



**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI METANOL BIJI SAGA
(*Abrus precatorius* L.) DAN FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA
(*Carica papaya* L.) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS
SPERMATOZOA TIKUS JANTAN**

SKRIPSI

Oleh

Sekar Arum Puspitasari

NIM 112210101008

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015



**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI METANOL BIJI SAGA
(*Abrus precatorius* L.) DAN FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA
(*Carica papaya* L.) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS
SPERMATOZOA TIKUS JANTAN**

SKRIPSI

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

Oleh

Sekar Arum Puspitasari

NIM 112210101008

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah memberikan kesempatan untuk menuntut ilmu dan kekuatan lahir batin untuk menyelesaikan tahap ini beserta Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi syuri tauladan;
2. Papa Trubus Bintoro dan Mama Lilik Sekar Nurlika yang tercinta;
3. Kakakku tersayang, Sekar Ayu Pandansari;
4. Uti Siti Aminah (Almh.) yang telah merawatku dengan penuh kasih sayang;
5. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi atas ilmu pengetahuan dan bimbingan;
6. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.
(terjemahan Surat *Al-Mujadalah* ayat 11) ^{*)}

Maha Suci Engkau, tidak ada yang kami ketahui selain dari apa yang telah Engkau ajarkan kepada kami; sesungguhnya Engkaulah Yang Maha Mengetahui lagi Maha Bijaksana.
(terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 32) ^{*)}

... Tetapi boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu.
Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.
(terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 216) ^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: CV Penerbit Diponegoro.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Sekar Arum Puspitasari

NIM : 112210101008

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* L.) dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 11 Desember 2015

Yang menyatakan,

Sekar Arum Puspitasari

NIM 112210101008

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI METANOL BIJI SAGA
(*Abrus precatorius* L.) DAN FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA
(*Carica papaya* L.) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS
SPERMATOZOA TIKUS JANTAN**

Oleh

Sekar Arum Puspitasari

NIM 112210101008

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Diana Holiday, S.F., M.Farm.,

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* L.) dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 11 Desember 2015

Tempat : Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,



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

NIP 197305132005012001

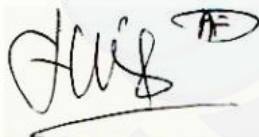
Dosen Pembimbing Anggota,



Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt.

NIP 197812212005012002

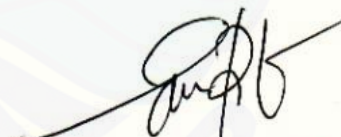
Dosen Penguji I,



Fifteen Aprila F., S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP 198204152006042002

Dosen Penguji II,



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

NIP 198403082008012003

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Ulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI METANOL BIJI SAGA (*Abrus precatorius* L.) DAN FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS JANTAN; Sekar Arum Puspitasari, 112210101008; 2015; 77 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk terpadat keempat di dunia. Laju pertumbuhan penduduk yang tidak diimbangi dengan peningkatan kualitas sumber daya manusia tentu akan menjadi masalah yang cukup mengkhawatirkan. Dalam rangka mengendalikan tingkat pertumbuhan penduduk, pemerintah Indonesia menggalakkan Program Keluarga Berencana (KB). Program KB hingga saat ini masih didominasi oleh wanita sedangkan pria belum banyak berpartisipasi karena jenis kontrasepsi pria yang tersedia masih memiliki beberapa keterbatasan yang tidak dapat diabaikan. Untuk itu perlu dikembangkan penelitian untuk menciptakan obat kontrasepsi yang berasal dari bahan alam.

Saga (*Abrus precatorius* L.) famili Fabaceae dan pepaya (*Carica papaya* L.) famili Caricaceae merupakan dua tanaman yang telah diteliti memiliki aktivitas antifertilitas. Fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB dan fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB masing-masing telah dilaporkan memiliki efek antifertilitas yang optimal namun juga dapat menimbulkan efek hepatotoksik. Untuk dapat meningkatkan aktivitas antifertilitas dan menurunkan efek samping dari penggunaan masing-masing fraksi secara tunggal, maka pada penelitian ini dilakukan kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya dengan dosis 75:100 mg/kgBB (kelompok P1), 50:100 mg/kgBB (kelompok P2), 75:50 mg/kgBB (kelompok P3), dan 50:50 mg/kgBB (kelompok P4). Kemudian dilakukan pengamatan terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa tikus jantan untuk mengetahui bagaimanakah pengaruh pemberian kombinasi kedua fraksi terhadap kuantitas dan

kualitas spermatozoa tikus jantan kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi CMC Na 1%.

Ekstraksi biji saga dan biji pepaya masing-masing dilakukan dengan metode remaserasi sebanyak tiga kali dengan menggunakan pelarut metanol, sedangkan fraksinasi biji saga dan biji pepaya masing-masing dilakukan dengan pelarut n-heksana, kloroform, dan metanol. Skrining alkaloid dilakukan melalui reaksi pengendapan menggunakan pereaksi Mayer dan Wagner serta KLT menggunakan penampak noda Dragendorf. Pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya pada 25 ekor tikus jantan yang telah dibagi ke dalam 5 kelompok berbeda masing-masing dilakukan secara per oral dengan frekuensi satu kali sehari selama 28 hari. Pada hari ke-29 dilakukan pembedahan untuk mengambil spermatozoa tikus jantan dari kauda epididimis. Pengamatan terhadap kuantitas dan kualitas (motilitas, viabilitas, dan morfologi) spermatozoa dilakukan sesuai dengan prosedur WHO 2010. Data selanjutnya dianalisis dengan uji *One-Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan (kelompok P1, P2, P3, dan P4) menunjukkan nilai rata-rata kuantitas dan kualitas spermatozoa tikus yang lebih rendah daripada kelompok kontrol (kelompok K). Hasil uji *Post Hoc* LSD kuantitas dan morfologi spermatozoa tikus menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada semua kelompok ($p < 0,05$). Hasil uji *Post Hoc* LSD motilitas spermatozoa tikus menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan dosis kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya 75:100 mg/kgBB, 50:100 mg/kgBB, dan 75:50 mg/kgBB ($p > 0,005$). Hasil uji *Post Hoc* LSD viabilitas spermatozoa tikus tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan dosis kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya 75:100 mg/kgBB dan 50:100 mg/kgBB.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus Precatorius* L.) Dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Papa Trubus Bintoro dan Mama Lilik Sekar Nurlika tercinta, terimakasih atas segala pengorbanan, dukungan, kasih sayang, dan doa yang tiada henti diberikan pada penulis hingga detik ini;
3. Kakakku Sekar Ayu Pandansari yang telah mendukung, mendoakan, dan memotivasi penulis selama ini;
4. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan kesempatan yang telah diberikan untuk menyelesaikan tugas akhir;
5. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam membimbing skripsi ini;
6. Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Ibu Ema Rachmawati S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji II yang telah memberi saran dan penilaian terhadap hasil skripsi;
7. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menempuh studi;

8. Mbak Indri, Mbak Dinik, Mbak Anggra, dan Bu Widhi, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya dengan baik di laboratorium selama penelitian;
9. Rekan skripsi “*Antifertility Group*” Ena, Rara, Vita dan Dyah atas kerjasama, dukungan dan semangat yang kalian berikan;
10. Sahabatku “*Rempong Group*” Ena, Fitriana, Husnul dan Yazida, atas kasih sayang, doa, serta bantuan yang diberikan;
11. Tim suksesku “*Teletubbies Crew*” Risti, Fitria, dan Dio, atas semangat, doa dan bantuannya selama ini;
12. Teman-teman UKM Karisma atas pengalaman organisasi yang berharga;
13. Keluarga besar ASMEF 2011 atas canda, tawa dan pengalaman selama kuliah ini;
14. Teman-teman KKN Kecamatan Wuluhan atas 45 hari yang sangat berarti;
15. Sahabat dekatku, Baskara Dwiki Wardana S.AB. yang selalu memberikan dukungan dan do’a untuk kesuksesan dan keberhasilanku;
16. Teman-teman “Kost Oma Noya” Mbak Elen, Mbak Ime, Vivi, Shinta, Intan, Iis, Winda, Vita, Sekli, dan Agi, atas keceriaan, bantuan, dan semangat yang diberikan;
17. Mama Iin dan Mbak Vita atas suntikan semangatnya;
18. “*Nano-nano members*” Sendi, Oren, Mbah Put, Yuniar, Zul, Nyingnying, dan Nikma atas keceriaan selama menempuh mata kuliah;
19. Dan kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuannya dalam menyelesaikan penelitian ini.

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

Hanya ucapan terimakasih yang dapat penulis sampaikan. Dan apabila ada saran dan kritik membangun yang ingin disampaikan, penulis akan sangat berterima kasih. Penulis harap penelitian ini bisa bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, 11 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

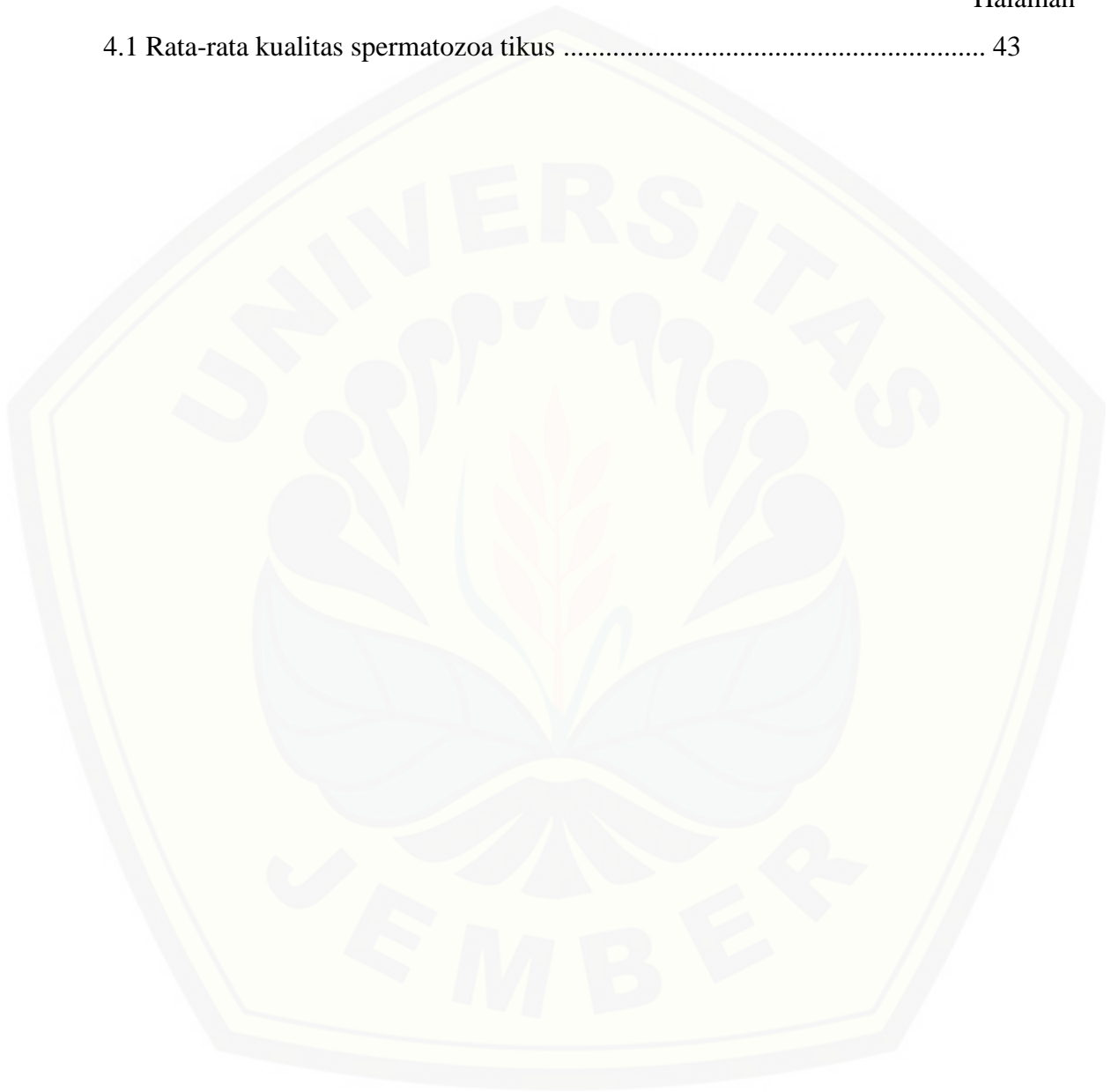
	Halaman
HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Saga	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Saga	6
2.1.2 Deskripsi Tanaman Saga	7
2.1.3 Manfaat Tanaman Saga	7
2.1.4 Kandungan Kimia dan Aktivitas Tanaman Saga	8
2.2 Tanaman Pepaya	8
2.2.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya	8

2.2.2 Deskripsi Tanaman Pepaya	9
2.2.3 Manfaat Tanaman Pepaya	10
2.2.4 Kandungan Kimia dan Aktivitas Tanaman Pepaya	10
2.3 Tinjauan tentang Fertilitas dan Infertilitas	11
2.4 Sistem Reproduksi Jantan	11
2.4.1 Organ Reproduksi Jantan	12
2.4.2 Hormon yang Berpengaruh pada Reproduksi Jantan.....	16
2.5 Spermatogenesis	16
2.6 Spermatozoa	20
2.6.1 Morfologi Spermatozoa	20
2.6.2 Motilitas Spermatozoa	22
2.6.3 Viabilitas Spermatozoa	23
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian	25
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.3 Rancangan Penelitian	25
3.4 Jumlah Sampel	27
3.5 Alat dan Bahan	27
3.5.1 Alat	27
3.5.2 Bahan	27
3.5.3 Subjek Uji	28
3.6 Variabel Penelitian	28
3.6.1 Variabel Bebas	28
3.6.2 Variabel Terikat	28
3.6.3 Variabel Terkendali	28
3.7 Definisi Operasional	28
3.8 Prosedur Penelitian	29
3.8.1 Pembuatan Fraksi Metanol Biji Saga	29
3.8.2 Pembuatan Fraksi Kloroform Biji Pepaya	30

3.8.3	Skринing Alkaloid	31
3.8.4	Pembuatan Mucilago CMC-Na 1%	31
3.8.5	Pembuatan Suspensi Uji	32
3.8.6	Perlakuan pada Hewan Coba	33
3.8.7	Pengukuran Kuantitas Spermatozoa	34
3.8.8	Pengukuran Kualitas Spermatozoa	34
3.9	Analisis Data	35
3.10	Skema Penelitian	37
3.10.1	Skema Fraksinasi Biji Saga	37
3.10.2	Skema Fraksinasi Biji Pepaya	38
3.10.3	Skema Pengujian Antifertilitas	39
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1	Kuantitas Spermatozoa	40
4.2	Kualitas Spermatozoa	43
4.2.1	Motilitas Spermatozoa	43
4.2.2	Viabilitas Spermatozoa	45
4.2.3	Morfologi Spermatozoa	46
BAB 5.	PENUTUP	50
5.1	Kesimpulan	50
5.2	Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata-rata kualitas spermatozoa tikus	43



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Biji saga (<i>Abrus precatorius</i> L.)	6
2.2 Buah dan biji pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	9
2.3 Testis	14
2.4 Sistem reproduksi pria	15
2.5 Spermiogenesis	18
2.6 Spermatogenesis	19
2.7 Spermatozoa manusia	21
2.8 Skema abnormalitas morfologi sperma	22
3.1 Skema rancangan penelitian	26
3.2 Skema fraksinasi biji saga	37
3.3 Skema fraksinasi biji pepaya	38
3.4 Skema pengujian antifertilitas	39
4.1 Grafik kuantitas spermatozoa tikus	41
4.2 Spermatozoa hidup dan spermatozoa mati	45
4.3 Morfologi spermatozoa tikus	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi	56
A.1 Ekstrak Metanol Biji Saga	56
A.2 Ekstrak Metanol Biji Pepaya	56
A.3 Fraksi Metanol Biji Saga	56
A.4 Fraksi Kloroform Biji Pepaya	56
B. Perhitungan Volume dan Dosis Pemberian Sediaan Uji	58
B.1 Suspensi Kontrol	58
B.2 Dosis Suspensi Uji Kelompok Perlakuan 1	58
B.3 Dosis Suspensi Uji Kelompok Perlakuan 2	58
B.4 Dosis Suspensi Uji Kelompok Perlakuan 3	59
B.5 Dosis Suspensi Uji Kelompok Perlakuan 4	60
C. Data Hasil Pengamatan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa	61
C.1 Data Kuantitas Spermatozoa	61
C.2 Data Motilitas Spermatozoa	61
C.3 Data Viabilitas Spermatozoa	62
C.4 Data Morfologi Spermatozoa	62
D. Hasil Uji Statistik	63
D.1 Uji Parameter Kuantitas Spermatozoa	63
D.2 Uji Parameter Motilitas Spermatozoa	65
D.3 Uji Parameter Viabilitas Spermatozoa	67
D.4 Uji Parameter Morfologi Spermatozoa	70
E. Dokumentasi Penelitian	73

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk terpadat keempat di dunia setelah China, India, dan Amerika Serikat. Laju pertumbuhan penduduk di Indonesia yaitu sebesar 1,49% per tahun. Apabila jumlah penduduk Indonesia saat ini sebesar 240 juta jiwa, maka jumlah kelahiran bayi diperkirakan akan mencapai 10.000 bayi per harinya. Laju pertumbuhan penduduk yang tidak diimbangi dengan peningkatan kualitas sumber daya manusia tentu akan menjadi masalah yang cukup mengkhawatirkan. Permasalahan peningkatan jumlah penduduk harus diatasi karena dapat mempengaruhi tingkat kesejahteraan penduduk (BKKBN, 2013).

Upaya yang dilakukan Pemerintah Indonesia dalam mengendalikan tingkat pertumbuhan penduduk di Indonesia adalah dengan menggalakkan program Keluarga Berencana (KB) (Satriyasa dan Pangkahila, 2010). Keluarga Berencana (KB) adalah upaya peningkatan kepedulian dan peran serta masyarakat melalui pendewasaan usia perkawinan, pengaturan kelahiran, pembinaan ketahanan keluarga, peningkatan kesejahteraan keluarga, serta untuk mewujudkan keluarga kecil, bahagia, dan sejahtera. Program KB bertujuan untuk mengendalikan angka kelahiran yang pada akhirnya dapat meningkatkan kualitas penduduk dan mewujudkan keluarga-keluarga kecil yang berkualitas (Oktaviani, 2008). Menurut Satriyasa dan Pangkahila (2010), program KB harus dilakukan oleh semua pihak baik pria maupun wanita. Namun pada kenyataannya, program KB masih didominasi oleh wanita sedangkan pria belum banyak berpartisipasi. Salah satu alasan rendahnya partisipasi pria dalam KB karena jenis kontrasepsi pria yang tersedia sangat terbatas. Metode kontrasepsi pria hingga saat ini masih terbatas pada penggunaan kondom, vasektomi, pantang berkala, dan senggama terputus. Keempat metode kontrasepsi tersebut masih memiliki beberapa

keterbatasan yang tidak dapat diabaikan. Penggunaan kondom secara psikologis menyebabkan ketidaknyamanan dalam melakukan hubungan seksual, bahan karet kondom dapat menimbulkan alergi, kondom hanya dapat digunakan satu kali saja, dan kondom yang kedaluarsa mudah sobek dan bocor. Vasektomi dapat menimbulkan terjadinya komplikasi, seperti pendarahan, nyeri, dan infeksi. Pada individu yang memiliki gangguan psikologis dalam hubungan seksual, vasektomi menyebabkan gangguan tersebut menjadi semakin memburuk. Pantang berkala tidak cocok untuk pasangan yang memiliki siklus menstruasi yang tidak teratur. Senggama terputus memiliki resiko kegagalan yang tinggi karena kemungkinan ada sedikit cairan mengandung sperma yang tumpah dari zakar dan masuk ke dalam vagina, sehingga dapat memicu terjadinya kehamilan. Secara psikologis senggama terputus juga dapat mengurangi kenikmatan dalam melakukan hubungan seksual (Ekarini, 2008).

Mengingat masih adanya kekurangan pada berbagai metode kontrasepsi tersebut, maka perlu dikembangkan penelitian untuk menciptakan obat kontrasepsi pria yang berasal dari bahan alam karena Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam. Obat kontrasepsi pria yang ideal harus memenuhi beberapa syarat, yaitu mudah digunakan, tidak menimbulkan efek samping dan efek toksik, tidak mengganggu libido maupun perilaku seksual, dan bersifat *reversible* (Satriyasa dan Pangkahila, 2010).

Saga (*Abrus precatorius* L.) famili Fabaceae dan pepaya (*Carica papaya* L.) famili Caricaceae merupakan tanaman yang telah diteliti memiliki aktivitas sebagai agen antifertilitas (Priya, 2012). Menurut Jahan *et al.* (2009), biji saga dapat menyebabkan penurunan kuantitas (jumlah) spermatid dalam testis sehingga jumlah sperma yang diproduksi akan berkurang. Selain itu, biji saga juga dapat menurunkan kualitas sperma yang terdiri dari morfologi, motilitas (pergerakan) dan viabilitas (daya hidup) sperma (Bhatt *et al.*, 2007). Biji saga telah diketahui memiliki kandungan abrin. Abrin akan menginaktivasi rRNA pada sel sertoli dan sel leydig sehingga dapat menghambat sintesis protein sel sertoli dan sel leydig atau abrin akan

berinteraksi secara langsung dengan membran mitokondria spermatid sehingga menyebabkan apoptosis pada spermatid (Jahan *et al.*, 2009). Hal ini menyebabkan proses spermatogenesis menjadi terhambat dan jumlah spermatozoa yang diproduksi menjadi berkurang.

Ekstrak kloroform biji pepaya dapat menurunkan jumlah dan viabilitas sperma, meningkatkan abnormalitas morfologi sperma, serta menghambat motilitas spermatozoa di dalam kauda epididimis pada tikus atau kelinci (Lohiya *et al.*, 2002; Lohiya *et al.*, 2005). Salah satu senyawa yang terkandung di dalam biji pepaya adalah alkaloid (Sukadana *et al.*, 2008). Alkaloid bekerja secara tidak langsung pada hipofisis anterior untuk menghambat sekresi hormon gonadotropin, yaitu *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). Kedua hormon ini secara tidak langsung berperan pada proses spermatogenesis (Udoh *et al.*, 2005; Satriyasa dan Pangkahila, 2010). Terhambatnya sekresi hormon gonadotropin akan menyebabkan penurunan produksi sperma.

Muslichah dan Wiratmo (2014) melaporkan bahwa fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB dan fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB mampu memberikan efek antifertilitas optimal yang ditandai dengan adanya penurunan kuantitas dan kualitas sperma tikus. Talukder *et al.* (2012) melaporkan bahwa fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB dan 75 mg/kgBB dapat menyebabkan penurunan terhadap jumlah spermatozoa dan kadar testosteron pada tikus. Pemberian fraksi metanol biji saga secara tunggal selama 20 hari pada tikus ternyata dapat memberikan efek hepatotoksik (Muslichah dan Wiratmo, 2014). Tujuan dilakukan kombinasi ini adalah untuk meningkatkan aktivitas antifertilitas dan menurunkan efek samping dari penggunaan fraksi metanol biji saga secara tunggal (Ebong *et al.*, 2008). Atas dasar data tersebut, maka dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa tikus putih jantan galur Wistar. Dosis kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya yang digunakan pada penelitian ini meliputi 75:100 mg/kgBB, 50:100 mg/kgBB, 75:50 mg/kgBB, dan 50:50 mg/kgBB. Parameter

yang digunakan untuk melihat efek antifertilitas dari kombinasi ini adalah kuantitas dan kualitas spermatozoa. Kualitas sperma terbagi atas morfologi, motilitas, dan viabilitas spermatozoa.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* L.) dan fraksi kloroform biji pepaya (*Carica papaya* L.) dapat menurunkan kuantitas dan kualitas spermatozoa tikus jantan kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol?
2. Manakah dosis kombinasi fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* L.) dan fraksi kloroform biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang memiliki aktivitas antifertilitas yang paling baik pada tikus jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* L.) dan fraksi kloroform biji pepaya (*Carica papaya* L.) dalam menurunkan kuantitas dan kualitas spermatozoa tikus jantan kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Mengetahui dosis kombinasi fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* L.) dan fraksi kloroform biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang memiliki aktivitas antifertilitas paling baik pada tikus jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat tentang pemanfaatan biji saga (*Abrus precatorius* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.).
2. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi tentang potensi kombinasi biji saga (*Abrus precatorius* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai bahan kontrasepsi pria.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Saga

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Saga

Klasifikasi tanaman saga (*Abrus precatorius* L.) menurut *United States Department of Agriculture* (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliophyta
Orde	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: <i>Abrus</i>
Spesies	: <i>Abrus precatorius</i> L.



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

2.1.2 Deskripsi Tanaman Saga

Abrus precatorius memiliki nama umum saga atau saga manis (BPOM, 2008). Saga merupakan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini umumnya tumbuh di hutan di daerah beriklim tropis dan subtropis (Abu *et al.*, 2012). Habitus tanaman saga berupa perdu merambat, membelit dengan panjang 6-9 m. Batang bulat, berkayu, percabangan simpodial, berwarna hijau apabila masih muda dan akan berwarna hijau kecoklatan setelah tua. 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 ± 1 cm, berwarna putih, warna kepala sari kuning, tajuk bunga bersayap, berkuku pendek, lebar ± 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.* (2012) melaporkan bahwa seluruh bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan melalui berbagai cara. Tanaman saga dapat digunakan sebagai obat sakit kepala, antidot, konjungtivitis, kontrasepsi, kejang, batuk, diare, diuretik, muntah, demam, gastritis, radang gusi, dan gonore. Biji saga dimanfaatkan sebagai pengobatan infeksi mata dan kontrasepsi yang potensial (Jahan *et al.*, 2009). Biji keringnya dapat digunakan untuk mengobati infeksi cacing (Shourie dan Kalra, 2013). Daun tanaman saga dapat digunakan sebagai pencahar, ekspektoran, pertumbuhan rambut, dan afrodisiak. Akarnya dimanfaatkan untuk pengobatan kolik akut, demam, dan diare (Sandhya *et al.*, 2012).

2.1.4 Kandungan Kimia dan Aktivitas Tanaman Saga

Biji saga mengandung alkaloid, *fixed oil*, steroid, lektin, flavonoid, dan antosianin. Kandungan minyak pada biji saga hanya sebesar 2,5% dan kaya akan asam oleat dan asam linoleat. Alkaloid yang terkandung di dalam biji saga meliputi abrin, *hypaphorin*, kolin, dan *precatorin*. Steroid yang terkandung di dalam biji saga meliputi α -sitosterol, stigmasterol, *5 α -cholanolic acid*, *abricin* dan kolesterol. Warna yang terbentuk pada biji saga dikarenakan adanya kandungan glikosida, yang terdiri atas abranin, pelargonidin, *cyaniding*, dan *delphinidin*. Konstituen utama dari biji saga adalah abrin (Abu *et al.*, 2012).

Ekstrak metanol biji saga menunjukkan adanya efek kontrasepsi pada tikus jantan dewasa dan efek antimotilitas pada spermatozoa manusia (Abu *et al.*, 2012). Ekstrak metanol biji saga dilaporkan mengandung tanin, alkaloid, dan glikosida (Shourie dan Kalra, 2013). Dalam studi *in vitro*, alkaloid abrin yang berhasil diisolasi dari biji saga menunjukkan adanya aktivitas antifertilitas (Abu *et al.*, 2012). Menurut Jahan *et al.* (2009), Abrin akan menginaktivasi rRNA pada sel sertoli dan sel leydig sehingga akan menghambat sintesis protein sel sertoli dan sel leydig atau abrin akan berinteraksi secara langsung dengan membran mitokondria spermatid sehingga menyebabkan proses spermatogenesis menjadi terhambat.

2.2 Tanaman Pepaya

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya

Klasifikasi tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) menurut *United States Department of Agriculture* (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Orde	: Violales
Famili	: Caricaceae

Genus : *Carica*
Spesies : *Carica papaya* L.



Gambar 2.2 Buah dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) (BPOM, 2008)

2.2.2 Deskripsi Tanaman Pepaya

Carica papaya memiliki nama umum pepaya (BPOM, 2008). 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 15-35⁰C. Tersebar di daerah tropis dan subtropis, seperti: Indonesia, India, Malaysia, Filipina, Amerika Selatan, Afrika Selatan, dan Hawaii (BPOM, 2010).

Habitus tanaman pepaya 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. Bentuk biji bulat panjang, kecil dan bagian luarnya dibungkus selaput yang berisi cairan dengan warna putih bila masih muda dan hitam bila sudah tua. Akar tunggang, bercabang dan berwarna putih kekuningan (BPOM, 2008).

2.2.3 Manfaat Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya dapat dimanfaatkan dalam kehidupan manusia, mulai dari daun sampai akarnya. Biji pepaya banyak dimanfaatkan sebagai antihelmintik, peluruh haid, karminatif, gangguan pencernaan, abortivum, penyakit kulit serta pembesaran hati dan limfa (Siburian *et al.*, 2012). Selain itu, biji pepaya juga dapat dimanfaatkan untuk kontasepsi. Ekstrak kloroform biji pepaya dapat menurunkan jumlah dan viabilitas sperma, meningkatkan abnormalitas morfologi sperma, serta menghambat motilitas spermatozoa di dalam kauda epididimis pada tikus atau kelinci (Lohiya *et al.*, 2002; Lohiya *et al.*, 2005).

2.2.4 Kandungan Kimia dan Aktivitas Tanaman Pepaya

Kandungan kimia pada tanaman ini adalah papain, karpain, pseudokarpain, nikotin, kontinin, miosmin, glikosida karposida, kriptoksantin 6,7-epoksilinalol, sitrat, malat, α -glutarat, tartarat, asam askorbat dan asam galakturonat, bensilglukosinolat, bensil isotiosianat, fenilasetonitril, avenasterol, asam 5-dehidrokafeat, karoten, sikloartenol, kimopapain A dan B, proteinase A dan B, peptidase A, lisozim, khitotransferase, glikosidase kalase, pektinesterase, lipase, fosfatase, siklologase, prunasin (glikosida sianogenat), saponin dan fisin. Daun pepaya mengandung alkaloid poliketida, karpain, pseudokarpain, glukosinolat, prunasin, saponin dan fisin. Akarnya dilaporkan mengandung kimopapain, papain, fitokinase, asam malat, kalsium maleat, karpain serta glikosida sianogenik (BPOM, 2010). Biji

pepaya mengandung senyawa kimia golongan fenol, alkaloid, dan saponin (Sukadana *et al.*, 2008). Alkaloid bekerja secara tidak langsung pada hipofisis anterior untuk menghambat sekresi hormon gonadotropin, yaitu *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). Kedua hormon ini secara tidak langsung berperan pada proses spermatogenesis (Udoh *et al.*, 2005; Satriyasa dan Pangkahila, 2010).

2.3 Tinjauan tentang Fertilitas dan Infertilitas

Fertilitas adalah kemampuan untuk menghasilkan individu baru, yang berarti kemampuan betina (wanita) untuk hamil. Pada wanita, fertilitas tertinggi terjadi pada usia 20-39 tahun dan pada pria antara 24-35 tahun dengan kesehatan dan mental dalam kondisi optimal. Keadaan fertilitas berhubungan erat juga dengan kemampuan pasangan yakni pria sebagai bagian dari kesatuan biologis, fertilitas, dan berbagai hal yang mempengaruhi kedua belah pihak (Mary, 1995).

Infertilitas adalah suatu keadaan tidak fertil atau tidak subur yaitu hilangnya kemampuan mamalia dalam menghasilkan keturunan. Bahan yang dapat menghambat proses fertilisasi dengan cara kontrasepsi atau abortivum disebut dengan antifertilitas (Mary, 1995).

2.4 Sistem Reproduksi Jantan

2.4.1 Organ Reproduksi Jantan

Sistem reproduksi pria terdiri atas testis, saluran kelamin, kelenjar tambahan, dan penis (Mescher, 2011).

a. Testis

Testis adalah bangunan berbentuk lonjong atau mirip buah kenari, yang merupakan kelenjar tubular kompleks (Bajpai, 1989). Testis berfungsi pada produksi hormon dan spermatozoa (Mescher, 2011). Panjang testis sekitar 4 cm sampai 5 cm (1,5 inci sampai 2 inci) dengan diameter 2,5 cm (1 inci) (Sloane, 2003). Setiap testis

dibungkus oleh simpai jaringan ikat padat kolagen yang tersusun atas tiga lapisan, yaitu lapisan terluar yang disebut tunika vaginalis, lapisan tengah yang disebut tunika albuginea dan lapisan dalam yang disebut tunika vaskulosa (Bajpai, 1989). Tunika vaginalis adalah selapis sel mesotel gepeng. Lapisan ini terletak di atas lamina basal yang memisahkan dari lapisan tengah (Sloane, 2003). Tunika ini terdiri atas lapisan parietal di bagian luar dan lapisan viseral di bagian dalam, yang membungkus tunika albuginea pada sisi anterior dan lateral testis (Mescher, 2011). Tunika vaskulosa merupakan lapisan jaringan ikat longgar dengan banyak pembuluh darah (Bajpai, 1989).

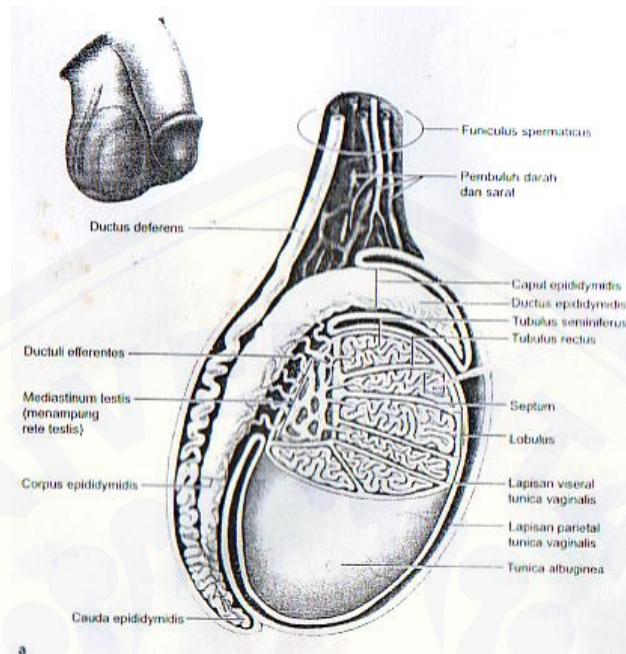
Tunika albuginea terdiri atas jaringan ikat padat fibrosa dan serat-serat otot polos (Bajpai, 1989). Tunika ini menebal pada permukaan posterior testis dan membentuk mediastinum testis (Mescher, 2011). Sekat-sekat fibrosa yang tipis menyebar dari mediastinum testis ke arah simpai testis dan membagi permukaan dalam testis menjadi kurang lebih 250 lobulus testis. Setiap lobulus terdiri dari satu sampai empat tubulus seminiferus yang sangat berkelok-kelok (Tambajong, 1995). Tubulus seminiferus berfungsi untuk menghasilkan sel reproduksi pria, yaitu spermatozoa (Mescher, 2011).

Jumlah seluruh tubulus yang terdapat di dalam satu testis berkisar antara 400 sampai 600, masing-masing dengan panjang 70 sampai 80 cm dan garis tengah 0,1 sampai 0,3 mm. Tubulus seminiferus ditunjang oleh jaringan ikat longgar yang banyak mengandung sel interstisial (sel leydig) (Bajpai, 1989). Sel leydig berfungsi untuk mensekresikan testosteron ke dalam aliran darah (Ganong, 1995). Setiap tubulus seminiferus mempunyai suatu membran basal, yang terdiri atas jaringan ikat dengan banyak serat elastin. Pada bagian luar membran basal terdapat selapis sel epiteloid gepeng. Pada bagian dalam membran basal terdapat epitel germinal atau epitel seminiferus. Epitel ini terdiri atas dua jenis sel, yaitu sel penyokong (sel sertoli) dan sel spermatogenik (Bajpai, 1989).

Sel sertoli memiliki ukuran yang besar dan memenuhi semua tempat pada epitel seminiferus. Perkembangan sperma terjadi di dalam saluran yang terletak di

antara sel-sel sertoli. Keseluruhan proses spermatogenesis terjadi di dalam saluran ini (Guyton, 2006). Menurut Guyton (2006), fungsi khusus sel sertoli dalam proses spermatogenesis adalah:

- 1) Sel sertoli memberikan lingkungan khusus tempat berkembangnya sel-sel germinal. Sel sertoli mensekresi cairan yang membasahi sel-sel germinal dan bahkan mensekresi cairan tambahan ke dalam lumen tubulus seminiferus untuk menyediakan nutrisi bagi sperma yang berkembang dan yang baru dibentuk.
- 2) Sel sertoli memainkan peranan penting dalam perubahan spermatid menjadi sperma, suatu proses yang disebut spermiogenesis. Selama spermiogenesis, spermatid terlihat benar-benar melekat pada sel-sel sertoli dan kemungkinan mencerna enzim dari sel-sel sertoli yang menghilangkan sebagian besar sitoplasma dari spermatid.
- 3) Sel sertoli mensekresi beberapa hormon yang memiliki fungsi penting, seperti: faktor inhibisi muller (FIM), disekresi oleh testis pria selama perkembangan janin untuk menghambat pembentukan tuba fallopii dari duktus muller pada janin pria; estradiol, hormon kelamin feminin yang juga diperlukan pada proses spermatogenesis; inhibin, yang merupakan umpan balik dari efek inhibisi pada kelenjar hipofisis anterior untuk mencegah sekresi yang berlebihan dari hormon perangsang folikel.



Gambar 2.3 Testis (Mescher, 2011)

b. Kelenjar tambahan

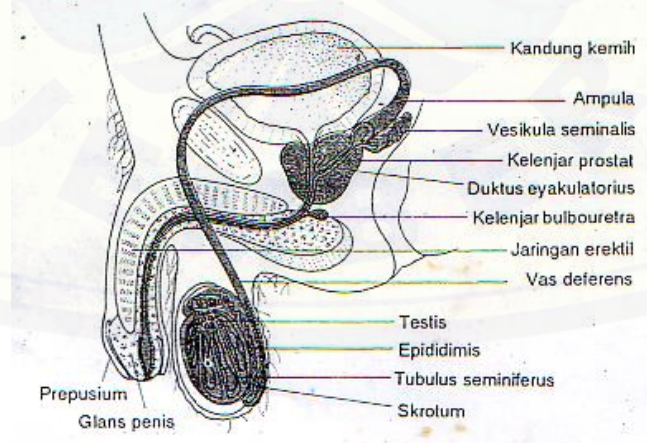
Kelenjar tambahan saluran reproduksi pria menghasilkan sekret yang ditambahkan ke dalam sperma selama ejakulasi untuk menghasilkan semen dan penting untuk reproduksi. Kelenjar genital tambahan meliputi vesikula seminalis, kelenjar prostat, dan kelenjar bulbouretra. Vesikula seminalis merupakan kelenjar eksokrin yang memproduksi sekret kental kekuningan yang mengandung fruktosa, sitrat, inositol, prostaglandin, fibrinogen serta enzim, dan protein lain (Mescher, 2011). Vesikula seminalis terdiri atas tiga lapisan. Pertama, lapisan areolar luar yang memiliki beberapa pembuluh darah kecil. Kedua, lapisan muskular tengah yang tersusun atas dua lapisan, yaitu lapisan longitudinal luar dan lapisan sirkular dalam. Ketiga, lapisan mukosa dalam yang menghasilkan sekret pembentuk sebagian besar cairan semen (Bajpai, 1989).

Kelenjar prostat merupakan suatu organ padat yang mengelilingi uretra di bawah kandung kemih. Kelenjar ini berukuran sekitar 2 cm x 3 cm x 4 cm dan

memiliki berat sekitar 20 g. Kelenjar prostat dapat menghasilkan getah yang mengandung berbagai glikoprotein dan enzim, dimana getah ini nantinya akan dikeluarkan selama ejakulasi. Kelenjar bulbouretra memiliki diameter 3-5 mm, terletak pada diafragma urogenital dan bermuara ke dalam bagian proksimal uretra penis. Selama ereksi, kelenjar ini dan sejumlah kelenjar uretra lainnya yang serupa melepaskan sekret jernih yang menyerupai mukus dan mengandung berbagai karbohidrat yang menyelubungi dan melumasi lapisan uretra (Mescher, 2011).

c. Penis

Penis terdiri atas tiga massa jaringan erektil berbentuk silinder. Dua diantaranya adalah korpora kavernosa dan korpus spongiosum. Ketiga badan silinder ini dibungkus oleh fasia yang terdiri atas jaringan ikat longgar dengan banyak serat elastin. Di atasnya, melekat kulit dengan longgar. Setiap korpora kavernosa dikelilingi oleh suatu simpai padat (tunika albuginea) yang terdiri atas serat kolagen (Bajpai, 1989). Korpus spongiosum mengelilingi uretra dan melebar di bagian ujung membentuk glans penis. Korpora kavernosa dan korpus spongiosum terdiri atas jaringan erektil, yang mengandung sejumlah besar ruang kavernosa bervena yang dilapisi sel-sel endotel dan dipisahkan oleh trabekula yang terdiri atas serat jaringan ikat dan sel otot polos (Mescher, 2011).



Gambar 2.4 Sistem reproduksi pria (Guyton, 2006)

2.4.2 Hormon yang Berpengaruh pada Sistem Reproduksi Jantan

Hormon-hormon yang berperan penting dalam proses spermatogenesis menurut Guyton (2006) adalah sebagai berikut:

- a. Testosteron, disekresi oleh sel-sel leydig yang terletak di interstisium testis. Hormon ini berperan dalam pembelahan sel-sel germinal untuk membentuk sperma. Hormon ini sangat penting terutama pada pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder.
- b. *Luteinizing hormone* (LH), disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior. Hormon ini berfungsi untuk menstimulasi sel-sel leydig untuk mensekresi testosteron.
- c. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), disekresi oleh sel-sel kelenjar hipofisis anterior. Hormon ini berfungsi untuk menstimulasi sel-sel sertoli. Tanpa adanya stimulasi ini, maka proses perubahan spermatid menjadi sperma (proses spermiogenesis) tidak akan terjadi.
- d. Estrogen, dibentuk oleh sel-sel sertoli ketika FSH menstimulasi sel sertoli. Hormon ini kemungkinan berperan dalam proses spermiogenesis. Sel-sel sertoli juga mensekresi suatu protein pengikat-androgen yang berfungsi untuk mengikat testosteron dan estrogen lalu membawa keduanya ke dalam cairan pada tubulus seminiferus.
- e. Hormon pertumbuhan, diperlukan untuk mengatur fungsi metabolisme testis. Hormon pertumbuhan secara khusus dapat meningkatkan pembelahan awal spermatogenesis. Tanpa adanya hormon ini, spermatogenesis akan sangat kurang atau bahkan tidak ada sama sekali.

2.5 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses kompleks yang melibatkan pembelahan sel mitosis, meiosis dan proses spermiogenesis (De Kretser, 1998). Spermatogenesis terjadi secara berkala di semua tubulus seminiferus selama kehidupan seksual aktif (Guyton, 2006 dan Yatim, 1996). Spermatogenesis dimulai saat pubertas dengan sel

benih primitif, yaitu spermatogonium. Spermatogonium merupakan sel bulat kecil dengan diameter sekitar 12 μm (Mescher, 2011). Ciri dari sel ini adalah memiliki inti vesikular dengan selaput atau membran inti yang jelas. Sel ini berada pada membran basal epitel tubulus seminiferus (Bajpai, 1989).

Menurut Yatim (1996), proses spermatogenesis terdiri atas 4 tahap yaitu spermatositogenesis, meiosis I, meiosis II, dan spermiogenesis.

a. Spermatositogenesis

Spermatositogenesis merupakan fase pertama dari proses spermatogenesis yang meliputi perkembangan awal sel spermatogonium secara mitosis sampai terbentuk spermatosit primer. Spermatogonium yang ada di tubulus seminiferus terdiri dari dua tipe, yakni spermatogonium tipe A (sel induk) dan hasil diferensiasinya, spermatogonium tipe B. Spermatogonium tipe B ini akan mengalami mitosis berkali-kali sampai menjadi spermatosit primer yang memiliki 46 kromosom (Junquera *et al.*, 2007).

b. Meiosis I dan II

Meiosis I adalah perubahan spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder yang ukurannya lebih kecil. Pembelahan meiosis mengakibatkan 23 kromosom (22 autosom ditambah 1 kromosom seks X atau Y) masuk ke dalam setiap sel anakan yaitu spermatosit sekunder. Kedua spermatosit sekunder kemudian membelah diri secara meiosis menjadi 4 sel spermatid dan tahap ini disebut tahap meiosis II (Tambajong, 1995).

c. 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 μm) dan intinya dengan daerah kromatin padat. Letak spermatid di dalam tubulus seminiferus yaitu di dekat lumen (Junquera, 2007). Ketika spermatid dibentuk untuk yang pertama kalinya, spermatid tetap memiliki sifat-sifat lazim dari sel epiteloid, tetapi spermatid tersebut segera berdiferensiasi menjadi spermatozoa (Guyton dan John, 2007).

Menurut Mescher (2011), spermiogenesis dibagi menjadi tiga fase:

1) Fase golgi

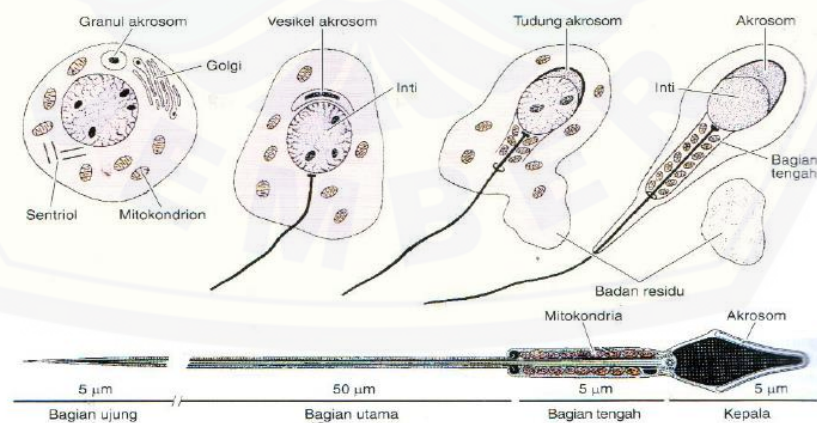
Granul proakrosom berkumpul di kompleks golgi membentuk satu granul akrosom yang terdapat pada vesikel akrosom. Sentiol bermigrasi ke posisi di dekat permukaan sel dan berhadapan dengan akrosom yang sedang terbentuk (Junqueira, 2007).

2) 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 sentiol yang tumbuh secara bersama-sama. Mitokondria berkumpul disekitar bagian proksimal flagelum dan membentuk bagian tebal yang dikenal sebagai bagian tengah, yang tempat bangkitnya pergerakan spermatozoa (Junqueira, 2007).

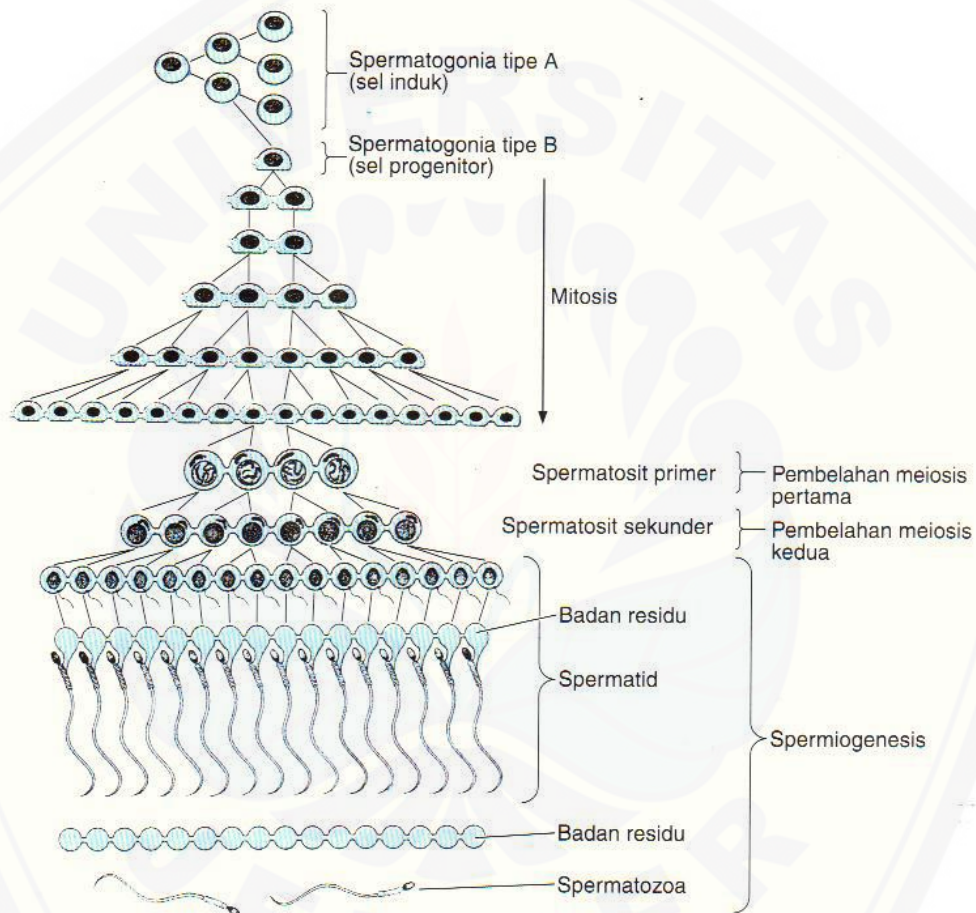
3) Fase maturasi

Selama fase ini, sitoplasma yang tidak diperlukan dibuang sebagai suatu badan residu dari setiap spermatozoa dan difagositosis oleh sel sertoli. Spermatozoa matang lalu dilepaskan ke dalam lumen tubulus (Mescher, 2011).



Gambar 2.5 Spermiogenesis (Junqueira, 2007)

Setiap siklus dari spermatogenik pada tikus terjadi selama 9-12 hari, sedangkan total durasi spermatogenesis pada tikus selama 40-54 hari (Hess dan de Franca, 2009). Pada manusia setiap siklus spermatogenik terjadi selama 22 hari (Mescher, 2011), sedangkan total durasi spermatogenesis selama 70 hari (Hess dan de Franca, 2009).



Gambar 2.6 Spermatogenesis (Mescher, 2011)

2.6 Spermatozoa

2.6.1 Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa memiliki ukuran yang jauh lebih kecil daripada ovum (sel telur). Spermatozoa merupakan sel berflagela yang terdiri atas kepala (di bagian anterior), badan (*middle piece*) dan ekor (Bajpai, 1989).

a. Kepala spermatozoa

Kepala spermatozoa berbentuk lonjong atau piriform pada manusia, agak gepeng pada ujungnya. Panjangnya 4 μm dan lebar 3 μm pada bagian yang paling lebar (Bajpai, 1989). Bagian ini terdiri atas sel berinti tebal dengan sedikit sitoplasma dan lapisan membran sel di sekitar permukaannya. Diluar duapertiga anterior kepala terdapat selubung tebal (akrosom) yang dibentuk dari alat Golgi. Selubung ini mengandung sejumlah enzim yang serupa dengan enzim yang ditemukan pada lisosom dari sel-sel khusus, termasuk hialuronidase dan enzim proteolitik. Enzim hialuronidase merupakan enzim yang dapat mencerna filament proteoglikans dari jaringan. Enzim proteolitik merupakan enzim yang sangat kuat dan dapat mencerna protein. Kedua enzim ini kemungkinan memiliki peranan penting sehingga memungkinkan sperma untuk membuahi ovum (Guyton, 2006).

Di antara bagian kepala dan badan terdapat bagian yang menyempit, yang disebut bagian leher dengan panjang 0,3 μm . Pada sumbu tengahnya/pusatnya dekat suatu lekukan dangkal pada basis inti terdapat suatu sentriol proksimal. Terdapat sentriol distal berbentuk corong yang disebut badan basal, dan dari sini meluas kompleks filament aksial ke dalam bagian badan (Bajpai, 1989).

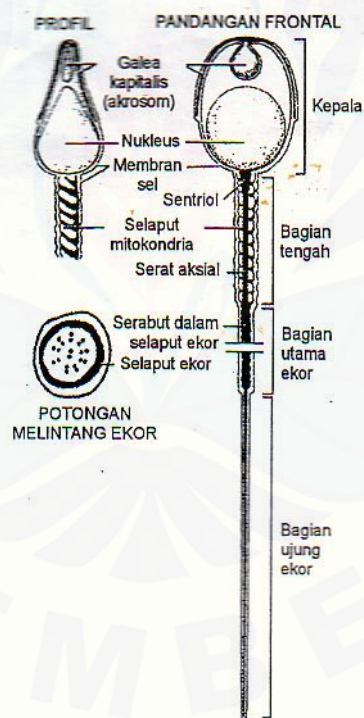
b. Badan spermatozoa

Badan spermatozoa berupa silinder berdiameter 1 μm dan panjang 7 μm . Bagian ini terdiri atas berkas fibril aksial yang dikelilingi selubung mitokondria, dengan mitokondria yang tersusun berpilin. Berkas fibril ini dibungkus sitoplasma dan membran plasma. Kompleks berkas aksial ini terdiri atas sepasang fibril di pusat dan dikelilingi sembilan pasang fibril yang lebih halus. Pada bagian luar fibril halus terdapat lingkaran-lingkaran fibril kasar. Susunan seperti ini terdapat pada semua silia

dan flagella yang dapat bergerak, baik pada hewan maupun pada tanaman. Pilinan mitokondria membentuk sepuluh sampai empat belas kelokan. Pada ujung kandal, tepat sebelum bagian ekor, terdapat cincin kedap elektron yang disebut anulus (Bajpai, 1989).

c. Ekor spermatozoa

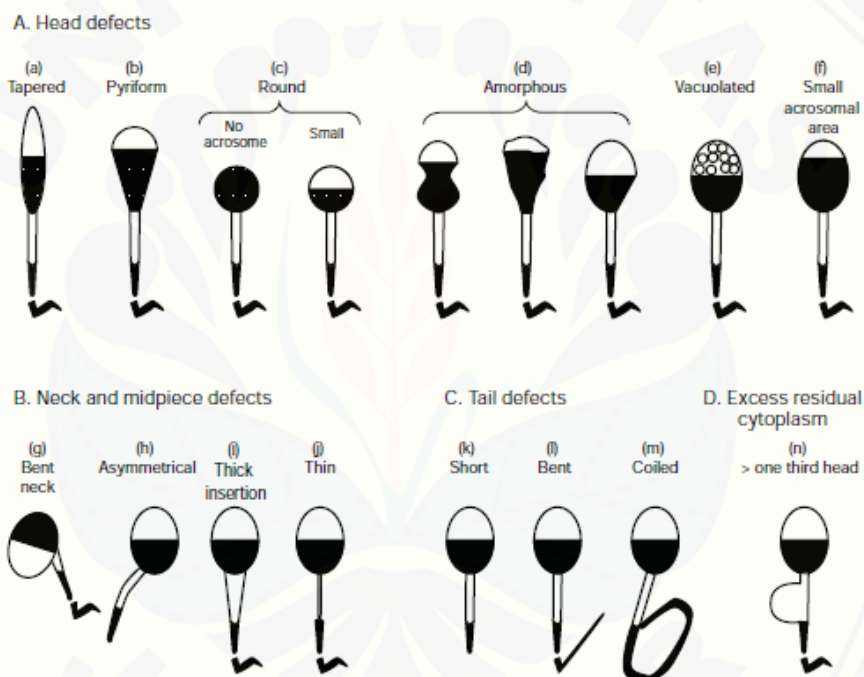
Ekor spermatozoa dapat bergerak, memiliki panjang 40 μm dan bergaris tengah 0,5 μm . Ekor spermatozoa merupakan bagian terbesar pada spermatozoa. (Bajpai, 1989). Menurut Guyton (2006), ekor spermatozoa memiliki komponen penting berupa rangka pusat yang dibentuk dari 11 mikrotubulus, yang secara keseluruhan disebut aksonema dan membran tipis yang menutupi aksonema.



Gambar 2.7 Spermatozoa manusia (Ganong, 1995)

Pengamatan morfologi spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung persentase spermatozoa kategori normal dari seratus spermatozoa (WHO, 2010). Menurut WHO (2010), bentuk-bentuk abnormalitas morfologi spermatozoa meliputi:

- 1) Kepala : ukuran kepala lebih besar atau lebih kecil, meruncing, *pyriform*, bulat, amorf, daerah akrosom lebih kecil atau lebih besar, kepala ganda, atau kombinasi dari beberapa bentuk sebelumnya.
- 2) Badan : penyisipan badan ke dalam kepala spermatozoa tidak simetris, tebal atau tidak teratur, tebal dan bengkak, tipis, atau kombinasi dari beberapa bentuk sebelumnya.
- 3) Ekor : pendek, ganda, patah, tipis dan bengkak, tebal dan bengkak, lebar tidak teratur, menggulung, atau kombinasi dari beberapa bentuk sebelumnya.



Gambar 2.8 Skema abnormalitas morfologi sperma (WHO, 2010)

2.6.2 Motilitas Spermatozoa

Gerakan ekor mendekat dan menjauh (gerakan flagelar) memberikan motilitas pada sperma. Gerakan ini disebabkan oleh gerakan meluncur longitudinal secara ritmis diantara tubulus posterior dan anterior yang membentuk aksonema. Energi untuk proses ini dipasok dalam bentuk ATP yang disintesis oleh mitokondria pada badan spermatozoa (*middle piece*). Sperma yang normal akan bergerak dalam garis

lurus dengan kecepatan satu sampai empat mm per detik. Hal ini memungkinkan spermatozoa untuk bergerak melalui traktus genitalia wanita untuk mencapai ovum (Guyton, 2006; Bajpai, 1989).

Setelah terbentuk dalam tubulus seminiferus, sperma membutuhkan waktu beberapa hari untuk melewati epididimis yang memiliki panjang 6 meter. Sperma dari tubulus seminiferus sangat tidak motil sehingga sperma tidak dapat membuahi ovum. Setelah sperma berada di dalam epididimis selama 18 jam sampai 10 hari, kemampuan motilitas sperma akan meningkat. Sperma juga mampu untuk membuahi ovum, suatu proses yang disebut maturasi. Aktivitas sperma akan lebih meningkat dalam medium netral dan sedikit basa seperti yang terdapat dalam semen ejakulasi, tetapi akan sangat ditekan dalam medium yang agak asam. Medium yang sangat asam dapat menyebabkan sperma mati (Guyton, 2006).

Pengamatan motilitas harus dilakukan dengan segera karena motilitas spermatozoa mudah mengalami penurunan pada saat berada diluar tubuh. Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung persentase spermatozoa kategori progresif dari seratus spermatozoa (WHO, 2010). Beberapa karakteristik motilitas spermatozoa menurut WHO (2010) adalah sebagai berikut:

- Progresif : Spermatozoa bergerak progresif, ditandai dengan adanya pergerakan yang aktif dan cepat.
- Non-progresif : Spermatozoa bergerak lambat dan hanya berputar pada tempat yang tidak jauh.
- Non-motil : Spermatozoa yang tidak bergerak sama sekali.

2.6.3 Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan viabilitas (daya hidup) spermatozoa dapat dilakukan melalui dua teknik, yaitu teknik pewarnaan dan teknik *hypo-osmotic swelling*. Teknik pewarnaan dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu pewarnaan dengan eosin dan pewarnaan dengan eosin-negrosin. Pada teknik pewarnaan dengan eosin, pewarna yang digunakan adalah eosin Y (indeks warna 45.380) yang telah dilarutkan dalam larutan

natrium klorida (NaCl) 0,9%. Sedangkan pada teknik pewarnaan dengan eosin-negrosin, pewarna yang digunakan sama seperti teknik sebelumnya yang kemudian ditambah dengan negrosin (indeks warna 50420). Pada teknik pewarnaan, spermatozoa yang viabel (hidup) ditandai dengan kepala tidak berwarna (bening) dan spermatozoa yang non viabel (mati) ditandai dengan kepala berwarna merah (WHO, 2010). Sel spermatozoa yang mati mengalami kerusakan membran plasma, sehingga dapat menyerap zat pewarna (WHO, 1999). Teknik *hypo-osmotic swelling* dapat digunakan ketika teknik pewarnaan tidak dapat dilakukan. Spermatozoa yang viabel (hidup) ditandai dengan adanya perubahan di bagian ekornya, yaitu ekor akan mengbengkak (WHO, 2010).

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung persentase spermatozoa yang viabel (hidup) dari seratus spermatozoa (WHO, 2010). Penilaian viabilitas spermatozoa dapat digunakan untuk menentukan keakuratan evaluasi motilitas spermatozoa. Persentase sel-sel yang non viabel seharusnya tidak melebihi persentase spermatozoa non-motil. Kehadiran sel-sel spermatozoa yang viabel tetapi non-motil dalam jumlah besar mungkin disebabkan karena adanya kecacatan pada flagel sel-sel tersebut (WHO, 1999).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

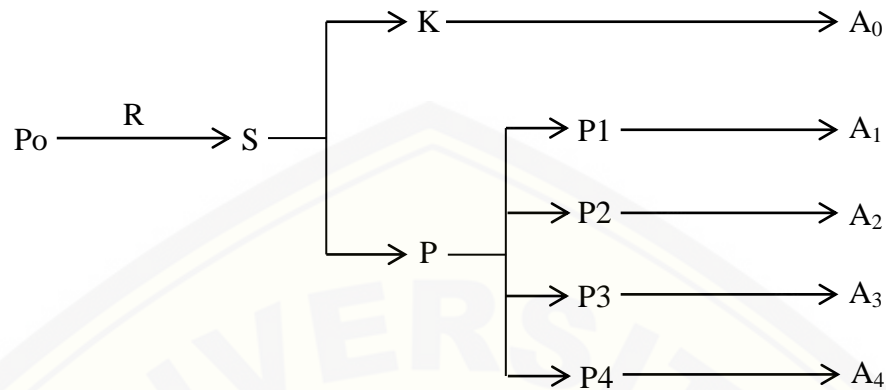
Uji aktivitas antifertilitas kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya pada tikus jantan galur Wistar ini merupakan penelitian *true experimental laboratories*. Penelitian *true experimental laboratories* ini bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tertentu yang nantinya akan diberikan kelompok kontrol sebagai pembanding (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Mei 2014-Februari 2015.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* (Campbell dan Stanley, 1963). Secara skematis rancangan penelitian ini ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- Po : Populasi
- R : Randomisasi
- S : Sampel
- K : Kelompok kontrol dengan pemberian mucilago CMC Na 1% per oral selama 28 hari
- P : Kelompok perlakuan
- P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (75:100 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari
- P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (50:100 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari
- P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (75:50 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari
- P4 : Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (50:50 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari
- A₀ : Data kelompok kontrol setelah diberikan mucilago CMC Na 1% per oral selama 28 hari
- A₁-A₄ : Data kelompok P1-P4 setelah diberikan perlakuan selama 28 hari

3.4 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar umur 2-3 bulan dan berat badan 200-250 g. Pemilihan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling*. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok dengan jumlah anggota masing-masing kelompok sebanyak 5 ekor tikus.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi: (1) timbangan digitalis; (2) maserator; (3) alat gelas (Pyrex); (4) *blender*; (5) ayakan No. 40; (6) *rotary evaporator* (Heidolph-Laborota 4000); (7) corong pisah; (8) corong Buchner; (9) *chamber* bius; (10) papan fiksasi; (11) alat bedah; (12) sonde; (13) *cover glass*; (14) *object glass*; (15) pipet tetes; (16) mikroskop (Olympus BX53F); (17) pipet khusus eritrosit; (18) kamar hitung *Neubauer*; (19) *chamber* KLT; (20) silica gel F₂₅₄ dan (21) pipa kapiler.

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi: (1) biji saga dari Desa Andongrejo Kecamatan Tempurejo Kabupaten Jember; (2) biji pepaya dari Desa Sukorejo Kecamatan Bangsalsari Kabupaten Jember; (3) kloroform (PT. Labtech Citra Persada Surabaya); (4) n-heksana (PT. Labtech Citra Persada Surabaya); (5) metanol (PT. Labtech Citra Persada Surabaya); (6) aquadest; (7) suspensi CMC Na 1%; (8) eosin 1%; (9) formalin; (10) larutan garam fisiologis 0,9%; (11) kertas saring; (12) tisu; (13) etil asetat; (14) pereaksi Mayer; (15) pereaksi Wagner; dan (16) pereaksi Dragendorf.

3.5.3 Subjek Uji

Subjek uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar umur 2-3 bulan dan berat badan 200-250 gram.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kombinasi fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) dan fraksi kloroform biji pepaya (*Carica papaya* Linn.) dosis 75:100 mg/kg BB, 50:100 mg/kg BB, 75:50 mg/kg BB, dan 50:50 mg/kg BB.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah dan kualitas (motilitas, viabilitas dan morfologi) spermatozoa tikus jantan setelah pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) dan fraksi kloroform biji pepaya (*Carica papaya* Linn.).

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi dan fraksinasi, kriteria hewan coba, pemeliharaan hewan coba, waktu dan lama perlakuan, frekuensi pemberian suspensi uji, cara pemberian suspensi uji, dan volume pemberian suspensi uji.

3.7 Definisi Operasional

Definisi operasional dari variabel penelitian yang telah disebutkan adalah sebagai berikut:

- a. Biji saga yang digunakan adalah seluruh bagian biji tanpa kulit biji.
- b. Biji pepaya yang digunakan adalah seluruh bagian biji tua (biji berwarna hitam) dan varietas Bangkok.

- c. Penelitian terhadap kualitas sperma mencakup pengamatan terhadap morfologi, motilitas dan viabilitas sperma.
- d. Bahan uji dikatakan memiliki aktivitas antifertilitas apabila jumlah dan kualitas sperma hewan coba mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pembuatan Fraksi Metanol Biji Saga

a. Preparasi Fraksi Metanol Biji Saga

Biji saga dikeringkan dibawah sinar matahari. Kulit biji kemudian dipisahkan dari bijinya. Biji saga kemudian dihaluskan dengan *blender*, diayak lalu ditimbang untuk proses selanjutnya.

b. Pembuatan Fraksi Metanol Biji Saga

Serbuk biji saga diekstraksi dengan menggunakan metode remaserasi. Sebanyak 500 gram serbuk biji saga direndam dengan pelarut metanol sebanyak 3,5 liter (7 kali berat simplisia). Proses remaserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Maserat kemudian disaring dengan kertas saring dan menggunakan bantuan corong Buchner. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45°C sampai diperoleh ekstrak metanol kental (Satriyasa dan Pangkahila, 2010).

Ekstrak metanol kental kemudian dilarutkan dalam metanol-air (7:3) dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Lalu ditambahkan n-heksana ke dalam corong pisah dengan perbandingan pelarut 1:1, dikocok dan dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi n-heksana dan lapisan bawah merupakan metanol-air (yang ditampung). Proses fraksinasi diulang hingga 3 kali. Metanol-air kemudian ditambah dengan kloroform (1:1) dan terbentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi metanol dan lapisan bawah merupakan fraksi kloroform. Fraksi yang ditampung adalah fraksi metanol. Proses fraksinasi diulang hingga 3 kali. Fraksi metanol kemudian dipekatkan diatas

penangas air pada suhu dibawah titik didih metanol hingga semua pelarut menguap dan didapatkan hasil akhir berupa fraksi metanol biji saga yang kental. Fraksi yang diperoleh kemudian ditimbang (Satriyasa dan Pangkahila, 2010).

3.8.2 Pembuatan Fraksi Kloroform Biji Pepaya

a. Preparasi Fraksi Kloroform Biji Pepaya

Biji pepaya dikeringkan dibawah sinar matahari. Biji kering kemudian dihaluskan dengan *blender*, diayak lalu ditimbang untuk proses selanjutnya (Satriyasa dan Pangkahila, 2010).

b. Pembuatan Fraksi Kloroform Biji Pepaya

Serbuk biji pepaya diekstraksi dengan menggunakan metode remaserasi. Sebanyak 500 gram serbuk biji pepaya direndam dengan pelarut metanol sebanyak 3,5 liter (7 kali berat simplisia). Proses remaserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Maserat kemudian disaring dengan kertas saring dan menggunakan bantuan corong Buchner. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45°C sampai diperoleh ekstrak metanol kental (Satriyasa dan Pangkahila, 2010).

Ekstrak metanol kental kemudian dilarutkan dalam metanol-air (7:3) dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Lalu ditambahkan n-heksana ke dalam corong pisah dengan perbandingan pelarut 1:1, dikocok dan dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi n-heksana dan lapisan bawah merupakan metanol-air (yang ditampung). Proses fraksinasi diulang hingga 3 kali. Metanol-air kemudian ditambah dengan kloroform (1:1) dan terbentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi metanol dan lapisan bawah merupakan fraksi kloroform. Fraksi yang ditampung adalah fraksi kloroform. Proses fraksinasi diulang hingga 3 kali. Fraksi kloroform kemudian dipekatkan diatas penangas air pada suhu dibawah titik didih kloroform hingga semua pelarut menguap dan didapatkan hasil akhir berupa fraksi kloroform biji pepaya yang kental. Fraksi yang diperoleh kemudian ditimbang (Satriyasa dan Pangkahila, 2010).

3.8.3 Skrining Alkaloid

a. Preparasi Sampel

Masing-masing fraksi sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 5 mL HCl 2 N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 5 mL HCl 2 N dan dibagi menjadi 3 bagian, yaitu larutan A, larutan B, dan larutan C (Fitriyani *et al.*, 2011).

b. Reaksi Pengendapan

Larutan A ditambah pereaksi Mayer, larutan B ditambah pereaksi Wagner, dan larutan C digunakan sebagai blanko. Adanya kekeruhan atau endapan menunjukkan alkaloid dalam fraksi (Fitriyani *et al.*, 2011).

c. Kromatografi Lapis Tipis

Larutan C ditambah NH_4OH 28% sampai larutan menjadi basa, kemudian ditambah dengan 5 ml kloroform, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol. Masing-masing larutan ditotolkan pada fase diam lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT) silica gel F_{254} , dengan fase gerak etil asetat:metanol:air (9:2:2). Penampak noda yang digunakan adalah pereaksi Dragendorff. Timbulnya warna jingga pada lempeng KLT menunjukkan adanya senyawa alkaloid di dalam masing-masing fraksi (Fitriyani *et al.*, 2011).

3.8.4 Pembuatan Mucilago CMC Na 1%

Sebanyak 1 gram CMC Na ditaburkan diatas 20 ml air panas (20 kali berat CMC Na), lalu didiamkan hingga mengembang (15-30 menit). Kemudian aduk kuat hingga terbentuk massa yang kental. Kemudian ditambahkan air hingga 100 ml.

3.8.5 Pembuatan Suspensi Uji

- a. Suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (75:100 mg/kg BB) dalam CMC Na 1%

Sebanyak 375 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Sebanyak 500 mg fraksi kloroform biji pepaya disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Kedua suspensi tersebut kemudian dicampurkan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu ditambahkan CMC Na 1% hingga 50 ml.

- b. Suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya dosis 100:50 mg/kg BB dalam CMC Na 1%

Sebanyak 250 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Sebanyak 500 mg fraksi kloroform biji pepaya disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Kedua suspensi tersebut kemudian dicampurkan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu ditambahkan CMC Na 1% hingga 50 ml.

- c. Suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya dosis 50:75 mg/kg BB dalam CMC Na 1%

Sebanyak 375 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Sebanyak 250 mg fraksi kloroform biji pepaya disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Kedua suspensi tersebut kemudian dicampurkan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu ditambahkan CMC Na 1% hingga 50 ml.

- d. Suspensi kombinasi fraksi metanol biji sagadan fraksi kloroform biji pepaya dosis 50:50 mg/kg BB dalam CMC Na 1%

Sebanyak 250 mg fraksi metanol biji saga disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Sebanyak 250 mg fraksi kloroform biji pepaya disuspensikan dengan CMC Na 1% secukupnya. Kedua suspensi tersebut kemudian dicampurkan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu ditambahkan CMC Na 1% hingga 50 ml.

3.8.6 Perlakuan pada Hewan Coba

a. Adaptasi Hewan Coba

Sebanyak 25 ekor tikus jantan galur Wistar ditempatkan di dalam 5 buah kandang di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Setiap kandang berisi 5 ekor tikus. Tikus diberi makanan berupa konsentrat dan minuman berupa air secara *ad libitum*. Proses adaptasi hewan coba berlangsung selama 7 hari sebelum pemberian suspensi uji.

b. Pemberian Suspensi Uji pada Hewan Coba

Sebanyak 25 ekor tikus jantan galur Wistar dibagi menjadi 5 kelompok dengan cara randomisasi. Pemberian suspensi uji pada masing-masing tikus dilakukan dengan cara per oral sebanyak satu kali sehari selama 28 hari. Prosedur pemberian suspensi uji adalah sebagai berikut:

- 1) Kelompok kontrol (K) diberi mucilago CMC Na 1% per oral selama 28 hari.
- 2) Kelompok perlakuan 1 (P1) diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (75:100 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari.
- 3) Kelompok perlakuan 2 (P2) diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (50:100 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari.
- 4) Kelompok perlakuan 3 (P3) diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (75:50 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari.
- 5) Kelompok perlakuan 4 (P4) diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya (50:50 mg/kg BB) per oral 1 kali sehari selama 28 hari.

Pada hari ke-29 masing-masing tikus dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan kloroform dan dibedah untuk memperoleh sperma tikus dari kauda epididimis.

3.8.7 Pengukuran Kuantitas Spermatozoa

Pengukuran kuantitas spermatozoa dilakukan dengan cara memipet sperma dengan menggunakan pipet khusus eritrosit sampai skala 0,5. Kemudian sperma diencerkan dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) sampai tanda 101 (pengenceran 200x) lalu dikocok sampai homogen. Larutan sperma kemudian ditetaskan pada kamar hitung lalu ditutup dengan menggunakan *cover glass*. Sediaan tersebut dibiarkan kering agar sel-sel spermatozoa mengendap, sehingga memudahkan perhitungan. Pemeriksaan dilakukan dengan 5 lapang pandang pada kamar hitung dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x (WHO, 2010).

Perhitungan jumlah spermatozoa dilakukan dengan cara mengalikan jumlah sel spermatozoa yang terhitung dalam 5 kotak dengan pengenceran (101/0,5) dan faktor *Neubauer*.

$$\text{Jumlah spermatozoa} = N \times 200 \times 50000$$

Dimana N adalah jumlah sel spermatozoa yang terhitung dalam 5 kotak, 200 adalah pengenceran dan 50000 adalah faktor *Neubauer* (Patodihardjo, 1992).

3.8.8 Pengukuran Kualitas Spermatozoa

a. Motilitas Spermatozoa

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan sediaan spermatozoa pada hemositometer, kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Beberapa karakteristik motilitas spermatozoa menurut WHO (2010) adalah:

Progresif : Spermatozoa yang bergerak progresif, ditandai dengan adanya pergerakan yang aktif dan cepat.

Non-progresif : Spermatozoa yang bergerak, namun lambat dan hanya berputar pada tempat yang tidak jauh.

Non-motil : Spermatozoa yang tidak bergerak sama sekali.

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung persentase spermatozoa kategori progresif dari 100 spermatozoa. Pengamatan motilitas perlu dilakukan pertama kali karena motilitas spermatozoa mudah mengalami penurunan pada saat berada diluar tubuh (WHO, 2010).

b. Morfologi Spermatozoa

Pengamatan morfologi spermatozoa dilakukan dengan cara membuat preparat awetan. Satu tetes sediaan spermatozoa diletakkan pada *object glass*, lalu ditambah dengan satu tetes formalin 2%, kemudian dikeringkan. Kemudian diberi satu tetes eosin 1% dan ditutup dengan menggunakan *cover glass*, lalu dikeringkan. Preparat kemudian diamati dibawah mikroskop dengan peembesaran 400x. Dari 100 spermatozoa, dihitung presentase spermatozoa yang memiliki morfologi normal. Pengamatan dilakukan pada kelainan bentuk atau abnormalitas spermatozoa yang meliputi abnormalitas pada bagian kepala dan ekor (*midpiece*, *principal piece* dan *end piece*) (WHO, 2010).

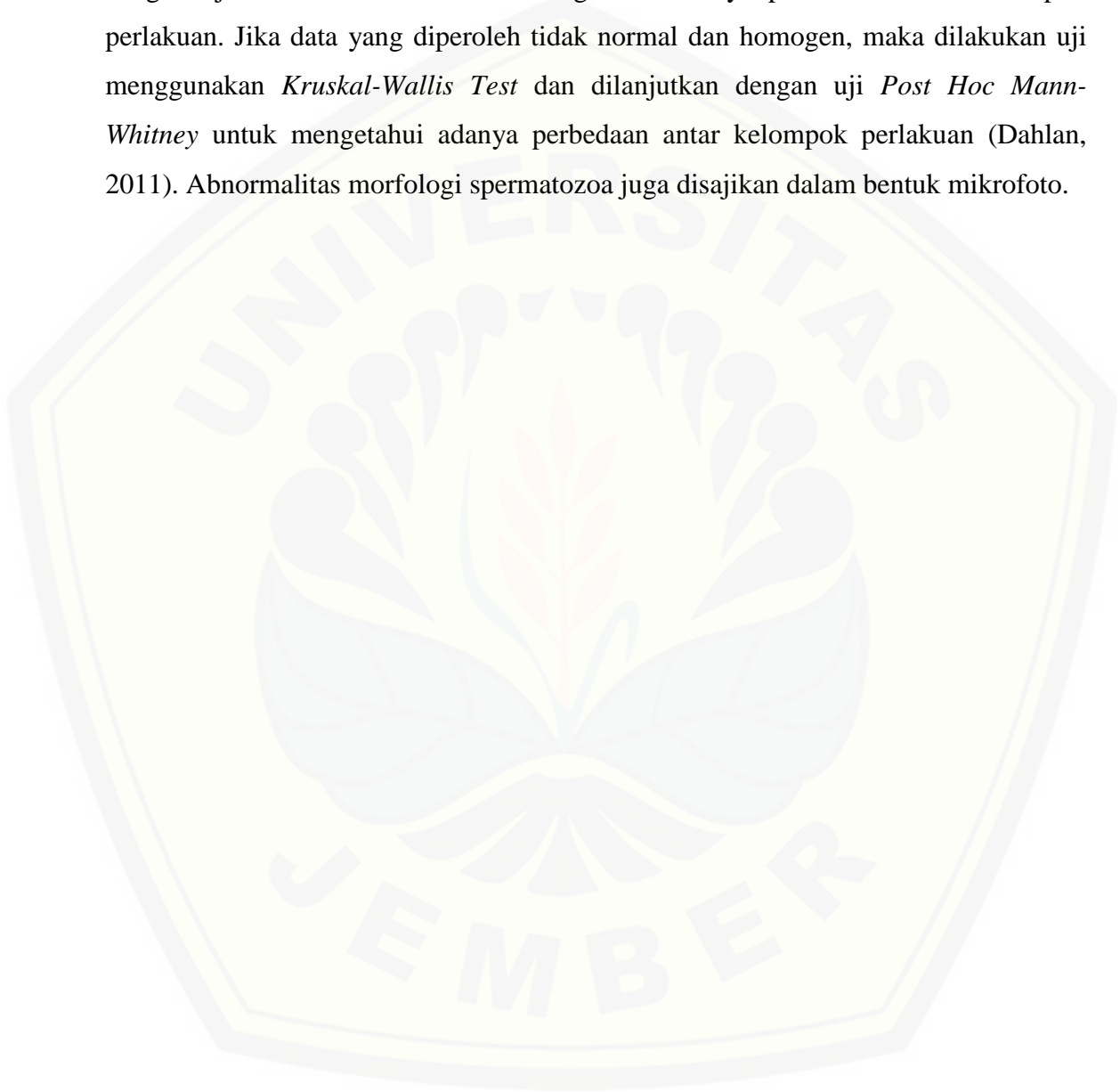
c. Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes sediaan spermatozoa pada *object glass* lalu menambahkan satu tetes eosin 1%, kemudian ditutup dengan menggunakan *cover glass*. Preparat kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Dari 100 spermatozoa, dihitung persentase spermatozoa yang viabel (kepala spermatozoa tidak berwarna merah) (WHO, 2010).

3.9 Analisis Data

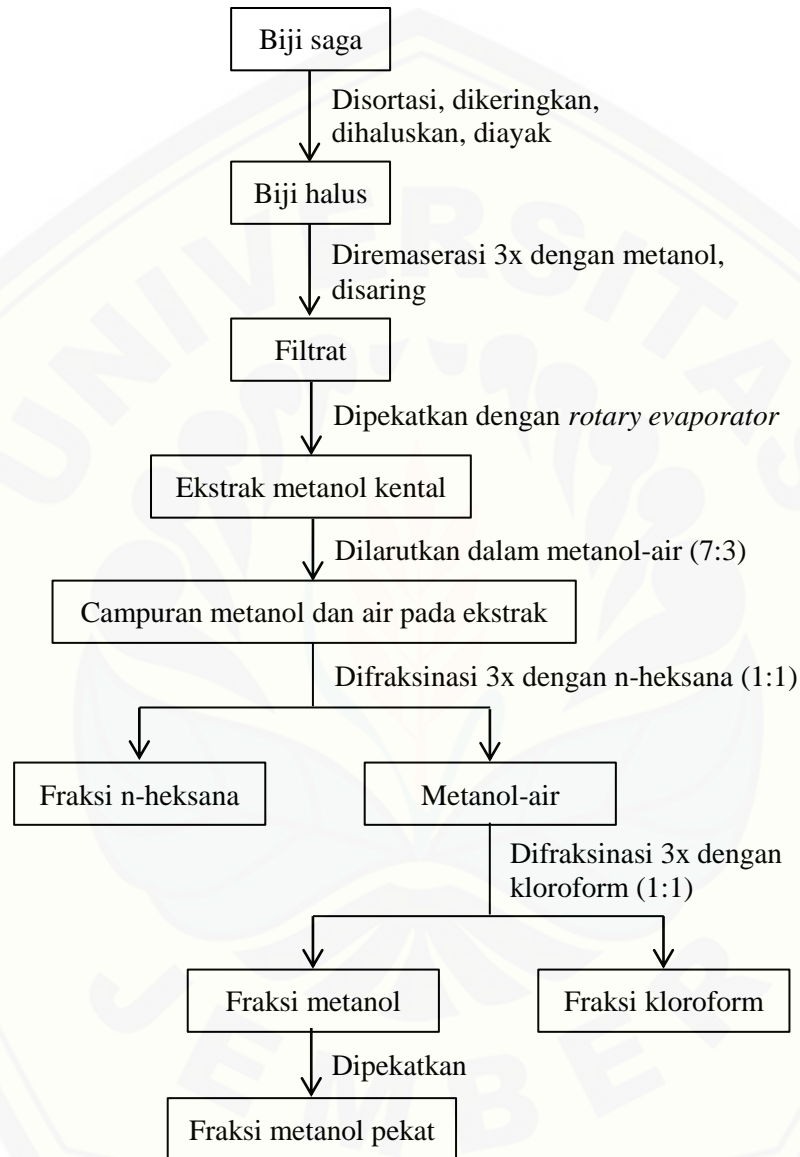
Data penelitian yang diperoleh meliputi jumlah spermatozoa, motilitas, morfologi, dan viabilitas spermatozoa. Data yang diperoleh kemudian diuji

normalitas dan homogenitasnya. Jika data normal dan homogen, maka dilakukan uji menggunakan *One-Way Anova* dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok perlakuan. Jika data yang diperoleh tidak normal dan homogen, maka dilakukan uji menggunakan *Kruskal-Wallis Test* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok perlakuan (Dahlan, 2011). Abnormalitas morfologi spermatozoa juga disajikan dalam bentuk mikrofoto.



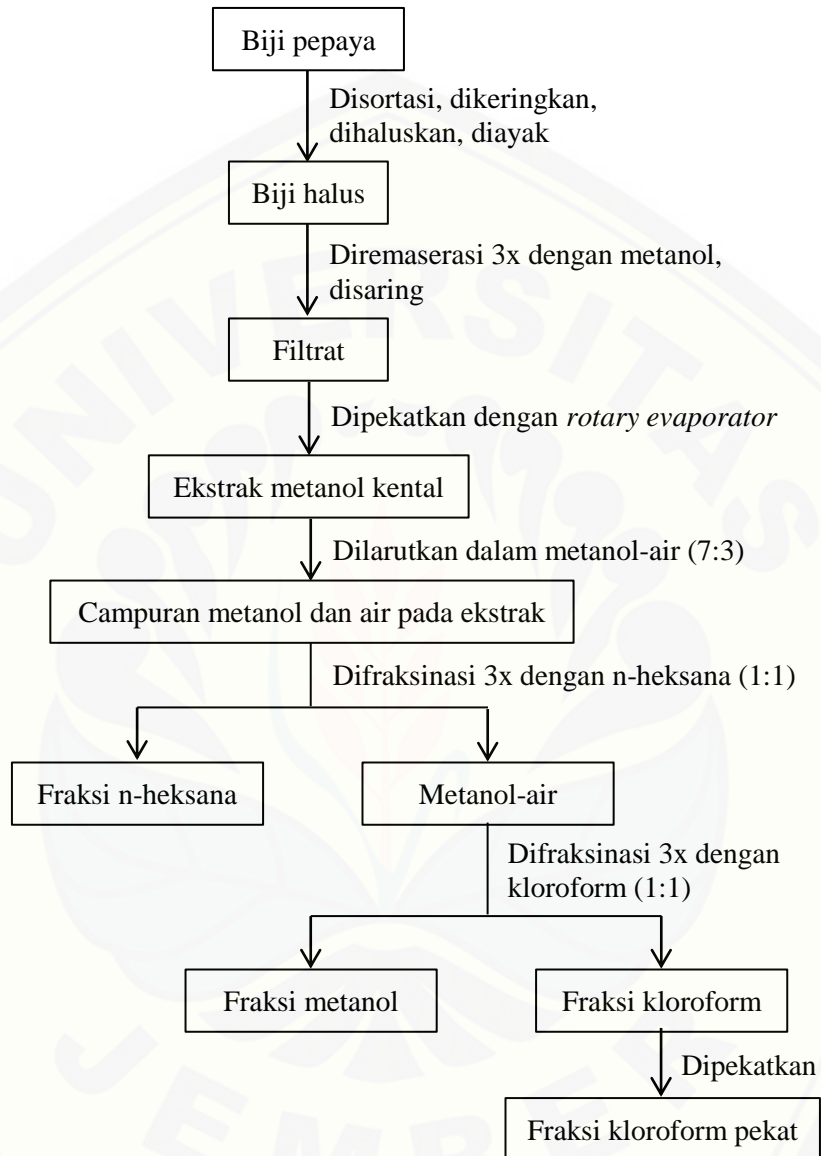
3.10 Skema Penelitian

3.10.1 Skema Fraksinasi Biji Saga



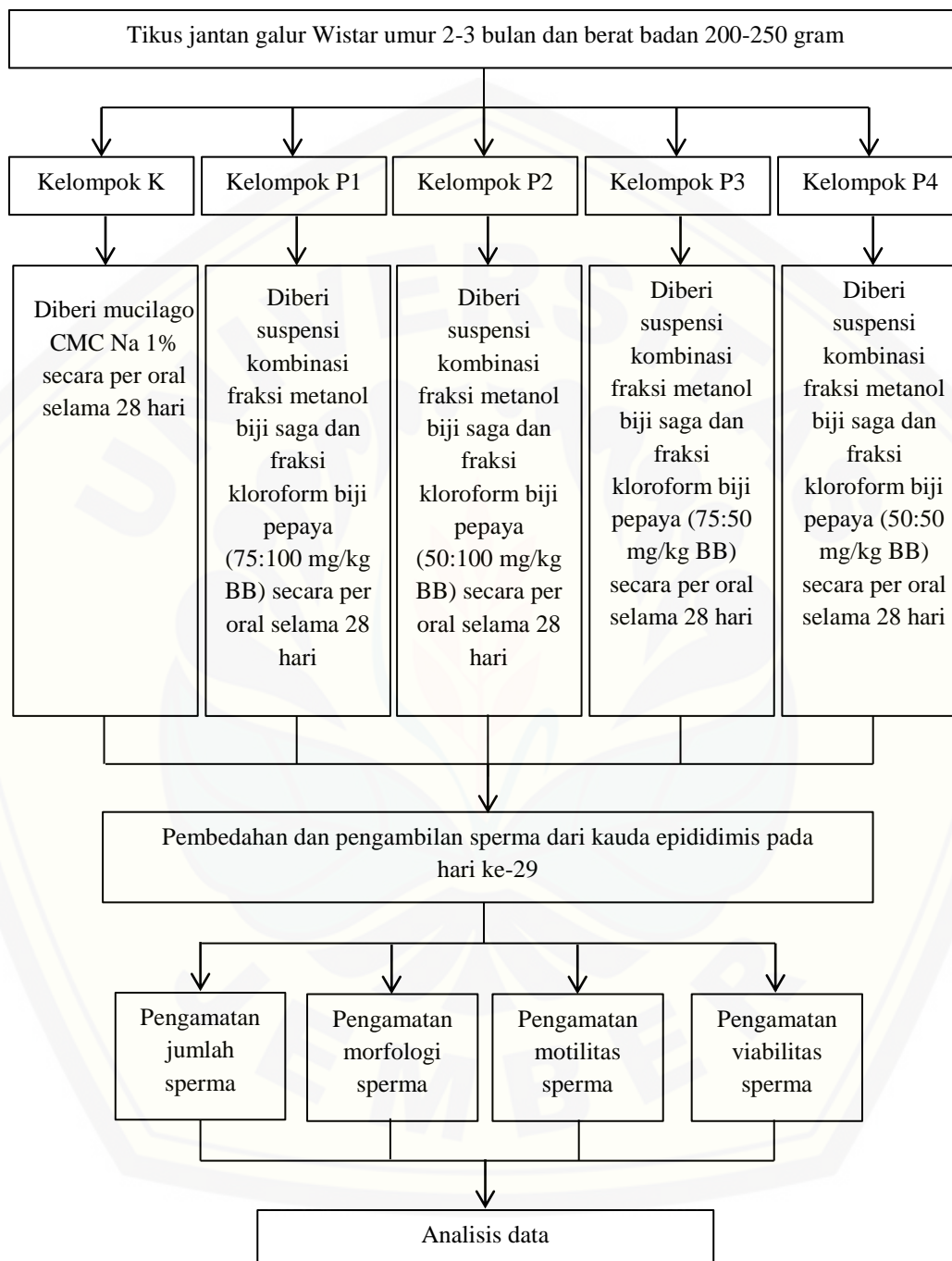
Gambar 3.2 Skema fraksinasi biji saga

3.10.2 Skema Fraksinasi Biji Pepaya



Gambar 3.3 Skema fraksinasi biji papaya

3.10.3 Skema Pengujian Antifertilitas



Gambar 3.4 Skema pengujian antifertilitas