



**PENGARUH EKSTRAK METANOL, FRAKSI N-HEKSANA,
DAN FRAKSI METANOL BIJI PEPAYA (*Carica Papaya L.*)
TERHADAP KADAR HORMON TESTOSTERON
DAN BOBOT ORGAN REPRODUKSI TIKUS JANTAN**

SKRIPSI

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

Oleh

Dwi Puspita Sari
NIM 102210101062

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2014**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Nurlaili dan Ayahanda Mulyono yang selalu mencurahkan kasih sayang, mengajarkan arti hidup, kesabaran, keikhlasan, dan ketegaran serta atas segala doa disetiap langkahku untuk mencapai mimpi hingga detik ini ;
2. Kakak penulis, Mungky Eka Hermani atas doa, teladan, dan dukungan serta Adik penulis, Triana Kurnia Putri atas doa, keceriaan, dan motivasi yang diberikan;
3. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi atas ilmu pengetahuan dan bimbingan;
4. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.

(terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 153) ^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia.1998. Al Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT Kumusdasmoro Grafindo.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Puspita Sari

NIM : 102210101062

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (Carica Papaya L.) terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan* 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, 13 Mei 2014

Yang menyatakan,

Dwi Puspita Sari

NIM 102210101062

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK METANOL, FRAKSI N-HEKSANA,
DAN FRAKSI METANOL BIJI PEPAYA (*Carica Papaya L.*)
TERHADAP KADAR HORMON TESTOSTERON
DAN BOBOT ORGAN REPRODUKSI TIKUS JANTAN**

Oleh

Dwi Puspita Sari

NIM 102210101062

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Wiratmo, Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (Carica Papaya L.) terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan* telah di uji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 13 Mei 2014

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Dosen Pembimbing Utama,



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

Dosen Pembimbing Anggota,



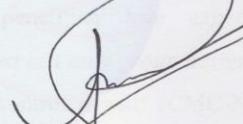
Drs. Wiratmo, Apt.
NIP 195910271998021001

Dosen Penguji I,



Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198107232006042002

Dosen Penguji II,



M. Amrun Hidayat., S.Si., Apt., M.Farm.
NIP 197801262001121007



Mengesahkan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



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

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan; Dwi Puspita Sari, 102210101062, 2014; 58 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Pertambahan populasi penduduk yang tidak terkendali merupakan salah satu permasalahan Indonesia. Pemerintah Indonesia mengatasi pertumbuhan penduduk yang tidak terkendali dengan melakukan program Keluarga Berencana (KB). Pelaksanaan KB bertujuan mencegah kesuburan pasangan suami-istri usia subur melalui alat kontrasepsi. Ekstrak metanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) diketahui memiliki aktivitas antifertilitas dan berpengaruh terhadap hormon testosteron serta bobot organ reproduksi. Kandungan senyawa aktif yang diduga bertanggung jawab ialah alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Fraksi metanol dan fraksi n-heksana biji pepaya diharapkan juga dapat menunjukkan aktivitas yang sama dengan ekstrak metanol yang telah diketahui aktivitas antifertilitasnya. Penelitian ini juga untuk mengetahui bagaimanakah pengaruh ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi.

Penelitian yang dilaksanakan merupakan penelitian *true experimental laboratories* dan rancangan yang digunakan adalah *post test only group design*. Tikus jantan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (CMC-Na 1%), kelompok perlakuan ekstrak metanol biji pepaya (dosis 100 mg/kg BB), kelompok perlakuan fraksi n-heksana biji pepaya (dosis 100 mg/kg BB), dan kelompok perlakuan fraksi metanol biji pepaya (dosis 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 mengambil organ testis, epididimis, vesika seminalis, dan prostat tikus jantan serta pengukuran kadar hormon testosteron. Hasil penelitian diuji statistik menggunakan *One-Way Anova* dan

dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat penurunan kadar hormon testosteron pada perlakuan ekstrak metanol dan fraksi metanol biji pepaya jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Kelompok perlakuan fraksi metanol biji pepaya memiliki kadar hormon terendah dibanding kelompok perlakuan yang lain. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan ekstrak metanol dan fraksi metanol biji pepaya untuk parameter kadar hormon testosteron dilihat dari nilai p yaitu $p < 0,05$. Sedangkan pada pengujian parameter bobot organ reproduksi tidak terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai $p > 0,05$. Sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya tidak menurunkan bobot organ reproduksi tikus jantan.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi metanol biji pepaya dapat menurunkan kadar hormon testosteron namun pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya tidak menurunkan bobot organ reproduksi tikus jantan. Dari ketiga perlakuan yang diberikan dalam dosis yang sama, fraksi metanol biji pepaya lebih poten dalam menurunkan kadar hormon testosteron dibandingkan ekstrak metanol dan fraksi n-heksana biji pepaya.

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi.

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

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Ibunda Nurlaili dan Ayahanda Mulyono tercinta, terimakasih atas segala pengorbanan, dukungan, kasih sayang, dan doa yang tiada henti diberikan pada penulis hingga detik ini serta Kakak Mungky Eka Hermani dan Adik Triana Kurnia Putri yang telah mendukung, mendoakan, dan memotivasi penulis selama ini;
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 Bapak Drs. Wiratmo, Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota karena telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penyelesaian skripsi;
5. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt., M.Farm. selaku Dosen Penguji I dan Bapak M. Amrun Hidayat., S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Penguji II yang telah memberi saran dan kritik;
6. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., Apt dan Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menempuh studi;

7. Rekan kerja skripsi Fadilah, Mbak Rizka, Novi, Galuh, Novita, Mbak Bino, serta Mbak Indri dan Mbak Dinik atas segala semangat, dukungan, ilmu, canda tawa, serta pengalaman;
8. Teman dekat penulis Bagus Novian Prasetyo, terima kasih selalu mendampingi, mengingatkan, dan menyemangati;
9. Sahabat-sahabatku Zora, Imas, Rizqy, Inda Meilina, Analisa, dan Hanifia, atas keceriaan, kehangatan dan bantuan selama ini;
10. Teman-teman Fakultas Farmasi angkatan 2010 tercinta, Bang Udin, Alief, Dian Pitaloka, Wimala, Irwin, Mandy atas kebersamaan 4 tahun ini;
11. Teman-teman kos Muslimah Meyladia, Nisa, Rara, Cephi, Puspita, dan Lintang;
12. Teman-teman BEM Fakultas Farmasi Universitas Jember atas pengalaman organisasi paling berharga;
13. Teman-teman KKN Desa Candijati teman KKN Kecamatan Arjasa, terima kasih atas kebersamaan 47 hari.

Hanya ucapan terimakasih yang dapat penulis sampaikan. Dan apabila ada saran dan kritik membangun yang ingin disampaikan, penulis akan sangat berterima kasih.

Penulis harap penelitian ini bisa bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, 13 Mei 2014

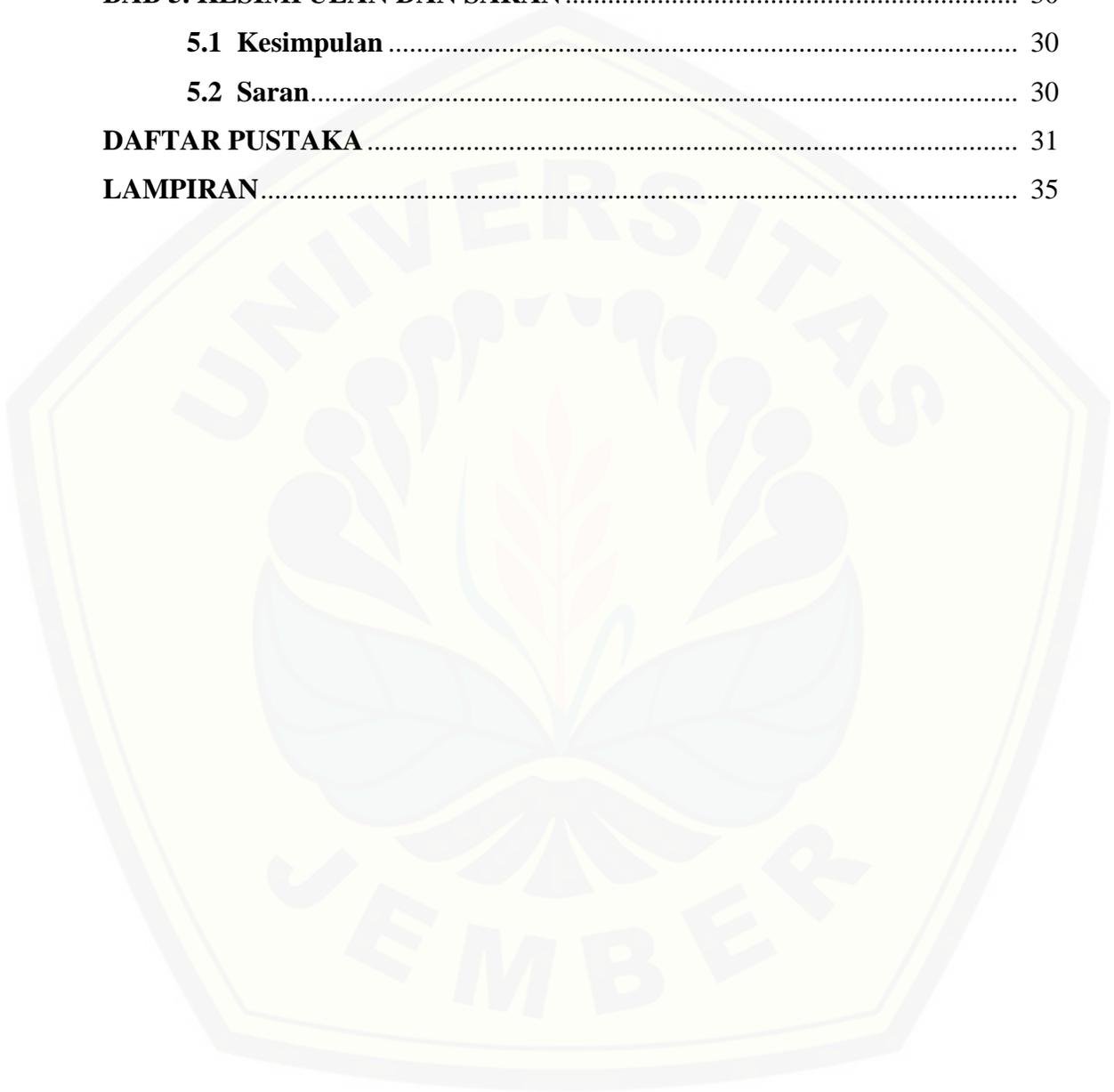
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan tentang Pepaya	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya	4
2.1.2 Deskripsi Tanaman Pepaya	4
2.1.3 Kegunaan dan Kandungan Kimia Biji Pepaya.....	5
2.2 Tinjauan tentang Fertilitas dan Antifertilitas	6
2.3 Sistem Organ Reproduksi Jantan	7
2.4 Tinjauan tentang Hormon Testosteron	11
BAB 3. METODE PENELITIAN	15

3.1 Jenis Penelitian	15
3.2 Rancangan Penelitian	15
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.4 Jumlah Sampel	16
3.5 Alat dan Bahan	16
3.5.1 Alat Penelitian	16
3.5.2 Bahan Penelitian.....	17
3.5.3 Subjek Uji.....	17
3.6 Variabel Penelitian	17
3.6.1 Variabel Bebas	17
3.6.2 Variabel Terikat	17
3.6.3 Variabel Terkendali.....	17
3.7 Definisi Operasional	18
3.8 Pelaksanaan Penelitian dan Pengambilan Data	18
3.8.1 Persiapan Ekstrak Metanol Biji Pepaya	18
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya.....	19
3.8.3 Pembuatan Fraksi N-heksana dan Fraksi Metanol Biji Pepaya ..	19
3.8.4 Pembuatan Mucilago CMC-Na 1%	19
3.8.5 Pembuatan Suspensi Ekstrak dan Fraksi Biji Pepaya	19
3.8.6 Perlakuan Terhadap Hewan Coba.....	20
3.8.7 Preparasi Serum Uji	20
3.8.8 Pengukuran Kadar Testosteron	21
3.8.9 Pengukuran Berat Organ Reproduksi.....	21
3.9 Analisis Data	21
3.10 Skema Penelitian	21
3.10.1 Skema Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya	21
3.10.2 Skema Pembuatan Fraksi Biji Pepaya.....	22
3.10.3 Skema Pelaksanaan Uji Antifertilitas.....	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24

4.1 Kadar Hormon Testosteron	24
4.2 Bobot Organ Reproduksi	27
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	35



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Buah pepaya (<i>Carica papaya</i> L.).....	5
2.2 Sistem reproduksi jantan.....	9
2.3 Proses spermatogenesis.....	11
2.4 Struktur kimia testosteron.....	12
2.5 Pengaturan umpan balik aksis hipotalamus-hipofisis-testis pada pria.....	13
3.1 Skema rancangan penelitian.....	15
3.2 Skema pembuatan ekstrak metanol biji pepaya.....	21
3.3 Skema pembuatan fraksi n-heksana dan fraksi metanol biji pepaya.....	22
3.4 Skema perlakuan hewan coba.....	23
4.1 Kadar hormon testosteron kelompok perlakuan \pm SD.....	25
4.2 Struktur kimia Carpain.....	26
4.3 Bobot organ reproduksi kelompok perlakuan \pm SD.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Tabel Berat Badan Hewan Uji	35
B. Perhitungan	35
C. Data Hasil Perhitungan Kadar Hormon Testosteron dan Penimbangan Organ Reproduksi	36
D. Data Analisis Statistik	38
E. Dokumentasi Penelitian	42

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertambahan populasi penduduk yang tidak terkendali merupakan salah satu permasalahan yang dihadapi oleh negara berkembang (Brewis dan Cambie, 1997). Indonesia sebagai salah satu negara berkembang juga mengalami permasalahan tersebut. Berdasarkan sensus penduduk tahun 2010, jumlah penduduk Indonesia mencapai 237.641.326 jiwa (Badan Pusat Statistik, 2010). Jumlah penduduk yang terus meningkat ini dapat mempengaruhi kehidupan sosial karena jumlah penduduk yang besar memerlukan perhatian dalam penyediaan bahan pangan, pendidikan, kesehatan, dan lapangan kerja. Oleh karena itu, permasalahan peningkatan jumlah penduduk harus diatasi agar tidak mengakibatkan permasalahan lain seperti meningkatnya pengangguran, kemiskinan, dan lain-lain.

Pemerintah Indonesia berupaya untuk mengurangi angka kelahiran melalui program Keluarga Berencana (KB). Untuk melaksanakan program KB dibutuhkan adanya metode kontrasepsi. Saat ini program Keluarga Berencana masih menjadikan perempuan sebagai sasaran utama, sedangkan laki-laki belum berperan aktif. Oleh karena itu, sasaran KB perlu diperluas kepada laki-laki, sehingga suami dapat menggantikan istri apabila istri tidak dapat mengikuti program KB dengan alasan kesehatan. Menurut Sumaryati (2004), metode kontrasepsi khususnya untuk laki-laki antara lain kondom, senggama terputus (*coitus interruptus*), dan vasektomi. Namun metode kondom, senggama terputus, dan vasektomi memiliki beberapa kekurangan. Penggunaan kondom juga dapat menyebabkan alergi dan iritasi pada kulit, sedangkan senggama terputus dapat mengurangi kenikmatan seksual bagi suami istri. Pelaksanaan vasektomi tidak secara langsung efektif karena memerlukan waktu yang cukup setelah sperma benar-benar tidak ditemukan berdasarkan hasil analisis semen. 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, yaitu aman bagi kesehatan, dapat menurunkan jumlah spermatozoa, mempunyai efek samping sekecil-kecilnya, dapat dipulihkan kembali dalam jangka waktu tertentu, dan bekerja spesifik (Ermayanti, 2000).

Biji pepaya diketahui memiliki aktivitas antifertilitas. Kothari *et al.* (2003) menyatakan bahwa ekstrak air biji pepaya dapat mempengaruhi fertilitas sperma tikus putih jantan. Penelitian Verma dan Chinoy (2001) menjelaskan bahwa ekstrak air biji pepaya yang diberikan secara intramuskular mempengaruhi komposisi senyawa dalam epididimis pada tikus albino jantan. Dalam penelitian Lohiya (2002) diketahui bahwa ekstrak kloroform biji pepaya dapat menyebabkan degenerasi sel leydig, sel sertoli, serta menghambat pematangan sel germinal dalam testis. Fraksi n-heksana dan fraksi metanol biji pepaya memiliki kemampuan dalam menghambat proses spermatogenesis (Satriyasa dan Pangkahila, 2010). Apabila biji pepaya berpengaruh terhadap fungsi reproduksi jantan maka biji pepaya berpengaruh juga terhadap hormon reproduksi jantan serta bobot organ reproduksi jantan. Hormon testosteron merupakan hormon reproduksi jantan yang berperan dalam proses spermatogenesis, pematangan sperma, serta pengaturan libido untuk mempertahankan kejantanan pria. Sedangkan bobot organ reproduksi merupakan indikator adanya kerusakan sel dan disfungsi organ reproduksi (Bella dan Tom, 2008). Untuk itulah pengaruh biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi jantan perlu diteliti lebih lanjut.

Penelitian aktivitas antifertilitas ekstrak biji pepaya telah banyak dilakukan sehingga penelitian perlu dikembangkan terhadap fraksi-fraksi ekstrak biji pepaya. Fraksi ekstrak biji pepaya yang akan digunakan pada penelitian ini adalah fraksi n-heksana dan fraksi metanol biji pepaya. Pelarut n-heksana dipilih sebagai pelarut

untuk mengetahui bagaimanakah pengaruh yang ditimbulkan oleh biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron bila dalam bentuk fraksi non-polar. Sedangkan pelarut metanol dipilih sebagai pelarut untuk mengetahui bagaimanakah pengaruh yang ditimbulkan oleh biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron bila dalam bentuk fraksi polar. Fraksi metanol nantinya dibandingkan dengan ekstrak metanol untuk mengetahui bagaimanakah pengaruh yang ditimbulkan oleh biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron bila dalam bentuk ekstrak maupun dalam bentuk fraksi yang menggunakan pelarut yang sama.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron tikus jantan?
2. bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya terhadap bobot organ reproduksi pada tikus jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini yaitu:

1. mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron tikus jantan; dan
2. mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya terhadap bobot organ reproduksi pada tikus jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang dapat diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. mengembangkan ekstrak biji pepaya dalam berbagai fraksi sebagai agen antifertilitas untuk alternatif dalam metode kontrasepsi;
2. memberi kontribusi bagi peneliti lain untuk mengembangkan penelitian ini.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Pepaya

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Pepaya

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

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

2.1.2 Deskripsi Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya berbentuk pohon, tumbuh tegak, tinggi 2,5-10 m, serta bergetah. Batang pepaya bulat berongga di bagian tengah, kulit batang memiliki tanda bekas tangkai daun. Daun berkumpul di ujung batang, warna bagian atas hijau tua, warna bagian bawah daun hijau muda, tangkai daun bulat silindris, cuping daun berlekuk tidak betaturan, dan tulang daun menyirip (Wijayakusuma, 1984). Bunga pepaya merupakan bunga banci atau berkelamin tunggal, aktinomorf, memiliki dasar bunga berbentuk lonceng. Daunnya merupakan daun mahkota lima dimana pada bunga jantan berlekatan menjadi buluh yang pendek atau bebas. Buahnya memiliki daging yang tebal dan lunak saat buah sudah tua. Biji memiliki endosperm dan lembaga yang lurus. 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; Tjiptosoepomo, 1991).



Gambar 2.1 Buah pepaya (*Carica papaya* L.)

2.1.3 Kegunaan dan Kandungan Kimia Biji Pepaya

Hampir semua bagian tanaman pepaya memiliki kegunaan dan digunakan oleh manusia. 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). Di Vietnam, Malaysia, dan Meksiko biji pepaya digunakan sebagai peluruh haid serta agen aborsi jika dikonsumsi pada masa awal kehamilan (Brewis dan Cambie, 1997).

Tanaman pepaya juga digunakan sebagai antifertilitas di India dan Cina (Brewis dan Cambie, 1997). Ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dapat mengurangi populasi spermatogonium dan spermatis primer tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) (Yuniardi, 2001). 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). 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).

Menurut Duke (1992) biji pepaya mengandung berbagai macam senyawa kimia, antara lain karpain, asam oleat, asam palmitat, asam linoleat, asam stearat, asam miristat, lemak, serat, karbohidrat, protein, *behenic acid*, *benzylsenevol*, caricin, *hexadecenoic acid*, myrosin, dan *adenoic acid*. Sarifudin (1986) berpendapat bahwa protein yang terkandung dalam biji pepaya bersifat proteolitik, sehingga mampu menurunkan viskositas semen. 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).

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 atau abortivum disebut dengan antifertilitas (Anonim, 2002).

2.3 Sistem dan Organ Reproduksi Jantan

Secara anatomi organ reproduksi jantan terdiri atas testis atau gonad, saluran genital (vas eferens, epididimis, dan vas deferens), kelenjar asesoris (vesikula seminalis, prostat, kelenjar koagulan, ampula, bulbo-uretra), uretra, dan penis (Rugh, 1968).

Testis merupakan organ reproduksi yang paling utama bagi individu jantan karena menghasilkan gamet jantan (spermatozoa) dan hormon steroid (androgen) (Junquiera, 1998). Terbentuknya spermatozoa dan terjaminnya hormon steroid berguna untuk mempertahankan integritas aktivitas sistem reproduksi pria (Soehadi, 1987). Proses terbentuknya spermatozoa dari sel-sel germinal (spermatogonium) berlangsung dalam tubulus seminiferus dan dikenal sebagai proses spermatogenesis (Rugh, 1968). Lebih lanjut Rugh menjelaskan bahwa spermatogenesis tikus dimulai dari munculnya primordium sel gamet jantan pada hari ke delapan kehamilan. Waktu yang diperlukan spermatogonium untuk menjadi sperma yang siap keluar dari tubulus adalah 35,5 hari.

Setelah terbentuk dalam tubulus seminiferus, spermatozoa akan dialirkan ke epididimis. Epididimis terdiri dari bagian kepala (*caput*), badan (*corpus*), dan ekor (*cauda*) (Frandsen, 1992). Spermatozoa dialirkan oleh cairan yang banyak disekresikan oleh sel sertoli. Cairan ini selain berisi sperma juga mengandung hormon testosteron yang berasal dari testis. Dalam epididimis, cairan ini akan diabsorpsi. Selain itu, epididimis juga mengeluarkan sekret seperti *carnitine*, *glycerylphosphorilcoline*, serta glikoprotein yang akan melapisi permukaan membran sperma (Johnson dan Everitt, 1988).

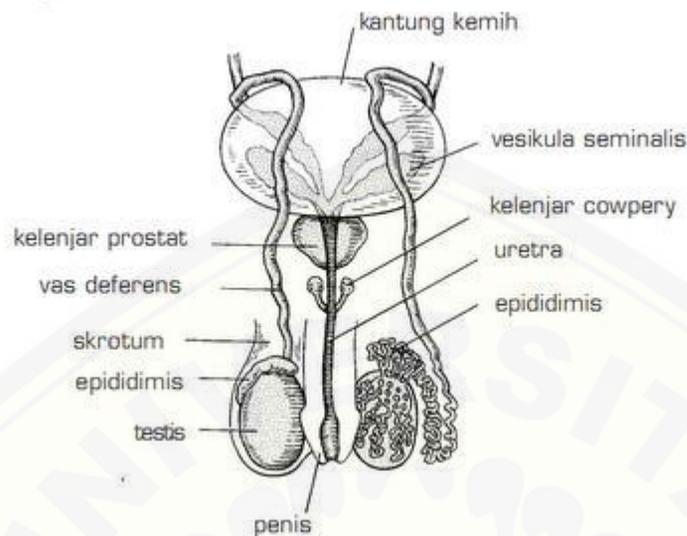
Spermatozoa sewaktu meninggalkan tubulus seminiferus mempunyai butiran sitoplasma yang membalut bagian leher. Hal ini merupakan tanda bahwa sperma itu masih muda. Dalam perjalanannya melewati duktus epididimis, spermatozoa mengalami pematangan (maturasi) (Partodiharjo, 1992). Selama pematangan spermatozoa mengalami perubahan-perubahan pada ukuran bentuk, ultrastruktur akrosom, struktur organisasi mitokondria, bagian tengah spermatozoa, kadar DNA,

pola metabolik, sifat imunitas, sifat membran plasma, dan daya tahan terhadap perubahan fisikokimia (Ermayanti, 2000). Proses ini distimulasi oleh hormon testosteron. Spermatozoa selanjutnya ditampung di vas deferens sebelum diejakulasi (Johnson dan Everitt, 1988).

Spermatozoa yang telah mengalami pematangan akan dikeluarkan pada waktu ejakulasi bersama-sama dengan produk kelenjar asesoris dalam bentuk semen. Sedangkan spermatozoa yang tidak mengalami ejakulasi akhirnya akan mengalami fagositosis dalam epididimis (Frandsen, 1992).

Kelenjar asesoris vesikula seminalis mengeluarkan sekret ke dalam duktus ejakulatoris sesaat setelah vas deferens mengeluarkan sperma. Sekret ini mengandung fruktosa, fosforilkolin, ergotionein, asam askorbat, flavin, dan prostaglandin. Sekret ini menambah bagian terbesar semen yaitu 60% volume total dan merupakan zat gizi bagi sperma sampai salah satu dari sperma tersebut membuahi ovum (Guyton, 1997).

Kelenjar prostat menghasilkan sekret berupa spermin, asam sitrat, kolesterol, fosfolipid, fibrinolisin, fibrinogenase, prostaglandin, asam fosfatase, kalsium, magnesium, dan seng (Guyton, 1997; Soehadi, 1987). Sekresi dari kelenjar prostat memberi bau yang khas dari cairan semen (Frandsen, 1992). Kelenjar prostat berkontraksi sejalan dengan kontraksi vas deferens sehingga cairan (sekret) dikeluarkan dan meningkatkan motilitas dan fertilitas spermatozoa (Guyton, 1997).



Gambar 2.2 Sistem reproduksi jantan (Campbell, 2004)

Proses pembentukan sperma dalam sistem reproduksi jantan disebut proses spermatogenesis. 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

Merupakan fase pertama dari proses spermatositogenesis meliputi perkembangan awal sel spermatogonia secara mitosis, disusul dengan pembelahan meiosis yang menjadikan jumlah kromosom menjadi tinggal setengahnya yaitu dari diploid menjadi haploid. Kemudian dilanjutkan dengan

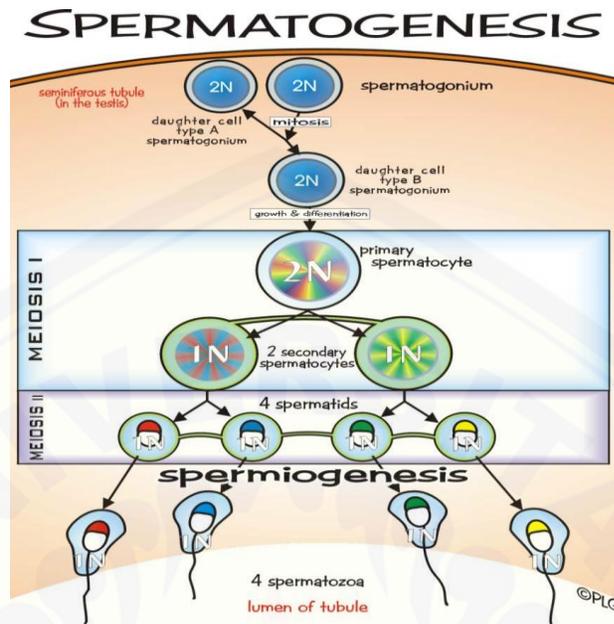
dengan pembelahan mitosis dari jumlah sel menjadi dua kalinya. Peristiwa ini berakhir dengan pembentukan spermatid (Salisbury, 1987). Spermatogenesis disebut juga tahap proliferasi. Dalam tahap ini spermatogonia A membelah membentuk spermatogonia 1n dan membelah pula membentuk spermatogonia B. Spermatogonia B bermitosis membentuk spermatosit primer (Yatim, 1996).

b. Meiosis

Terdiri atas dua fase utama yaitu meiosis I dan meiosis II. Meiosis I menempuh fase profase, metafase, anafase dan telofase. Profase meiosis dibagi atas lima sub fase berikut leptoten, zigoten, pakhiten, diploten dan diakinesis. Meiosis II menempuh fase-fase yang sama seperti meiosis I tetapi profase disini tidak lagi terbagi-bagi dalam sub bab. Selesai 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 akan kembali menjadi diploid normal. Pada proses meiosis ini karena merupakan proses pembelahan reduksi sel menjamin jumlah kromosom spesies yang konstan (tetap).

c. Spermiogenesis

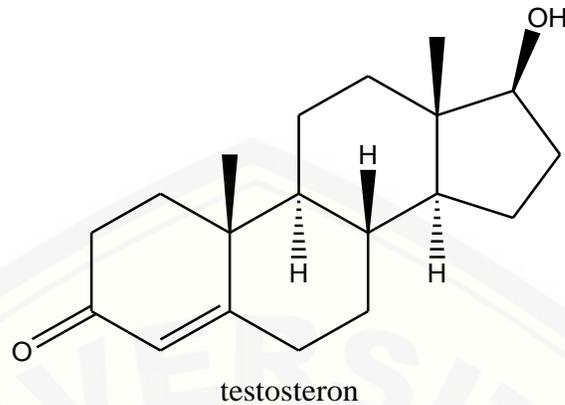
Spermatid mengalami metamorfosis dan mengalami perubahan menjadi spermatozoa muda. Inti spermatid berada di bagian anterior sel dekat perifer tubulus seminiferus dan jauh dari lumennya (Salisbury, 1987). Spermiogenesis disebut juga tahap transformasi yaitu tahap perubahan bentuk dan komposisi spermatid yang bundar menjadi bentuk cebong yang memiliki kepala, leher dan ekor serta berkemampuan untuk bergerak (motil) (Yatim, 1996).



Gambar 2.3 Proses spermatogenesis (Campbell, 2004)

2.4 Tinjauan tentang Hormon Testosteron

Testosteron termasuk dalam golongan hormon steroid, yang disekresikan oleh testis. Testis mensekresi beberapa hormon kelamin pria, yang secara keseluruhan disebut androgen, meliputi testosteron, dihidrotestosteron, dan androstenedion. Testosteron jumlahnya lebih banyak dari yang lainnya sehingga dapat dianggap sebagai hormon testis yang penting. Testosteron dibentuk oleh sel-sel interstisial leydig yang terletak di celah-celah antar tubulus seminiferus. Testosteron banyak disekresi pada pria dewasa setelah pubertas. Testosteron disekresikan oleh sel-sel interstisial leydig di testis, namun hanya terjadi bila sel-sel leydig dirangsang oleh *Luteining Hormone* (LH) dari kelenjar hipofisis anterior. Jumlah testosteron yang disekresikan meningkat sebanding dengan jumlah LH yang tersedia (Guyton, 1997).

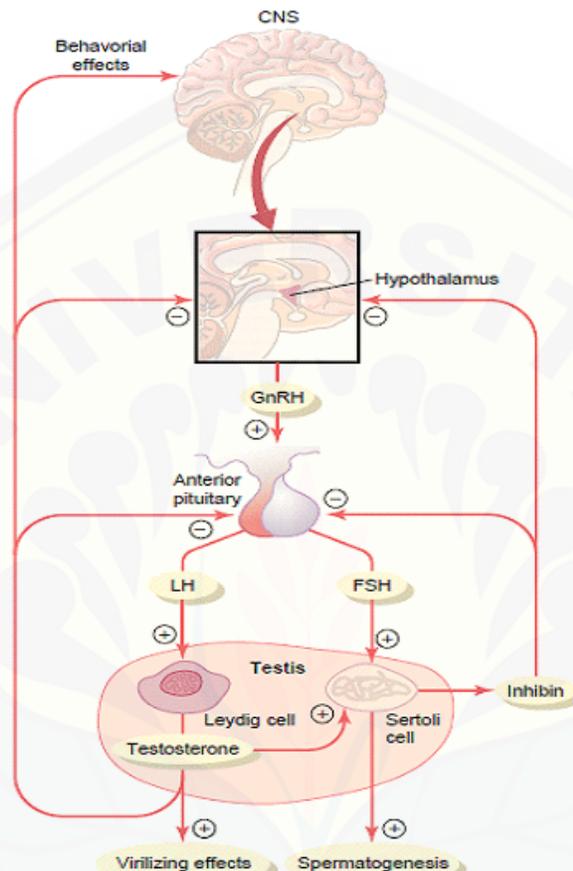


Gambar 2.4 Struktur kimia testosteron

Setelah disekresi oleh testis, kira-kira 97%, testosteron menjadi terikat dengan albumin plasma secara bebas atau dapat juga terikat dengan globulin yang disebut *sex hormone-binding globulin* dan bersirkulasi di darah dalam bentuk ini selama 30 menit atau sampai beberapa jam. Selama bersirkulasi, testosteron tersebut dapat dihantarkan ke jaringan atau dipecah menjadi produk inaktif yang selanjutnya diekskresikan. Testosteron yang tidak terikat di jaringan dengan cepat diubah, terutama oleh hati, menjadi androsteron dan dehidroepiandrosteron, yang kemudian diekskresikan ke usus atau ke dalam urin. Testosteron pertama kali diekskresikan oleh testis janin dan bertanggung jawab terhadap perkembangan karakteristik tubuh pria, meliputi pembentukan penis, skrotum, prostat, vesika seminalis, dan duktus genitalia pria (Guyton, 1997).

Testosteron yang disekresikan oleh testis sebagai respon terhadap LH mempunyai efek timbal balik dalam menghambat sekresi LH. Sebagian besar inhibisi ini dihasilkan dari efek langsung testosteron terhadap hipotalamus untuk menurunkan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH). Keadaan ini selanjutnya menyebabkan penurunan sekresi LH dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) oleh hipofisis anterior, dan penurunan LH akan mengurangi sekresi testosteron oleh testis. Jadi, apabila sekresi testosteron terlalu banyak, efek umpan balik negatif otomatis yang

berperan melalui hipotalamus dan hipofisis akan mengurangi sekresi testosteron kembali ke tingkat yang diharapkan (Guyton, 1997).



Gambar 2.5 Pengaturan umpan balik aksis hipotalamus-hipofisis-testis pada pria. Efek perangsangan diperlihatkan dengan tanda \oplus dan efek inhibisi umpan balik negatif diperlihatkan dengan \ominus . GnRH: *Gonadotropin Releasing Hormone*; FSH: *Follicle Stimulating Hormone*; LH: *Luteinizing Hormone* (Guyton, 1997)

FSH berikatan dengan reseptor-reseptor FSH spesifik yang melekat pada sel-sel sertoli di dalam tubulus seminiferus. Pengikatan ini mengakibatkan sel-sel tumbuh dan mensekresikan berbagai unsur spermatogenik. Secara bersamaan, testosteron dan dihidrotestosteron yang berdifusi ke dalam tubulus seminiferus dari sel-sel leydig di dalam ruang interstisial, juga mempunyai efek tropik yang kuat terhadap spermatogenesis. Testosteron mempengaruhi pertumbuhan dan pembelahan sel-sel

germinal testis, yang merupakan tahap pertama pembentukan sperma. Jadi, untuk memulai spermatogenesis dibutuhkan FSH maupun testosteron (Guyton, 1997).

Dasar kerja testosteron merupakan mekanisme intrasel. Di dalam kelenjar prostat, testosteron memasuki sel prostat dalam waktu beberapa menit setelah disekresikan. Testosteron kemudian diubah menjadi dihidrotestosteron, di bawah pengaruh enzim intrasel 5- α -reduktase, dan zat ini kemudian berikatan dengan sebuah protein reseptor di sitoplasma. Gabungan ini bermigrasi ke nukleus, tempat terjadinya pengikatan dengan suatu protein dan menginduksi transkripsi DNA-RNA. Dalam waktu 30 menit, RNA-polimerase telah menjadi aktif dan konsentrasi RNA mulai meningkat di sel prostat. Keadaan ini diikuti oleh penambahan jumlah yang progresif dari protein sel. Setelah beberapa hari, jumlah DNA di kelenjar prostat juga meningkat, dan bersama dengan hal itu juga terdapat peningkatan jumlah sel-sel prostat (Guyton, 1997).

Testosteron dalam tubuh selain berperan dalam perkembangan ciri seksual primer dan sekunder pria, juga berperan dalam penentuan bobot organ reproduksi. Testosteron yang terdapat di dalam testis berpengaruh terhadap jumlah elemen spermatogenik. Apabila jumlah elemen spermatogenik menurun, maka bobot testis juga akan menurun. Tidak hanya elemen spermatogenik, testosteron juga mempengaruhi jumlah sperma dalam epididimis. Keberadaan sperma dalam epididimis akan menentukan bobot dari epididimis (Jahan *et al.*, 2009).

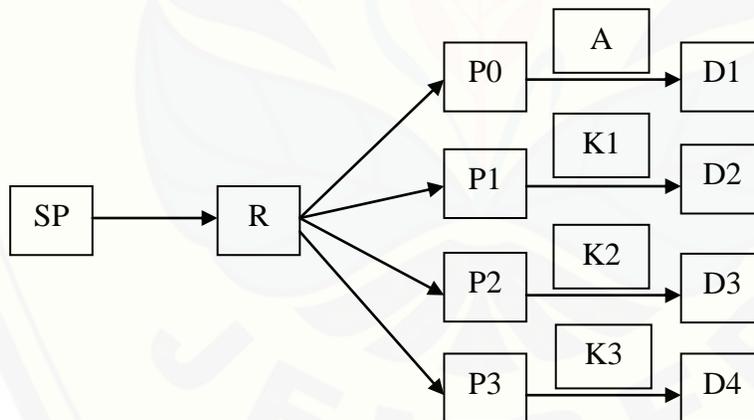
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu. Jenis penelitian eksperimental pada penelitian ini adalah *true experimental laboratories* untuk mengetahui pengaruh aktivitas biji pepaya terhadap kadar testosteron dan bobot organ reproduksi tikus putih jantan.

3.2 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terbagi atas 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dosis masing-masing 100 mg/kg BB, diulang sebanyak 3 ekor hewan coba. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

SP : sampel

R : randomisasi

P0 : kelompok perlakuan dengan mucilago CMC Na 1% selama 20 hari

- P1 : kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi ekstrak metanol dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- P2 : kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi fraksi n-heksana dosis 100 mg/kgBB/hari selama 20 hari
- P3 : kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi fraksi metanol dosis 100 mg/kgBB/hari selama 20 hari
- A : pemberian mucilago CMC Na 1% selama 20 hari
- K1 : pemberian suspensi ekstrak metanol dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- K2 : pemberian suspensi fraksi metanol dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- K3 : pemberian suspensi fraksi n-heksana dosis 100 mg/kg BB/hari selama 20 hari
- D1-4 : data kelompok P0, P1, P2 dan P3 setelah diberikan perlakuan

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium fitokimia dan laboratorium farmasi klinik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dilakukan mulai dari bulan September 2013 sampai bulan April 2014.

3.4 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian memiliki kriteria: 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 empat kelompok. Pada penelitian ini digunakan 12 ekor tikus dimana pada tiap kelompok kontrol dan perlakuan digunakan masing-masing 3 ekor tikus.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah *micro tube*, *rotary evaporator*, corong pisah, corong buchner, alat gelas, maserator, timbangan digital, pisau bedah, papan fiksasi,

gunting, pinset steril, spuit injeksi, sonde, chamber pembiusan, kertas saring, mikropipet, ELISA reader, blue tip, yellow tip, sentrifuge, dan freezer.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biji pepaya tua, n-heksana, metanol (PT. Labtech Citra Persada Surabaya), suspensi CMC Na 1%, aquades, larutan garam fisiologis 0,9%, dan kit ELISA *Testosterone* (DRG Instruments GmbH, Germany).

3.5.3 Subjek Uji

Dalam penelitian ini digunakan hewan coba berupa tikus putih jantan galur Wistar dengan berat 100-200 gram berumur 2-3 bulan.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol biji pepaya pada dosis 100 mg/kg BB, fraksi n-heksana biji pepaya 100 mg/kg BB, dan fraksi metanol biji pepaya dosis 100 mg/kg BB.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi tikus jantan akibat pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya pada hewan coba.

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi, cara fraksinasi, kriteria hewan coba, dosis pemberian, pemeliharaan hewan coba, waktu perlakuan, dan pengukuran kadar hormon testosteron.

3.7 Definisi Operasional

Adapun definisi operasional yang terdapat dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut:

- a. Biji pepaya adalah biji pepaya jenis Bangkok yang diperoleh dari Desa Sukorejo, Kecamatan Bangsalsari, Kabupaten Jember. Biji yang dipilih adalah biji dari pepaya tua.
- b. Fraksi biji pepaya adalah hasil partisi dari masing-masing pelarut dari ekstrak metanol biji pepaya.
- c. Ekstrak metanol biji pepaya adalah biji pepaya kering kemudian dihancurkan menggunakan blender lalu diayak dan dimaserasi dengan metanol.
- d. Penelitian terhadap kadar hormon testosteron merupakan hasil pengambilan darah dari jantung masing-masing tikus.
- e. Organ reproduksi yang ditimbang dalam penelitian ini yaitu testis, epididimis, vesika seminalis, dan prostat.
- f. Pemberian ekstrak dan fraksi biji pepaya dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde sebanyak sekali dalam sehari.
- g. Persen bobot organ relatif berat badan merupakan persen bobot organ reproduksi dibagi dengan berat badan tikus.

3.8 Pelaksanaan Penelitian dan Pengambilan Data

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Biji Pepaya

Serbuk simplisia diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol (1:6). Serbuk simplisia sebanyak 250 gram direndam dalam metanol sebanyak 6 kali dari berat serbuk simplisia (1,5 liter). Dilakukan maserasi sebanyak 3 kali. Maserat disaring menggunakan kertas saring dengan bantuan corong buchner. Filtrat yang diperoleh kemudian ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45°C sampai didapatkan hasil akhir berupa ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.8.2 Pembuatan Fraksi N-heksana dan Fraksi Metanol Biji Pepaya

Ekstrak kental metanol dilarutkan dalam metanol (1:1), kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Pelarut n-heksana dengan volume sama banyak dengan pelarut metanol (1:1) ditambahkan ke dalam corong pisah. Campuran dikocok selama 15 menit, kemudian dibiarkan hingga membentuk dua lapisan terpisah. Lapisan teratas merupakan fraksi n-heksana sedangkan lapisan bawah merupakan metanol. Fraksinasi dilakukan hingga 3 kali pengulangan. Kedua lapisan fraksi yang telah diambil kemudian dipisahkan di atas penangas air pada suhu dibawah suhu titik didih n-heksana dan metanol hingga semua pelarut menguap dan didapatkan hasil akhir berupa fraksi kental. Fraksi kental yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.8.3 Pembuatan Mucilago CMC Na 1%

CMC Na sebanyak 1 gram ditaburkan di atas air panas 20 ml (20 kali berat CMC Na) sampai mengembang. Kemudian diaduk kuat sampai terbentuk massa yang kental dan ditambah air hingga volume 100 ml.

3.8.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak dan Fraksi Biji Pepaya

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

3.8.5 Perlakuan terhadap Hewan Coba

Sejumlah 12 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar ditempatkan dalam kandang dengan diberi makanan konsentrat dan minum *ad libitum*. Tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 3 hari di laboratorium. Setelah diadaptasikan, tikus dibagi dalam 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor yang terpilih secara acak, kemudian diberi perlakuan sehari sekali 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 dosis 100 mg/kg BB;

c) kelompok 3 (P2) : tikus diberi suspensi fraksi metanol dosis 100 mg/kg BB;

d) kelompok 4 (P3) : tikus diberi suspensi fraksi n-heksana dosis 100 mg/kg BB.

Pada hari ke-21 tikus dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan kloroform, kemudian dibedah untuk memperoleh organ testis, epididimis, prostat, dan vesika seminalis tikus.

3.8.6 Preparasi Serum Uji

Darah diambil dari jantung menggunakan spuit injeksi sebanyak 2 mL. Darah kemudian disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum uji. Serum kemudian dimasukkan ke dalam *micro tube* dan disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C .

3.8.7 Pengukuran Kadar Testosteron

Plate kit testosteron dengan jumlah sumur sebanyak 96 disiapkan. Kemudian dimasukkan larutan standar sebanyak 25 μL masing-masing dari konsentrasi 0;0,2;0,5;1,0;2,0;6,0;dan 16,0 ng/ml ke dalam sumuran. Kemudian sejumlah 25 μL sampel ditambahkan kedalam sumuran yang telah terisi larutan standar. Campuran tersebut kemudian ditambah dengan 200 μL *enzyme conjugate* dan dicampur hingga tercampur sempurna. Campuran diinkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. Sumuran dicuci sebanyak tiga kali menggunakan *wash solution* dengan volume 400 μL untuk satu kali pencucian. Sumuran kemudian dibersihkan menggunakan kertas hisap, lalu ditambahkan sebanyak 200 μL *substrate solution* (tetrametil benzidin). Sumuran tersebut kemudian diinkubasi dalam suhu kamar selama 15 menit pada keadaan gelap. Sebanyak 100 μL *stop solution* (0,5 M H_2SO_4) ditambahkan dalam sumuran. Besarnya absorbansi diamati menggunakan *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

3.8.8 Pengukuran Berat Organ Reproduksi

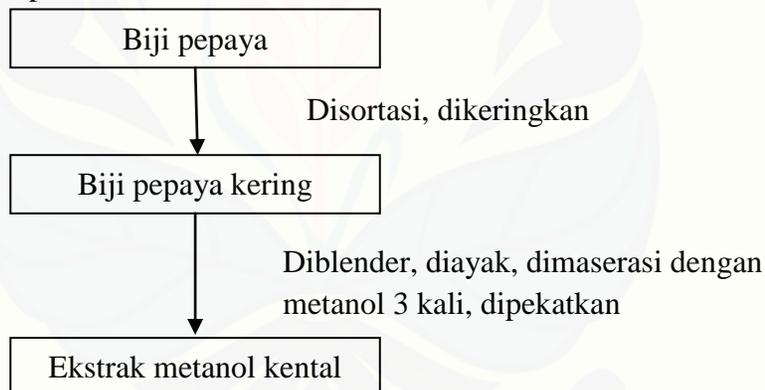
Setelah tikus dibedah, organ reproduksi sebelah kanan dipotong yang meliputi testis, epididimis, prostat, dan vesika seminalis. Organ-organ tersebut dibersihkan dari lemak dalam larutan garam fisiologis 0,9%, kemudian sisa cairan diserap menggunakan kertas saring dan masing-masing organ ditimbang.

3.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji *One Way Anova*, yaitu untuk mengetahui efek ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya dosis 100 mg/kg BB terhadap kadar testosteron.

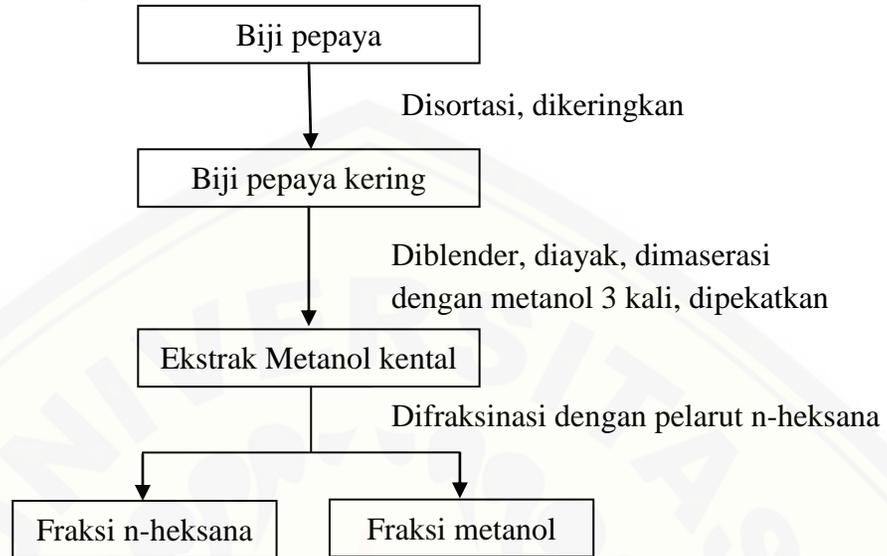
3.10 Skema Pelaksanaan Penelitian

3.10.1 Skema Preparasi Ekstrak Metanol



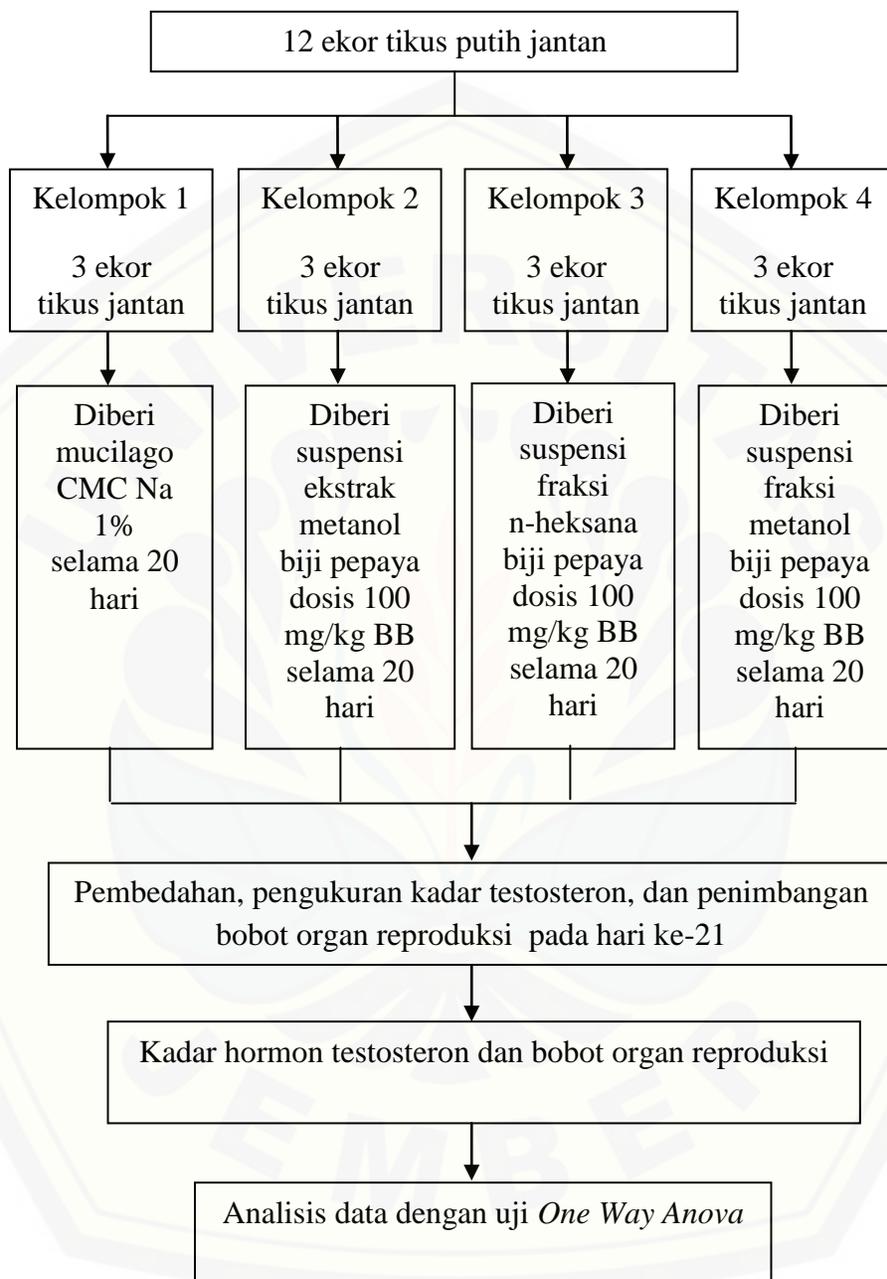
Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak metanol biji pepaya

3.10.2 Skema Preparasi Fraksi N-heksana dan Fraksi Metanol



Gambar 3.3 Skema pembuatan fraksi n-heksana dan fraksi metanol biji pepaya

3.10.3 Skema Perlakuan Hewan Coba



Gambar 3.4 Skema perlakuan hewan coba