



**PENGARUH EKSTRAK METANOL BIJI PEPAYA TUA DAN EKSTRAK
METANOL BIJI PEPAYA MUDA (*Carica papaya* L.) TERHADAP KUALITAS
DAN KUANTITAS SPERMATOZOA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh

Dwi Novita Wijayanti

NIM 102210101086

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**PENGARUH EKSTRAK METANOL BIJI PEPAYA TUA DAN EKSTRAK
METANOL BIJI PEPAYA MUDA (*Carica papaya* L.) TERHADAP KUALITAS
DAN KUANTITAS SPERMATOZOA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh
DWI NOVITA WIJAYANTI
NIM 102210101086

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua dan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda (*Carica papaya L.*) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

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

Oleh
Dwi Novita Wijayanti
NIM 102210101086

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Sulasmini dan Ayahanda Abdul Adim yang senantiasa mencurahkan kasih sayang, mengajarkan arti hidup, kesabaran, ketelatenan, dan kegigihan serta segala doa di setiap langkah saya untuk menggapai mimpi.
2. Kakak tersayang Dewi Puspita Sari dan keponakan tercinta Irma Bima Tiara Putri, atas semua dukungan, motivasi, dan doa serta keceriaan yang telah diberikan.
3. Semua guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan ilmu pengetahuan, pengalaman, bimbingan kepada saya dengan penuh rasa sabar.
4. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Dan janganlah kamu (merasa) lemah dan jangan (pula) bersedih hati, sebab kamu paling tinggi (derajatnya), jika kamu orang yang beriman.”
(terjemahan Q. S. *Ali ‘Imran* (3) ayat 139) ¹⁾

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri.”
(terjemahan Q. S. *Ar-Ra’ad* (13) ayat 11) ²⁾

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.”
(terjemahan Q.S. *Asy-Syarh* (94) ayat 5) ³⁾

¹⁻³⁾ Kementerian Agama Republik Indonesia. 2007. Al-Qur’an Tajwid dan Terjemahnya. Bandung: PT Sygma Exaedia Arkanleema.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Novita Wijayanti

NIM : 102210101086

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua dan Ekstrak Metanol Biji Muda (*Carica papaya* L.) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari ini tidak benar.

Jember, 24 Juni 2016

Yang menyatakan,

Dwi Novita Wijayanti

NIM 102210101086

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK METANOL BIJI PEPAYA TUA DAN EKSTRAK
METANOL BIJI PEPAYA MUDA (*Carica papaya* L.) TERHADAP KUALITAS
DAN KUANTITAS SPERMATOZOA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR
(*Rattus norvegicus*)**

Oleh

Dwi Novita Wijayanti

NIM 102210101086

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : Endah Puspitasari, S.Farm., M. Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua dan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda (*Carica papaya* L.) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi, Universitas Jember pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 24 Juni 2016

Tempat : Fakultas Farnasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



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

NIP. 197305132005012001

Dosen Pembimbing Anggota,



Endah Puspitasari, S.Farm., M. Sc., Apt.

NIP. 198107232006042002

Tim Penguji

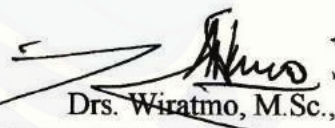
Dosen Penguji I,



Afifah Machlaurin, S. Farm., Apt., M.Sc.

NIP. 198501262008012003

Dosen Penguji II,



Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt.

NIP. 195910271998021001

Mengesahkan

Dekan



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M. Farm.

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua dan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda (*Carica papaya L.*) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*); Dwi Novita Wijayanti, 102210101086; 2016: 75 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Jumlah penduduk berdasarkan sensus penduduk oleh BPS pada tahun 2010 sebesar 237.641.326 jiwa. Pertambahan jumlah penduduk yang tidak terkendali ini merupakan masalah yang cukup penting bagi Indonesia karena akan berpengaruh pada tingkat kehidupan dan kesejahteraan penduduk. Upaya pemerintah untuk menekan populasi penduduk Indonesia dengan mengadakan program Keluarga Berencana (KB). Kandungan senyawa aktif yang diduga bertanggung jawab ialah alkaloid, enzim papain, triterpenoid, dan steroid. Ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda diharapkan dapat menurunkan kualitas dan kuantitas spermatozoa. Penelitian ini juga untuk mengetahui perlakuan yang memiliki efek antifertilitas yang lebih baik antara ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda dalam menurunkan kualitas dan kuantitas spermatozoa tikus putih jantan.

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental laboratories* dan rancangan yang digunakan adalah *post test only group design*. Tikus jantan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (CMC-Na 1%), kelompok perlakuan ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda pada dosis yang sama yaitu 100 mg/kg BB. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 tikus. Seluruh kelompok diberi perlakuan secara per oral selama 20 hari. Pada hari ke-21, dilakukan pembedahan untuk pengambilan spermatozoa dari kauda epididimis untuk dilakukan pengamatan dan perhitungan kualitas (motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa) dan kuantitas (jumlah) spermatozoa. Hasil pengamatan diuji statistik

menggunakan *One-Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat penurunan kualitas (motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa) dan kuantitas (jumlah) spermatozoa pada perlakuan ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda dibandingkan kelompok kontrol negatif. Kelompok ekstrak biji pepaya muda memiliki jumlah (%) kualitas dan kuantitas spermatozoa (juta/ml) yang lebih rendah dibandingkan ekstrak biji pepaya tua. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan ekstrak metanol biji pepaya muda dengan nilai $p < 0,05$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol biji pepaya muda memiliki efek antifertilitas lebih baik dibandingkan ekstrak biji pepaya tua.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua dan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda (*Carica papaya* L.) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)”. Skripsi ini disusun guna memenuhi tugas akhir dan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak lepas dari masukan, bimbingan, bantuan, dan motivasi dari 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. Ibunda Sulasmini dan Ayahanda Abdul Adim, terimakasih atas segala pengorbanan, kasih sayang, dukungan, dan doa yang tiada henti diberikan kepada penulis hingga detik ini serta kakak tersayang Dewi Puspita Sari dan Eka Maria Ulfa, terimakasih atas semua dukungan, motivasi, dan doa serta keceriaan yang telah diberikan;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan kesempatan yang telah diberikan untuk menyelesaikan tugas akhir;
4. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M. Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu penulisan skripsi;
5. Ibu Afifah Machlaurin, S. Farm., Apt., M.Sc., selaku Dosen Penguji I dan Bapak Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt., selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik, saran, waktu, dan perhatiannya dalam penulisan skripsi;

6. Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S. Farm., M. Farm., Apt., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan masukan, perhatian, dan bimbingan selama menempuh studi;
7. Saudara dan sahabat dekat penulis Tika Novera, Dyajeng Puteri Woro Subagio, Nila Puspa, Febrianti Eka Pratiwi, Sukmaniar Hanatovani, Tria Febriantiningasih yang telah memberikan semangat, doa, motivasi, dan keceriaan;
8. Rekan kerja skripsi seperjuangan Galuh Rahmawati, Novi Prasetyaningrum, Dwi Puspita Sari, Fadilah, Nailul Birroh, Rizka Yuliana, Mbak Dini', dan Mbak Indri, terimakasih atas semangat, kerjasama, bantuan, ilmu, dan pengalaman yang berharga;
9. Saudara dan sahabat seperjuangan Fannia Inayati, Indri Dyah Kusumaningtyas, Sari Anugrah Lukmaningtyas, Nita Eka Wijaya, Sayidati Fauziah, Amanah Fitria, Shinta Isyanu A., Susi Yuliani, Rika Dwi Nurhayati, Restuningdyah Meitasari, Nurul Isnaini, Eva Setyorini, Renysasi Maria Ulfa, Yudistirawati Chusna, Lesti Eko Pangestuti, Siti Zulaikhah, Weka Ristu Wijayanti, Shinta Rohmanullah, Eka Putri Pratiwi, dan Uci Prastasiwi, terimakasih selalu mendampingi, menyemangati, mengingatkan, memberikan motivasi, kehangatan, keceriaan, dukungan, dan pengalaman;
10. Teman-teman Fakultas Farmasi angkatan 2010 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas kebersamaan, dukungan, dan keceriaan yang telah dibina selama menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
11. Teman-teman KKN Desa Sukokerto Kecamatan Sukowono, terimakasih atas suka cita, kebersamaan, kerjasama, dan pengalaman yang berharga selama 45 hari.

Jember, 16 Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERNYATAAN.....	vi
HALAMAN PEMBIBINGAN.....	vii
HALAMAN PENGESAHAN.....	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan tentang Pepaya	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya.....	5
2.1.2 Deskripsi Tanaman Pepaya.....	5
2.1.3 Manfaat dan Kandungan Kimia Tanaman Pepaya.....	7
2.2 Tinjauan tentang Fertilitas dan Antifertilitas.....	9
2.3 Sistem Reproduksi Jantan	9
2.3.1 Organ-Organ Reproduksi Jantan.....	10
2.3.2 Hormon yang Berpengaruh pada Reproduksi.....	12
2.4 Spermatogenesis.....	14

2.5 Spermatozoa	18
2.5.1 Motilitas	19
2.5.2 Viabilitas	20
2.5.3 Morfologi	20
2.5.4 Kuantitas Spermatozoa	23
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian	25
3.2 Rancangan Penelitian	25
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.4 Jumlah Sampel	26
3.5 Alat dan Bahan yang Digunakan	26
3.5.1 Alat Penelitian.....	26
3.5.2 Bahan Penelitian	27
3.6 Variabel Penelitian	27
3.6.1 Variabel Bebas	27
3.6.2 Variabel Terikat	27
3.6.3 Variabel Terkendali	27
3.7 Definisi Operasional	27
3.8 Pelaksanaan Penelitian dan Pengambilan Data	28
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua	28
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda	28
3.8.3 Pembuatan Mucilago CMC Na 1%.....	28
3.8.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak Biji Pepaya Tua dan Ekstrak Biji Pepaya Muda Dosis 100 mg/kg BB.....	29
3.8.5 Perlakuan terhadap Hewan Coba	29
3.8.6 Pengukuran Kualitas Spermatozoa	29
3.8.7 Pengukuran Kuantitas Spermatozoa	31
3.9 Analisis Data	32
3.10 Skema Pelaksanaan Penelitian	33

3.10.1 Skema Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya.....	33
3.10.2 Skema Pengujian Antifertilitas	34
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Pengukuran Kualitas Spermatozoa	35
4.2 Pengukuran Kuantitas Spermatozoa.....	43
BAB 5. PENUTUP.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Buah pepaya tua dan muda	7
2.2 Struktur kimia karpain.....	9
2.3 Sistem reproduksi jantan	10
2.4 Proses spermatogenesis.....	15
2.5 Proses spermiogenesis.....	18
2.6 Bagian-bagian spermatozoa	22
2.7 Spermatozoa normal.....	23
2.8 Macam-macam abnormalitas spermatozoa	23
3.1 Skema rancangan penelitian.....	25
3.2 Skema pembuatan ekstrak metanol biji pepaya	33
3.3 Skema pengujian antifertilitas.....	34
4.1 Jumlah (%) masing-masing parameter spermatozoa tikus.....	36
4.2 Perbandingan spermatozoa hidup (transparan) dan mati (merah).....	38
4.3 Perbandingan morfologi spermatozoa pada tiap kelompok	42
4.4 Jumlah spermatozoa (juta/ml) pada tiap kelompok	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Percobaan dan Manusia	55
B. Volume Maksimal Pemberian Larutan Sediaan Uji pada Beberapa Hewan Uji.....	56
C. Perhitungan Rendemen Ekstrak	57
D. Data Hasil Pengamatan Motilitas, Viabilitas, Morfologi, dan Jumlah Spermatozoa	58
E. Data Analisis Statistik	60
F. Dokumentasi Penelitian	74

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertambahan jumlah penduduk merupakan masalah yang cukup penting bagi setiap negara terutama bagi negara berkembang seperti Indonesia. Berdasarkan sensus penduduk tahun 2010, jumlah penduduk di Indonesia mencapai 237.641.326 jiwa, jumlah tersebut lebih banyak jika dibandingkan tahun 2000 dengan jumlah penduduk sebanyak 206.264.595 jiwa (Badan Pusat Statistik, 2012). Kondisi kependudukan seperti ini merupakan masalah yang dapat mempengaruhi kehidupan sosial karena jumlah penduduk yang besar memerlukan perhatian dalam penyediaan bahan pangan, pendidikan, kesehatan, dan lapangan pekerjaan (Nuraini *et al.*, 2012).

Upaya pemerintah untuk menekan jumlah penduduk Indonesia salah satunya adalah dengan mengadakan program Keluarga Berencana (KB) yang dicanangkan oleh Badan Koordinasi Keluarga Berencana (BKKBN) bagi pasangan suami istri dalam usia subur (Puspitasari dan Suhita, 2014). Keluarga Berencana (KB) merupakan suatu program yang dicanangkan oleh pemerintah dalam upaya peningkatan kepedulian dan peran serta masyarakat melalui pendewasaan usia perkawinan, pengaturan kelahiran, pembinaan ketahanan keluarga, peningkatan kesejahteraan keluarga kecil, dan bahagia (Sekretaris Negara Republik Indonesia, 1992). Agar program KB tersebut berhasil, maka program ini harus dilakukan oleh semua pihak baik wanita maupun pria (Satriyasa *et al.*, 2010).

Pada kenyataannya, program KB masih didominasi oleh wanita sedangkan pria belum banyak berpartisipasi (Satriyasa *et al.*, 2010). Keberhasilan program KB ini sangat terkait dengan penggunaan alat kontrasepsi. Namun, kurangnya keterlibatan pria dalam penggunaan kontrasepsi dapat menyebabkan KB kurang efektif (Nuraini *et al.*, 2012). Salah satu alasan rendahnya partisipasi pria dalam keluarga berencana karena jenis kontrasepsi pria yang tersedia sangat terbatas. Masalah tersebut menjadi landasan mengapa perkembangan teknologi kontrasepsi perlu lebih mengarah pada pria (Wilopo, 2006).

Sampai saat ini metode kontrasepsi laki-laki yang ada adalah pantang berkala, senggama terputus (*coitus interruptus*), penggunaan kondom, dan vasektomi (Moeloek, 2002). Namun metode kondom, senggama terputus, dan vasektomi memiliki beberapa kekurangan. Penggunaan kondom juga dapat menyebabkan alergi dan iritasi pada kulit, sedangkan senggama terputus sulit untuk mendisiplinkan diri bagi masing-masing pihak baik suami maupun istri. Pelaksanaan vasektomi tidak secara langsung efektif karena memerlukan beberapa waktu setelah sperma benar-benar tidak ditemukan berdasarkan hasil analisis semen dan bersifat *irreversible*. Selain itu vasektomi memiliki efek samping, antara lain timbulnya bengkak pada organ reproduksi, infeksi, dan pendarahan bila pengguna vasektomi melakukan kerja fisik yang berat (Mochtar, 1998).

Penelitian untuk menciptakan metode kontrasepsi perlu dikembangkan dengan memanfaatkan bahan alam karena Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam. Penelitian mengenai tanaman antifertilitas mulai dikembangkan dengan mengkaji informasi dari pengetahuan obat tradisional. Pemanfaatan bahan alam sebagai agen antifertilitas harus memenuhi beberapa syarat, antara lain: aman bagi kesehatan, efektif dalam menurunkan kualitas dan jumlah spermatozoa, tidak menimbulkan efek samping terhadap perilaku seksual, bekerja spesifik, dapat dipulihkan kembali dalam jangka waktu tertentu (*reversible*), serta dapat diterima (Ashfahani, 2010).

Salah satu bahan alam yang diduga mempunyai aktivitas antifertilitas adalah biji dari tanaman pepaya (Satriyasa dan Pangkahila, 2010). Menurut Kothari *et al.*, (2000) ekstrak biji pepaya dapat mempengaruhi fertilitas sperma tikus putih jantan. Ekstrak air biji pepaya secara oral ataupun intramuskular menyebabkan penurunan jumlah sperma, motilitas, dan fertilitas pada tikus jantan (Verma dan Cinoy, 2002). Selain itu, ekstrak air biji pepaya dapat menghambat populasi spermatogonium dan spermatosit primer tikus jantan *Rattus norvegicus* (Yurnadi, 2002). Pemberian ekstrak kloroform biji pepaya mengakibatkan azoospermia setelah 90 hari perlakuan pada monyet *langur* dan menyebabkan degenerasi sel leydig, sel sertoli, serta menghambat

pematangan sel germinal dalam testis (Lohiya, 2002). Ekstrak metanol biji pepaya diduga mengandung alkaloid, triterpenoid, dan steroid dalam biji pepaya mengingat pelarut metanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik sebagian besar senyawa-senyawa kimia yang dikandung oleh suatu simplisia (Sukadana *et al.*, 2008).

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak biji pepaya dapat menurunkan kualitas dan kuantitas spermatozoa. Namun, belum ada yang membandingkan aktivitas antifertilitas antara ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda. Pada penelitian ini, akan dilakukan uji aktivitas antifertilitas biji pepaya dengan membandingkan antara ekstrak biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda menggunakan pelarut metanol pada tikus putih jantan dengan melihat parameter kualitas dan kuantitas spermatozoa. Dosis yang digunakan pada penelitian ini menggunakan dosis 100 mg/kg BB karena pada penelitian sebelumnya, dosis tersebut efektif menurunkan jumlah spermatozoa pada epididimis (Udoh dan Kehinde, 1999).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda terhadap kualitas dan kuantitas spermatozoa tikus putih jantan?
2. Manakah perlakuan yang memiliki efek antifertilitas lebih baik antara ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak metanol biji pepaya muda terhadap spermatozoa tikus putih jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak biji pepaya tua dan muda terhadap kualitas dan kuantitas spermatozoa tikus putih jantan.
2. Mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki efek antifertilitas yang lebih baik antara ekstrak biji pepaya tua dan ekstrak biji pepaya muda terhadap spermatozoa tikus putih jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini antara lain:

1. Dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya dalam mengembangkan bahan alam sebagai obat antifertilitas yang baru.
2. Memberikan kontribusi dalam penegakan program KB dengan memberikan pilihan obat kontrasepsi bagi pria untuk mengantisipasi terjadinya ledakan penduduk di Indonesia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Pepaya

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya

Klasifikasi tanaman pepaya menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2011) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Orde	: Brassicales
Famili	: Caricaceae
Genus	: Carica
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L.

2.1.2 Deskripsi Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) ini merupakan tanaman yang berasal dari Amerika dan diperkenalkan sebagai tanaman perkebunan di Australia, Hawaii, Filipina, Sri Lanka, Afrika Selatan, India, dan di semua wilayah tropis dan subtropis (Krishna *et al.*, 2008). Tanaman pepaya berbuah sepanjang tahun dan mulai berbuah pada umur 6-7 bulan. Buah pepaya tergolong buah yang populer karena dikenal dan digemari oleh hampir seluruh penduduk di dunia (Wijayakusuma, 1996). Tanaman pepaya tersebar hampir di seluruh kepulauan di Indonesia dan tumbuh pada ketinggian 1000 mdpl. Tumbuh paling baik pada ketinggian 100 mdpl. Tumbuh di dataran 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 (BPOM RI, 2012).

Pepaya merupakan tumbuhan berhabitus terna dengan tinggi 8-10 m. Akar tanaman pepaya tidak berkayu, oleh karena itu tanaman ini membutuhkan tanah yang

gembur dengan air yang cukup pada musim kemarau dan sedikit air pada musim hujan. Sistem perakaran tanaman pepaya adalah akar tunggang dengan akar-akar cabang yang tumbuh mendatar ke semua arah pada kedalaman satu meter atau lebih dan menyebar sekitar 60-150 cm atau lebih dari pusat batang tanaman (Rukmana, 1995). Batang tumbuh lurus ke atas dan tidak bercabang. Berbatang basah dengan bentuk silindris. Diameter 10-30 cm dan tinggi 2,5-10 m, tidak berkayu, berongga di tengah, lunak, mengandung banyak air, dan terdapat getah di dalamnya, kulit batang memiliki tanda bekas tangkai daun. (Wijayakusuma, 1996).

Daun letaknya berdekatan dengan pucuknya, dengan helaian yang lebar. Diameter daun 25-75 cm yang terdiri dari 5-11 lobus tipis dengan bentuk menjari (palmatus). Tangkai daun panjang menyerupai pipa, halus, kokoh, berongga, berwarna hijau kekuningan, panjangnya 25-100 cm dan tebalnya 0,15-1,5 cm. (BPOM RI, 2008). Daunnya merupakan daun tunggal, berukuran besar dan bercangap. Helaian daunnya menyerupai telapak tangan manusia. Apabila daun pepaya tersebut dilipat menjadi dua bagian, akan tampak bahwa daun pepaya tersebut simetris. Tangkai daun panjang dan berongga (Muhlisah, 2002).

Bunga pepaya merupakan bunga majemuk yang tersusun pada sebuah tangkai atau poros bunga (*pedunculus*). Bunga pepaya terdiri dari tiga jenis, yaitu bunga jantan, bunga betina, dan bunga sempurna. Masing-masing bunga ini hanya tumbuh pada satu pohon. Oleh karena itu, tanaman pepaya memiliki tiga bentuk pohon, yaitu pohon jantan, pohon betina, dan pohon sempurna (Muhlisah, 2002). Bunga berbau harum, berwarna putih kekuningan, dan berlapis lilin. Bunga betina terletak dekat dengan batang sebagai bunga tunggal atau dalam kelompok. Bunga jantan berkumpul dalam tandan, memiliki mahkota berbentuk terompet dan warnanya putih kekuningan (Wijayakusuma, 1996).

Buah pepaya memiliki ukuran dan bentuk bervariasi. Berkulit tipis dan tidak mudah lepas dari daging buah. Buah yang masih muda berwarna hijau dan apabila masak berwarna kuning. Biji pepaya terletak dalam rongga buah yang terdiri dari lima lapisan. Lapisan luar yang melindungi biji disebut sarkotesta dan 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 pepaya memiliki panjang 5-9 mm, garis tengah \pm 5 mm. Biji berwarna putih jika masih muda dan berwarna cokelat kehitaman setelah tua. Permukaan biji agak keriput, terdapat tonjolan dengan rusuk membuju dan melintang tidak beraturan seperti mata jala dan dibungkus oleh kulit ari yang sifatnya seperti agar serta transparan (Materia Medika, 1995). Perbedaan pepaya tua dan pepaya muda ditunjukkan pada Gambar 2.1.



(a)

(b)

Gambar 2.1 (a) Buah pepaya tua; (b) Buah pepaya muda (Acharya, 2013)

2.1.3 Manfaat dan Kandungan Kimia Tanaman Pepaya

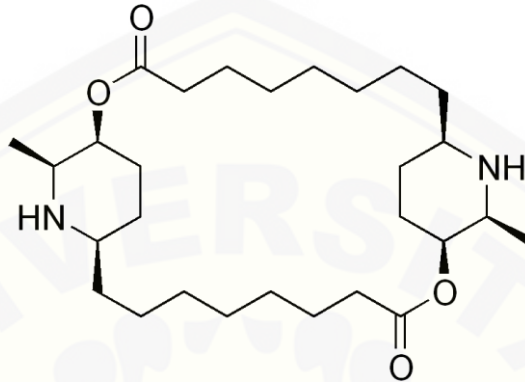
Pepaya merupakan jenis tanaman yang banyak dijumpai dan bernilai ekonomis, pepaya juga memiliki banyak manfaat. Hampir semua bagian tanaman pepaya memiliki manfaat antara lain sebagai bahan makanan dan minuman, bahan kosmetik, industri serta bahan obat tradisional. Akar pepaya digunakan untuk mengatasi cacing kremi, mengobati penyakit ginjal, dan kandung kemih. Masyarakat Minahasa memanfaatkan daun pepaya untuk dikonsumsi sebagai makanan yang dapat meningkatkan nafsu makan, obat malaria, kejang perut, dan mengobati asma. Bunga pepaya dapat digunakan sebagai peluruh haid. Getah pepaya dimanfaatkan mengobati luka iris dengan cara meneteskan getah pada luka (Rukmana, 1995).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, aktivitas terapi yang ditunjukkan oleh biji pepaya antara lain karminatif, obat cacing, peluruh haid, gangguan pencernaan, penyakit kulit, dan agen abortivum (Krishna *et al.*, 2008). Tanaman pepaya juga digunakan sebagai antifertilitas di India dan Cina (Brewis dan Cambie, 1997). Menurut Chinoy (1995), ekstrak air biji pepaya dapat menurunkan motilitas spermatozoa dan laju fertilisasi pada tikus albino jantan. Setelah penyuntikan selama 60 hari, motilitas spermatozoa dan laju fertilisasi menurun hingga 0%. Efek tersebut bersifat sementara dan akan kembali normal setelah tiga bulan kemudian. Pada monyet *langur*, pemberian ekstrak kloroform biji pepaya mengakibatkan azoospermia setelah 90 hari pemberian (Lohiya *et al.*, 2002).

Penelitian serupa menunjukkan bahwa fraksi kromatografi benzena dari ekstrak kloroform biji pepaya menunjukkan keberhasilan kontrasepsi tanpa toksisitas yang merugikan melalui penghambatan motilitas sperma (Lohiya *et al.*, 2008). Selain itu, efek dari ekstrak air biji pepaya dapat menurunkan tingkat kesuburan tikus pada tingkat post-testikular secara signifikan dengan cara mengubah komposisi asam sialat pada epididimis (Verma dan Chinoy, 2001). Ekstrak biji pepaya juga dapat mengganggu fungsi reproduksi pada tikus jantan galur Wistar melalui poros hipofisis-gonad (Udoh *et al.*, 2005). Ekstrak biji pepaya pada dosis 100 mg/kg BB menyebabkan terjadinya degenerasi sel epitelium germinal dan sel germinal, menurunkan jumlah sel leydig serta terdapat vakuola pada tubulus. Pada epididimis terdapat tubulus berisi spermatozoa yang terdegenerasi (Udoh dan Kehinde, 1999).

Menurut Sarifudin (1986) biji pepaya mengandung protein. Protein yang terkandung dalam biji pepaya bersifat proteolitik, sehingga mampu menurunkan viskositas semen. Biji pepaya juga mengandung alkaloid, steroid, triterpenoid, dan flavonoid (Lohiya *et al.*, 2000). Steroid, triterpenoid, dan alkaloid yang terdapat pada biji pepaya memberikan efek sitotoksik yang dapat mengganggu metabolisme sel germinal dan sel spermatogenik (Lohiya *et al.*, 2002). Salah satu alkaloid yang terdapat dalam biji pepaya adalah karpain. Alkaloid karpain termasuk dalam golongan alkaloid piridina dan kelompok alkaloid sejati. Rumus struktur dari karpain

adalah $C_{28}H_{50}N_2O_4$ terdiri dari dua substituen identik yakni cincin piperidin berikatan dengan gugus ester (Brossi dan Cordell, 1992). Struktur kimia karpain ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur kimia karpain (Brossi dan Cordell, 1992)

2.2 Tinjauan tentang Fertilitas dan Antifertilitas

Fertil dapat diartikan subur yaitu memiliki kemampuan untuk bereproduksi dan mampu berkembang menjadi individu baru. Fertilitas memiliki arti kemampuan betina untuk hamil dan melahirkan individu baru yang berasal dari pejantan yang telah membuahnya. Hal ini berhubungan erat dengan kemampuan pasangan sebagai bagian dari kesatuan biologis, fertilitas, dan berbagai hal yang mempengaruhi kedua belah pihak (Hanifa, 2005).

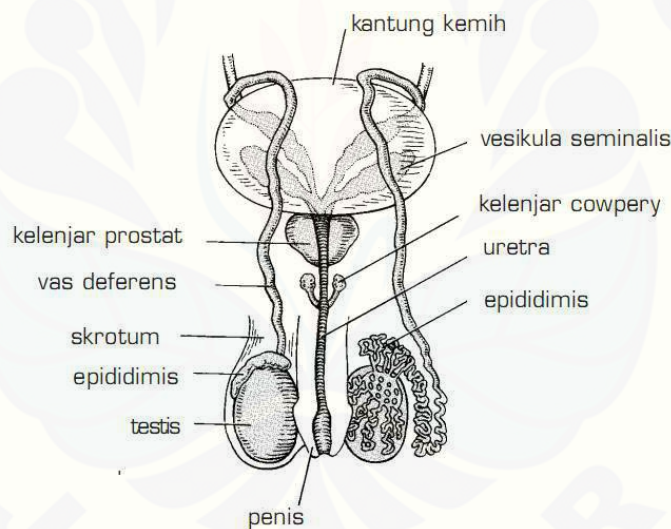
Infertilitas adalah suatu kondisi tidak fertil atau subur yaitu hilangnya kemampuan mamalia dalam menghasilkan keturunan. Bahan yang dapat menghambat proses fertilisasi dengan cara kontrasepsi disebut dengan antifertilitas (Dorland, 1998).

2.3 Sistem Reproduksi Jantan

Fungsi reproduksi pada pria dapat dibagi menjadi tiga subdivisi utama: (1) spermatogenesis, yang berarti pembentukan sperma; (2) kinerja kegiatan seksual pria; dan (3) pengaturan fungsi reproduksi pria dengan berbagai hormon. Fungsi reproduksi ini disertai oleh pengaruh hormon kelamin pria terhadap organ kelamin

tambahan pria, metabolisme sel, pertumbuhan, dan fungsi-fungsi lain (Guyton dan John, 2007).

Sistem reproduksi jantan terdiri atas testis yang dibungkus oleh skrotum, saluran genital (vas eferens, epididimis, dan vas deferens), kelenjar-kelenjar aksesoris (vesikula seminalis, prostat, kelenjar koagulan, ampula, bulbo uretra dan kelenjar prepusium), uretra, dan penis (Rugh, 1968). Organ reproduksi jantan memiliki dua fungsi utama, yang pertama yaitu untuk memproduksi hormon androgen yang mengatur perkembangan genitalia eksterna dan interna, perkembangan kelamin sekunder saat pubertas, serta mengatur libido saat dewasa. Kedua untuk memproduksi sekitar 30 juta spermatozoa setiap hari selama masa reproduktif (Ganong, 2003). Sistem reproduksi jantan dapat diamati pada Gambar 2.2.



Gambar 2.3 Sistem reproduksi jantan (Campbell, 2004)

2.3.1 Organ-Organ Reproduksi Jantan

Organ reproduksi jantan dibagi menjadi dua yaitu organ luar dan organ dalam. Organ reproduksi luar terdiri dari penis dan skrotum, di dalam skrotum terdapat testis, epididimis, dan vas deferens. Sedangkan organ reproduksi dalam terdiri atas epididimis, vas deferens, vesika seminalis, prostat, kelenjar *cowper*, dan uretra (Ganong, 2003).

Skrotum merupakan kantong yang di dalamnya berisi testis. Skrotum berjumlah sepasang yaitu kiri dan kanan, di antara kedua skrotum tersebut dibatasi oleh otot polos (dartos) dan jaringan ikat. Otot dartos berfungsi untuk menggerakkan skrotum sehingga dapat mengerut dan mengendur. Pada skrotum juga terdapat otot kremaster yang merupakan serat-serat otot yang berasal dari otot lurik dinding perut. Otot ini berfungsi sebagai pengatur suhu, karena pada proses spermatogenesis membutuhkan suhu yang stabil, yaitu $1,5-2^{\circ}\text{C}$ di bawah suhu normal tubuh (David dan Dolores, 2007).

Testis merupakan organ reproduksi utama karena menghasilkan sel kelamin jantan atau gamet jantan (spermatozoa) dan hormon kelamin (androgen) (Junquiera, 1998). Terbentuknya spermatozoa dan sekresi androgen berguna untuk mempertahankan integritas aktivitas sistem reproduksi jantan (Soehadi, 1987). Proses terbentuknya spermatozoa dari sel-sel germinal dikenal sebagai spermatogenesis dan berlangsung dalam epitel tubulus seminiferus (Rugh, 1968). Testis terbentuk dari lengkungan tubulus seminiferus yang bergelung, dengan dinding yang merupakan tempat pembentukan spermatozoa dari sel-sel benih primitif. Kedua ujung tiap-tiap lengkungan bermuara ke dalam jaringan duktus di kepala epididimis. Dari sini, spermatozoa berjalan melalui ekor epididimis menuju vas deferens. Spermatozoa masuk melalui duktus ejakulatorius ke dalam uretra di badan prostat pada saat ejakulasi (Ganong, 2008).

Organ aksesoris interna jantan antara lain epididimis, vas deferens, duktus ejakulatorius, dan uretra serta di dalamnya terdapat kelenjar aksesoris yaitu vesikula seminalis, prostat dan kelenjar bulbouretralis. Epididimis merupakan saluran berkelok-kelok di dalam skrotum yang keluar dari testis. Epididimis berjumlah sepasang di sebelah kanan dan kiri. Epididimis dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu kaput (bagian kepala), korpus (bagian badan), dan kauda (bagian ekor). Bagian proksimal saluran epididimis merupakan tempat untuk absorpsi cairan yang dikeluarkan oleh testis dan pematangan spermatozoa, sedangkan bagian distal bekerja sebagai tempat penyimpanan spermatozoa. Secara umum, epididimis memiliki fungsi

utama, yaitu transportasi, pemekatan (konsentrasi), pematangan dan penyimpanan spermatozoa. Epididimis menyimpan sperma dan mampu mempertahankannya sampai enam minggu. Selama enam minggu tersebut, sperma akan menjadi motil, matur sempurna, dan mampu melakukan fertilisasi (Sloane, 2003).

Epididimis merupakan tempat penyimpanan sementara sperma sampai sperma menjadi matang dan bergerak menuju vas deferens. Vas deferens merupakan saluran lurus yang mengarah ke atas dan merupakan lanjutan dari epididimis. Vas deferens tidak menempel pada testis dan ujung salurannya terdapat di kelenjar prostat. Vas deferens berfungsi sebagai saluran tempat jalannya sperma dari epididimis menuju vesikula seminalis (Guyton, 1996).

Vesikula seminalis terdiri atas tabung yang panjangnya 15 cm yang sangat berkelok. Fungsi vesikula seminalis adalah menyekresi mukus yang banyak mengandung fruktosa, selain itu juga mensekresi asam sitrat, prostaglandin, dan fibrinogen (Guyton, 1996). Dinding vesikula seminalis berkontraksi selama ejakulasi dan mendorong isinya ke duktus ejakulatoris, dengan demikian mengeluarkan spermatozoa ke uretra (Heffner, 2008).

Prostat merupakan kelenjar aksesori jantan yang menyelubungi uretra saat keluar dari kandung kemih. Sekresinya merupakan cairan encer bersifat basa yang mengandung ion sitrat, kalsium, ion fosfat, enzim pembeku, dan profibrinolisin. Cairan ini berfungsi untuk menetralkan asiditas vagina selama senggama dan meningkatkan motilitas sperma yang akan optimum pada pH 6,0-6,5 (Guyton, 1996). Sepasang kelenjar bulbouretral (*cowper*) merupakan kelenjar kecil yang ukuran dan bentuknya menyerupai kacang polong. Kelenjar ini menyekresi cairan basa yang mengandung mukus ke dalam uretra penis untuk melumasi dan melindungi uretra (Sloane, 2003).

2.3.2 Hormon yang Berpengaruh pada Reproduksi

Spermatogenesis dipengaruhi oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh organ hipotalamus, hipofisis, dan testis. Pengaturan pembentukan spermatogenesis dimulai

dengan sekresi *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) oleh hipotalamus. Hormon ini selanjutnya merangsang kelenjar hipofisis anterior untuk menyekresikan dua hormon lain yang disebut hormon-hormon gonadotropin, yaitu *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). *Luteinizing hormone* (LH) merupakan rangsangan utama untuk sekresi testosteron pada sel leydig yang diperlukan untuk perkembangan normal sel spermatogenik, sedangkan *follicle stimulating hormone* (FSH) untuk merangsang pertumbuhan testis dan meningkatkan produksi protein pengikat androgen oleh sel sertoli, yang merupakan komponen tubulus testis yang berguna menyokong pematangan sel spermatozoa dalam proses spermatogenesis (Sherwood, 2001).

Pembentukan spermatogenesis dipengaruhi oleh beberapa hormon. Hormon-hormon yang terlibat di antaranya yaitu testosteron, *follicle stimulating hormone* (FSH), *luteinizing hormone* (LH), dan estrogen (Yatim, 1994).

a. Testosteron

Testosteron merupakan salah satu bentuk hormon kelamin pada pria yaitu, androgen. Androgen berasal dari testis dan sebagian diproduksi oleh kelenjar adrenal. Androgen terdiri dari beberapa hormon, yaitu testosteron, hidrotosteron, dan androstenedion. Namun demikian, jumlah testosteron lebih banyak dibandingkan dengan hormon yang lain. Hormon ini memegang peranan penting pada satu tahap penting proses pembelahan sel-sel germinal untuk pembentukan spermatozoa, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Hormon ini mengontrol perkembangan organ reproduksi pria dan ciri kelamin sekunder pada pria berupa pembesaran laring, perubahan suara, pertumbuhan rambut ketiak, pubis, dada, kumis, dan jenggot serta untuk pertumbuhan otot dan tulang (Ascobat, 2008).

b. LH (*Luteinizing Hormone*)

Luteinizing Hormone disekresikan oleh sel karminofil dari kelenjar hipofisis bagian anterior. LH berperan dalam stimulasi sel-sel leydig untuk menyekresi testosteron dan dihasilkannya estradiol (Junqueira, 1998).

c. FSH (*Follicle Stimulating Hormone*)

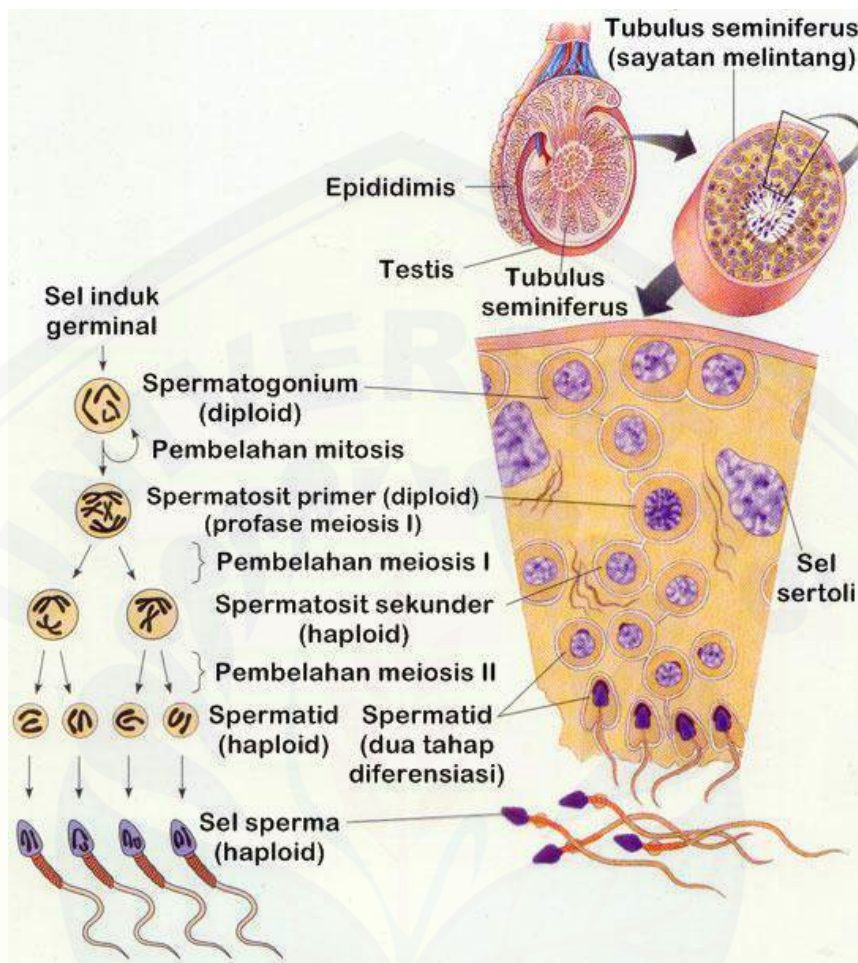
Follicle Stimulating Hormone merupakan hormon yang juga disekresi oleh sel-sel kelenjar hipofisis anterior. FSH merangsang pertumbuhan testis dan meningkatkan produksi protein pengikat androgen (ABP) oleh sel sertoli. Peningkatan ABP ini menyebabkan tingginya konsentrasi testosteron yang penting bagi pembentukan dan pematangan spermatozoa pada proses spermatogenesis. Dengan demikian hormon ini bekerja menyiapkan kadar androgen yang cukup untuk sel germinal dan memacu pendewasaan spermatozoa di dalam epididimis (Junqueira, 1998).

d. Estrogen

Estrogen dibentuk dari testosteron oleh sel-sel sertoli ketika sedang distimulasi oleh FSH. Hormon ini kemungkinan diperlukan pada proses spermiasi. Sel-sel sertoli juga mengsekresikan suatu protein pengikat androgen yang mengikat baik testosteron dan estrogen maupun keduanya ke dalam cairan tubulus seminiferus, yang diperlukan untuk maturasi spermatozoa (Suherman, 2008).

2.4 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses perkembangan spermatogonia menjadi spermatozoa dan berlangsung sekitar 64 hari pada manusia dan 50 hari pada tikus (Niesclag *et al.*, 2001). Spermatogenesis terjadi pada semua tubulus seminiferus selama kehidupan seks aktif, sebagai akibat perangsangan hormon-hormon gonadotropin adenohipofisis dan terus berlangsung selama hidup. Tubulus seminiferus mengandung banyak sel epitel germinativum yang berukuran kecil sampai sedang yang dinamakan spermatogonia, yang terletak di 2/3 lapisan epitel tubulus. Sel-sel ini terus mengalami proliferasi untuk menyempurnakan diri, dan sebagian berdiferensiasi melalui stadium-stadium definitif perkembangan untuk membentuk sperma (Guyton, 1996). Proses spermatogenesis ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.4 Proses spermatogenesis (Canadian Academy, 2014)

Sel germinatif disebut juga spermatogonia (tunggal: spermatogonium), sel-sel ini berada di dasar tubulus, selapis. Spermatogonia berproliferasi terus menerus membentuk sel spermatogenik: spermatosit, spermatid, dan spermatozoa. Spermatogonia adalah sel induk spermatozoa. Spermatogonia bermitosis menjadi spermatogonia. Spermatogonia akan bermitosis berulang-ulang membentuk sel-sel anak yang disebut spermatosit primer. Spermatosit primer mengalami meiosis I membentuk 2 spermatosit sekunder. Setiap spermatosit sekunder mengalami meiosis II sehingga terbentuk 2 spermatid. Spermatid kemudian mengalami transformasi menjadi spermatozoa (Yatim, 1994).

Proses spermatogenesis dikendalikan oleh sistem endokrin. Hormon yang berperan adalah gonadotropin: FSH (hormon pemacu folikel) yang mengawali terjadinya spermatogenesis; hormon perangsang sel interstisial (ICSH) yang mengawali produksi hormon testosteron (Salisbury, 1987).

Spermatogenesis dibagi 3 tahap utama yaitu (1) spermatositogenesis, (2) meiosis, (3) spermiogenesis. Spermatogenesis terjadi secara berkala pada tubulus seminiferus sehingga peristiwa ini disebut juga daur epitel seminiferus. Daur ini diawali dengan spermatositogenesis disusul meiosis kemudian spermiogenesis dan berakhir pada spermiasi yaitu dilepaskannya spermatozoa ke lumen tubulus (Yatim, 1996).

a. Spermatositogenesis

Spermatositogenesis merupakan fase pertama dari proses spermatositogenesis meliputi perkembangan awal sel spermatogonia secara mitosis, dilanjutkan dengan pembelahan meiosis yang menjadikan jumlah kromosom menjadi tinggal setengahnya yaitu dari diploid ($2n$) menjadi haploid (n). Kemudian dilanjutkan dengan dengan pembelahan mitosis dari jumlah sel menjadi dua kalinya. Peristiwa ini berakhir dengan pembentukan spermatid (Salisbury, 1987).

b. Meiosis

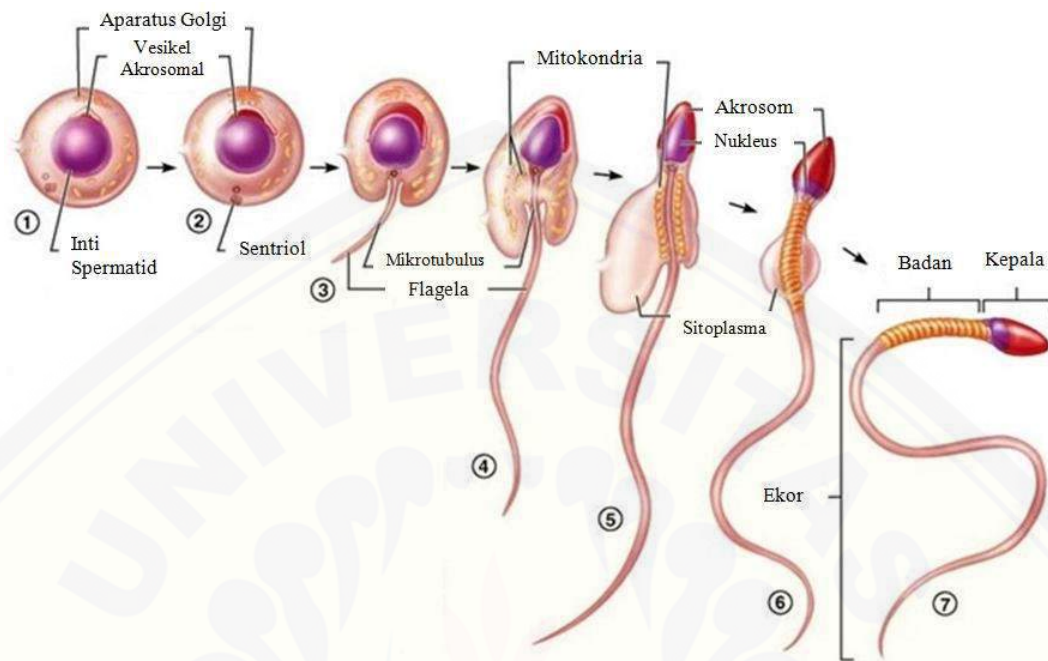
Pembelahan meiosis oleh spermatosit primer dimulai dari meiosis I dan dilanjutkan ke meiosis II. Meiosis I menempuh fase profase, metafase, anafase, dan telofase. Pada tahap profase meiosis I dibagi lagi menjadi 5 sub-tahap, yaitu fase leptoten, zigoten, pakiten, diploten, dan diakinesis yang menghasilkan pemisahan dari kromosom. Dari pembelahan meiosis pertama ini timbul sel berukuran lebih kecil yang disebut spermatosit sekunder (Junquiera, 1998). Meiosis II menempuh fase-fase yang sama seperti meiosis I tetapi profase di sini tidak lagi terbagi dalam sub-tahap. Setelah meiosis II, terbentuk spermatid, meiosis II berlangsung cepat sehingga sulit menemukannya dalam sediaan mikroteknik testis (Yatim, 1996). Proses meiosis menghasilkan pembentukan sel-sel dengan jumlah kromosom yang haploid, dengan fertilisasi mereka akan kembali menjadi diploid normal. Proses meiosis ini

merupakan proses pembelahan reduksi sel karena jumlah kromosom spesies yang konstan (tetap).

c. Spermiogenesis

Spermiogenesis merupakan tahap akhir produksi sperma dan merupakan tahap transformasi yaitu tahap perubahan bentuk dan komposisi spermatid yang bundar menjadi bentuk cebong yang memiliki kepala, leher, dan ekor serta berkemampuan untuk bergerak (Yatim, 1996). Selama proses spermiogenesis berlangsung, tidak terjadi pembelahan sel (Mescher, 2011). Spermiogenesis mencakup pembentukan akrosom, kondensasi, pemanjangan sel inti, pembentukan flagela, dan hilangnya sebagian besar sitoplasma. Hasil akhir dari proses ini adalah spermatozoa matang yang kemudian dilepaskan ke dalam lumen seminiferus (Junqueira, 1998).

Spermiogenesis terbagi menjadi tiga fase, yaitu fase golgi, fase akrosomal, dan fase pematangan. Pada fase golgi akan muncul butiran akrosom yang dilapisi membran dalam gembungan akrosom (*acrosomal vesicle*). Gembungan ini melekat ke salah satu sisi inti yang akan menjadi bagian depan spermatozoa. Pada fase tertutup, gelembung akrosom akan membesar, membentuk lipatan tipis yang melingkupi bagian kutub yang akan menjadi bagian depan, spermatid akan mengalami pemanjangan dan perkembangan akrosom yang akan menutupi separuh hingga 2/3 kranial pada spermatid (Yatim, 1994). Pada fase akrosomal, vesikel dan granula akrosom menyebar untuk menutupi belahan anterior dari inti yang memadat dan kini dikenal sebagai akrosom. Nukleus akan mengecil, menjadi pipih dan memanjang yang kemudian akan menjadi kepala sperma. Perkembangan ekornya berupa pergeseran sitoplasma dan penyusunan kembali mitokondria ke daerah di antara sentriol dasar dan anulus. Di daerah ini, mitokondria tersusun dalam bentuk spiral dan menjadi selubung mitokondrial dari bagian tengah sperma yang sedang berkembang (Gerrit, 1979). Pada fase pematangan, residu sitoplasma dibuang dan difagositosis oleh sel sertoli dan spermatozoa dilepaskan ke dalam lumen tubulus (Junqueira, 1998). Spermiogenesis ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.5 Proses spermiogenesis (Saladin, 1998)

2.5 Spermatozoa

Spermatozoa adalah sel benih jantan yang dihasilkan dalam spermatogenesis ketika hewan jantan sudah dewasa. Spermatozoa mengalami tahap metamorfosis dari sel spermatid yang berbentuk bulat berinti menjadi sel yang mempunyai kepala, leher, dan ekor yang selanjutnya spermatozoa dilepaskan dari testis menuju epididimis. Ketika keluar dari testis spermatozoa belum motil dan akan mengalami pematangan lebih lanjut dalam epididimis. Spermatozoa yang keluar dari epididimis menuju vas deferens menjadi motil dan fertil atau sudah mampu membuahi sel telur dalam fertilisasi.

Spermatozoa merupakan hasil akhir dari proses spermatogenesis. Spermatozoa terdiri atas kepala (berisi inti) dan ekor atau flagelum. Panjangnya sekitar 60 μm dan merupakan sel yang bergerak aktif (motil). Kepala berbentuk lonjong bila tampak dari frontal dan tampak seperti buah pir dari lateral dan ujungnya sempit ke arah anterior. Panjangnya sekitar 5 μm dan lebarnya sekitar 3 μm (Finn, 1994).

Untuk dapat membuahi sel telur, ada beberapa syarat yang harus dipenuhi oleh sperma salah satunya adalah kualitas sperma harus baik (Arsyad dan Hayati, 1994). Kualitas sperma merupakan salah satu unsur penting untuk evaluasi kesuburan jantan. Parameter kualitas sperma antara lain adalah motilitas, viabilitas, dan morfologi sperma.

2.5.1 Motilitas

Gerakan flagelar dari ekor sperma 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 disuplai dalam bentuk ATP yang disintesis oleh mitokondria pada bagian ekor. Sperma normal bergerak dalam garis lurus dengan kecepatan 1-4 mm/menit. Kecepatan ini memungkinkan sperma untuk bergerak melalui traktus genitalia wanita untuk mencapai ovum (Guyton, 1996).

Salah satu syarat bagi spermatozoa untuk dapat membuahi ovum adalah bersifat motil sehingga mampu bergerak dalam organ reproduksi betina untuk mencapai ovum. Oleh karena itu motilitas menjadi parameter penting kualitas spermatozoa, jika nilainya kurang dari normal maka spermatozoa tidak dapat mencapai ovum sehingga tidak terjadi pembuahan (infertil). Pada keadaan normal, motilitas mengalami kemunduran 10-20% dalam waktu 2-3 jam setelah ejakulasi (Soehadi, 1987).

Menurut WHO (2010) motilitas sperma dibagi menjadi 3 kategori yaitu motilitas progresif, motilitas non-progresif, dan tidak motil. Motilitas progresif ditunjukkan dengan adanya pergerakan yang aktif, bergerak linear atau dalam lingkaran yang besar, *regardless*, dan gerakan yang cepat. Gerakan non-progresif ditunjukkan dengan tidak adanya progresi dari setiap pergerakan seperti bergerak dalam lingkaran yang kecil, flagela yang membutuhkan kekuatan besar untuk memindahkan kepala sperma, atau hanya flagela saja yang bergerak. Sedangkan untuk sperma yang tidak motil adalah sperma yang tidak bergerak sama sekali. Pada manusia, sperma dikatakan normal jika lebih dari 40% spermatozoa bergerak dalam

kategori progresif dan nonprogresif atau lebih dari 32% spermatozoa bergerak progresif.

2.5.2 Viabilitas

Spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati karena bisa jadi lingkungan tersebut tidak sesuai seperti pengaruh pH, cahaya, dan udara sehingga spermatozoa tidak bergerak. Jika lingkungannya suatu saat sesuai, kemungkinan spermatozoa dapat bergerak lagi. Sehingga perlu diketahui apakah spermatozoa tersebut hidup, mati, motil atau non motil. Viabilitas adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup setelah dikeluarkan dari organ reproduksi jantan. Kemampuan spermatozoa hidup secara normal setelah keluar dari testis hanya berkisar antara 1-2 menit (Arsyad dan Hayati, 1994).

Viabilitas spermatozoa pada manusia dapat diidentifikasi dengan beberapa metode, salah satunya yang banyak digunakan adalah tes pengecatan. Tes pengecatan menggunakan prinsip bahwa membran plasma akan rusak pada spermatozoa yang telah mati, sehingga dengan pemberian pewarna, membran sel akan menyerap pewarna tersebut dan sel akan terwarnai. Viabilitas dikatakan normal jika 58% atau lebih spermatozoa hidup, yaitu tidak terwarnai pada pengecatan, jika nilainya kurang dari normal maka kemampuan spermatozoa bertahan hidup sangat kecil sehingga kemampuan spermatozoa dalam membuahi ovum juga sangat kecil (WHO, 2010).

2.5.3 Morfologi

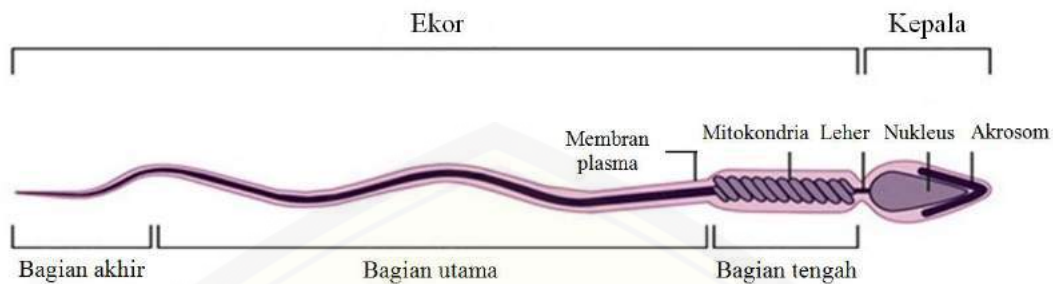
Morfologi dari spermatozoa normal terdiri dari kepala sperma dan ekor sperma. Ekor sperma dibagi menjadi 4 segmen yaitu leher (*neck*), bagian tengah (*midpiece*), bagian utama (*principal piece*), dan bagian ujung (*endpiece*) (WHO, 2010).

Kepala spermatozoa memiliki panjang 4-5 μm , terdiri atas sel berinti padat yang berisi materi genetik (DNA) dengan hanya sedikit sitoplasma dan lapisan membran sel disekitar permukaannya. Di bagian luar, dua pertiga anterior kepala

terdapat selubung tebal yang disebut akrosom yang terutama dibentuk dari badan golgi. Selubung ini mengandung sejumlah enzim yang serupa dengan enzim yang ditemukan pada lisosom sel-sel khusus, termasuk hialuronidase, yang dapat mencerna filamen proteoglikan dari jaringan, dan enzim proteolitik yang sangat kuat, yang dapat mencerna protein. Enzim ini memiliki peranan yang penting sehingga memungkinkan sperma untuk membuahi ovum (Guyton, 1996).

Ekor sperma disebut flagelum memiliki tiga komponen utama, yaitu rangka pusat yang dibentuk dari 11 mikrotubulus, yang secara keseluruhan disebut aksonema, membran sel tipis yang menutupi aksonema, sekelompok mitokondria yang mengelilingi aksonema pada bagian proksimal ekor (Guyton, 1996).

Menurut Geneser (1994) *neck* pada ekor sperma merupakan bagian yang pendek dan melekat pada lempeng basal. Leher berisi sembilan kolom-kolom bersegmen. Langsung di belakang lempeng basal terdapat sentriol proksimal melintang dalam bagian penghubung. Leher sering dikelilingi oleh sisa sitoplasma disebut bercak sitoplasma. *Middle piece* dimulai dari bagian tengah dan sampai dekat ujung yang berisi dua mikrotubulus tunggal di tengah yang dikelilingi oleh sembilan mikrotubulus ganda yang secara keseluruhan disebut aksonema. *Middle piece* diakhiri oleh cincin yang padat disebut anulus. *Principal piece* berisi selubung fibrosa, yang terdiri atas kolom dorsal dan ventral yang berjalan longitudinal yang saling dihubungkan oleh simpai melingkar yang teratur jaraknya. *End piece* tidak mempunyai selubung fibrosa dan serat-serat padat di sebelah luar, hanya mempunyai aksonema, sedikit sitoplasma, dan plasmalema (selaput plasma) yang membungkusnya. Bagian-bagian spermatozoa ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.6 Bagian-bagian spermatozoa (Barrat *et al.*, 2009)

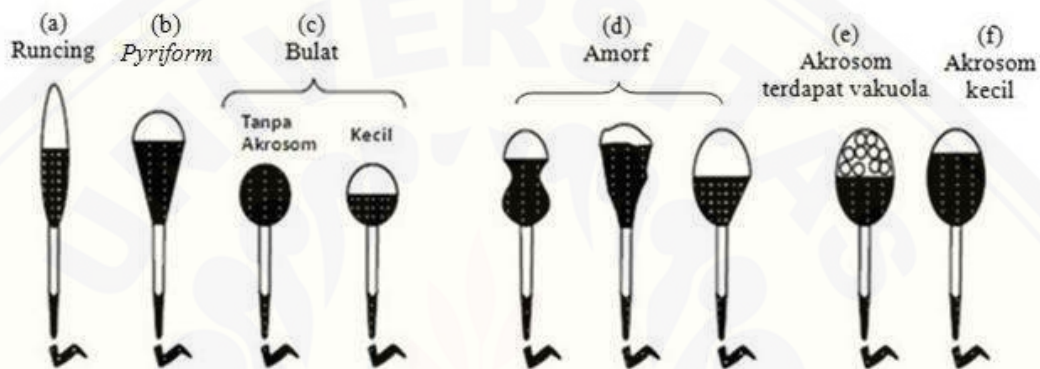
Morfologi spermatozoa merupakan salah satu parameter yang penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karena dapat menentukan kemampuan spermatozoa dalam bergerak dan membuahi sel telur. Jika jumlah abnormalitas atau kelainan morfologi spermatozoa kurang dari normal karena banyaknya organel sel yang rusak maka kemampuan bergerak spermatozoa dalam membuahi sel telur semakin kecil, yang juga dapat menyebabkan infertil. Morfologi bagian kepala spermatozoa erat kaitannya dengan proses reaksi akrosom. Sedangkan untuk bagian ekornya berkaitan dengan motilitas spermatozoa menembus cairan serviks betina (Ganong, 1995).

Menurut WHO (2010) abnormalitas dari morfologi spermatozoa dibagi menjadi 4, yaitu abnormalitas kepala, abnormalitas leher dan *midpiece* (bagian tengah), abnormalitas *principal piece* (bagian utama), dan *excess residual cytoplasm (ERC)*. Abnormalitas kepala contohnya seperti ukuran yang terlalu besar atau kecil, berbentuk meruncing, *pyriform* (bentuk seperti buah pir), adanya vakuola, akrosom terlalu kecil, kepala ganda, atau kombinasi dari contoh-contoh tersebut. Untuk abnormalitas leher dan *midpiece* contohnya adalah letak *midpiece* yang tidak simetris, leher yang bengkok, dan terlalu tebal. Abnormalitas *principal piece* contohnya seperti ekor yang menggulung atau bengkok. Kelainan ERC adalah kelainan spermatozoa yang disebabkan pada proses spermatogenesis, yaitu berlebihnya sitoplasma pada bagian *midpiece* dari spermatozoa sehingga spermatozoa berukuran besar. Perbandingan spermatozoa normal dan abnormal (kelainan morfologi) ditunjukkan pada Gambar 2.6 dan Gambar 2.7.

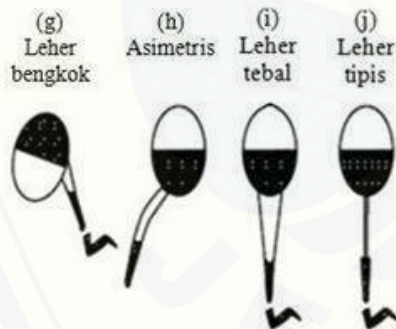


Gambar 2.7 Spermatozoa normal (Sherbahn, 2015)

Abnormalitas bagian kepala



Abnormalitas bagian leher dan bagian tengah



Abnormalitas bagian ekor



Sisa sitoplasma berlebih



Gambar 2.8 Macam-macam abnormalitas spermatozoa (WHO, 2010)

2.5.4 Kuantitas Spermatozoa

Kuantitas spermatozoa dapat dilakukan dengan menghitung jumlah sperma menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* (WHO, 2010). Perhitungan dilakukan pada 5 lapang pandang pada *counting chamber* (Suripto *et al.*, 2000). Jumlah spermatozoa merupakan parameter yang sangat penting dalam menentukan

kuantitas spermatozoa karena dapat mempengaruhi keberhasilan spermatozoa dalam membuahi sel telur pada serviks. Jika jumlahnya kurang dari normal maka kemungkinan terjadinya fertilisasi semakin kecil. Jumlah spermatozoa normal pada tikus jantan ≥ 20 juta/ml (Erris dan Harahap, 2014).



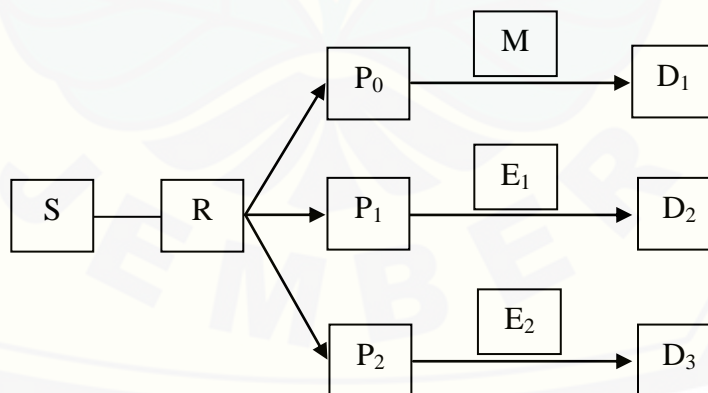
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian pengaruh ekstrak biji pepaya tua dan muda terhadap kualitas dan kuantitas sperma pada tikus jantan galur ini merupakan penelitian *true experimental laboratories*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tertentu yang dibandingkan dengan kelompok yang tidak dikenakan perlakuan atau kelompok kontrol (Notoadmodjo, 2012).

3.2 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode rancangan *post test only control group design* yang terbagi atas 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan dosis masing-masing 100 mg/kg BB secara per oral, diulang sebanyak 6 ekor hewan coba. Rancangan penelitian ini tidak dilakukan *pretest* dan kelompok-kelompok ini dianggap sama sebelum dilakukan perlakuan. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

S : sampel

R : randomisasi

- P₀ : kelompok kontrol (dengan pemberian mucilago CMC-Na 1% selama 20 hari)
- P₁ : kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi ekstrak metanol biji pepaya tua dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- P₂ : kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi ekstrak metanol biji pepaya muda dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- M : pemberian mucilago CMC-Na 1 % selama 20 hari
- E₁ : pemberian suspensi ekstrak metanol biji pepaya tua dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- E₂ : pemberian suspensi ekstrak metanol biji pepaya muda dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- D₁₋₃ : data kelompok P₀, P₁, dan P₂ setelah diberikan perlakuan

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Biomedik bagian Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dimulai pada Bulan September 2013 sampai selesai.

3.4 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian memiliki kriteria yaitu tikus berkelamin jantan galur Wistar, berat badan 100-200 gram berumur 2-3 bulan. Pemilihan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi tiga kelompok. Pada penelitian ini digunakan 18 ekor tikus dimana pada tiap kelompok kontrol dan perlakuan digunakan masing-masing 6 ekor tikus.

3.5 Alat dan Bahan yang Digunakan

3.5.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain: maserator, alat gelas, kertas saring, corong *buchner*, *rotary evaporator*, timbangan digital, sonde, *chamber* pembiusan,

papan fiksasi, jarum, pinset, gunting bedah, pipet thoma, *object glass*, *cover glass*, pipet tetes, kamar hitung Neubauer, mikroskop.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biji pepaya tua, biji pepaya muda, metanol 70%, CMC Na, akuades, kloroform, garam fisiologis (NaCl 0,9%), eosin 1%.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak metanol biji pepaya muda dengan dosis 100 mg/kg BB yang diberikan secara per oral pada masing-masing kelompok perlakuan.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kualitas spermatozoa (motilitas, viabilitas, morfologi) dan kuantitas spermatozoa masing-masing tikus.

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi, kriteria hewan coba, dosis pemberian, pemeliharaan hewan coba, waktu perlakuan, dan proses pengujian antifertilitas.

3.7 Definisi Operasional

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

- a. Jenis pepaya yang digunakan adalah jenis pepaya Bangkok yang diperoleh dari Desa Sukorejo, Kecamatan Bangsalsari, Kabupaten Jember.

- b. Biji pepaya yang digunakan adalah biji pepaya tua dan biji pepaya muda yang telah dikeringkan.
- c. Biji pepaya tua adalah biji berwarna hitam dari buah pepaya yang sudah matang.
- d. Biji pepaya muda adalah biji berwarna putih dari pepaya yang masih muda atau mentah.
- e. Bahan uji dikatakan memiliki efek antifertilitas, jika pada pengamatan didapatkan penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa tikus dari batas normal jumlah kualitas dan kuantitas spermatozoa sesuai WHO (2010).

3.8 Pelaksanaan Penelitian dan Pengambilan Data

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua

Serbuk biji pepaya tua diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol (1 : 6). Serbuk sebanyak 750 gram direndam dengan metanol sebanyak 6 kali dari berat serbuk simplisia (4,5 liter). Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Maserat disaring menggunakan corong gelas dan kertas saring yang ditampung di dalam botol kaca, maserat yang tersisa dipisahkan dari ampasnya menggunakan kertas saring dan corong *buchner*. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotavapour pada suhu 45⁰C hingga didapatkan hasil akhir berupa ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda

Serbuk biji pepaya tua diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol (1 : 6). Serbuk sebanyak 200 gram direndam dengan metanol sebanyak 6 kali dari berat serbuk simplisia (1,2 liter). Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Maserat disaring menggunakan corong gelas dan kertas saring yang ditampung di dalam botol kaca, maserat yang tersisa dipisahkan dari ampasnya menggunakan kertas saring dan corong *buchner*. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotavapour pada suhu 45⁰C hingga didapatkan hasil akhir berupa ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.8.3 Pembuatan Mucilago CMC Na 1%

CMC Na sebanyak 1 gram ditaburkan di atas air panas 20 ml pada mortir (20 kali berat CMC Na) sampai mengembang. Kemudian diaduk sampai terbentuk mucilago dan ditambah air hingga volume 100 ml.

3.8.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak Biji Pepaya Tua dan Ekstrak Biji Pepaya Muda Dosis 100 mg/kg BB

Sebanyak 0,250 gram ekstrak biji pepaya disuspensikan dalam CMC Na 1% sampai 25 ml.

3.8.5 Perlakuan terhadap Hewan Coba

Sejumlah 18 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar ditempatkan dalam kandang dengan pemberian makanan konsentrat dan minum *ad libitum*. Setelah itu, tikus dibagi menjadi 3 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Semua kelompok diberi perlakuan secara per oral selama 20 hari dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Kelompok 1 (P₀) : tikus diberi mucilago CMC Na 1% secara per oral;
- b. Kelompok 2 (P₁) : tikus diberi suspensi ekstrak metanol biji pepaya tua dosis 100 mg/kg BB secara per oral;
- c. Kelompok 3 (P₂) : tikus diberi suspensi ekstrak metanol biji pepaya muda dosis 100 mg/kg BB secara per oral.

Pada hari ke-21, tikus dianestesi dengan cara inhalasi menggunakan kloroform, lalu dilakukan pembedahan untuk mengambil sperma dari kauda epididimis. Kemudian, dilakukan pengamatan terhadap jumlah spermatozoa dan kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa.

3.8.6 Pengukuran Kualitas Spermatozoa

Pengukuran kualitas spermatozoa dilakukan dengan pengamatan terhadap sediaan spermatozoa yang didapatkan dari kauda epididimis dengan pengenceran menggunakan larutan garam fisiologis 0,9% (WHO, 2010).

a. Motilitas

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan segera ketika spermatozoa diambil dari kauda epididimis, karena dikhawatirkan pergerakan spermatozoa kategori progresif tidak dapat diamati jika terlalu lama. Waktu pengamatan motilitas paling lama dilakukan pada 1-2 menit, karena kemampuan spermatozoa hidup secara normal setelah keluar dari testis hanya berkisar pada waktu tersebut (Arsyad dan Hayati, 1994). Pengamatan dilakukan dengan meneteskan sediaan pada hemositometer kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya (Olympus BX53F) dengan pembesaran 400x. Menurut WHO (2010) perhitungan motilitas spermatozoa yang diamati ditentukan dengan beberapa karakteristik, yaitu :

Progresif : spermatozoa bergerak sangat aktif, ditandai dengan adanya pergerakan cepat dan lurus ke depan

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 pada penelitian ini yaitu dengan menghitung jumlah spermatozoa kategori progresif dalam 100 spermatozoa. Pengamatan motilitas perlu dilakukan pertama kali mengingat motilitas spermatozoa mudah mengalami penurunan saat berada di luar tubuh. Perhitungan spermatozoa kategori progresif = $\frac{p}{100} \times 100\%$. Motilitas sperma dikatakan abnormal jika hasil perhitungan kurang dari 32% spermatozoa yang bergerak progresif (WHO, 2010).

b. Viabilitas

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan sediaan spermatozoa pada gelas obyek kemudian ditambah dengan satu tetes eosin 1% lalu

ditutup dengan kaca penutup. Setelah itu preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Kemudian dihitung jumlah spermatozoa yang hidup (tidak dipengaruhi zat warna) dan spermatozoa yang mati (berwarna merah) dalam 100 spermatozoa. Spermatozoa yang dihitung adalah spermatozoa yang tidak menggerombol karena lebih mudah dihitung. Nilai dinyatakan dalam persen. Persentase (%) spermatozoa hidup = $\frac{v}{100} \times 100\%$. Viabilitas dikatakan abnormal jika kurang dari 58% spermatozoa hidup (tidak dipengaruhi zat warna eosin) (WHO, 2010).

c. Morfologi

Pengamatan morfologi spermatozoa dilakukan dengan membuat preparat awetan. Satu tetes sediaan spermatozoa diletakkan pada gelas obyek, ditambah dengan satu tetes formalin 2% lalu dikeringanginkan. Kemudian diberi satu tetes eosin 1% dan ditutup dengan kaca penutup lalu dikeringanginkan. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Dari 100 spermatozoa, dihitung jumlah spermatozoa normal dan abnormal. Pengamatan dilakukan pada kelainan bentuk atau normalitas spermatozoa yang meliputi abnormalitas pada kepala, leher, dan bagian ekor (*midpiece, principal piece, end piece*) (WHO, 2010). Persentase (%) morfologi spermatozoa normal = $\frac{n}{100} \times 100\%$. Morfologi spermatozoa dikatakan abnormal jika jumlah persentase kurang dari 40% (Erris dan Harahap, 2014).

3.8.7 Pengukuran Kuantitas Spermatozoa

Pengukuran kuantitas spermatozoa dilakukan dengan memipet sperma menggunakan pipet thoma (pipet khusus eritrosit skala 0,5). Kemudian sperma diencerkan dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) sampai tanda 101 (pengenceran 200x) lalu dikocok sampai homogen. Larutan semen kemudian ditetaskan pada kamar hitung Neubauer kemudian ditutup dengan *cover glass*. Sediaan tersebut dibiarkan kering agar sel-sel spermatozoa mengendap, sehingga

memudahkan perhitungan. Pemeriksaan dilakukan dengan 5 lapang pandang pada kamar hitung Neubauer di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x (WHO, 2010).

Perhitungan kuantitas spermatozoa yaitu mengalikan jumlah sel sperma yang terhitung dalam 5 kotak dengan pengenceran (101/0,5) dan faktor Neubauer.

$$\text{Jumlah spermatozoa} = N \times P \times 50.000$$

Keterangan:

N : jumlah sel sperma dalam 5 kotak terhitung rata-rata

P : pengenceran 200 kali

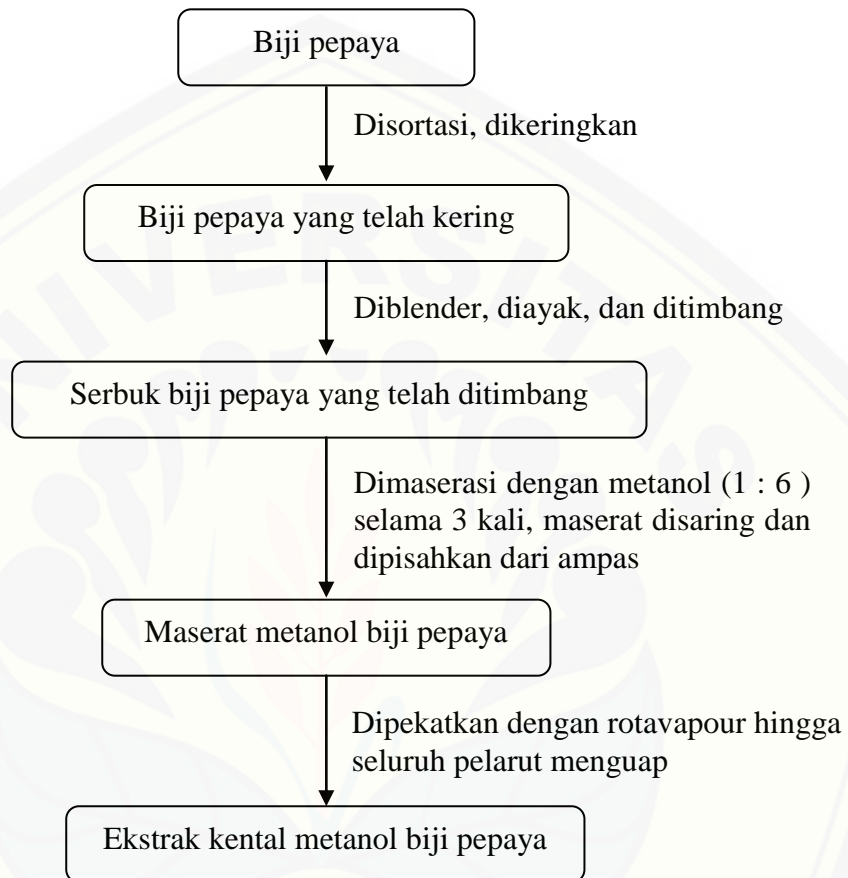
Faktor Neubauer : 50.000

3.9 Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh meliputi motilitas, viabilitas, morfologi, dan jumlah spermatozoa yang dianalisis menggunakan program statistik dengan taraf kepercayaan 95% dan signifikan pada level 0,05. Analisis data statistik dilakukan menggunakan uji parametrik *One-Way* Anova dengan syarat sebaran data harus normal dan homogen. Jika syarat uji terpenuhi dapat dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* menggunakan nilai *LSD* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan signifikan. Namun, jika data yang diperoleh tidak memenuhi syarat uji parametrik, maka dilakukan uji non parametrik sebagai uji alternatif yaitu uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Abnormalitas morfologi spermatozoa juga disajikan dalam bentuk mikrofoto.

3.10 Skema Pelaksanaan Penelitian

3.10.1 Skema Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak metanol biji pepaya muda dengan langkah kerja yang sama

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak metanol biji pepaya muda dengan dosis 100 mg/kg BB berpengaruh menurunkan kualitas (motilitas, viabilitas, dan morfologi) serta kuantitas (jumlah) spermatozoa tikus putih jantan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.
2. Kelompok perlakuan yang memiliki efek antifertilitas yang lebih baik antara ekstrak metanol biji pepaya tua dan ekstrak metanol biji pepaya muda adalah kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak metanol biji pepaya muda karena memiliki kemampuan lebih tinggi dalam menurunkan kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas, viabilitas, dan morfologi serta kuantitas (jumlah) spermatozoa tikus putih jantan.

5.2 Saran

Dari hasil kesimpulan di atas, penulis menyarankan perlu dilakukan pengembangan penelitian menggunakan ekstrak biji pepaya muda dalam kaitannya dengan efek antifertilitas dalam menurunkan kualitas dan kuantitas spermatozoa dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam biji pepaya muda sebagai agen antifertilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, A. 2013. Papaya-Ayurveda's Medical Wonder. <http://homeofayurveda.org/papaya-ayurvedas-medicinal-wonder/> [17 Januari 2016].
- Adimunca, C. 1996. *Kemungkinan Pemanfaatan Ekstrak Buah Pare sebagai Bahan Kontrasepsi Pria*. Jakarta: Puslitbang PT Kalbe Farma.
- Arsyad, K. M. & Hayati, L. 1994. *Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Sperma-Getah Serviks*. Palembang: Universitas Sriwijaya.
- Ascobat, P. 2008. *Androgen, Antiandrogen, dan Antibiotik Steroid*. Dalam: *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Gaya Baru.
- Ashfahani, E. D., Wiratmini, N. I., & Sukmaningsih, A. A. S. A. 2010. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe.). *Jurnal Biologi*. Vol. XIV, No. 1: 20-23.
- Ashok, P., & Meenakshi, B. 2004. Contraceptive Effect of *Curcuma longa* (L.) in Male Albino Rat. *Asian Journal of Andrology*. Vol. 6: 71-74. <http://www.asiaandro.com/archive/1008-682x/6/71.htm>. [20 Juni 2016].
- Barrat, C. L. R., Vanessa, K., & Oxenham, S. K. 2009. The Human Spermatozoon-a Stripped Down but Refined Mechine. *Journal of Biology*. Vol. 8 (7): 63.
- Brossi, A. & Cordell, G.A. 1992. *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology Vol. 41*. California: Academic Press.
- BPOM RI. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta: BPOM RI Deputy Bidang Pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik, dan Produk Komplemen. Direktorat Obat Asli Indonesia.
- BPOM RI. 2012. *Sediaan Antifertilitas*. Direktorat Obat Asli Indonesia. Hal 40-45.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2012. *Perkembangan Beberapa Indikator Utama Sosial-Ekonomi Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Brewis, A. & Cambie, R. C. 1997. *Anti-fertility Plants of the Pasific*. Melbourne: CSIRO.

- Campbell, R. N. A. & Mitchell. 2004. *Biology Concept and Connection Fifth Edition*. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Canadian Academy. 2013. *HL2 Biology Ferguson Reproduction*. <https://sites.google.com/a/canacad.ac.jp/hl2-biology-ferguson/09-reproduction/11-4-reproduction> [27 Oktober 2015].
- Christijanti, W. 2009. Penurunan Jumlah dan Motilitas Spermatozoa Setelah Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (Kajian Potensi Biji Papaya sebagai Bahan Kontrasepsi Alternatif). *Biosaintifika*. Vol.1 (1): 19-26.
- David, G. & Dolores, S. 2007. *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology 8th Edition*. United States: Lange Mc Graw-Hill.
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Jilid IV*. Jakarta: Depkes RI.
- Dorland. 1998. *Kamus Saku Kedokteran Dorland Edisi 25*. Alih Bahasa: dr. Poppy Kumala, dr. Sugiarto Komala, dr. Alexander H. Santoso, dr. Johannes Rubijanto Sulaiman, dr. Yuliasari Rienita. Jakarta: EGC.
- Ermayati, N. G. A., Manik, & Rai, S. N. M. 2010. Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Perlakuan Infusa Kayu Amargo (*Quassia amara* L.) dan Pemulihannya. *Jurnal Biologi*. Vol. 14 (1): 45-49.
- Erris & Harahap, I. 2014. Pengaruh Kebisingan terhadap Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Dewasa. *Media Litbangkes*. Vol. 24 (3): 123-128.
- Finn, G. 1994. *Buku Teks Histologi Jilid 2*. Terjemahan oleh Gunawijaya A. Jakarta: Binapura Aksara.
- Ganong, M. D. & William, F. 1995. *Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan Adji Dharma. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Ganong, M. D. & William, F. 2003. *Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan Ken Ariadi. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Ganong, M. D. & William, F. 2008. *Fisiologi Kedokteran Edisi 22*. Terjemahan Brahm U. Pendit. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Ganong, W. F. 2001. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Gerard H, Gerard A, EnNya, Felden, & Gueant. 1994. Spermatogenic Cells do internalize Sertoli Androgen-Binding Protein. A Transmission Electron Microscopy Autoradiographic Study in The Rat. *Endocrinology*. Vol. 134: 15-27.
- Guyton, A. C. & John, E. 1996. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Alih Bahasa: dr. Petrus Andrianto. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guyton, A. C. & John, E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Editor Bahasa Indonesia oleh Irawati Setiawan. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guyton, A. C. & John, E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Editor Bahasa Indonesia oleh Luqman Yanuar Rahman. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hanifa, W. 2005. *Ilmu Kandungan*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Heffner, L. J. & Schust, D. J. 2008. *The Reproductive System at a Glance Second Edition*. Alih Bahasa: dr. Vidhia Umami. Jakarta: Erlangga.
- Integrated Taxonomic Informed System. 2011. *Report: Taxonomic Hierarchy- Carica papaya L*. <http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/> [18 Agustus 2015].
- Junquiera, L. C., Corneiro, J., & Kelley, R.O. 1998. *Histologi Dasar*. Terjemahan Jan Tamboyang. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Krishna, K. L., Paridhavi, M., & Patel, J. A. 2008. Review on Nutritional, Medicinal and Pharmacological Properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.). *Review Paper*. Vol. 7 (4): pp 364-373.
- Lohiya, Kothari, Manivannan, Mishra, & Pathak. 2000. Human Sperm Immobilization Effect of *Carica papaya* Seed Extracts: An In Vitro Study. *Asian Journal of Andrology*. Vol. 2: 103-109.
- Lohiya, Manivannan, Goyal, & Ansari. 2008. Sperm Motility Inhibitory Effect of The Benzene Chromatographic Fraction of The Chloroform Extract of The Seeds of *Carica papaya* in Langur Monkey (*Prebytis entellus*). *Asian Journal of Andrology*. Vol. 10 (2): 298-306.
- Lohiya, Manivannan, Mishra, Pathak, Sriram, Bhande, & Panneerdoss. 2002. Chloroform Extract of *Carica papaya* Seeds Induces Long-term Reversible

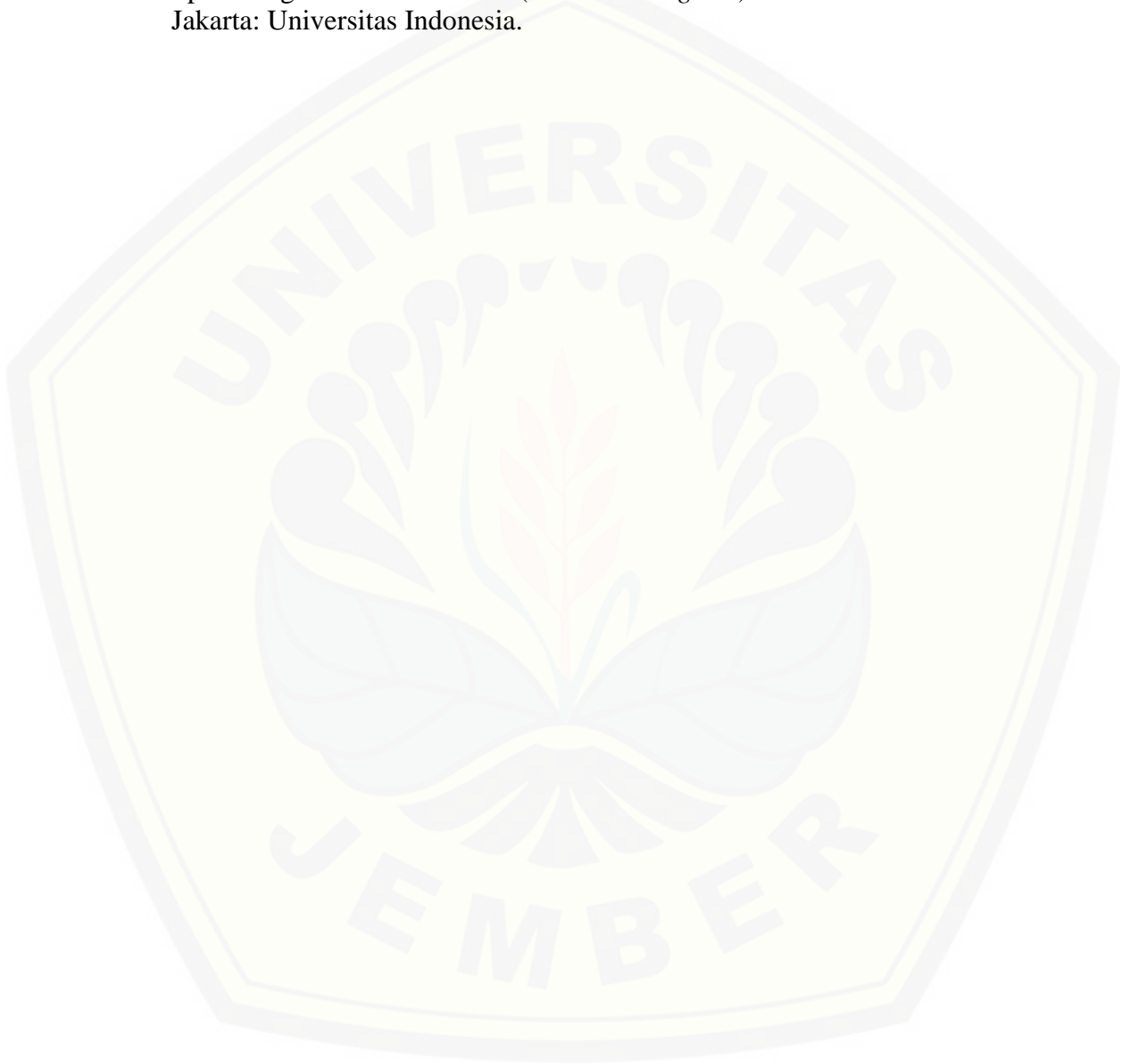
- Azoospermia in Langur Monkey. *Asian Journal of Andrology*. Vol. 4 (1): 17-26.
- Mescher, A. L. 2011. *Histologi Dasar Junqueira: Teks & Atlas*. Edisi 12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Mochtar, R. 1998. *Sinopsis Obstetri Operatif Sosial*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Moeloek, N. 2002. *Perkembangan Kontrasepsi Pria*. Pertemuan Ilmiah Tahunan XIV Perkumpulan Andrologi Indonesia. Denpasar. 11-14.
- Muhlisah, F. 2002. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Mulyono, L. M. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol. 2 (2): 1-9.
- Niesclag, E. & Behre, H. M. 2001. *Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction Second Edition*. New York: Springer.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nuraini, T., Kusmana, D., & Afifah, E. 2012. Penyuntikan Ekstrak Biji *Carica papaya* L. Varietas Cibinong pada *Macaca fascicularis* L. dan Kualitas Spermatozoa serta Kadar Hormon Testosteron. *Makara Jurnal Kesehatan*. Vol. 16 (1): 9-16.
- Pudney, J. 1986. Fine Structural Change in Sertoli and Leydig Cells During The Reproductive Cycle of The Ground Squirrel, *Citellus lateralis*. *Journal Reproduction Fertility*. Vol. 77: 37-49
- Purwaningsih, E. 1996. Pemisahan Spermatozoa dengan Teknik Gradien Percoll Dua Lapis dan Pengaruhnya terhadap Fungsi Spermatozoa. *Thesis Magister Sains*. FKUI. Jakarta.
- Puspitasari, Y. & Suhita, B. M. 2014. Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya*) sebagai Bahan Antifertilitas Alternatif pada Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah dan Kualitas Sel Telur. *Veterinaria Medika*. Vol. 7: 1-6.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse: Its Reproduction and Development*. Minncapolis: Burgess Publishing Co.

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*: Bandung. ITB.
- Rukmana, R. 1995. *Pepaya: Budidaya dan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Saladin, K. S. 1998. *Anatomy and Physiology The Unity of Form and Function Third Edition*. New York: Mc Graw Hill High Higher Education.
- Salisbury, G. W. 1987. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Sarifudin, Salmiati, & Zulkarnain. 1986. Pengaruh Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn) terhadap Spermatogenesis Mencit. Dalam Soejono, S. (Ed.). *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Pandi 1986*. Yogyakarta: Perkumpulan Andrologi Indonesia.
- Satriyasa, B. K. & Pangkahila, W.I. 2010. Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda Menghambat Spermatogonia Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Jurnal Veteriner*. Vol 11 (1): 36-40.
- Sekretaris Negara Republik Indonesia. 1992. *Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 10 Tahun 1992 tentang Perkembangan Kependudukan dan Pembangunan Keluarga Sejahtera*. <http://jdih.ristek.go.id/?q=system/files/perundangan/1832106386> [11 Januari 2016].
- Sherbahn, R. 2015. *Human Sperm Morphology from Fertility Center of Chicago*. <http://www.advancedfertility.com/sperm-morphology-pictures.htm> [17 Januari 2016].
- Sherwood, L. 2004. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem (Edisi 2)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sloane, E. 2003. *Anatomi dan dan Fisiologi Untuk Pemula*. Diterjemahkan oleh Veldam J. Jakarta: EGC.
- Soehadi, K. 1987. "Faal Sistem Reproduksi Pria". Dalam Koentjoro Soehadi dan Hudi Winarso (Eds.). *Arah Pemeriksaan Laboratorium Andrologi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Soehadi, K. & Arsyad, K. M. 1983. *Analisis Sperma*. Surabaya: Airlangga University Press 16-24.

- Stanier, M. W. & Forsling, M. 1990. *Physiological Processes: An Introduction to Mammalian Physiologi*. England: Mc Graw-Hill Book Company.
- Sujoko, H., Setiadi, M. A., & Boediono, A. 2009. Seleksi Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Journal Veteriner Unsud*. Vol. 10 (3): 125-134.
- Sukadana, I. M., Santi, S. R., & Juliarti, N. K. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Kimia*. Vol. 2 (1): 15-18.
- Suripto, Sutasurya, Hasanuddin, & Adi. 2000. Pengaruh Prostaglandin F2 α terhadap Fertilitas Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan. *Journal of Management and Sustainability (JMS)*. Vol. 5 (2): 69-81.
- Udoh, P. & Kehinde, A. 1999. Studies on Antifertility Effect of Pawpaw Seeds (*Carica papaya*) on The Gonads of Male Albino Rat. *Phytotherapy Research*. Vol. 13 (3): 226-228.
- Udoh, P. Essien, I. & Udoh, F. 2005. Effects of *Carica papaya* (Pawpaw) Seed Extract on The Morphology of Pituitary-Gonadal Axis of Male Wistar Rats. *Phytotherapy Research*. Vol. 19: pp 1065-1068.
- Verma, R. J. & Chinoy, N. G. 2001. Effect of Papaya Seed Extract on Microenvironment of Cauda Epididymis. *Asian Journal of Andrology*. Vol. 3.
- Verma, R. J. & Chinoy, N. J. 2002. Effect of Papaya Seed Extract on Cotractile Response of Cauda Epididymal Tubules. *Asian Journal of Andrology*. Vol. 4 (1): 77-78.
- Wijayakusuma, Dalimartha, Wirian, Saputra, & Wibowo. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia Jilid 3*. Jakarta: Pustaka Kartini..
- Wilopo, S. A. 2006. Perkembangan Teknologi Kontrasepsi Pria Terkini. Dalam: Gema Pria. <http://pikas.bkkbn.go.id/gemapria/article-detail.php> [11 Januari 2016].
- World Health Organization (WHO). 2010. *WHO Laboratory Manual for The Examination and Processing of Human Semen Fifth Edition*. Geneva: WHO Press.
- Yatim, W. 1994. *Reproduksi & Embriologi*. Bandung: Tarsito

Yatim, W. 1996. *Histologi*. Bandung: Tarsito.

Yurnadi, Sari, Pujianto, & Soeradi. 2002. Pengaruh Penyuntikan Ekstrak Biji Papaya (*Carica papaya* L.) terhadap Konsentrasi Spermatozoa dan Keadaan Sel Spermatogenik Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) strain LMR. *Artikel Ilmiah*. Jakarta: Universitas Indonesia.



LAMPIRAN

A. Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Percobaan dan Manusia*)

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,1	124,2	287,0
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 g	0,04	0,25	0,44	1,0	2,20	2,4	4,5	14,2
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Dikutip dari: Paget & Barnes. 1964. *A Pharmacometrics "Evaluation of Drug Activities"*. New York: Academics Press.

*) Digunakan untuk perkiraan konversi dosis dari spesies hewan yang satu terhadap hewan yang lain dengan satuan dosis perbobot bahan tertentu.

B. Volume Maksimal Pemberian Larutan Sediaan Uji pada Beberapa Hewan Uji

Jenis Hewan Uji	Volume maksimal (ml) sesuai jalur pemberian				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
Mencit (20-30 g)	0,5	0,05	1,0	0,5 - 1,0	1,0
Tikus (100 g)	1,0	0,1	2 - 5	2 - 5	5,0
Hamster (50 g)	-	0,1	1 - 2	2,5	2,5
Marmut (250 g)	-	0,25	2 - 5	5,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5 - 10	0,5	10 - 20	5 - 10	20,0
Kucing (3 kg)	5 - 10	1,0	10 - 20	5 - 10	50,0
Anjing (5 kg)	10 - 20	5,0	20 - 50	10,0	100,0

Dikutip dari: Ritschell. 1974. *Laboratory Manual of Biopharmaceutics*. Hamilton: Drug Intelligence Publication.

C. Perhitungan Rendemen Ekstrak

1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Biji Pepaya Tua

Bobot simplisia biji pepaya tua = 750 gram

Volume metanol yang digunakan = $\frac{6}{1} \times 750 \text{ g} = 4500 \text{ ml}$

Berat ekstrak yang diperoleh = 67,6406 gram

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

2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Biji Pepaya Muda

Bobot simplisia biji pepaya muda = 200 gram

Volume metanol yang digunakan = $\frac{6}{1} \times 200 \text{ g} = 1200 \text{ ml}$

Berat ekstrak yang diperoleh = 27,4761 gram

Rendemen yang diperoleh = $\frac{27,48}{200} \text{ g} \times 100\% = 13,74\%$

3. Perhitungan Volume dan Dosis Pemberian Sediaan Uji

Dosis sediaan uji 100 mg/kg BB = 10,0 mg/100 g BB

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram = 2 ml

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah
 $10,0 \text{ mg}/100 \text{ g} \times 2 \text{ ml} = 20 \text{ mg}$ sediaan dalam 2 ml suspensi.

Konsentrasi suspensi = 20 mg/2 ml

= 1 g/100 ml

= 1 % b/v

D. Data Hasil Pengamatan Motilitas, Viabilitas, Morfologi, dan Jumlah Spermatozoa

1. Data Motilitas Spermatozoa (%)

Replikasi	Kontrol Negatif	Ekstrak Biji Pepaya Tua	Ekstrak Biji Pepaya Muda
1	61	26	17
2	66	22	13
3	64	27	10
4	68	24	11
5	67	31	13
6	63	28	15
Rata-rata ± SD	64,8 ± 2,64	26,3 ± 3,14	13,2 ± 2,56

2. Data Viabilitas Spermatozoa (%)

Replikasi	Kontrol Negatif	Ekstrak Biji Pepaya Tua	Ekstrak Biji Pepaya Muda
1	76	29	24
2	81	34	20
3	74	32	23
4	72	35	26
5	79	38	21
6	77	30	27
Rata-rata ± SD	76,5 ± 3,27	33,0 ± 3,35	23,5 ± 2,74

3. Data Morfologi Spermatozoa (%)

Replikasi	Kontrol Negatif	Ekstrak Biji Pepaya Tua	Ekstrak Biji Pepaya Muda
1	82	37	24
2	79	35	22
3	81	39	29
4	77	36	21
5	87	42	26
6	78	33	32
Rata-rata ± SD	80,7 ± 3,61	37,0 ± 3,16	25,7 ± 4,23

4. Data Jumlah Spermatozoa (juta/ml)

Replikasi	Kontrol Negatif	Ekstrak Biji Pepaya Tua	Ekstrak Biji Pepaya Muda
1	65	34	20
2	77	31	18
3	73	35	22
4	80	33	21
5	75	32	26
6	68	30	24
Rata-rata ± SD	73,0 ± 5,62	32,5 ± 1,87	21,8 ± 2,86

E. Data Analisis Statistik

1. Motilitas Spermatozoa

Case Processing Summary

	perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
motilitas	kontrol negatif	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya tua	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya muda	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

Descriptives

Perlakuan		Statistic	Std. Error	
motilitas	kontrol negatif	Mean	64.8333	1.07755
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	62.0634	
		Upper Bound	67.6033	
		5% Trimmed Mean	64.8704	
		Median	65.0000	
		Variance	6.967	
		Std. Deviation	2.63944	
		Minimum	61.00	
		Maximum	68.00	
		Range	7.00	
		Interquartile Range	4.75	
		Skewness	-.319	
	Kurtosis	-1.171	1.741	
ekstrak biji pepaya tua	Mean	26.3333	1.28236	
	95% Confidence Interval for Mean			
	Lower Bound	23.0369		

	Interval for Mean Upper Bound	29.6297	
	5% Trimmed Mean	26.3148	
	Median	26.5000	
	Variance	9.867	
	Std. Deviation	3.14113	
	Minimum	22.00	
	Maximum	31.00	
	Range	9.00	
	Interquartile Range	5.25	
	Skewness	.120	.845
	Kurtosis	-.034	1.741
ekstrak biji pepaya muda	Mean	13.1667	1.04616
	95% Confidence Lower Bound	10.4774	
	Interval for Mean Upper Bound	15.8559	
	5% Trimmed Mean	13.1296	
	Median	13.0000	
	Variance	6.567	
	Std. Deviation	2.56255	
	Minimum	10.00	
	Maximum	17.00	
	Range	7.00	
	Interquartile Range	4.75	
	Skewness	.366	.845
	Kurtosis	-.571	1.741

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
motilitas	kontrol negatif	.171	6	.200*	.966	6	.863
	ekstrak biji pepaya tua	.131	6	.200*	.993	6	.995
	ekstrak biji pepaya muda	.193	6	.200*	.963	6	.844

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

motilitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.131	2	15	.879

c. Uji One Way ANOVA

ANOVA

motilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8650.111	2	4325.056	554.494	.000
Within Groups	117.000	15	7.800		
Total	8767.111	17			

d. Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

motilitas

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound

kontrol negatif	ekstrak biji pepaya tua	38.50000*	1.61245	.000	35.0631	41.9369
	ekstrak biji pepaya muda	51.66667*	1.61245	.000	48.2298	55.1035
ekstrak biji pepaya tua	kontrol negatif	-38.50000*	1.61245	.000	-41.9369	-35.0631
	ekstrak biji pepaya muda	13.16667*	1.61245	.000	9.7298	16.6035
ekstrak biji pepaya muda	kontrol negatif	-51.66667*	1.61245	.000	-55.1035	-48.2298
	ekstrak biji pepaya tua	-13.16667*	1.61245	.000	-16.6035	-9.7298

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

2. Viabilitas Spermatozoa

Case Processing Summary

	Perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
viabilitas	kontrol negatif	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya tua	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya muda	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

Descriptives

Perlakuan			Statistic	Std. Error
viabilitas	kontrol negatif	Mean	76.5000	1.33542
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	73.0672	
		Upper Bound	79.9328	
		5% Trimmed Mean	76.5000	
		Median	76.5000	
		Variance	10.700	

		Std. Deviation	3.27109	
		Minimum	72.00	
		Maximum	81.00	
		Range	9.00	
		Interquartile Range	6.00	
		Skewness	.000	.845
		Kurtosis	-.757	1.741
	ekstrak biji pepaya tua	Mean	33.0000	1.36626
		95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	29.4879	
		Upper Bound	36.5121	
		5% Trimmed Mean	32.9444	
		Median	33.0000	
		Variance	11.200	
		Std. Deviation	3.34664	
		Minimum	29.00	
		Maximum	38.00	
		Range	9.00	
		Interquartile Range	6.00	
		Skewness	.336	.845
		Kurtosis	-.781	1.741
	ekstrak biji pepaya muda	Mean	23.5000	1.11803
		95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	20.6260	
		Upper Bound	26.3740	
		5% Trimmed Mean	23.5000	
		Median	23.5000	
		Variance	7.500	
		Std. Deviation	2.73861	
		Minimum	20.00	
		Maximum	27.00	

	Range	7.00	
	Interquartile Range	5.50	
	Skewness	.000	.845
	Kurtosis	-1.541	1.741

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
viabilitas	kontrol negatif	.111	6	.200*	.990	6	.990
	ekstrak biji pepaya tua	.148	6	.200*	.969	6	.886
	ekstrak biji pepaya muda	.153	6	.200*	.958	6	.801

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

viabilitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.151	2	15	.861

c. Uji One Way ANOVA

ANOVA

viabilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9583.000	2	4791.500	488.929	.000
Within Groups	147.000	15	9.800		
Total	9730.000	17			

d. *Post Hoc Tests***Multiple Comparisons**

viabilitas

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	ekstrak biji pepaya tua	43.50000*	1.80739	.000	39.6476	47.3524
	ekstrak biji pepaya muda	53.00000*	1.80739	.000	49.1476	56.8524
ekstrak biji pepaya tua	kontrol negatif	-43.50000*	1.80739	.000	-47.3524	-39.6476
	ekstrak biji pepaya muda	9.50000*	1.80739	.000	5.6476	13.3524
ekstrak biji pepaya muda	kontrol negatif	-53.00000*	1.80739	.000	-56.8524	-49.1476
	ekstrak biji pepaya tua	-9.50000*	1.80739	.000	-13.3524	-5.6476

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

3. Morfologi Spermatozoa**Case Processing Summary**

	perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
morfologi	kontrol negatif	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya tua	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya muda	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

Descriptives

		Perlakuan	Statistic	Std. Error	
morfologi	kontrol negatif	Mean	80.6667	1.47573	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 76.8732 Upper Bound 84.4602		
		5% Trimmed Mean	80.5185		
		Median	80.0000		
		Variance	13.067		
		Std. Deviation	3.61478		
		Minimum	77.00		
		Maximum	87.00		
		Range	10.00		
		Interquartile Range	5.50		
		Skewness	1.166	.845	
		Kurtosis	1.339	1.741	
		ekstrak biji pepaya tua	Mean	37.0000	1.29099
			95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 33.6814 Upper Bound 40.3186	
	5% Trimmed Mean		36.9444		
	Median		36.5000		
	Variance		10.000		
	Std. Deviation		3.16228		
	Minimum		33.00		
	Maximum		42.00		
Range	9.00				
Interquartile Range	5.25				
Skewness	.569	.845			
Kurtosis	.148	1.741			
	ekstrak biji	Mean	25.6667	1.72562	

pepaya muda	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	21.2308	
		Upper Bound	30.1025	
	5% Trimmed Mean		25.5741	
	Median		25.0000	
	Variance		17.867	
	Std. Deviation		4.22690	
	Minimum		21.00	
	Maximum		32.00	
	Range		11.00	
	Interquartile Range		8.00	
	Skewness		.538	.845
	Kurtosis		-.998	1.741

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
morfologi	kontrol negatif	.189	6	.200*	.914	6	.466
	ekstrak biji pepaya tua	.167	6	.200*	.979	6	.949
	ekstrak biji pepaya muda	.153	6	.200*	.950	6	.743

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

morfologi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.372	2	15	.695

c. Uji *One Way ANOVA*

ANOVA

morfologi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10120.444	2	5060.222	370.863	.000
Within Groups	204.667	15	13.644		
Total	10325.111	17			

d. *Post Hoc Tests*

Multiple Comparisons

morfologi

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	ekstrak biji pepaya tua	43.66667*	2.13264	.000	39.1211	48.2123
	ekstrak biji pepaya muda	55.00000*	2.13264	.000	50.4544	59.5456
ekstrak biji pepaya tua	kontrol negatif	-43.66667*	2.13264	.000	-48.2123	-39.1211
	ekstrak biji pepaya muda	11.33333*	2.13264	.000	6.7877	15.8789
ekstrak biji pepaya muda	kontrol negatif	-55.00000*	2.13264	.000	-59.5456	-50.4544
	ekstrak biji pepaya tua	-11.33333*	2.13264	.000	-15.8789	-6.7877

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

4. Jumlah Spermatozoa

Case Processing Summary

	Perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
kuantitas	kontrol negatif	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya tua	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	ekstrak biji pepaya muda	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

Descriptives

Perlakuan		Statistic	Std. Error		
kuantitas	kontrol negatif	Mean	73.0000	2.29492	
		95% Confidence Interval for Mean	67.1007		
		Lower Bound			
		Upper Bound	78.8993		
		5% Trimmed Mean	73.0556		
		Median	74.0000		
		Variance	31.600		
		Std. Deviation	5.62139		
		Minimum	65.00		
		Maximum	80.00		
		Range	15.00		
		Interquartile Range	10.50		
		Skewness	-.375		.845
		Kurtosis	-1.067		1.741
ekstrak biji pepaya tua		Mean	32.5000	.76376	
		95% Confidence Interval for Mean	30.5367		
		Lower Bound			
		Upper Bound	34.4633		
		5% Trimmed Mean	32.5000		

	Median		32.5000	
	Variance		3.500	
	Std. Deviation		1.87083	
	Minimum		30.00	
	Maximum		35.00	
	Range		5.00	
	Interquartile Range		3.50	
	Skewness		.000	.845
	Kurtosis		-1.200	1.741
ekstrak biji pepaya muda	Mean		21.8333	1.16667
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	18.8343	
		Upper Bound	24.8323	
	5% Trimmed Mean		21.8148	
	Median		21.5000	
	Variance		8.167	
	Std. Deviation		2.85774	
	Minimum		18.00	
	Maximum		26.00	
	Range		8.00	
	Interquartile Range		5.00	
	Skewness		.250	.845
	Kurtosis		-.465	1.741

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kuantitas	kontrol negatif	.167	6	.200*	.965	6	.857
	ekstrak biji pepaya tua	.122	6	.200*	.982	6	.961
	ekstrak biji pepaya muda	.143	6	.200*	.989	6	.987

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

kuantitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.185	2	15	.070

c. Uji One Way ANOVA

ANOVA

kuantitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8744.111	2	4372.056	303.147	.000
Within Groups	216.333	15	14.422		
Total	8960.444	17			

*d. Post Hoc Tests***Multiple Comparisons**

kuantitas

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	ekstrak biji pepaya tua	40.50000*	2.19258	.000	35.8266	45.1734
	ekstrak biji pepaya muda	51.16667*	2.19258	.000	46.4933	55.8400
ekstrak biji pepaya tua	kontrol negatif	-40.50000*	2.19258	.000	-45.1734	-35.8266
	ekstrak biji pepaya muda	10.66667*	2.19258	.000	5.9933	15.3400
ekstrak biji pepaya muda	kontrol negatif	-51.16667*	2.19258	.000	-55.8400	-46.4933
	ekstrak biji pepaya tua	-10.66667*	2.19258	.000	-15.3400	-5.9933

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

D. Dokumentasi Penelitian



Proses pemekatan ekstrak dengan *rotary evaporator*



Ekstrak kental biji pepaya tua



Ekstrak kental biji pepaya muda



Pembuatan suspensi ekstrak biji pepaya



Sediaan suspensi ekstrak biji pepaya



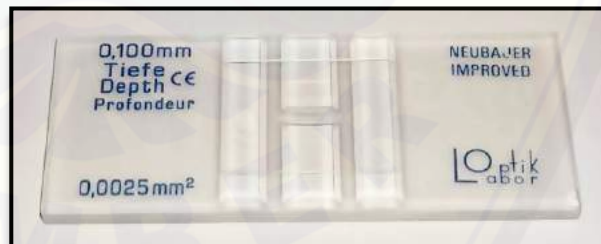
Proses penyondean bahan uji



Proses pembedahan



Pengenceran spermatozoa menggunakan pipet thoma



Pengamatan sperma dengan kamar hitung Neubauer