih baik dan efek samping yang lebih rendah dengan adanya penurunan dosis (Atangwho *et al.*, 2010). Penurunan rata-rata skor spermatogenesis paling rendah pada P4 dengan dosis kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB. Hal ini karena diduga adanya senyawa yang terdapat pada fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga yang bekerja secara sinergisme, sehingga dengan dosis yang lebih rendah dapat memberikan aktivitas antifertilitas yang baik dan efek samping yang lebih rendah.

Syarat antifertilitas yang baik yaitu aman, efektif, bersifat reversibel, dan tidak berefek pada libido (Kamal *et al.*, 2003). Sifat reversibilitas dapat diketahui dengan cara penghentian pemberian perlakuan selama 28 hari, kemudian mengamati proses spermatogenesis pada testis tikus tersebut. Hasil rata-rata skor kelompok selama 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan terdapat pada

tabel 4.2. Berdasarkan tabel 4.2 tersebut diketahui rata-rata skor spermatogenesis terbesar adalah kelompok kontrol yaitu sebesar 9,26. Hal ini menunjukkan bahwa spermatogenesis berlangsung dengan baik tetapi dengan epitelium yang tidak beraturan. Rata-rata skor spermatogenesis masing-masing perlakuan dengan kombinasi fraksi kloroform biji pepaya : fraksi metanol biji saga memiliki hasil yang berbeda-beda. Skor rata-rata spermatogenesis P1 dengan perbandingan dosis (100mg/kgBB:75mg/kgBB) sebesar 8,54 menunjukkan bahwa terdapat sedikit spermatozoa. Skor rata-rata spermatogenesis P2 dengan perbandingan dosis (100mg/kgBB : 50mg/kgBB), P3 dengan perbandingan dosis (50mg/kgBB :75mg/kgBB), P4 dengan perbandingan dosis (50mg/kgBB:50mg/kgBB) berturut-turut sebesar 8,81; 9,05 dan 9,12 menunjukkan bahwa spermatogenesis berlangsung dengan baik tetapi dengan epitelium yang tidak beraturan.

Penghentian pemberian kombinasi fraksi tersebut telah menunjukkan proses spermatogenesis yang lebih baik, dilihat dari hasil analisis statistik *Kruskal-walis* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna kelompok perlakuan dengan kontrol ( $p>0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa proses spermatogenesis yang terjadi pada kelompok kontrol sama dengan kelompok yang diberi perlakuan kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga, sehingga dapat dikatakan tidak menyebabkan perubahan yang bersifat tetap pada proses spermatogenesis.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dapat menurunkan skor spermatogenesis, dimana kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB memiliki skor spermatogenesis lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lain yaitu sebesar 6,78;
2. Pengaruh pemberian kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dapat bersifat reversibel atau tidak tetap terhadap spermatogenesis.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil dan kesimpulan yang diperoleh, penulis menyarankan :

1. perlu dilakukan skrining atau isolasi untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga yang berkaitan dengan penghambatan proses spermatogenesis.
2. Perlu dilakukan pengujian tentang kadar hormon FSH dan LH.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abu, S.M., Manirul, H.A., Majid, M.A., dan Anwarul, I.M. 2010. Antifertility Studies on Ethanolic Extract of *Abrus precatorius* L on Swiss Male Albino Mice. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 3(11): 288-292
- Atangwho, I.J., Ebong, P.E., Eyong, E.U., dan Egbung, G.E. 2010. Combined Extracts of *Vernonia amygdalina* and *Azadirachta indica* may Substitute Insulin Requirement in The Management of Type I Diabetes. *Research Journal Medicine and Medical Sciences*. 5(1):35–39.
- Bagaria, A., Surendranath, K., Ramagopal, U.A., Ramakumar, S., dan Karande, A.A. 2006. Structure-Function Analysis and Insights Into The Reduced Toxicity of *Abrus precatorius* Agglutinin I in Relation to Abrin. *The Journal of Biological Chemistry*. 281(45):34465–34474.
- Bajpai, R.N, 1989. *Histologi Dasar*. Jakarta : Binarupa Aksara Press.
- Badan POM RI. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*, Direktorat Obat Asli Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta, hal 1.
- Badan POM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*, Vol.5, Edisi I, Direktorat Obat Asli Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta, hal 74-76.
- Basha, H., Lalithamma., Naik, G., Changamma. 2013. Evaluation of antifertilitas Efficacy of *Carica papaya* Seed Extract Trough Histologi Indices in Male Albino Rats. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 4(3).
- BKKKBN. 2013. *Pedoman Penggunaan Dana Alokasi Khusus (DAK) Bidang Keluarga Berencana Tahun 2014*, Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional. Jakarta, hal 1-3
- Cristijanti, W., 2009. Penurunan Jumlah dan Motilitas Spermatozoa Setelah Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (Kajian Potensi Biji Pepaya sebagai Bahan Kontrasepsi Alternatif) The Declining of Spermatozoa Number and Motility of Mice Were Treats with Papaya Seeds Extract. *Journal Biosaintifika*. 1(1):19-26.
- De Kretser, D.M., Loveland, K.L., Meinhardt, A., Simorangkir, D., dan Wreford, N. 1998. Spermatogenesis. *Human Reproduction*. 13; 1–8.

- Ekarini, S.M.B. 2008. *Analisis Faktor-faktor yang Berpengaruh terhadap Partisipasi Pria dalam Keluarga Berencana di Kecamatan Selo Kabupaten Boyolali*. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
- Eke, O.N., Augustine, A.U., dan Ibrahim, H.F., 2014. Qualitative Analysis of Phytochemicals and Antibacterial Screening of Extracts of *Carica papaya* Fruits and Seeds. *International Journal of Modern Chemistry*. 2014;6(1):48–56.
- Guyton, A. C. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta : EGC
- Hess, R.A., dan de Franca, L.R., 2009. Spermatogenesis and Cycle of The Seminiferous Epithelium, in: *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis*. Springer. hal. 1–15.
- Ihsan, M.N., dan Wahjuningsih, S. 2012. Penampilan Reproduksi Sapi Potong di Kabupaten Bojonegoro. *Jurnal Ternak Trop*. 12, 77–74.
- Jahan, S., Rasool, S., Khan, M.A., Ahmad, M., Zafar, M., dan Abbasi, A.M. 2009a. Antifertility Effects of Ethanolic Seed Extract of *Abrus precatorius* L. on Sperm Production and DNA Integrity in Adult Male Mice. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(10): 809–814.
- Jahan, S., Seed, N., Ijal, F., Khan, A.M., Ahmad, M., Zafar, M., Abbasi, M.A. 2009b. Histomorphological Study to Evaluate Anti-fertility Effect of *Abrus precatorius* L. in Adult Male Mice. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(12): 1021-1028,
- Janqueira, L.C., 2007. *Histologi Dasar : teks dan atlas Edisi 10*. Jakarta: EGC
- Johnsen, S.G. 1970. Testicular Biopsy Score count - A Method for Registration of Spermatogenesis in Human Testes: Normal Values and Results in 335 Hypogonadal Males (On line). *Hormones*. 1: 2-25. Abstract from: Karger Medical Publication.
- Kamal, R., Gupta, R.S., dan Lohiya, N.K., 2003. Plants for Male Fertility Regulation. *Phytotherapy Research*. 17; 579–590.
- Kresnawati, E.S., 1999. *Model Statistika untuk Fertilitas Perkawinan dengan Pendekatan Eksponensial*. EPrints UNSRI.
- Krishna, L.K., Paridhavi, M., dan Patel, A.J., 2008. Review on Nutritional Meicinal and Pharmacological Properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.) *Natural Product Radiance*. 7(4);363-373.

- Lohiya, N.K., Manivannan, B., Mishra, P.K., Pathak, N., Sriram, S., Bhande, S.S., dan Panneerdoss, S. 2002. Chloroform Extract of *Carica papaya* seeds Induces long-Term Reversible Azoospermia in Langur Monkey. *Asian Journal Andrology*. 4(1): 17–26.
- Lohiya, N.K., Mishra, P.K., Pathak, N., Manivannan, B., Bhande, S.S., Panneerdoss, S., Sriram, S., 2005. Efficacy Trial on The Purified Compounds of The Seeds of *Carica papaya* for Male Contraception in Albino Rat. *Reproductive Toxicol*. 20: 135–148.
- Mclachlan, R.I., O'donnel, L., Meachem, J.S., Stanton, G.P., De Kretser, M.D., Pratis, K., Robertson, M.D. 2002. Identification of Specific Sites of Hormonal Regulation in Spermatogenesis in Rats, Monkeys, and Man. *Endocrine Society*.
- Muslichah, S., dan Wiratmo, 2014. Efek Antifertilitas Fraksi N-Heksana, Fraksi Kloroform dan Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus Precatorius L.*) Dan Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar. *Laporan Penelitian*. Universitas Jember.
- Oakberg, E.F., 1956. Duration of Spermatogenesis in The Mouse and Timing of Stages of The Cycle of The Seminiferous Epithelium. *Am. J. Anat.* 99, 507–516.
- Olsnes, S., Refsnes, K., dan Pihl, A., 1974. Mechanism of Action of The Toxic Lectins Abrin and Ricin. *Nature*. 249: 627–631
- Ratnasooriya, W.D., Amarasekera, A.S., dan Ananda, U., 1991. Effect of Methanolic Extract of *Abrus precatorius* Seeds on Fertility of Female Rats. *Vidyodaya Journal Science*. 3(2): 41-46.
- Sari, I.P., Rahayu, S., dan Rizal, D.M., 2013. Infusa Daun Pacing *Costus Speciosus* (KOEN) J.E. Smith sebagai Penghambatan Jumlah dan Kualitas Spermatozoa pada Mencit Jantan Balb/c. *Traditional Medicine journal*, 18 (1).59-66
- Satriyasa, B.K., 2008. Fractions of The Hexane Extract of Young *Carica papaya* Seeds can Inhibit Spermatogenesis in Male Mice More Than Fraction of The Methanol Extract of Young *Carica papaya* seeds. *Indonesian Journal Biomedical Science*. 2.
- Satriyasa, B.K., dan Pangkahila, I., W., 2010. Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda Menghambat Spermatogonia Mencit (*Mus Musculus*) Jantan. *Journal Veteriner*. 11(1): 36-40

- Sandhya, S., Chandrasekhar, J., David, B., dan Vinod, K.R. 2012. Potentiality of Hair Growth Promoting Activity of Aqueous Extract of *Abrus precatorius* Linn. on Wistar Albino Rats. *Journal of Natural Remedies*. 12(1): 1–11.
- Setiadi. 2007. *Anatomi dan Fisiologi Manusia Edisi Pertama*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Siburian, J., Marlina, J., dan Johari, A. 2008. Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Tahap Prakopulasi Terhadap Fungsi Reproduksi Mencit (*Mus musculus*, L.) Swiss Webster Betina. *Biospecies*. 1(1):1-5.
- Singh, A., dan Singh,S.K. 2008. Reversibel Antifertilitas Effect of Aqueous Leaf Extract of *Allamanda cathartica* L. in Male Laboratory Mice. *International Journal of Andrologia* 40. 337-345
- Sloane, E. 2003. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Jakarta: EGC
- Sukadana, I.M., Rahayu Santi, S., dan Juliarti, N.K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.).*Jurnal Kimia*. 2(1): 15-18.
- Susetyarini, R., E. 2013. Jumlah Sel Spermatogenesis Tikus Putih yang Diberi Tanin Daun Bluntas (*Pluchea indica*) sebagai Sumber Belajar. *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS*
- Tambajong, Y., 1995. *Sinopsis Histologi*. Jakarta : EGC
- USDA, NRCS. 2014. The PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>, 28 November 2014). National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA.
- Widotama, G. 2008. Pengaruh Isolat Herbal *Veronia Cinerea* Terhadap Spermatogenesis Tikus Putih. *Journal Chemitry*. 2.
- Winarno, W.M., dan Sundari, D. 1997. Informasi Tanaman Obat untuk Kontrasepsi Tradisional. Vol 120. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Zirkin, B.R. Spermatogenesis: its regulation by testosterone and FSH. *Academic Press*. 9 417-421

**LAMPIRAN****Lampiran A. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi****A1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kloroform Biji Pepaya**

Bobot simplisia biji pepaya = 750 gram

Volume metanol yang digunakan =  $\frac{6 \text{ ml}}{1 \text{ g}} \times 750 \text{ g} = 4,5 \text{ liter}$

Berat ekstrak yang diperoleh = 67,64 gram

Rendemen yang diperoleh =  $\frac{67,64}{750} \text{ g} \times 100 \% = 9,02 \%$

**A.2. Perhitungan Rendemen Fraksi Metanol**

Berat ekstrak metanol = 62,64 gram

Berat fraksi kloroform = 28,59 gram

Rendemen fraksi Kloroform =  $\frac{28,59}{750} \text{ gram} \times 100 \% = 3,812\%$

**A.3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Biji Saga**

Bobot simplisia biji saga = 500 gram

Volume metanol yang digunakan =  $\frac{7 \text{ ml}}{1 \text{ g}} \times 500 \text{ g} = 3,5 \text{ liter}$

Berat ekstrak yang diperoleh = 78,87 gram

Rendemen yang diperoleh =  $\frac{78,87}{500} \text{ g} \times 100 \% = 7 \%$

**A.4. Perhitungan Rendemen Fraksi Metanol Biji Saga**

Berat ekstrak metanol = 78,87 gram

Berat fraksi kloroform = 35,21 gram

Rendemen fraksi Kloroform  $\frac{35,21 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \text{ g} \times 100 \% = 7,042\%$

**Lampiran B. Perhitungan volume dan dosis pemberian sediaan Uji****B.1 Sediaan Kontrol**

Menggunakan Suspensi CMC Na 1 % b/v

**B.2 Dosis sediaan uji perlakuan 1**

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi klorofom biji pepaya 100 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 75 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

$$\text{Fraksi kloroform biji pepaya} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 20 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

Jadi untuk 50 ml = 500 mg

$$\text{Fraksi Metanol biji saga} = \frac{75 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 15 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

Jadi untuk 50 ml = 375 mg

### **B.3 Dosis sediaan uji perlakuan 2**

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi klorofom biji pepaya 100 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 50 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

$$\text{Fraksi kloroform biji pepaya} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 20 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

Jadi untuk 50 ml = 500 mg

$$\text{Fraksi Metanol biji saga} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

Jadi untuk 50 ml = 250 mg

### **B.4 Dosis sediaan uji perlakuan 3**

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 75 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

$$\text{Fraksi kloroform biji pepaya} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

$$\text{Jadi untuk 50 ml} = 250 \text{ mg}$$

$$\text{Fraksi Metanol biji saga} = \frac{75 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 15 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

$$\text{Jadi untuk 50 ml} = 375 \text{ mg}$$

#### **B.5 Dosis sediaan uji perlakuan 4**

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 50 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

$$\text{Fraksi kloroform biji pepaya} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

$$\text{Jadi untuk 50 ml} = 250 \text{ mg}$$

$$\text{Fraksi Metanol biji saga} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg dalam 2 ml}$$

suspensi

$$\text{Jadi untuk 50 ml} = 250 \text{ mg}$$

Lampiran C. Tabel hasil pengamatan spermatogenesis berdasarkan kriteria *Johnsen-Like Score*

C.1 Tabel hasil pengamatan spermatogenesis tikus yang diberi perlakuan selama 28 hari berdasarkan kriteria *Johnsen-Like Score*

PERLAKU AN	JUMLAH TUBULUS KE-																				Rata- rata masing perlaku an	Rata- rata total kelomp ok
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
<b>KONTROL</b>																						
1	10	10	9	9	9	9	10	9	9	10	9	10	10	10	10	9	9	9	10	10	9.5	9.41
2	10	9	9	9	5	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	10	9	9	9	9	9.15	
3	10	9	9	9	10	10	9	9	10	9	10	10	9	9	10	9	9	10	10	9	9.45	
4	10	10	10	10	9	9	9	9	10	10	10	10	10	9	9	10	10	9	9	9	9.55	
<b>KEL.I</b>																						
1	5	5	6	7	8	5	6	4	6	6	8	7	5	6	6	4	5	5	5	7	5.8	7,41
2	7	7	7	9	7	7	9	9	9	8	9	9	5	6	6	9	7	9	5	4	7.4	
3	10	9	9	9	10	9	8	7	7	8	7	9	10	8	9	9	8	9	10	9	8.7	
4	9	9	9	9	5	6	6	9	5	9	9	7	9	7	8	9	5	7	9	9	7.75	
<b>KEL.II</b>																						
1	7	7	9	9	8	9	10	5	5	9	5	9	7	7	9	9	9	7	8	9	7.85	8,46
2	8	8	9	9	7	9	9	8	9	7	8	8	9	9	8	9	10	7	10	9	8.5	
3	8	9	9	7	8	9	10	9	7	9	9	10	10	9	8	9	10	10	9	9	8.9	
5	9	9	9	9	7	7	10	9	9	9	8	9	9	9	9	9	8	6	9	9	8.6	

<b>KEL III</b>																						
1	9	8	7	7	7	7	8	9	8	9	8	9	8	9	10	9	9	5	10	8	8.2	8,08
2	9	7	8	9	8	8	9	10	9	9	8	10	7	9	9	7	7	10	10	9	8.6	
3	9	7	8	6	6	9	6	9	9	9	9	9	10	9	9	8	7	7	8	9	8.15	
4	10	9	6	6	5	5	8	9	9	7	8	5	8	9	6	9	6	8	7	7	7.35	
<b>KEL.IV</b>																						
1	5	7	9	9	7	8	9	9	9	7	9	9	5	8	9	9	5	8	6	8	7.75	6,78
2	5	5	6	5	8	8	9	9	8	8	9	5	9	7	7	8	6	7	7	5	7.05	
3	8	7	7	5	7	5	5	3	4	3	4	5	4	5	3	5	5	5	8	8	5.3	
4	5	8	7	9	5	9	9	5	5	7	9	6	5	7	8	8	5	7	9	7	7.0	

C.2 Tabel hasil pengamatan spermatogenesis tikus selama 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan berdasarkan kriteria *Johnsen-Like Score*

PERLAKU AN	Jumlah tubulus ke-																				Rata – rata masing perlaku an	Rata – rata total kelomp ok	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
<b>KONTROL</b>																							
1	9	9	9	7	9	9	10	10	10	9	9	9	9	10	9	9	9	10	9	9	9,15	9,26	
2	10	9	9	10	8	10	6	9	9	10	9	9	10	10	10	10	9	10	8	10	9,65		
3	9	9	9	9	9	10	10	7	9	10	7	7	9	7	9	9	10	9	9	9	8,9		
4	10	9	10	9	9	7	9	9	10	9	10	10	10	10	10	10	9	9	9	10	9,35		
<b>KEL.I</b>																							
1	7	7	9	9	9	6	5	5	9	9	9	5	7	9	9	9	10	9	9	6	7,85	8,54	
2	9	5	9	9	9	7	9	9	7	9	9	9	6	10	9	9	5	7	7	9	8,1		
3	10	9	10	10	10	8	8	9	10	10	10	9	10	10	10	8	9	9	9	10	9,4		
4	9	10	9	8	9	9	10	9	10	5	5	10	9	5	10	9	10	10	10	10	8,8		
<b>KEL.II</b>																							
1	9	9	8	9	5	5	10	9	7	6	9	9	9	9	5	9	7	10	10	9	8,15	8,81	
2	10	10	10	10	10	10	9	10	9	5	10	5	9	10	10	7	10	10	9	10	9,15		
3	10	10	9	10	10	9	8	7	10	10	10	10	9	9	10	9	9	7	9	6	9,05		
4	7	7	9	9	9	10	7	10	9	9	9	9	10	9	9	9	9	9	10	9	8,9		

<b>KEL III</b>																							
<b>1</b>	8	10	10	10	10	10	10	10	10	8	10	9	5	9	10	10	7	7	10	10	9,15	<b>9,09</b>	
<b>2</b>	10	10	9	10	10	10	8	9	10	10	9	9	9	10	10	10	10	9	9	7	9,4		
<b>3</b>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	10	8	9	9	10	10	10	10	9,65		
<b>4</b>	10	9	7	9	9	9	9	9	9	6	6	9	9	10	9	5	6	5	9	9	8,15		
<b>KEL.IV</b>																							
<b>1</b>	9	10	7	9	10	10	9	10	9	9	10	9	10	7	10	9	9	7	9	9	9,05	<b>9,12</b>	
<b>2</b>	7	9	9	9	9	7	9	8	7	7	9	9	9	10	10	5	9	9	9	9	8,45		
<b>3</b>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	8	10	10	8	10	10	9,7		
<b>4</b>	10	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	9	7	10	10	10	7	8	10	9	7		9,3

**Lampiran D. Hasil Analisis Statistik**

**D.1 Hasil analisis statistik kelompok yang diberi perlakuan selama 28 hari**

**Case Processing Summary**

kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
skor	kontrol	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	perlakuan 1	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	perlakuan 2	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	perlakuan 3	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
	perlakuan 4	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%

**Descriptives**

kelompok				Statistic	Std. Error		
skor	kontrol	Mean		9,4000	,08416		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	9,1322			
			Upper Bound	9,6678			
		5% Trimmed Mean		9,4083			
		Median		9,4750			
		Variance		,028			
		Std. Deviation		,16833			
		Minimum		9,15			
		Maximum		9,50			
		Range		,35			
		Interquartile Range		,28			
		Skewness		-1,887	1,014		
		Kurtosis		3,576	2,619		
		perlakuan 1	perlakuan 1	Mean		7,4125	,60359
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			5,4916			
	Upper Bound			9,3334			
5% Trimmed Mean				7,4306			
Median				7,5750			
Variance				1,457			
Std. Deviation				1,20718			
Minimum				5,80			
Maximum				8,70			
Range				2,90			
Interquartile Range				2,26			
Skewness				-,766	1,014		
perlakuan 2	perlakuan 2			Mean		8,4625	,22115
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7,7587	
			Upper Bound	9,1663			
		5% Trimmed Mean		8,4722			
		Median		8,5500			
		Variance		,196			
		Std. Deviation		,44230			
		Minimum		7,85			
		Maximum		8,90			
		Range		1,05			
		Interquartile Range		,81			
		Skewness		-1,105	1,014		
		Kurtosis		1,981	2,619		
		perlakuan 3	perlakuan 3	Mean		8,0750	,26180
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			7,2418			
	Upper Bound			8,9082			
5% Trimmed Mean				8,0861			
Median				8,1750			
Variance				,274			
Std. Deviation				,52361			
Minimum				7,35			
Maximum				8,60			
Range				1,25			
Interquartile Range				,95			
Skewness				-1,087	1,014		
Kurtosis				2,133	2,619		

perlakuan 4	Mean		6,7750	,52062
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,1182	
		Upper Bound	8,4318	
	5% Trimmed Mean		6,8028	
	Median		7,0250	
	Variance		1,084	
	Std. Deviation		1,04123	
	Minimum		5,30	
	Maximum		7,75	
	Range		2,45	
	Interquartile Range		1,85	
	Skewness		-1,329	1,014
	Kurtosis		2,509	2,619

**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
skor kontrol	,367	4	.	,729	4	,024
perlakuan 1	,246	4	.	,962	4	,794
perlakuan 2	,284	4	.	,929	4	,587
perlakuan 3	,307	4	.	,915	4	,508
perlakuan 4	,336	4	.	,880	4	,340

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

skor

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,534	4	15	,243

**Kruskal-Wallis Test**

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank
skor kontrol	4	18,50
perlakuan 1	4	7,63
perlakuan 2	4	12,63
perlakuan 3	4	9,88
perlakuan 4	4	3,88
Total	20	

**Test Statistics<sup>a, b</sup>**

	skor
Chi-square	13,867
df	4
Asymp. Sig.	,008

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

**Mann-Whitney Test****Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kontrol	4	6,50	26,00
perlakuan 1	4	2,50	10,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kontrol	4	6,50	26,00
perlakuan 2	4	2,50	10,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kontrol	4	6,50	26,00
perlakuan 3	4	2,50	10,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kontrol	4	6,50	26,00
perlakuan 4	4	2,50	10,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor perlakuan 1	4	3,25	13,00
perlakuan 2	4	5,75	23,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	13,000
Z	-1,443
Asymp. Sig. (2-tailed)	,149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor perlakuan 1	4	4,00	16,00
perlakuan 3	4	5,00	20,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	16,000
Z	-,577
Asymp. Sig. (2-tailed)	,564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,686 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor perlakuan 1	4	5,38	21,50
perlakuan 4	4	3,63	14,50
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	14,500
Z	-1,016
Asymp. Sig. (2-tailed)	,309
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor perlakuan 2	4	5,38	21,50
perlakuan 3	4	3,63	14,50
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	14,500
Z	-1,016
Asymp. Sig. (2-tailed)	,309
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor perlakuan 2	4	6,50	26,00
perlakuan 4	4	2,50	10,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor perlakuan 3	4	6,25	25,00
perlakuan 4	4	2,75	11,00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	11,000
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

D.1 Hasil analisis statistik kelompok selama 28 hari setelah penghentian pemberian perlakuan

Case Processing Summary

perlakuan	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
skor kontrol	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
perlakuan11	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
perlakuan22	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
perlakuan33	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
perlakuan44	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%

Descriptives

perlakuan	Statistic	Std. Error
skor kontrol	Mean	9,2625
	95% Confidence Interval for Mean	8,7577
	Lower Bound	9,7673
	Upper Bound	9,2611
	5% Trimmed Mean	9,2500
	Median	,101
	Variance	,31721
	Std. Deviation	8,90
	Minimum	9,65
	Maximum	,75
	Range	,61
	Interquartile Range	,205
	Skewness	1,014
Kurtosis	2,619	
perlakuan11	Mean	8,5375
	95% Confidence Interval for Mean	7,4210
	Lower Bound	9,6540
	Upper Bound	8,5278
	5% Trimmed Mean	8,4500
	Median	,492
	Variance	,70163
	Std. Deviation	7,85
	Minimum	9,40
	Maximum	1,55
	Range	1,34
	Interquartile Range	,484
	Skewness	1,014
Kurtosis	2,619	
perlakuan22	Mean	8,8125
	95% Confidence Interval for Mean	8,0909
	Lower Bound	9,5341
	Upper Bound	8,8306
	5% Trimmed Mean	8,9750
	Median	,206
	Variance	,45346
	Std. Deviation	8,15
	Minimum	9,15
	Maximum	1,00
	Range	,79
	Interquartile Range	-1,704
	Skewness	1,014
Kurtosis	2,619	
perlakuan33	Mean	9,0875
	95% Confidence Interval for Mean	8,0413
	Lower Bound	10,1337
	Upper Bound	9,1083
	5% Trimmed Mean	9,2750
	Median	,432
	Variance	,65749
	Std. Deviation	8,15
	Minimum	9,65
	Maximum	1,50
	Range	1,19
	Interquartile Range	-1,443
	Skewness	1,014
Kurtosis	2,235	
perlakuan44	Mean	9,0875
	95% Confidence Interval for Mean	8,0413
	Lower Bound	10,1337
	Upper Bound	9,1083
	5% Trimmed Mean	9,2750
	Median	,432
	Variance	,65749
	Std. Deviation	8,15
	Minimum	9,65
	Maximum	1,50
	Range	1,19
	Interquartile Range	-1,443
	Skewness	1,014
Kurtosis	2,235	

perlakuan44	Mean		9,1250	,26180
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8,2918	
		Upper Bound	9,9582	
	5% Trimmed Mean		9,1306	
	Median		9,1750	
	Variance		,274	
	Std. Deviation		,52361	
	Minimum		8,45	
	Maximum		9,70	
	Range		1,25	
	Interquartile Range		1,00	
	Skewness		-,522	1,014
	Kurtosis		,596	2,619

**Tests of Normality**

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
skor kontrol	,141	4	.	,997	4	,991
perlakuan11	,234	4	.	,946	4	,688
perlakuan22	,327	4	.	,822	4	,149
perlakuan33	,288	4	.	,887	4	,369
perlakuan44	,193	4	.	,986	4	,938

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

skor

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,823	4	15	,530

**Kruskal-Wallis Test**

**Ranks**

perlakuan	N	Mean Rank
skor kontrol	4	13,25
perlakuan11	4	6,38
perlakuan22	4	8,13
perlakuan33	4	12,63
perlakuan44	4	12,13
Total	20	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	skor
Chi-square	4,301
df	4
Asymp. Sig.	,367

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

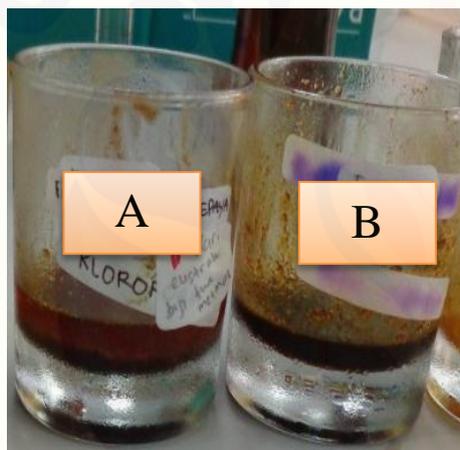
LAMPIRAN D. Gambar Penelitian



Biji Saga



Biji Pepaya



a. Fraksi Kloroform Biji Pepapaya  
b. Fraksi Metanol Biji Saga



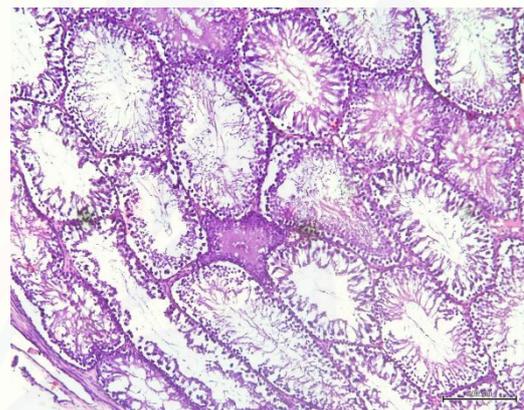
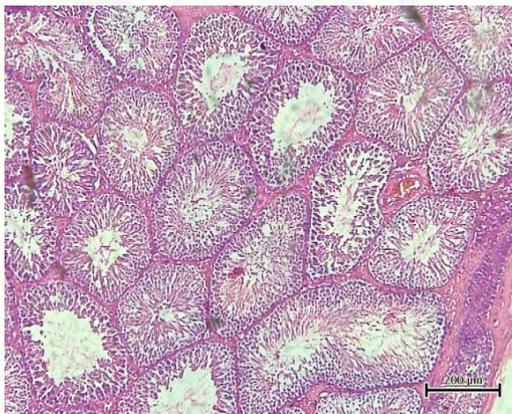
Proses Pembedahan Tikus



Proses Pengambilan Testis



Organ Reproduksi Testis Tikus Jantan



Gambaran histologi testis tikus perbesaran 100x