

**PENGARUH EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP
SPERMATOGENESIS DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS
TESTIS MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

SKRIPSI

Oleh:

**RITA FITRIA PURWOISTRI
NIM. 06520025**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2010**

**PENGARUH EKSTRAK BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP
SPERMATOGENESIS DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS
TESTIS MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh:

**RITA FITRIA PURWOISTRI
NIM. 06520025**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2010**

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rita Fitria Purwoistri

NIM : 06520025

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi / Biologi

Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap
Spermatogenesis dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus
Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 2 Oktober 2010

Yang Membuat Pernyataan,



Rita Fitria Purwoistri

NIM. 06520025

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah segala puji syukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Spermatogenesis dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*) Jantan” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelas Sarjana Sains (S.Si).

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. H. Sutiman Bambang Sumitro, Drs. SU. D.Sc, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Kiptiyah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan serta memberikan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Pembimbing Agama yang telah memberikan petunjuk, saran-saran dan mengarahkan skripsi ini pada kajian keislaman.
6. Dra. Retno Susilowati, M.Si selaku Dosen Penguji yang telah menguji dan memberikan saran serta arahan dalam penyusunan skripsi ini.

7. Segenap Dosen, Staf Administrasi dan Laboran Jurusan Biologi yang telah banyak membantu penyusunan skripsi ini.
8. Ayahanda Tarmisan dan Ibunda Masriah yang telah memberikan kasih sayang, pengorbanan, kesabaran serta do'anya yang tiada henti sejak penulis lahir hingga kini dewasa, semoga karya ini menjadi kado yang mampu mengukir senyum manis di wajah Ayah dan Ibu.
9. Adik Fitra, nenek, bibi dan paman yang dengan sepenuh hati menyayangi dan ikut mendidik penulis hingga saat ini.
10. Sahabatku Yeni Hasfita yang telah mengisi hari-hari penulis dengan keceriaan dan menemani penulis dalam suka dan duka ketika menyelesaikan tugas selama menempuh studi.
11. Kakak Ibnu terimakasih untuk semangatnya.
12. Sahabat-sahabatku yang kami banggakan angkatan 2006 jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
13. Semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan dan merupakan amal bakti dalam mencapai ridho Allah semata.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 2 Oktober 2010

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Hipotesis.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
1.6 Batasan Masalah.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kandungan Bahan Aktif Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.).....	9
2.2 Proses Spermatogenesis pada Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	15
2.2.1 Peran Triterpenoid terhadap Spermatogenesis.....	25
2.2.2 Peran Alkaloid terhadap Spermatogenesis.....	29
2.2.3 Peran Flavonoid terhadap Spermatogenesis.....	32
2.2.4 Peran Saponin terhadap Spermatogenesis.....	34
2.2.5 Peran Tanin terhadap Spermatogenesis.....	36
2.3 Sistem Reproduksi Mencit (<i>Mus musculus</i>) Jantan.....	37
2.4 Fisiologi Reproduksi Mencit (<i>Mus musculus</i>) Jantan.....	46
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	53
3.2 Variabel Penelitian.....	55
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	55
3.4 Populasi dan Sampel.....	56
3.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	56
3.5.1 Alat.....	56
3.5.2 Bahan.....	56
3.6 Pelaksanaan Penelitian.....	56
3.6.1 Persiapan Hewan Coba.....	56
3.6.2 Pembuatan Ekstrak.....	57
3.6.3 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%.....	57
3.6.4 Pemberian Perlakuan.....	58
3.6.5 Kegiatan Penelitian.....	58
3.6.6 Pembuatan Preparat Histologi.....	59
3.7 Analisis Data.....	62

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	63
4.1.1 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Sermatogenesis pada Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>) Jantan.....	63
4.1.1.1 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>) .	63
4.1.1.2 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Jumlah Sel Spermatisit pada Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	79
4.1.1.3 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>)	92
4.1.1.4 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>)	105
4.1.2 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>) Jantan.....	120
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	136
5.2 Saran.....	136
DAFTAR PUSTAKA.....	137
LAMPIRAN.....	143

DAFTAR TABEL

NO	Judul	Halaman
Tabel 4.1	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kanan	63
Tabel 4.2	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kanan.....	64
Tabel 4.3	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kiri	65
Tabel 4.4	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kiri .	65
Tabel 4.5	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kiri .	66
Tabel 4.6	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatisit pada Testis Sebelah Kanan	80
Tabel 4.7	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kanan.....	80
Tabel 4.8	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatisit pada Testis Sebelah Kiri	81
Tabel 4.9	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kanan.....	93
Tabel 4.10	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kanan	93
Tabel 4.11	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kiri	94

Tabel 4.12	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kiri	95
Tabel 4.13	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kiri	95
Tabel 4.14	Ringkasan Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel leydig pada Testis Sebelah Kanan ..	105
Tabel 4.15	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kanan	106
Tabel 4.16	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kanan	106
Tabel 4.17	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kiri	107
Tabel 4.18	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kiri	108
Tabel 4.19	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kiri	108
Tabel 4.20	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kanan	120
Tabel 4.21	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kanan.....	121
Tabel 4.22	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kanan.....	121
Tabel 4.23	Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kiri	122
Tabel 4.24	Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kiri.....	123

Tabel 4.25 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kiri..... 123



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tahap spermatogenesis.....	18
Gambar 2.2 Perubahan spermatid selama spermiogenesis	23
Gambar 2.3 Sperma menciit.....	24
Gambar 2.4 Anatomi testis yang menggambarkan tempat spermatogenesis..	38
Gambar 2.5 Struktur tubulus seminiferus dan jaringan interstisial	40
Gambar 2.6 Rumus bangaun inti steroid	48
Gambar 2.7 Pengaturan kerja hormonal testis-hipotalamus	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Kerangka konsep penelitian.....	143
Lampiran 2.	Data Jumlah Sel Spermatogenik, Sel Leydig dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Setelah Perlakuan Ekstrak Biji Pepaya ..	144
Lampiran 3.	Data Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Kanan Mencit (<i>Mus musculus</i>) dengan Perhitungan Manual.....	148
Lampiran 4.	Data Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Kiri Mencit (<i>Mus musculus</i>) dengan Perhitungan Manual.....	152
Lampiran 5.	Gambar Irisan Melintang Testis dengan Mikroskop Komputer (mikroskop) Olympus CX 31 dengan perbesaran 100 kali.....	155
Lampiran 6.	Gambar Irisan Melintang Testis dengan Mikroskop Komputer (mikroskop) Olympus CX 31 perbesaran 400 kali.....	157

ABSTRAK

Purwoistri, Rita Fitria. 2010. **Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Spermatogenesis dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*) Jantan**. Pembimbing: Kiptiyah, M.Si.

Kata Kunci: Biji Pepaya, Spermatogenesis, Epitel Tubulus Seminiferus, Mencit

Biji pepaya merupakan salah satu bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional yaitu obat antifertilitas. Biji pepaya mengandung sejumlah bahan aktif yang diduga mampu mempengaruhi spermatogenesis. Bahan aktif tersebut dapat mempengaruhi hormon-hormon yang dibutuhkan pada spermatogenesis dan mengganggu sel leydig, sel sertoli dan sel spermatogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya terhadap spermatogenesis dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit.

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Faktorial pola RAL dengan 2 faktor dan diulang 3 kali. Faktor pertama adalah usia biji pepaya muda dan tua, faktor kedua adalah dosis ekstrak biji pepaya. Perlakuan yang digunakan adalah ekstrak biji pepaya muda dan ekstrak biji pepaya tua dosis 200 mg/kg BB, 250 mg/kg BB, 350 mg/kg BB, 400 mg/kg BB. Hewan yang digunakan adalah mencit jantan fertil sebanyak 30 ekor. Variabel tergantung dalam penelitian ini meliputi jumlah sel spermatogonium, spermatosit, spermatid, sel leydig dan tebal epitel tubulus seminiferus. Data dianalisis dengan Analisis Variansi jika menunjukkan beda nyata maka diuji lanjut dengan uji BNJ 5%.

Berdasarkan hasil Analisis Variansi menunjukkan terdapat interaksi antara jenis ekstrak biji pepaya muda dan tua terhadap spermatogenesis dan tebal epitel tubulus seminiferus tetapi interaksi jenis ekstrak dan dosis memberikan hasil yang berbeda. Hasil uji BNJ 5% menunjukkan bahwa ekstrak biji pepaya dapat menurunkan jumlah sel spermatogonium, spermatosit, spermatid, sel leydig dan tebal epitel tubulus seminiferus. Perlakuan terbaik yang mampu menurunkan jumlah sel spermatogenik, sel leydig dan tebal epitel tubulus seminiferus adalah perlakuan ekstrak biji pepaya tua dengan dosis 400 mg/kg BB.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu sumber protein nabati. Buah pepaya dan daunnya dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat-obatan, sedangkan bijinya dibuang tetapi kadang-kadang digunakan untuk keperluan pembibitan. Menurut Katno (2009) biji pepaya mengandung bahan aktif yang diduga dapat dimanfaatkan sebagai obat antifertilitas, obat yang mampu menurunkan kemampuan spermatozoa untuk membuahi sel telur.

Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini tidak dalam keadaan yang sia-sia. Setiap makhluk diciptakan dengan tujuan dan manfaat untuk kehidupan manusia. Berbagai macam tumbuhan yang telah Allah ciptakan dapat dimanfaatkan untuk kepentingan umat manusia, salah satu kegunaan tumbuhan adalah untuk mengobati penyakit. Sebagaimana firman Allah yang terdapat dalam surat As-Syu'araa' ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (As-Syu'araa': 7).

Berdasarkan ayat Al-Qur'an yang telah diuraikan, dapat diartikan bahwa Allah menciptakan makhluk hidup termasuk tumbuh-tumbuhan tidak pernah sia-sia, semua memiliki manfaat bagi kehidupan manusia. Manusia sering memanfaatkan tumbuhan sebagai obat penyembuh penyakit. Salah satu bagian tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat adalah biji, akan tetapi umumnya

masyarakat tidak mengetahui bahwa biji pepaya yang biasanya dibuang ternyata dapat dimanfaatkan sebagai obat antifertilitas. Masyarakat juga tidak mengetahui mekanisme kerja biji pepaya sebagai obat antifertilitas.

Allah berfirman dalam surat An-Najm ayat 45-46 tentang penciptaan manusia yang berasal dari air mani:

وَأَنَّهُ خَلَقَ الزَّوْجَيْنِ الذَّكَرَ وَالْأُنثَىٰ ۗ مِن نُّطْفَةٍ إِذَا تُمْنَىٰ ﴿٤٥﴾

Artinya : Dan bahwasanya Dialah yang menciptakan berpasang-pasangan pria dan wanita. Dari air mani, apabila dipancarkan (An-Najm : 45-46).

Ayat yang mulia ini menunjukkan bahwa Allah menciptakan pria dan wanita secara berpasangan yang berasal dari air mani yang dipancarkan. Air mani laki-laki diproduksi di dalam testis melalui proses spermatogenesis. Agar spermatogenesis dapat berjalan dengan normal maka diperlukan suplai nutrisi dan hormon yang cukup. Biji pepaya dimanfaatkan sebagai obat antifertilitas karena diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat mengganggu suplai nutrisi dan hormon, akibatnya spermatogenesis terganggu. Gangguan pada spermatogenesis akan berpengaruh terhadap air mani yang dihasilkan.

Menurut Sukadana (2008) biji pepaya diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Kandungan senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid merupakan komponen utama biji pepaya. Di samping mengandung senyawa metabolit sekunder, biji pepaya juga mengandung enzim proteolitik seperti papain dan chymopapain (Yunardi, 2002).

Bahan aktif yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya dapat diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Etanol mempunyai sifatnya

yang mampu melarutkan hampir semua zat baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar (Pratita, 2008). Ekstraksi dengan pelarut etanol maka akan dihasilkan senyawa golongan triterpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, papain dan chymopapain (Sukadana 2008 dan Yunardi, 2002).

Senyawa metabolit sekunder biasanya terbentuk setelah fase pertumbuhan logaritmik atau fase stationer (Hernawati, 2008). Berdasarkan uraian tersebut, diduga kadar metabolit sekunder pada biji pepaya tua lebih tinggi dari pada senyawa metabolit sekunder yang ada pada biji pepaya muda. Sementara papain dan chymopapain lebih banyak terdapat pada tanaman pepaya yang masih muda. Dengan demikian terdapat perbedaan konsentrasi bahan aktif yang ada pada biji pepaya muda dan biji pepaya tua.

Biji pepaya mengandung dua golongan zat aktif yaitu golongan steroid dan golongan triterpenoid yang diperkirakan bersifat antifertilitas (Satriyasa, 2005). Triterpenoid memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid (Robinson, 1995). Glikosida triterpen memiliki struktur dasar *siklopentana perhidrofenantrena* yang juga dimiliki oleh steroid. Steroid dapat berperan sebagai penghambat spermatogenesis dan bersifat reversibel (Adimunca, 1996).

Nurliani (2005) menyatakan, senyawa saponin dan flavonoid bersifat sitotoksik dan sitostatik, sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik. Senyawa flavonoid dapat merangsang pembentukan estrogen pada mammalia dan strukturnya ada kemiripan dengan hormon estrogen. Senyawa yang bersifat estrogenik akan memberikan umpan balik negatif terhadap poros

hipotalamus-hipofisis-testis sehingga akan menurunkan sekresi LH (*Luteinizing hormone*) maupun FSH (*Follicle stimulating hormone*). Rusmiati (2007) menambahkan, penurunan FSH dan LH dapat menekan pembentukan testosteron secara langsung pada sel leydig, sehingga terjadi gangguan keseimbangan hormonal. Gangguan tersebut menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa yang dihasilkannya yaitu viabilitas spermatozoa.

Biji pepaya mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid. Menurut Robinson (1995) alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Winarno (1997) menjelaskan, golongan alkaloid dapat mempengaruhi spermatogenesis, dengan jalan menekan sekresi hormon reproduksi yaitu hormon testosteron yang diperlukan untuk berlangsungnya spermatogenesis. Senyawa metabolit sekunder tanin dapat menyebabkan penggumpalan sperma (Susetyarini, 2003). Tanin dapat mengganggu proses transportasi sperma, yaitu menggumpalkan sperma sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup sperma, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur dan pembuahan dapat tercegah (Winarno, 1997).

Wiji (2006) menambahkan bahwa enzim papain dan chymopapain mempunyai kemampuan menguraikan ikatan-ikatan dalam mekul protein sebagai bahan baku sintesis hormon reproduksi, sehingga protein terurai menjadi polipeptida dan dipeptida akibatnya sintesis hormon reproduksi akan menurun. Papain dapat merusak organel sel sertoli dan sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit, spermatid dan spermatozoa). Penurunan jumlah sel sertoli dan sel

spermatogenik diakibatkan karena penurunan kadar hormon reproduksi sehingga komponen sel dalam tubulus seminiferus mengalami degenerasi.

Menurut Satriyasa (2005) biji pepaya merupakan salah satu bahan alam yang mempunyai khasiat sebagai antifertilitas dengan menghambat spermatogenesis. Chinoy *at al.*, (1995) dalam Prajogo (2007) menjelaskan, bahwa biji pepaya mempengaruhi spermatogenesis dengan jalan menghambat penyampaian hormon yang dihasilkan *pituitary-gonadotropin* menuju *post testicular*, namun tidak menghambat efek hormon yang dihasilkan. Zat aktif steroid, triterpenoid dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya mampu menurunkan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli (Satriyasa, 2005). Epitel tubulus seminiferus terdiri atas 2 jenis sel, yaitu sel sertoli dan sel yang merupakan turunan spermatogenik, sehingga dengan adanya pengurangan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli maka akan menyebabkan pengurangan pada tebal epitel tubulus seminiferus (Junqueira, 1988).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh para ahli dan dilaporkan bahwa biji pepaya mempunyai khasiat sebagai antifertilitas dengan cara mengganggu proses spermatogenesis pada hewan. Satriyasa (2005) melaporkan bahwa pemberian fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda kepada mencit jantan dengan dosis 20 mg/20 gram/hari selama 36 hari, ternyata dapat menurunkan jumlah rata-rata sel spermatogonia A, spermatosit primer pakiten dan spermatid. Penelitian Kusumaningrum (2008) yang memberikan ekstrak etanol biji pepaya tua secara oral dengan dosis 30, 100, 300 mg/kg BB

selama 36 hari mampu menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus, penurunan jumlah sel spermatogonium dan spermatosit.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu kiranya dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap spermatogenesis dan tebal epitel tubulus seminiferus testis mencit (*Mus musculus*) jantan, terkait dengan beberapa bahan aktif yang terkandung di dalam biji pepaya yang diduga berpotensi sebagai bahan antifertilitas pada hewan jantan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut.

1. Apakah pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) berpengaruh terhadap spermatogenesis pada mencit (*Mus musculus*)?
2. Apakah pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) berpengaruh terhadap tebal epitel tubulus seminiferus pada testis mencit (*Mus musculus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan diadakannya penelitian pengaruh ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap spermatogenesis dan tebal epitel tubulus seminiferus testis mencit (*Mus musculus*) jantan adalah sebagai berikut.

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap spermatogenesis pada mencit (*Mus musculus*).

2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap tebal epitel tubulus seminiferus pada testis mencit (*Mus musculus*).

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap spermatogenesis pada mencit (*Mus musculus*).
2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap tebal epitel tubulus seminiferus pada testis mencit (*Mus musculus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat luas tentang manfaat biji pepaya yang dapat dijadikan obat alternatif kontrasepsi pria yang aman.
2. Menjadi landasan bagi penelitian selanjutnya.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sel-sel spermatogenik yang diamati dari penelitian ini meliputi sel spermatogonia, spermatosit, spermatid dan sel leydig.
2. Tebal epitel tubulus seminiferus yang diukur dalam penelitian ini adalah dari testis kanan dan testis kiri mencit yang diamati sel spermatogeniknya.
3. Hewan coba yang dipakai adalah mencit (*Mus musculus*) galur balb/c jenis kelamin jantan, fertil, umur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 20-25 gram.

4. Biji pepaya yang dipakai dalam penelitian ini adalah biji pepaya muda dan biji pepaya tua.
5. Dosis ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang dipakai dalam penelitian ini adalah 200, 250, 350, 400 mg/kg BB.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Kandungan Bahan Aktif Biji Pepaya (*Carica papaya L.*)

Biji pepaya dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung sejumlah bahan aktif. Bahan aktif yang terkandung dalam biji pepaya mampu bekerja untuk memperbaiki kondisi tubuh yang sakit. Menurut Sukadana (2008) secara tradisional biji pepaya dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing gelang, gangguan pencernaan, diare, penyakit kulit, bahan baku obat masuk angin dan kontrasepsi pria.

Salah satu ayat Al-Qur'an yang mengarah pada diperbolehkannya menggunakan obat antifertilitas adalah terdapat dalam firman Allah surat An-Nisaa' ayat 9:

وَلِيَخْشَ الَّذِينَ لَوْ تَرَكُوا مِنْ خَلْفِهِمْ ذُرِّيَّةً ضِعْفًا خَافُوا عَلَيْهِمْ فَلْيَتَّقُوا اللَّهَ
وَلْيَقُولُوا قَوْلًا سَدِيدًا ﴿٩﴾

Artinya: Dan hendaklah takut kepada Allah orang-orang yang seandainya meninggalkan di belakang mereka anak-anak yang lemah, yang mereka khawatir terhadap (kesejahteraan) mereka. oleh sebab itu hendaklah mereka bertakwa kepada Allah dan hendaklah mereka mengucapkan perkataan yang benar (An-Nisaa': 9).

Ayat tersebut menunjukkan bahwa program keluarga berencana (KB) diperbolehkan dalam ajaran Islam untuk mengatur jarak kelahiran karena pertimbangan ekonomi, kesehatan, dan pendidikan. Program KB dengan maksud menciptakan keluarga sejahtera yang berkualitas dan melahirkan keturunan yang tangguh sejalan dengan tujuan syari'at Islam yaitu mewujudkan kemaslahatan bagi umatnya. Allah menghendaki jangan sampai kita meninggalkan keturunan

yang kalau kita sudah meninggal dunia menjadi umat dan bangsa yang lemah. Biji pepaya mengandung bahan aktif golongan saponin yang mampu menghambat proses spermatogenesis, sehingga biji pepaya dapat dimanfaatkan sebagai obat antifertilitas untuk mengatur jarak kelahiran.

Biji pepaya mengandung senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder. Senyawa metabolit merupakan senyawa yang dihasilkan dari proses metabolisme yang terjadi di dalam biji. Yuniwati (2008) menjelaskan, biji pepaya mengandung senyawa metabolit primer seperti: lemak 9,5%, protein 8,5%, abu 1,47%, karbohidrat 9,44%, dan cairan 71,89%. Karbohidrat yang terdapat pada biji pepaya dipakai sebagai sumber energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan, perkecambahan, pembelahan dan pemanjangan sel dan sebagai bahan pembentukan dinding sel baru. Lemak lebih banyak terdapat pada biji sebagai makanan cadangan, sumber energi bagi pertumbuhan tanaman. Fungsi utama air dan protein adalah sebagai pembentuk protoplasma pada permulaan pertumbuhan (Kamil, 1986).

Menurut Sukadana (2008) dan Udoh (2009) biji pepaya diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan glikosida alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin. Kandungan senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid merupakan komponen utama biji pepaya. Di samping mengandung senyawa metabolit sekunder, biji pepaya juga mengandung enzim proteolitik seperti papain dan chymopapain (Yunardi, 2002).

Triterpenoid yang terdapat pada biji pepaya merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan *isoprene* dan secara biosintesis

diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena (Harborne, 1987). Menurut Robinson (1995), triterpenoid jenis tetrasiklik memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid. Senyawa ini dianggap sebagai senyawa antara biosintesis steroid, senyawa ini harus dibuat sekurang-kurangnya dalam jumlah kecil, oleh semua makhluk yang mensintesis steroid.

Harborne (1987) menjelaskan, bahwa sterol merupakan triterpena yang kerangka dasarnya sistem cincin *siklopentana perhidrofenantrena*, kerangka dasar tersebut menyerupai kerangka steroid yaitu kolesterol. Kolesterol dipakai untuk biosintesis hormon steroid yang mencakup hormon seks, di antaranya androgen, estrogen dan progesteron. Sterol yang terdapat pada tumbuhan dikenal sebagai fitosterol, salah satu contohnya ialah estrogen hewan.

Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang mengandung nitrogen dan dikenal sebagai golongan zat metabolit sekunder terbesar yang terdapat pada tumbuhan. Alkaloid seringkali beracun pada manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologis dan digunakan dalam bidang pengobatan. Alkaloid steroid yang dimodifikasi biasanya terdapat sebagai glikosida C-3 atau ester, struktur ini mirip dengan struktur saponin. Sejumlah besar alkaloid bersifat terpenoid dan beberapa (misalnya solanina alkaloid-steroid pada kentang) sebagai terpenoid termodifikasi (Harborne, 1987 dan Robinson, 1995).

Salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada biji pepaya adalah flavonoid. Menurut Robinson (1995) flavonoid mencakup pigmen yang terdapat pada tumbuhan tinggi, zat aktif ini terdapat pada bagian vegetatif dan generatif tumbuhan. Tumbuhan yang mengandung flavonoid dapat dipakai

sebagai obat tradisional. Flavonoid bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan dan merupakan senyawa pereduksi, menghambat reaksi oksidasi baik secara enzim maupun nonenzim.

Senyawa saponin yang terdapat pada biji pepaya dapat bekerja sebagai antimikroba dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan. Inti steroid spiroketal pada saponin mempunyai kerangka karbon dasar yang sama dengan kerangka steroid hewan (Robinson, 1995). Saponin dimanfaatkan sebagai sumber sapogenin dan dapat diubah menjadi sterol hewan yang berkhasiat penting, misalnya kortison dan estrogen kontraseptif (Harborne, 1987). Saponin bersifat spermisida, yaitu zat yang mampu membunuh spermatozoa (Elyal, 2002).

Senyawa tanin yang terdapat pada biji pepaya juga tersebar luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Letak tanin di dalam tumbuhan terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan rusak, misalnya bila hewan memakannya, maka reaksi penyamakan dapat terjadi. Reaksi ini menyebabkan protein lebih sukar dicapai oleh cairan pencernaan hewan (Rustaman, 2005).

Ekstrak biji pepaya muda mengandung bahan aktif steroid, triterpenoid, alkaloid dan hormon estradiol (E2) maupun hormon progesteron (P4) yang dapat menyebabkan terganggunya sekresi FSH dan LH. Estradiol menyebabkan penekanan hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga menyebabkan GnRH dan hormon gonadotropin (FSH dan LH) terhambat. Hormon progesteron akan

menghambat sekresi FSH yang mengakibatkan gangguan proses spermatogenesis, FSH juga berperan penting dalam menunjang tahap pematangan maupun reduksi meiosis dari spermatosit menjadi spermatid (Satriyasa, 2005).

Terhambatnya FSH ini akan menyebabkan terganggunya pula proses mitosis dan proliferasi spermatogonia A, karena FSH sangat diperlukan dalam aktivitas proliferasi jumlah sel spermatogonia A. Terhambatnya FSH juga akan berpengaruh terhadap sel sertoli. Bila sel sertoli terganggu maka pengangkutan glukosa sebagai sumber energi terhambat dan sintesis protein akan terhambat juga, yang mengakibatkan perkembangan jumlah sel spermatogonia A terganggu. Gangguan pada spermatogonia A akan mengakibatkan gangguan pada perkembangan sel berikutnya, yaitu spermatosit, spermatid dan spermatozoa (Satriyasa, 2005).

Papain pada pepaya merupakan suatu protease, yaitu enzim pemecah protein. Papain termasuk endopeptidase, bersifat menghidrolisis ikatan peptida yang terletak di tengah ikatan rantai peptida. Papain termasuk protease sulfhidril bersama-sama dengan chymopapain. Papain dan chymopapain yang terdapat pada ekstrak pepaya muda mempunyai kemampuan menguraikan ikatan-ikatan dalam mekul protein sehingga protein terurai menjadi polipeptida dan dipeptida. Protein sebagai bahan baku sintesis hormon reproduksi, jika protein terurai maka sintesis hormon reproduksi juga menurun (Wiji, 2006).

Papain dapat menekan spermatogenesis dan menyebabkan degenerasi tubulus seminiferus. Papain dapat merusak organel sel sertoli dan sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit, spermatid dan spermatozoa).

Penurunan jumlah sel sertoli dan sel spermatogenik diakibatkan karena penurunan kadar hormon reproduksi sehingga komponen sel dalam tubulus seminiferus mengalami degenerasi. Bila keadaan ini berlanjut menyebabkan proses spermatogenesis terganggu dan akhirnya jumlah spermatozoa menurun (Wiji, 2006).

Mekanisme penghambatan spermatogenesis oleh papain adalah masuk melalui saluran cerna, kemudian terjadi penyerapan di usus setelah itu masuk ke dalam peredaran darah menuju hipotalamus sehingga dapat menekan sekresi GnRH. Akibatnya sekresi FSH dan LH juga akan menurun. Penurunan FSH akan mempengaruhi sel sertoli dalam menghasilkan nutrisi dan hormon ABP. Penurunan ABP akan berakibat pada gangguan spermatogenesis seperti penurunan spermatogonium. Spermatogonium merupakan *stem cell* dari sel-sel spermatogenik, jika spermatogonium berkurang maka terjadi degenerasi spermatozoa (Wiji, 2006).

2.2 Proses Spermatogenesis pada Mencit (*Mus musculus*)

Allah menciptakan berbagai jenis hewan yang ada di bumi sesuai dengan kehendak-Nya. Sebagaimana firman Allah dalam surat An-Nuur ayat 45:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ ۖ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ ۗ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ ۗ سَخَّرَ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۚ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya : Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu (An-Nuur : 45).

Surat An-Nuur ayat 45 menjelaskan bahwa Allah menciptakan hewan di bumi ini dengan bermacam-macam keadaan. Ada sebagian hewan yang berjalan di atas perutnya seperti ular, cacing. Sebagian hewan ada yang berjalan dengan kakinya seperti hewan yang berkaki dua yaitu ayam, burung, atau hewan berkaki empat seperti mencit, sapi, kambing.

Mencit merupakan salah satu hewan berkaki empat yang telah Allah ciptakan dengan manfaatnya, salah satu manfaat mencit adalah dalam proses penelitian dipakai sebagai hewan coba. Menurut Kusumawati (2004) mencit yang dipakai dalam penelitian laboratorium adalah *Mus musculus*, tidak memiliki kelenjar keringat. Mencit dipakai sebagai hewan coba untuk penelitian spermatogenesis karena lama hidup mencit relatif singkat yaitu 1 sampai 3 tahun dan mencit jantan mencapai dewasa kelamin pada umur 5-7 minggu.

Mencit dan manusia merupakan makhluk ciptaan Allah. Mencit diciptakan oleh Allah tanpa dilengkapi dengan akal pikiran. Sedangkan manusia merupakan

makhluk yang memiliki keistimewaan dibanding semua makhluk karena memiliki kepribadian penciptaan yang sempurna dan banyak potensi yang dimilikinya berupa akal, keinginan, spiritual, perasaan dan emosi (Utsman, 2005). Allah menurunkan ayat Al-Qur'an yang memuat tentang proses penciptaan manusia. Sebagaimana firman Allah dalam surat 'Abasa ayat 19.

من نُطْفَةٍ خَلَقَهُ فَقَدَرَهُ ۝

Artinya : Dari setetes mani, Allah menciptakannya lalu menentukannya ('Abasa : 19).

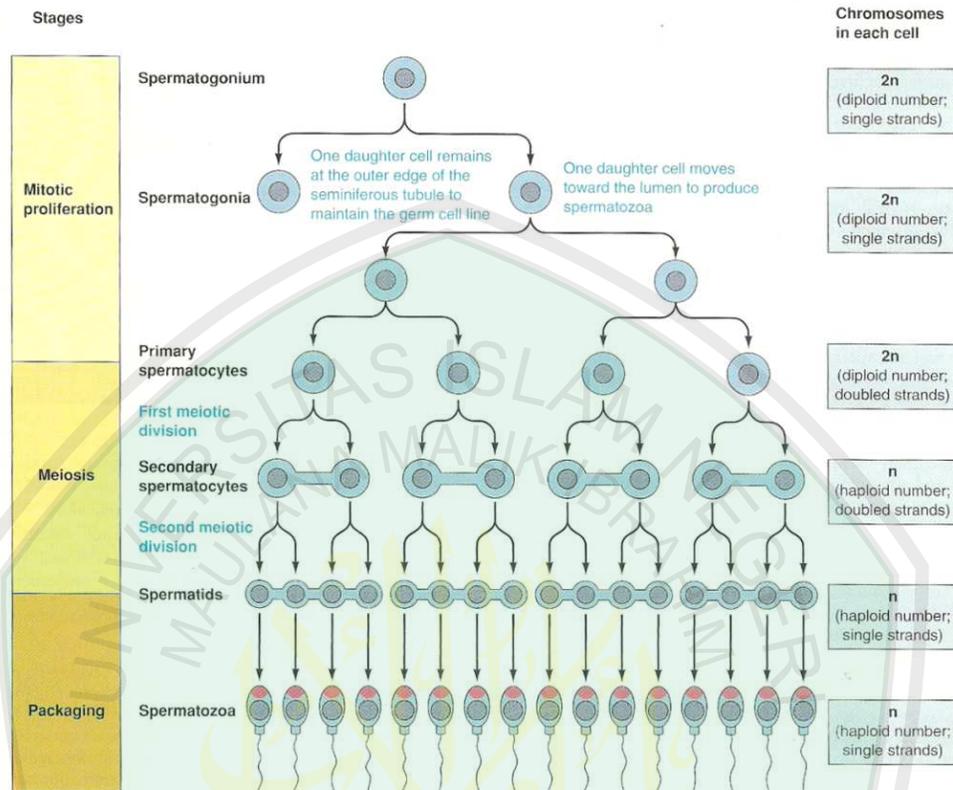
Firman Allah dalam surat 'Abasa ayat 19 menjelaskan bahwa Allah menciptakan manusia dari air mani. Nutfah (air mani) adalah satu titik cairan, tetapi dalam istilah Al-Qur'an terdapat isyarat sel sperma pada cairan air mani laki-laki dan sel ovum pada cairan air mani wanita (Utsman, 2005). Air mani pada laki-laki diproduksi di dalam tubulus seminiferus pada testis melalui proses spermatogenesis. Spermatogenesis merupakan proses terbentuknya spermatozoa dari sel primordial melalui perkembangan yang kompleks dan teratur. Proses spermatogenesis terjadi di dalam tubulus semineferus pada testis dan dipengaruhi oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh hipotalamus, hipofisa dan testis. Spermatogenesis terjadi melalui tahap proliferasi dan diferensiasi, kemudian meiosis dan transformasi.

Menurut Yatim (1996) spermatogenesis merupakan proses pembentukan spermatozoa dari spermatogonia. Spermatogenesis terjadi pada semua tubulus seminiferus selama kehidupan seksual aktif. Semua tahap pembelahan sel terjadi dalam kontak dengan sel-sel setoli, yang berfungsi dalam menyediakan makanan

dan mengatur proses spermatogenesis (Guyton, 1994). Gambar tempat terjadinya proses spermatogenesis terlihat pada gambar 2.4 bagian (b).

Menurut Turner (1988) lama proses spermatogenesis merupakan waktu yang diperlukan untuk menghasilkan spermatozoa. Spermatogenesis pada mencit memerlukan waktu selama 35,5 hari setelah menempuh 4 kali siklus epitel seminiferus. Lama satu kali daur epitel seminiferus pada mencit adalah $207 \text{ jam} \pm 6,2 \text{ jam}$ (Johnson dan Everitt, 1990 dalam Sukmaningsih, 2009). Mencit jantan mencapai dewasa kelamin pada umur 5-7 minggu (Junqueira, 1988 dalam Kusumaningrum, 2008).

Menurut Toelihere (1981) spermatogenesis meliputi spermatocytogenesis (*spermiocytogenesis*) atau pembentukan spermatisit primer dan sekunder dari spermatogonium A dan spermiogenesis atau pembentukan spermatozoa dari spermatid. Spermatocytogenesis dikendalikan oleh FSH dari adenohipofisa dan spermiogenesis berada di bawah pengaruh LH dan testosteron. Yatim (1996) menambahkan, bahwa spermatogenesis dibagi menjadi tiga tahap utama yaitu spermatisitogenesis (mitosis), meiosis dan spermiogenesis. Gambar spermatogenesis seperti terlihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tahap spermatogenesis (Sherwood, 2005).

Allah berfirman dalam surat Nuh ayat 13-14 dan Al-Mu'minuun ayat 12-14 tentang penciptaan manusia:

مَا لَكُمْ لَا تَرْجُونَ لِلَّهِ وَقَارًا ﴿١٣﴾ وَقَدْ خَلَقَكُمْ أَطْوَارًا ﴿١٤﴾

Artinya : Mengapa kamu tidak percaya akan kebesaran Allah? Padahal dia sesungguhnya telah menciptakan kamu dalam beberapa tingkatan kejadian (Nuh: 13-14).

“Beberapa tingkatan kejadian” dalam surat Nuh ayat 14 menjelaskan bahwa Allah menciptakan manusia melalui tahap-tahap yang kompleks dan teratur. Kemudian Allah mempertegas tahap-tahap proses penciptaan dalam surat Al-Mu'minuun ayat 12-14:

وَلَقَدْ خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ مِنْ سُلَالَةٍ مِّنْ طِينٍ ﴿١٣﴾ ثُمَّ جَعَلْنَاهُ نُطْفَةً فِي قَرَارٍ مَّكِينٍ ﴿١٤﴾ ثُمَّ
 خَلَقْنَا النُّطْفَةَ عَلَقَةً فَخَلَقْنَا الْعَلَقَةَ مُضْغَةً فَخَلَقْنَا الْمُضْغَةَ عِظْمًا فَكَسَوْنَا الْعِظْمَ لَحْمًا ثُمَّ
 أَنْشَأْنَاهُ خَلْقًا آخَرَ فَتَبَارَكَ اللَّهُ أَحْسَنُ الْخَالِقِينَ ﴿١٥﴾

Artinya : Dan sesungguhnya kami telah menciptakan manusia dari suatu saripati (berasal) dari tanah. Kemudian kami jadikan saripati itu air mani (yang disimpan) dalam tempat yang kokoh (rahim). Kemudian air mani itu kami jadikan segumpal darah, lalu segumpal darah itu kami jadikan segumpal daging, dan segumpal daging itu kami jadikan tulang belulang, lalu tulang belulang itu kami bungkus dengan daging. Kemudian kami jadikan dia makhluk yang (berbentuk) lain. Maka Maha Sucilah Allah, pencipta yang paling baik (Al-Mu'minuun: 12-14).

Kata *nutfah* berarti proses bercampurnya antara cairan air mani laki-laki dengan wanita. Kata '*alaqoh* memiliki 3 makna, yaitu lintah, sesuatu yang tergantung dan segumpal darah. Makna '*alaqoh* (sesuatu yang tergantung) dapat diamati pada penempelan (*implantasi*) embrio pada dinding rahim. Arti segumpal darah dapat diamati pada perkembangan yang melibatkan pembentukan darah pada pembuluh tertutup sampai siklus metabolisme selesai di plasenta. Selama tahap '*alaqoh*, embrio memiliki penampakan seperti segumpal darah. Kata *mudhghah* yang berarti segumpal daging yaitu janin. Tahap pembentukan tulang dan daging yang dimulai dengan pembentukan kerangka manusia, dibentuk tulang-tulang kemudian dibungkus dengan daging dan otot-otot. Dengan demikian janin telah sempurna berbentuk manusia. Tahapan perkembangan sebelum masa kelahiran mulai terlihat anggota badan, jenis kelamin hingga masa kelahiran datang (Kiptiyah, 2007 dan Utsman, 2005).

Maha benar Allah yang telah menurunkan Al-Qur'an dengan ilmunya. Surat Nuh ayat 13-14 dan Al-Mu'minuun ayat 12-14 memberikan inspirasi bahwa

setiap yang Allah ciptakan berasal dari tahap-tahap perkembangan sehingga menjadi hasil yang sempurna. Proses pembentukan air mani laki-laki yaitu sel sperma sama seperti proses pembentukan manusia, yaitu melalui tahap-tahap perkembangan. Tahap-tahap pembentukan sel sperma dikenal dengan pembelahan sel, yang dibagi menjadi tiga tahap pembelahan yaitu spermatositogenesis (pembelahan mitosis), pembelahan meiosis dan spermiogenesis.

Tolihere (1981) menjelaskan, tahap pertama spermatogenesis merupakan spermatositogenesis atau pembelahan mitosis, yaitu proses pembelahan dari satu inti sel induk menjadi dua inti sel baru yang jumlah dan susunan kromosomnya sama. Menurut Yatim (1996) spermatogonium A bermitosis dua kali menjadi empat sel yaitu satu sel spermatogonium dorman yang menjamin kontinuitas spermatogonia, disebut sel induk benih (*stem cell*) dan tiga sel spermatogonium aktif (spermatogonium intermediet). Spermatogonium intermediet bermitosis satu kali menjadi spermatogonium B, dan spermatogonium B bermitosis lagi membentuk spermatosit primer.

Satu spermatogonium ($2n$) mengalami beberapa kali mitosis yang akhirnya membentuk spermatosit primer. Spermatosit primer menempuh masa istirahat pendek dan sel ini disebut praleptoten. Spermatogonium merupakan sel yang relatif kecil, intinya mengandung kromatin tak teratur dan membentuk kelompok yang kasar (Ferdinandus, 1991 dalam Kusumaningrum, 2008). Spermatogonium A berinti lonjong dan bernukleolus di pinggir. Spermatogonium B memiliki inti bundar dan nucleolus agak di tengah (Yatim, 1994).

Tahap kedua yaitu pembelahan meiosis I dan meiosis II. Selama tahap pembelahan meiosis, spermatosit mengalami pembelahan secara berturut-turut, dengan mereduksi sampai setengah jumlah kromosom dan jumlah DNA per sel, sehingga menghasilkan spermatid (Junqueira, 1988). Pembelahan meiosis I, yaitu proses pembelahan dari spermatosit primer ($2n$) menjadi 2 sel spermatosit sekunder (n) (Toelihere, 1981). Spermatosit primer menempuh fase leptoten, zigoten, pakiten, diploten dan diakinesis dari profase, lalu metafase, kemudian anafase dan telofase, sehingga terbentuk spermatosit sekunder (Yatim, 1994).

Spermatosit primer tampak lebih besar dan menonjol, sedangkan spermatosit sekunder lebih kecil dan jarang terlihat (Ferdinandus, 1991 dalam Kusumaningrum, 2008). Spermatosit sekunder sulit diamati dalam sediaan testis karena merupakan sel berumur pendek yang berada dalam fase interfase yang sangat singkat dan dengan cepat memasuki pembelahan meiosis kedua (Junqueira, 1988).

Pembelahan meiosis II dimulai dari spermatosit sekunder membelah menjadi empat sel spermatid (Guyton, 1994). Spermatosit sekunder menempuh profase, metafase, anafase dan telofase. Profase tidak dibagi menjadi 5 sub fase seperti meiosis I. Spermatosit sekunder memiliki inti yang lebih gelap dari pada spermatosit primer. Spermatid memiliki inti lonjong runcing, terbentuk ekor yang halus panjang dalam sitoplasma (Yatim, 1994). Antara pembelahan meiosis I dan II tidak ada fase-S (sintesis DNA), sehingga jumlah DNA per sel dikurangi setengahnya selama pembelahan kedua ini, menghasilkan sel-sel haploid (n) (Junqueira, 1988).

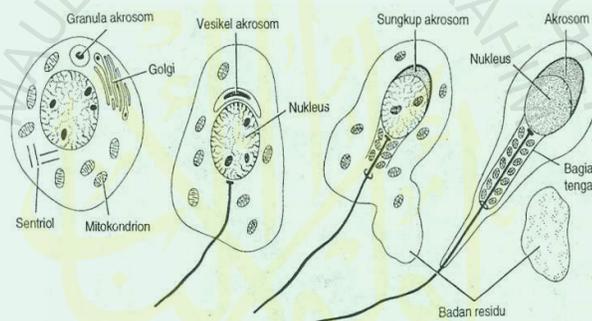
Menurut Toelihere (1981) tahap ketiga dalam spermatogenesis adalah spermiogenesis. Spermiogenesis merupakan transformasi dari spermatid menjadi spermatozoa, tanpa pembelahan sel. Guyton (1994) menjelaskan, bahwa dalam spermiogenesis terjadi tahap perubahan bentuk dan komposisi spermatid yang bundar menjadi bentuk kecebong yang memiliki kepala, leher dan ekor serta motil. Junqueira (1988) menambahkan, spermiogenesis mencakup pembentukan akrosom, pepadatan dan pemanjangan inti, pembentukan flagellum dan kehilangan sebagian besar sitoplasmanya. Gambar tahapan proses spermatogenesis terdapat pada gambar 2.1.

Fase golgi, sitoplasma spermatid mengandung kompleks golgi dekat inti, mitokondria, sepasang sentriol, ribosom bebas dan RE halus. Granula proakrosom (granula yang kaya glikoprotein) berkumpul dalam kompleks golgi dan kemudian menyatu membentuk suatu granula akrosom yang terdapat di dalam vesikel akrosom berbatas membran. Sentriol bermigrasi ke posisi dekat permukaan sel dan berlawanan dari lokasi akrosom. Pembentukan akrosom berflagel dimulai, dan sentriol bermigrasi kembali ke arah inti, sambil memilin komponen aksonema sewaktu bergeser (Junqueira, 1988).

Fase akrosomal, vesikel dan granula akrosom menyebar untuk menutupi belahan anterior dari inti yang memadat dan kini dikenal sebagai akrosom. Akrosom mengandung beberapa enzim hidrolitik seperti hialuronidase, neurominidase, fosfatase asam protease. Selama fase ini kutub anterior sel yang mengandung akrosom, akan berorientasi ke arah lumen tubulus seminiferus. Inti menjadi lebih panjang dan lebih pekat. Salah satu dari sentriol tumbuh secara

bersama, membentuk flagellum. Mitokondria berkumpul di sekitar bagian proksimal flagellum, membentuk daerah menebal yang dikenal sebagai bagian tengah, daerah dimana pergerakan spermatozoa dibangkitkan (Junqueira, 1988).

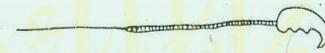
Fase terakhir tahap spermiogenesis ialah fase pematangan, pada fase ini spermatid kehilangan sebagian besar sitoplasmanya. Sitoplasma residu dibuang dan difagositosis oleh sel sertoli dan spermatozoa dilepas ke dalam lumen tubulus (Junqueira, 1988). Gambar tahapan perubahan spermatid selama spermiogenesis seperti yang terlihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Perubahan spermatid selama spermiogenesis (Junqueira, 1988).

Spermatozoa muda dirawat dalam oleh sel-sel sertoli sampai protein droplet yang masih ada di bagian pangkal ekor atau lehernya menjadi kecil. Spermatozoa akhirnya dilepaskan dari sitoplasma sel-sel sertoli dan memasuki lumen tubuli seminiferi. Sperma kemudian menuju ke arah saluran rete testis ke dalam mediastinum, lalu menuju ke vas efferen dan dari vas efferen masuk ke dalam epididimis, akhirnya mengalir ke dalam vas deferen. Sperma kemudian menuju uretra dan dikeluarkan melalui penis. Jalannya sperma dari testis sampai ke vas deferen, menyebabkan sperma menjadi motil dan mengalami pendewasaan sampai menjadi fertil (Partodiharjo, 1992 dan Toelihere, 2000).

Menurut Rugh (1968) dalam Hasanah (2009), spermatozoa mencit terdiri dari bagian kepala, bagian tengah dan ekor. Kepala mempunyai kait dengan panjang kira-kira 0,008 mm, bagian tengah pendek dan ekor sangat panjang (rata-rata 0,1226 mm). Pada kepala terdapat akrosom yang mengandung enzim hialuronidase yang berfungsi pada saat fertilisasi. Di dalam kepala terdapat inti dan pada bagian tengah terdapat mitokondria, aparatus golgi dan dua sentriol. Ekor menyerupai bentukan flagelum dan digunakan untuk pergerakan terutama pada saat berada dalam alat kelamin betina. Gambar sperma mencit dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Sperma mencit (Yatim, 1994).

Proses spermatogenesis diatur oleh sistem hormon (FSH, LH dan testosteron), yang pengendaliannya melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis. Perubahan spermatogonia menjadi spermatisit dalam tubulus seminiferus dirangsang oleh FSH dari kelenjar hipofisis anterior, bila tidak ada FSH spermatogenesis tidak akan terjadi. Spermatogenesis berlangsung sempurna bila terdapat testosteron yang disekresikan oleh sel interstitial secara serentak. Testosteron berdifusi dari sel interstitial masuk ke dalam tubulus seminiferus dan berperan dalam proses pematangan akhir spermatozoa. Testosteron disekresikan di bawah pengaruh LH, sehingga FSH dan LH harus disekresikan oleh kelenjar hipofisa anterior agar spermatogenesis berlangsung (Guyton, 1990 dan Adimunca, 1997).

Testosteron merupakan androgen utama dalam sistem peredaran darah pada hewan jantan. Biosintesis testosteron berlangsung dalam sel leydig di jaringan interstisial, sedangkan proses spermatogenesis berlangsung dalam epitel tubulus semineferus. Testosteron di dalam tubulus semineferus berfungsi dalam mengontrol proses spermatogenesis pada pembelahan miosis dan proses spermiogenesis (Arsyad, 1989).

Hormon lain yang berhubungan dengan spermatogenesis adalah FSH dan LH. FSH bekerja langsung pada epitel germinal atau melalui sel sertoli, sedangkan LH berpengaruh pada sel leydig untuk memproduksi testosteron. GnRH dari hipotalamus merangsang hipofisis untuk melepaskan FSH dan LH. FSH bekerja pada sel germinal untuk memulai proliferasi dan diferensiasi serta meningkatkan sensitifitas sel leydig terhadap LH untuk memproduksi testosteron (steroidogenesis) (Guyton, 1994 dan Arsyad, 1989).

Testosteron dan FSH secara sinergis diperlukan secara normal untuk proses spermatogenesis. Testosteron bekerja pada sel sertoli untuk menghasilkan nutrien yang diperlukan dalam proliferasi dan diferensiasi sel germinal untuk membentuk spermatozoa yang fungsional (Guyton, 1994).

2.2.1 Peran Triterpenoid terhadap Spermatogenesis

Senyawa triterpenoid yang terdapat pada biji pepaya dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel spermatogenik. Menurut Wurlina (2002) dalam Kusumaningrum (2008) saponin golongan triterpenoid mempunyai kemampuan membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol penyusun membran sel. Kolesterol merupakan komponen lipid membran sel yang utama. Struktur dasar membran sel

berupa 2 susunan molekul lipid yang berperan sebagai penghalang masuknya molekul-molekul yang larut dalam air. Adanya ikatan antara triterpenoid dengan kolesterol mengakibatkan perubahan dan gangguan permeabilitas membran sel berupa berkurangnya keenceran membran dan menurunnya permeabilitas lapisan lipid terhadap molekul-molekul kecil yang larut dalam air (Istanti, 1999).

Suparjo (2008) menambahkan bahwa efek biologis utama dari saponin adalah bahwa saponin mampu berinteraksi dengan membran dan isi sel sehingga dapat menghemolisis sel, karena interaksi saponin dengan membran sel (protein, fosfolipida dan kolesterol). Hemolisis ini terjadi akibat dari sifat aktif saponin pada permukaan sel dan saponin mampu berikatan dengan fosfolipida dan kolesterol yang menyusun membran sel sehingga mengganggu permeabilitas membran sel. Reseptor yang berupa *3 β -hedrosisteroid* termasuk kolesterol membran, merupakan tempat aktivitas hemolitik saponin. Saponin mampu berikatan dengan senyawa *3 β -hedrosisteroid* dan membentuk molekul kompleks yang sulit untuk dipisahkan. Terbentuknya molekul kompleks saponin-kolesterol menyebabkan terganggunya organisasi dalam sel karena pelepasan ikatan normal antara kolesterol dan fosfolipida dalam membran.

Permeabilitas membran sel penting dalam mengatur materi-materi yang masuk dan keluar sel, memasukkan materi yang diperlukan dan mengeluarkan sisa metabolisme sel. Permeabilitas membran sel berkaitan erat dengan transport nutrisi seperti protein berupa asam amino, vitamin E, lemak berupa kolesterol yang diperlukan untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi. Gangguan atau perubahan yang terjadi pada permeabilitas membran dan komponen

penyusun membran menyebabkan nutrisi yang dibutuhkan tidak dapat masuk ke dalam sel, sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel. Sehingga proses metabolisme pembentukan energi berupa ATP yang terjadi di dalam mitokondria terganggu, energi yang terbentuk dipakai untuk pembelahan sel sperma. Jika proses pembelahan sel sperma terganggu maka terjadi gangguan pada proses spermatogenesis, pertumbuhan dan perkembangan spermatozoa (Istanti, 1999).

Senyawa saponin triterpenoid yang terdapat pada biji pepaya juga terdapat pada daun puding (*Polyscias guilfoylei*). Senyawa triterpenoid dapat meningkatkan senyawa steroid dalam darah (Elyal, 2002). Peningkatan kadar steroid dalam darah disebabkan oleh senyawa triterpenoid yang memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid dan steroid merupakan bahan baku untuk mensintesis hormon testosteron. Meningkatnya kadar steroid akan diikuti pula dengan meningkatnya hormon testosteron (Rhobinson, 1995 dan Partohiharjo, 1992).

Kadar testosteron yang normal dalam darah berfungsi memelihara dan mempertahankan spermatogenesis. Sebaliknya, kadar testosteron yang tinggi di atas kadar normal akan menghambat spermatogenesis (Hdannelsman, 2000). Meningkatnya hormon testosteron akan menyebabkan mekanisme umpan balik negatif terhadap pituitari anterior untuk menghambat sekresi LH dan merangsang hipotalamus untuk menekan sekresi GnRH. Penurunan sekresi GnRH akan menyebabkan penurunan sekresi FSH dan LH yang diproduksi oleh pituitari anterior (Sherwood, 2005).

Penurunan kadar FSH dapat mempengaruhi sel sertoli dalam menghasilkan zat-zat gizi, hormon dan enzim yang penting untuk perkembangan spermatid (Guyton, 1990) dan menurunkan rangsangan untuk pembentukan dan pendewasaan spermatogenesis dalam tubulus seminiferus (Partohiharjo, 1992). Hormon LH berperan dalam merangsang sel sertoli untuk mensekresi testosteron yang berperan dalam menstimulasi tahap akhir spermatogenesis. Penurunan kadar FSH, LH dan testosteron akan menghambat proses spermatogenesis (Elyal, 2002).

Selama spermatogenesis, aktivitas sel-sel spermatogenik tinggi dengan melibatkan proses perubahan morfologi dan biokimia dari sel-sel spermatogenik menjadi sel spermatozoa dan untuk mendukung aktivitas tersebut, sel-sel spermatogenik sangat tergantung pada sumber energi terutama glukosa. Spermatisit primer menggunakan sumber energinya secara tidak langsung bukan dalam bentuk glukosa melainkan dalam bentuk asam laktat dan piruvat yang disuplai oleh sel sertoli dan aktivitas sel sertoli ini dipengaruhi oleh hormon FSH. Penurunan kadar FSH dapat menurunkan aktivitas sel sertoli dalam memproduksi asam laktat dan piruvat, sehingga spermatisit primer kekurangan energi untuk membelah menjadi spermatisit sekunder (Yunardi, 2002).

Inanisi (kelemahan karena kekurangan makanan), defisiensi vitamin, terbatasnya kalori atau kekurangan jumlah zat-zat makanan tertentu seperti protein mampu mengganggu fungsi testis. Hipofungsi sel leydig ditunjukkan dengan adanya atrofi organ-organ seks asesori, yang diikuti dengan disorganisasi epitel semeferi dan berhentinya spermatogenesis (Turner, 1988).

Adimunca (1997) menjelaskan, bahwa proses normal spermatogenesis diatur oleh sistem hormon (FSH, LH dan testosteron), yang pengendaliannya melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis. FSH mempengaruhi sel sertoli dan sel spermatogenik untuk metabolisme normal, sel sertoli di bawah pengaruh FSH mensintesis protein pengikat androgen (ABP) yang berfungsi untuk mengikat testosteron, untuk selanjutnya digunakan dalam proses pembelahan dan pematangan spermatogonia menjadi spermatozoa. Adapun LH penting dalam mempengaruhi sel leydig memproduksi testosteron.

Kontrol hormonal pada sistem reproduksi jantan yang terganggu akan berakibat pada proses spermatogenesis. Gangguan pada pematangan spermatozoa menyebabkan spermatozoa yang dihasilkan tidak normal sehingga proses fertilisasi sel sperma dengan sel telur akan terganggu, dampaknya jumlah embrio yang terbentuk setelah fertilisasi menurun dan janin yang implantasi pada uterus juga menurun (Susetyarini, 2003).

2.2.2 Peran Alkaloid terhadap Spermatogenesis

Senyawa alkaloid yang terdapat pada biji pepaya juga terdapat pada terung tukak (*Solanum tuberosum*). Senyawa alkaloid bersifat kompetitif dan mampu menekan sekresi FSH. Menurut Kaspul (2007) alkaloid bersifat kompetitif terhadap reseptor FSH pada sel tubulus seminiferus yaitu sel sertoli. Sel sertoli mempunyai reseptor untuk hormon FSH dan hormon steroid testosteron, dengan demikian alkaloid dapat berikatan dengan sel sertoli. Hal ini menyebabkan FSH tidak dapat berikatan dengan sel reseptornya, yang terikat di reseptor FSH adalah alkaloid, sehingga pelepasan FSH dari hipofisis akan terganggu.

FSH berperan merangsang sel sertoli untuk mensekresikan ABP (*androgen binding protein*) yang berfungsi mengikat testosteron. Testosteron berfungsi dalam mempertahankan spermiogenesis. Jika FSH terganggu maka Sel sertoli juga terganggu sehingga menyebabkan penurunan sekresi ABP. Hal ini berakibat testosteron tidak terikat dengan ABP sehingga testosteron tidak berfungsi, akibatnya spermatogenesis menjadi terhambat dan menurunkan kualitas spermatozoa yang dihasilkan (Kaspul, 2007).

Wiryawan (2009) menambahkan, bahwa sel sertoli berperan dalam menyediakan ABP dan nutrisi untuk metabolisme sel germinal, jika sel sertoli mengalami gangguan maka sintesis nutrisi juga terganggu sehingga metabolisme sel germinal terganggu. Gangguan pada sel germinal menyebabkan sel tersebut tidak dapat tumbuh dan berkembang menjadi spermatozoa.

Alkaloid dapat mengganggu permeabilitas membran sel Leydig sebagai penghasil testosteron. Terganggunya permeabilitas membran sel Leydig mengakibatkan transfer zat makanan sebagai sumber energi biosintesis testosteron juga terganggu sehingga mengakibatkan kecenderungan penurunan kadar testosteron (Kaspul, 2007). Testosteron berfungsi mempertahankan spermiogenesis atau perkembangan dan pematangan spermatid dan spermatozoa di dalam saluran-saluran testikuler dan memperpanjang umur sperma di dalam epididymis. Penurunan sekresi testosteron dapat menyebabkan proses spermatogenesis terganggu (Tolihere, 1981).

Senyawa alkaloid yang terdapat pada biji pepaya juga terdapat pada daun kemuning (*Murraya paniculata* L.). Senyawa alkaloid dapat menurunkan kualitas

sperma manusia, antara lain meliputi motilitas sperma, viabilitas dan integritas membran sperma. Penurunan motilitas dan viabilitas sperma disebabkan karena senyawa alkaloid bersifat toksis dan dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase. Enzim ATP-ase terdapat dalam membran sel sperma pada bagian tengah ekor (*middle piece*) sperma dan berfungsi mempertahankan homeostatis internal untuk ion natrium dan kalium. Motilitas sperma bergantung pada komposisi ion natrium dan kalium. Zat aktif alkaloid juga dapat mengganggu aktifitas protein dinein yang merupakan salah satu protein yang terdapat pada ekor sperma. Protein dinein ini penting karena mempunyai aktivitas ATP-ase. Jika aktifitas enzim ATP-ase terganggu maka homeostatis ion natrium dan kalium akan terganggu, sehingga motilitas sperma juga akan terganggu (Purwaningsih, 2003).

Penurunan motilitas dan viabilitas sperma disebabkan oleh terganggunya permeabilitas membran sel sperma, sehingga akan mengganggu transpor zat-zat nutrisi yang diperlukan oleh sperma untuk pergerakan maupun daya tahan hidupnya (Purwaningsih, 2003). Robertis dan Robertis (1979) dalam Purwaningsih (2000) menyatakan, bahwa permeabilitas membran sel erat kaitannya dengan transportasi zat atau nutrien yang penting perannya dalam metabolisme sel yang digunakan untuk menghasilkan energi.

Membran sel sperma seperti membran sel pada umumnya, terdiri atas dua lapis lipid dan di antara kedua lapis lipid tersebut terdapat protein integral dan protein parifer di permukaannya. Penurunan integritas membran sperma disebabkan oleh alkaloid yang dapat mengganggu integritas protein dan dua lapis lipid pada membran sperma, sehingga membran sel sperma menjadi rusak dan

mengakibatkan integritasnya menurun (Robertis dan Robertis, 1979 dalam Purwaningsih, 2000).

2.2.3 Peran Flavonoid terhadap Spermatogenesis

Senyawa flavonoid mampu menghambat enzim aromatase dan mampu mempengaruhi kerja hormon gonadotropin sehingga mengganggu spermatogenesis. Senyawa flavonoid yang terdapat pada biji pepaya juga terdapat pada daun *Justicia gendarusa*. Menurut Prajogo (2007) glikosida flavonoid dapat menghambat enzim aromatase. Enzim aromatase merupakan enzim yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen, sehingga jumlah androgen (testosteron) akan meningkat. Tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis sehingga tidak melepaskan FSH dan atau LH.

Toelihere (1985) menambahkan, bahwa FSH berfungsi dalam proses berlangsungnya spermatogenesis di dalam tubuli seminiferi testis, sedangkan LH berfungsi dalam menstimuler sel-sel interstisial leydig pada testis yang berakibat pelepasan testosteron. Testosteron memegang peranan penting pada tahap proses pembelahan sel-sel germinal untuk pembentukan sperma, terutama pembelahan miosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Apabila pelepasan FSH dan LH terganggu maka proses spermatogenesis akan terganggu, akibatnya pembentukan spermatozoa akan terhambat, testis atrofi dan produksi sperma tidak terjadi (Winarno, 1997).

Prajogo (2007) menambahkan, bahwa glikosida flavonoid, aglikon flavonoid dan alkaloid merupakan benda yang dapat terakumulasi dalam aliran

darah (*blood vessel*) di daerah testis. Akumulasi metabolit ini akan mengganggu sekresi LH dan FSH di daerah testis. Proses spermatogenesis dapat berlangsung normal bila transpor makanan melalui sistem vaskular testis dalam keadaan baik, sel-sel germinal tubuli dalam perkembangan normal serta suplai hormon yang cukup.

Nurliani (2005) menyatakan, bahwa senyawa flavonoid dapat merangsang pembentukan estrogen pada mammalia dan strukturnya ada kemiripan dengan hormon estrogen. Senyawa yang bersifat estrogenik akan memberikan umpan balik negatif terhadap poros hipotalamus-hipofisis-testis sehingga akan menurunkan sekresi LH maupun FSH. Rusmiati (2007) menjelaskan, bahwa hambatan terhadap sekresi LH melalui umpan balik negatif terhadap hipotalamus-hipofisis dapat menekan pembentukan testosteron secara langsung pada sel leydig, sehingga terjadi gangguan keseimbangan hormonal.

Satriyasa (2005) menambahkan, bahwa penurunan FSH akan menyebabkan perubahan struktur sitoskeletal sel sertoli sehingga mengurangi kemampuan dalam mengikat spermatid, sedangkan penurunan hormon testosteron akan menyebabkan penurunan daya adhesi antara spermatid dengan sel sertoli yang menyebabkan sel spermatid terlepas ke dalam lumen tubulus seminiferus. FSH juga turut membantu pematangan spermatid menjadi spermatozoa selama proses spermatogenesis. Penurunan FSH dan testosteron tersebut akan menyebabkan sintesis protein spermatid terganggu yang akhirnya menyebabkan sel spermatid degenerasi.

2.2.4 Peran Saponin terhadap Spermatogenesis

Biji pepaya mengandung dua kelompok saponin, yaitu steroid dan triterpenoid (Nio, 2006). Saponin yang tergolong berinti steroid digunakan untuk membentuk hormon progesteron, yaitu hormon yang disekresikan oleh sel leydig bersama dengan sekresi testosteron dan pengaturan sekresinya di bawah pengaruh gonadotropin. Akibat pembentukan progesteron oleh saponin berinti steroid menyebabkan jumlah hormon progesteron menjadi meningkat. Peningkatan hormon progesteron menyebabkan umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis yang menyebabkan sekresi *Gonadotropin releasing hormon* (GnRH) menurun. Penurunan sekresi GnRH menyebabkan terjadinya hambatan sekresi hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH, sehingga kadar kedua hormon berkurang dari normal (Satriyasa, 2008).

FSH berperan dalam mengawali proses spermatogenesis. Perubahan spermatogonia menjadi spermatisit di dalam tubulus seminiferus dirangsang oleh FSH dari kelenjar hipofisis anterior. Penurunan kadar FSH akan menyebabkan spermatogenesis tidak akan terjadi. Spermatogenesis dapat berlangsung sempurna ketika testosteron disekresikan dalam jumlah normal oleh sel interstitial di bawah pengaruh LH secara serentak. Testosteron berdifusi dari sel interstitial masuk tubulus seminiferus dan berperan dalam pematangan akhir spermatozoa. FSH dan LH harus disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior agar spermatogenesis berlangsung (Guyton, 1990).

Senyawa yang mempunyai inti steroid dan struktur molekul mirip kolesterol merupakan prekursor testosteron, sehingga dapat menempati reseptor testosteron. Reseptor testosteron terdapat pada sel-sel hipotalamus yang

mensekresikan GnRH dan sel-sel pituitari anterior pensekresi gonadotropin, dengan ditempatinya reseptor testosteron, maka menimbulkan *feed back* negatif terhadap sekresi GnRH dan LH. Penurunan GnRH dan LH menyebabkan sekresi FSH dan testosteron menurun (Wiryawan, 2009).

LH bekerja pada reseptor spesifik di permukaan sel leydig dan berperan dalam produksi testosteron. Testosteron merupakan androgen yang berperan dalam inisiasi dan mempertahankan spermatogenesis serta fertilitas pada hewan jantan. Penghambatan sekresi LH dan testosteron menyebabkan penurunan jumlah sel spermatozoa. FSH dan testosteron berperan dalam mengendalikan fungsi sel sertoli (Wiryawan, 2009).

Sel sertoli berperan dalam menyediakan laktat, *transferrin*, dan ABP untuk metabolisme sel germinal. Penurunan testosteron menyebabkan kerja sel sertoli menjadi tidak optimal, sehingga terjadi gangguan proses spermiogenesis, gangguan metabolisme sel germinal dan dapat menyebabkan apoptosis sel (Wiryawan, 2009).

Apoptosis merupakan kematian sel germinal dan memegang peranan penting dalam perkembangan jaringan selama embryogenesis, folikolugensis dan spermatogenesis. Apoptosis yang terjadi di testis merupakan mekanisme fisiologi untuk mengatur jumlah sel-sel germinal dalam epithelium semineferus sehingga apoptosis memegang peranan penting pada homeostatis testis (Mahriani, 2008).

2.2.5 Peran Tanin terhadap Spermatogenesis

Tanin berperan sebagai *chelator* yakni mengikat enzim-enzim kunci pada sintesis protein dan dapat menggumpalkan protein sehingga fosfat yang

dihasilkan tubuh menjadi tidak aktif, hal ini mengakibatkan energi metabolisme tubuh menurun. Protein penting dalam pembentukan produksi semen. Apabila produksi protein terganggu maka kualitas nutrisi semen menurun sehingga kualitas sperma yang meliputi motilitas, abnormalitas, viabilitas dan mortalitas spermatozoa akan menurun (Rahmawati, 2008).

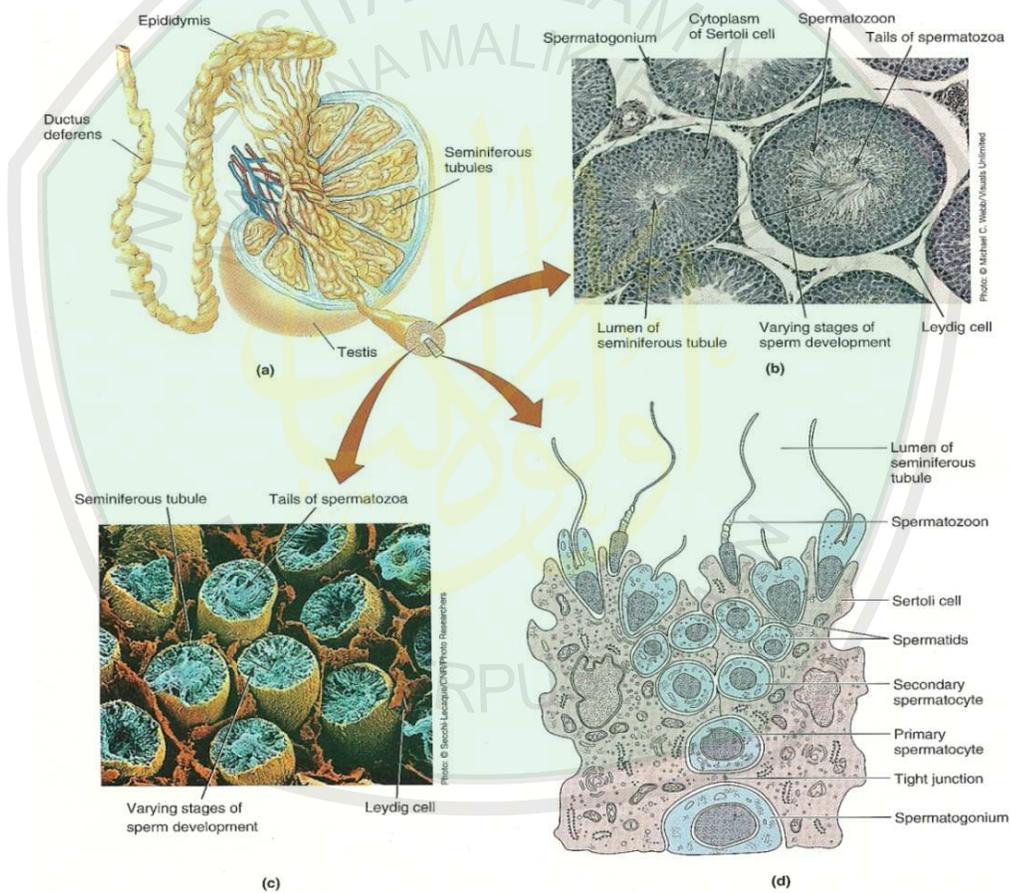
Menurut Susetyarini (2003) tanin dapat menyebabkan penggumpalan sperma. Pemberian senyawa aktif tanin ditunjang dengan senyawa aktif alkaloid dapat menghambat pembentukan sel spermatogonia menjadi spermatosit, spermatid menjadi spermatozoa mengalami hambatan. Winarno (1997) menambahkan, bahwa tanin dapat mengganggu proses transportasi sperma, yaitu menggumpalkan sperma sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup sperma, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur dan pembuahan dapat tercegah.

2.3 Sistem Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Jantan

Alat reproduksi mencit jantan terdiri dari testis, saluran reproduksi, kelenjar kelamin dan penis (Kusumawati, 2004). Testis berjumlah sepasang dan terletak di dalam scrotum. Saluran-saluran kelamin berpangkal pada testis dan bersambung ke uretra yang kemudian menjadi bagian dari penis dan merupakan jalan bersama bagi urin, sekresi kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap dan sel-sel kelamin jantan. Kelenjar kelamin terletak pada atau di sekitar dan bermuara ke dalam uretra (Toilehere, 1981).

Menurut Partodiharjo (1992) dan Nalbdanov (1990) testis berbentuk bulat panjang, dengan sumbu memanjang ke arah vertikal. Fungsi testis ada dua

macam, yaitu menghasilkan hormon seks jantan (androgen) dan menghasilkan gamet jantan (sperma). Testis dibungkus oleh kulit dan tunika albugenia, di dalam testis terdapat lobulus. Lobulus merupakan kantong-kantong kecil yang berbentuk kerucut yang berisi tubulus seminiferus. Sperma dihasilkan di dalam tubulus seminiferus yang merupakan lebih dari 90% dari masa testis. Gambar anatomi testis diperlihatkan pada gambar 2.4 pada bagian (a).



Gambar 2.4 Anatomi testis yang menggambarkan tempat spermatogenesis (Sherwood, 2005).

Keterangan: (a) Potongan membujur testis yang memperlihatkan tempat dan susunan tubulus seminiferus, bagian yang memproduksi sperma pada testis. (b) Gambar dari mikroskop cahaya yang memperlihatkan potongan melintang tubulus seminiferus. Sel benih (spermatogonia) berada pada keliling tubulus, dan spermatozoa berada pada lumen, dengan bermacam-macam tahap perkembangan

sperma. (c) Gambar dari mikrograf elektron yang memperlihatkan potongan melintang tubulus seminiferus (d) Sel spermatogenik, sel sertoli dan sel sperma.

Testis berkembang dari dua buah urat yang berasal dari tulang belakang yang dikenal dengan *geneta tigre*. Kedua testis turun dari sumsum tulang belakang kepada kantong testis ketika lahir. Testis tidak mampu memproduksi sperma pada suhu badan 37⁰C, sehingga testis berada pada kantong skrotum karena suhunya sekitar 33-34⁰C (Utsman, 2005).

Maha benar Allah dengan firman-Nya, Allah menciptakan manusia dari sel sperma yang dibentuk pada testis.

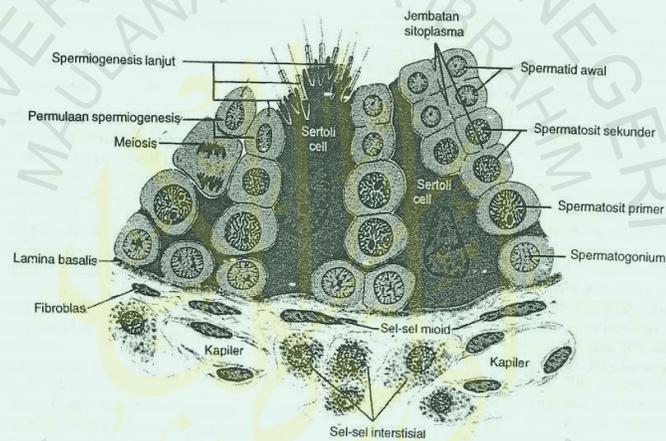
وَإِذْ أَخَذَ رَبُّكَ مِنْ بَنِي آءَادَمَ مِنْ ظُهُورِهِمْ ذُرِّيَّتَهُمْ وَأَشْهَدَهُمْ عَلَىٰ أَنفُسِهِمْ أَلَسْتُ بِرَبِّكُمْ ۖ قَالُوا بَلَىٰ ۗ شَهِدْنَا أَن تَقُولُوا يَوْمَ الْقِيَامَةِ إِنَّا كُنَّا عَنْ هَذَا غَافِلِينَ ﴿١٧٢﴾

Artinya: Dan (ingatlah), ketika Tuhanmu mengeluarkan keturunan anak-anak Adam dari sulbi mereka dan Allah mengambil kesaksian terhadap jiwa mereka (seraya berfirman): "Bukankah Aku Ini Tuhanmu?" mereka menjawab: "Betul (Engkau Tuhan kami), kami menjadi saksi". (Kami lakukan yang demikian itu) agar di hari kiamat kamu tidak mengatakan: "Sesungguhnya kami (Bani Adam) adalah orang-orang yang lengah terhadap ini (keesaan Tuhan)" (Al-A'raaf: 172).

Kata *sulbi* dalam surat Al-A'raaf ayat 172 dapat diartikan sebagai pinggang. Berdasarkan ayat Al-Qur'an tersebut, Allah memberikan petunjuk bahwa manusia diciptakan dari sel sperma laki-laki yang dibentuk di dalam testis. Ilmu medis modern membuktikan, bahwa dua testis asalnya terletak pada tulang belakang dekat dengan ginjal di daerah pinggang (Utsman, 2005). Toelihere (1981) menjelaskan, bahwa testis terdapat di dalam suatu kantong luar yang disebut skrotum. Skrotum memiliki otot-otot licin, lapis fibrosa dan kulit yang berfungsi menunjang dan melindungi testis dan epididimis dan memepertahankan

suhu yang lebih rendah dari pada suhu badan yang diperlukan dalam proses spermatogenesis.

Menurut Yatim (1996) testis mencit terdiri dari tubulus seminiferus dan jaringan stroma. Sel germinatif dan sel sertoli terdapat pada lapisan dalam epitel tubulus seminiferus, sedangkan pembuluh darah, limfe, sel saraf, sel makrofag dan sel leydig terdapat pada jaringan stroma. Gambar struktur tubulus seminiferus dan jaringan interstitial seperti terlihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur tubulus seminiferus dan jaringan interstitial (Junqueira, 1988).

Sel germinatif yang masih muda disebut spermatogonia yang selanjutnya akan mengalami spermatogenesis menjadi spermatozoa. Toelihere (1981) menjelaskan, setiap tubulus mempunyai selaput dasar (*membran basalis*) terdiri dari jaringan ikat dengan bagian luarnya yang kaya akan pembuluh-pembuluh darah. Pembuluh darah ini tidak menembus membran basalis dan makanan-makanan bagi sel-sel spermatogenik yang ada di dalam tubuli diperoleh dengan jalan difusi. Potongan melintang tubulus seminiferus memperlihatkan sel-sel turunan spermatogenik (spermatogonium, spermatisit primer, spermatisit

sekunder, spermatid) tersebar dalam 4 sampai 8 lapisan yang menempati ruangan antara lamina basalis dan lumen tubulus. Sel-sel ini membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa (Junqueira, 1988). Gambar potongan melintang tubulus seminiferus dapat dilihat pada gambar 2.4 bagian (b).

Yatim (1994) menjelaskan, bahwa sel-sel sertoli yang terdapat pada epitel tubulus seminiferus memiliki ukuran besar dan terletak di antara deretan sel spermatogenik. Inti sel sertoli berbentuk lonjong dengan nukleolus besar dan kromatin kurang jelas, memiliki banyak retikulum endoplasma (RE) halus dan sedikit RE kasar, badan golgi berukuran besar, banyak mitokondria dan lisosom. Guyton (1994) menambahkan, sel-sel ini berhubungan langsung dengan proses spermatogenesis. Sel-sel sertoli mensekresikan cairan yang membasahi sel-sel germinal dan cairan tambahan ke dalam lumen tubulus seminiferus, sebagai nutrisi bagi sperma yang berkembang dan baru dibentuk. Sel-sel sertoli juga mensekresikan hormon *Factor inhibisi muller*, ABP, estradiol, dan inhibin. Selama spermiogenesis, kelebihan sitoplasma pada spermatid dilepaskan sebagai bahan residu. Kepingan sitoplasma ini difagositosis dan dirombak oleh lisosom sel sertoli (Junqueira, 1988).

Sel sertoli bentuknya cukup besar, demikian pula bentuk *tight junction*nya. *Tingh junction* berfungsi dalam melekatkan sel dengan sel yaitu sel spermatogenik dengan sel sertoli dan memfasilitasi lalulintas materi antar sel. *Tight junction* akan terbuka pada waktu-waktu tertentu dan diikuti dengan pergerakan spermatosit menuju ke bagian adluminal, di dalam adluminal inilah meiosis terjadi secara lengkap. Perkembangan sel spermatid didukung oleh sel sertoli dan pada waktu

yang sama, sitoplasma dari spermatid diaktifkan oleh gertakan sel sertoli dan spermatozoa dikeluarkan menuju lumen tubulus (Lestari, 2007). Gambar sel spermatogenik dan *tight junction* dapat dilihat pada gambar 2.4 bagian (d).

Nalbdanov, 1990 dan Yatim, 1994 menjelaskan, bahwa sel leydig berbentuk bundar atau polygonal, inti di tengah sitoplasma banyak mengandung butiran lemak. Sel leydig terletak pada jaringan interstisial dan berperan dalam mensekresi hormon androgen. Sekresi androgen dikontrol oleh hormon LH dari hipofisa. Testosteron yang dihasilkan akan berdifusi masuk ke dalam tubuli semiferi, untuk mengontrol spermatogenesis dan memelihara sel sertoli. Testosteron juga berdifusi lewat pembuluh menuju saluran dan kelenjar kelamin. Junqueira (1988) menambahkan, testosteron disintesis di dalam sel leydig oleh enzim-enzim yang terdapat dalam mitokondria dan retikulum endoplasma halus. Gambar sel leydig seperti pada gambar 2.4 bagian (d).

Junqueira (1988) menjelaskan, saluran kelamin intratestis meliputi tubulus rektus, rete testis dan duktus eferen. Ujung tubulus seminiferus berhubungan dengan rete testis dengan perantara struktur yang dikenal sebagai tubulus rektus. Tubulus rektus dicirikan dengan hilangnya sel spermatogenik secara berangsur-angsur dengan bagian awal yang hanya terdiri dari sel sertoli sebagai unsur dindingnya. Tubulus rektus bersambung dengan rete testis yang terletak di mediastinum, yaitu penebalan tunika albugenia. Rete testis merupakan jalinan saluran yang bersinambung secara luas, dibatasi epitel kuboid.

Duktuli eferentes memiliki epitel yang terdiri atas kelompok sel kuboid tanpa silia diselingi sel bersilia ke arah epididimis. Sel tanpa silia mengabsorpsi

cairan yang disekresikan tubulus seminiferus. Aktivitas sel bersilia dan absorpsi cairan menimbulkan aliran cairan yang menggerakkan spermatozoa ke arah epididimis. Duktulus eferentes berangsur-angsur bersatu membentuk duktus epididimis dari epididimis (Junqueira, 1988).

Epididimis merupakan saluran tunggal yang memiliki struktur memanjang yang bertaut rapat dengan testis. Epididimis memiliki 4 fungsi, yaitu untuk transport, konsentrasi, tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa. Epididimis dilapisi epitel bertingkat silindris bersilia yang terdiri dari sel basal berbentuk bulat dan sel silindris. Sel-sel ini ditunjang oleh lamina basalis yang dikelilingi sel otot polos. Kontraksi peristaltik otot polos ini membantu mendorong sperma. Epididimis dibagi menjadi kepala, badan dan ekor (Toilihene, 1981 dan Junqueira, 1988). Gambar duktus deferens seperti yang terlihat pada gambar 2.1 bagian (a). Pada proses maturasi spermatozoa yaitu di dalam epididimis, dibutuhkan bahan utama yang menunjang proses pematangan spermatozoa, yaitu ion Ca, Na, K dan Cl, substrat (protein, asam sialat, glikogen, asam laktat, fosfolipid) dan enzim (LDH, fosfatase asam dan fosfatase basa) (Nugroho, 2009).

Firman Allah dalam surat Az-Zumar ayat 62 tentang kasih sayang yang Allah berikan kepada makhluk ciptaan-Nya:

اللَّهُ خَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ ۖ وَهُوَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ وَكِيلٌ ﴿٦٢﴾

Artinya: Allah menciptakan segala sesuatu dan dia memelihara segala sesuatu (Az-Zumar: 62).

Surat Az-Zumar ayat 62 menjelaskan, bahwa Allah menciptakan sesuatu dan Allah juga memeliharanya. Selain itu, surat Az-Zumar ayat 62 merupakan

bukti kasih sayang Allah terhadap makhluk ciptaan-Nya. Allah menciptakan sel sperma di dalam testis kemudian sperma akan disimpan dan dirawat di dalam saluran epididimis. Epididimis merupakan bentuk kasih sayang Allah yang diberikan kepada hewan jantan sebagai tempat pematangan sperma dan penyalur sperma. Menurut Campbell (2004) epididimis berperan sebagai tempat untuk transport, konsentrasi, tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa. Epididimis sebagai tempat pemeliharaan sperma yang belum matang, sehingga dihasilkan sperma yang motil dan mendapatkan kemampuan untuk membuahi sel telur. Allah telah merancang organ reproduksi pria sedemikian rupa untuk dapat menghasilkan, menyimpan dan mengirim sperma pada tempat yang telah ditentukan (Kiptiyah, 2007).

Dekat kepala epididimis, vas deferens berliku-liku dan berjalan sejajar badan epididimis. Vas deferens terentang mulai dari ekor epididimis sampai ke uretra. Dinding vas deferens mengandung otot licin yang penting dalam mekanisme pengangkutan semen waktu ejakulasi. Vas deferens dari kedua testis membesar membentuk ampulla (Partodiharjo, 1992). Bagian akhir ampulla bergabung dengan vesikula seminalis. Duktus deferens kemudian memasuki prostat, bermuara ke dalam uretra prostatika. Ruas yang memasuki prostat disebut duktus ejakulatoria (Junqueira, 1988). Gambar duktus deferens diperlihatkan pada gambar 2.1 bagian (a). Uretra merupakan saluran urogenitalis untuk urin dan untuk semen. Saluran uretra tergantung mulai dari duktus ejakulatoris sampai ke ujung penis (Partodiharjo, 1992).

Menurut Junqueira (1988) vesikula seminalis terdiri atas saluran kelenjar asesori mencakup sepasang vesikula seminalis, prostat dan sepasang kelenjar bulbouretralis atau kelenjar cowper, yang berkelok-kelok dan bukan merupakan tempat penampungan sperma. Vesikula seminalis mempunyai mukosa yang berlipat-lipat, dilapisi epitel bertingkat silindris yang mempunyai banyak granula sekretoris. Lamina propia banyak mengandung serat elastin dan dilapisi otot polos tipis. Campbell (2004) menambahkan, sepasang vesikula seminalis mensekresikan cairan yang mengandung mukus, gula fruktosa (energi bagi sperma), enzim pengkoagulasi, asam askorbat dan prostaglandin. Kelenjar prostat merupakan kelenjar pensekresi semen terbesar.

Prostat merupakan kumpulan kelenjar tubuloalveolar bercabang yang saluran keluaranya bermuara ke dalam uretra pars prostatika. Prostat menghasilkan cairan prostat dan disimpan di bagian dalam untuk dikeluarkan selama ejakulasi. Prostat mempunyai tiga daerah yang berbeda: yang pertama adalah daerah sentralis. Daerah ini mempunyai epitel bertingkat dan meliputi 25% dari volume kelenjar. Daerah kedua yaitu daerah perifer, yang lebih banyak mempunyai epitel biasa dan daerah ini menempati 75% volume kelenjar. Daerah ketiga yaitu daerah transisional, merupakan tempat sebagian besar hyperplasia prostat benigna berasal (Junqueira, 1998). Cairan prostat bersifat encer dan seperti susu, mengandung enzim antikoagulan, sitrat (nutrien bagi sperma) dan sedikit asam (Campbell, 2004).

Kelenjar bulbouretral (kelenjar cowper) berupa kelenjar tubuloalveolar yang dilapisi epitel selapis kuboid pensekresi lendir. Sel otot lurik dan otot polos

terdapat pada septa yang membagi setiap kelenjar menjadi lobus (Junqueira, 1998). Kelenjar bulbouretralis merupakan sepasang kelenjar kecil terletak di sepanjang uretra, di bawah prostat. Kelenjar bulbouretralis berperan dalam mensekresikan mukus bening yang berfungsi untuk menetralkan urin asam yang masih tersisa dalam uretra. Cairan bulbouretralis juga membawa sebagian sperma yang dibebaskan sebelum ejakulasi (Campbell, 2004).

Penis mempunyai 2 fungsi yaitu menyalurkan sperma ke dalam organ reproduksi betina dan sebagai jalan keluarnya urin. Penis terbungkus oleh tunika fibrosa yang padat dan putih, disebut tunika albugenia. Penis terbagi menjadi 3 bagian yaitu bagian pangkal (*crus penis*), bagian badan (*sigmoid*) dan bagian ujung penis (*glans penis*). Untuk melindungi penis dari pengaruh luar dan kekeringan, maka penis dilindungi oleh preputium (Partodiharjo, 1992).

2.4 Fisiologi Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Jantan

Hipotalamus mensekresikan GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) yang berfungsi merangsang kelenjar hipofisa untuk mensintesis dan mensekresi hormon gonadotropin (Sloane, 2003). Toelihere (1981) menjelaskan, hormon gonadotropin yang disekresi oleh kelenjar hipofisa ialah hormon FSH dan LH. Hormon-hormon ini berperan penting dalam pengaturan testis untuk produksi spermatozoa dan pelepasan hormon-hormon gonadal, yaitu testosteron.

Follicle Stimulating Hormone (FSH) merupakan suatu glikoprotein yang mengandung asam amino dan karbohidrat. Asam sialat merupakan karbohidrat terpenting, tanpa asam sialat fungsi FSH akan hilang (Partodiharjo, 1992). FSH

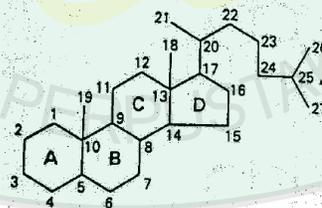
dihasilkan oleh sel basofil pada lobus anterior hipofisa dan memiliki reseptor pada sel tubulus seminiferus dan diperlukan dalam spermatogenesis (Sloane, 2003).

FSH berperan dalam stimulasi pertumbuhan sel-sel kelamin dan pematangan spermatogenesis di dalam tubuli seminiferi testis. Sekresi FSH dihambat oleh hormon testosteron dari sel interstisial testis (Toelihere, 1981). FSH menginduksi proliferasi epitelium germinatifum tubulus seminiferus dan pada waktu yang sama merangsang sel-sel sertoli melepaskan inhibin. Sel sertoli juga mensekresikan ABP untuk merespon FSH (Guyton, 1990 dan Sloane, 2003).

FSH pada testis mengakibatkan terpacunya *adenyl cyclase* di dalam sel sertoli yang berperan dalam meningkatkan produksi *cyclic AMP*, memacu produksi androgen binding protein (ABP) di dalam tubuli semeniferus dan di epididimis. Dengan demikian FSH bekerja menyiapkan kadar androgen yang cukup untuk sel germinal dan memacu pendewasaan spermatozoa di dalam epididimis (Guyton, 1994).

Luteinizing Hormone (LH) merupakan suatu glikoprotein, mengandung asam amino dan karbohidrat, sedikit mengandung asam sialat. LH memiliki reseptor pada sel interstitial dan menstimuler sel-sel interstisial leydig pada testis sehingga terjadi sintesis dan pelepasan testosteron, dengan demikian LH disebut juga *ICSH (Interstitial Cell Stimulating Hormone)* (Partohiharjo, 1992 dan Sloane, 2003). LH secara tidak langsung menyebabkan stimulasi sifat-sifat kelamin sekunder dan kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap melalui kerja testosteron, (Partodiharjo, 1992).

Menurut Guyton (1994) testis mensekresikan hormon androgen, termasuk testosteron, hidrotosteron dan androtosteron. Testosteron jumlahnya lebih banyak dari yang lainnya, sehingga dianggap sebagai hormon tesikular terpenting. Toelihere (1981) menambahkan bahwa androgen atau hormon kelamin jantan dihasilkan oleh testis dan sedikit oleh cortex adrenal. Androgen termasuk dalam kelompok hormon-hormon steroid yang dikarakteriser oleh adanya inti *cyclopentano-perhydro-phenantherene*. Semua hormon steroid pada dasarnya memiliki struktur yang sama, tetapi mempunyai sedikit perbedaan kimiawi yang mengakibatkan terjadinya perbedaan aktivitas biokimiawi. Struktur dasarnya adalah molekul *siklopentanolperhidrofenantren*, molekul ini terdiri dari 3 buah cincin dari 6 atom karbon dan sebuah cincin dari 5 atom karbon. Cincin dasar ini ditandai dengan huruf A, B, C, dan D, sedangkan atom karbon diberi angka (Suherman, 1995). Rumus bangun inti steroid *siklopentanolperhidrofenantren* seperti yang terdapat pada gamabr 2.6.



Gambar 2.6 Rumus bangaun inti steroid (Partodiharjo, 1992).

Androgen penting untuk mengontrol sifat-sifat seks sekunder pada hewan jantan serta kemampuan fungsional saluran-saluran dan kelenjar-kelenjar reproduksi asesori. Androgen juga menimbulkan pengaruh terhadap epitel germinal tubuli testis, sehingga mempengaruhi produksi spermatozoa. Salah satu

fungsi penting androgen ialah mempengaruhi spermatogenesis di dalam tubuli testis (Turner, 1988).

Testosteron disintesis oleh sel-sel Leydig di bawah pengaruh LH. Testosteron berdifusi ke dalam tubulus seminiferus dan merupakan perangsang utama untuk diferensiasi sel germinal (Turner, 1988). Testosteron di dalam sirkulasi darah terikat dengan protein darah atau globulin. Protein ini berfungsi untuk mengikat steroid dan memperpanjang waktu aktif steroid (Nalbdanov, 1990). ABP disekresikan oleh sel-sel Sertoli di bawah pengaruh FSH, berperan dalam pengikatan testosteron dan membantu mempertahankan tingkat konsentrasi testosteron dalam tubulus seminiferus (Guyton, 1994). Hormon ABP yang diproduksi oleh sel Sertoli dan dikeluarkan menuju bagian adluminal tubulus seminiferus, membantu testosteron dalam jumlah besar menuju caput epididimis (Lestari, 2007).

Testosteron berfungsi dalam mempertahankan spermiogenesis atau perkembangan dan pematangan spermatid dan spermatozoa di dalam saluran-saluran testicular. Hormon ini berperan dalam pembelahan meiosis spermatosit primer dan memperpanjang umur sperma di epididimis. Testosteron juga berfungsi dalam mekanisme umpan balik negatif terhadap gonadotropin (FSH dan LH) (Toelihere, 1981). Partodiharjo (1992) menjelaskan, bahwa testosteron yang dihasilkan tersebut akan bekerja menstimulasi tahap akhir spermatogenesis, memperpanjang hidup sperma pada epididimal, meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan organ-organ seperti prostat, kelenjar vesikular, vas deferens, penis

dan scrotum. Testosteron masuk ke dalam aliran darah yang akan berfungsi mengatur pertumbuhan karakteristik seksual sekunder dan libido.

Allah berfirman dalam surat Al-Furqan ayat 2 tentang keimanan dan kekuasaan Allah dalam ciptaann-Nya:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

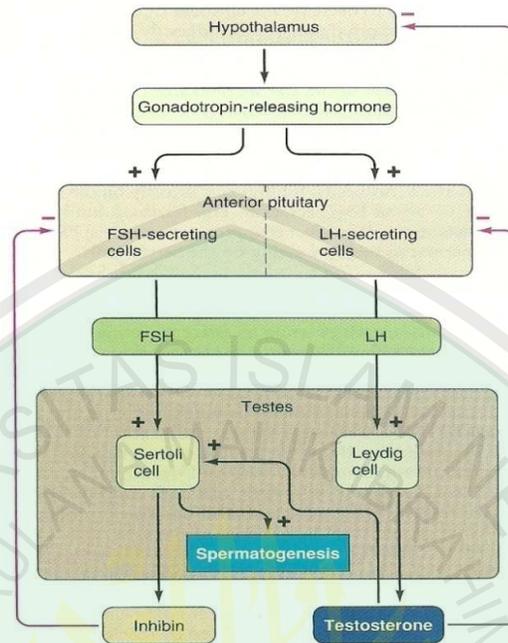
Artinya: Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (Al-Furqaan : 2).

Ayat yang mulia ini menerangkan bahwa hanya Allah saja yang menguasai langit dan bumi, Allah tidak punya anak dan sekutu, Allah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukuran dengan rapi. Surat Al-Furqan ayat 2 memberi pelajaran yang berharga, bahwa segala sesuatu yang Allah ciptakan memiliki ketetapan ukuran yang sesuai. Ketetapan ukuran hasil ciptaan Allah dapat kita pelajari pada kadar hormon reproduksi yang mengatur proses spermatogenesis. Agar spermatogenesis dapat berjalan dengan normal, maka kadar hormon reproduksi harus diatur sedemikian rupa agar berada pada kadar normal. Mekanisme pengaturan hormon yang terlibat dalam spermatogenesis diatur melalui mekanisme umpan balik positif dan umpan balik negatif. Inilah salah satu bukti konkret keagungan Sang Pencipta Kebenaran Allah dan keajaiban ciptaan-Nya, Dialah yang Maha Suci lagi Maha Kuasa.

Konsentrasi FSH, LH dan GnRH dalam darah diatur melalui umpan balik negatif oleh androgen. Sekresi GnRH juga dikontrol melalui umpan balik negatif dari LH dan FSH. Pelepasan FSH dan LH oleh rangsangan dari GnRH ke dalam

aliran darah berada dalam konsentrasi yang tidak sama, hal ini disebabkan karena LH lebih cepat hilang di dalam aliran darah daripada FSH dan oleh adanya pengatur yang lain selain GnRH, yaitu hormon testosteron dan inhibin yang mengatur pelepasan FSH dan LH (Sherwood, 2005 dan Campbell, 1999).

Mekanisme sekresi hormon gonadotropin yang dikontrol oleh hormon hipotalamus dimulai dari hipotalamus mensekresikan GnRH. Sekresi GnRH menyebabkan pituitari anterior untuk mensekresi FSH dan LH secara bergantian. FSH merangsang sel sertoli yang berada di dalam tubulus seminiferus untuk mensekresikan inhibin. Peningkatan konsentarsi inhibin akan menyebabkan umpan balik negatif terhadap pituitary anterior untuk menekan sekresi FSH. LH yang dilepaskan pituitari anterior akan merangsang sel leydig di dalam testis untuk mensekresikan testosteron. Meningkatnya konsentasi testosteron akan memberikan umpan balik negatif terhadap hipotalamus untuk menekan sekresi GnRH. Konsentrasi testosteron yang meningkat juga akan menyebabkan umpan balik negatif terhadap pituitari anterior untuk menekan sekresi LH (Partodiharjo, 1992). Gambar pengaturan kerja hormonal testis-hipotalamus terdapat pada gambar 2.7.



Gambar 2.7 Pengaturan kerja hormonal testis-hipotalamus (Sherwood, 2005).

Sherwood (2005) menjelaskan, bahwa testosteron merupakan hormon yang disekresikan oleh sel leydig di bawah pengaruh LH dan bertindak sebagai umpan balik negatif dalam menghambat sekresi LH. Efek utama dari umpan balik negatif yang dilakukan oleh testosteron adalah untuk menurunkan sekresi GnRH oleh hipotalamus, hal ini secara tidak langsung menyebabkan penurunan sekresi FSH dan LH oleh pituitari anterior. Testosteron bertindak secara langsung pada pituitari anterior yaitu menurunkan respon sel yang mensekresikan LH terhadap rangsangan dari GnRH. Testosteron menghambat pelepasan LH lebih besar dari pada menghambat pelepasan FSH. Partodiharjo (1992) menambahkan, sekresi LH mempunyai hubungan timbal balik dengan sekresi testosteron, sedangkan pengaruh testosteron terhadap sekresi FSH tidak sepenuhnya mengikuti pola

timbang balik antara LH-testosteron. Pengaturan sekresi hormon testis-hipotalamus terlihat pada gambar 2.7.

Hambatan penyampaian respon ke daerah testis secara langsung terjadi pada kontrol sekresi FSH yang dilakukan oleh hormon peptida inhibin. Inhibin bertindak secara langsung pada pituitari anterior yaitu sel yang mengsekresikan FSH untuk menghambat sekresi FSH. Hambatan sekresi FSH yang dilakukan oleh hasil sekresi sel sertoli yaitu inhibin merupakan hal yang tepat, karena FSH merangsang spermatogenesis dengan perantara sel sertoli (Sherwood, 2005). Pengaturan sistem umpan balik ini mempertahankan hormon-hormon tersebut tetap berada dalam kadar yang relatif konstan (Campbell, 1999), sehingga mempertahankan kecepatan spermatogenesis (Sloane, 2003). Pengaturan sekresi hormon testis-hipotalamus terlihat pada gambar 2.7.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) factorial 2 X 3. Kedua faktor yang digunakan dalam rancangan penelitian ini adalah:

Faktor I adalah usia biji pepaya (P) yang terdiri dari 2 level, yaitu:

P1: ekstrak biji pepaya muda

P2: ekstrak biji pepaya tua

Faktor 2 adalah dosis ekstrak biji pepaya (K) yang terdiri dari 4 level, yaitu:

K1: 200 mg/kg BB

K2: 250 mg/kg BB

K3: 350 mg/kg BB

K4: 400 mg/kg BB

Dari kedua faktor yang telah diuraikan didapatkan 8 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang 3 kali.

1. Kelompok kontrol: kelompok pembandingan tanpa perlakuan sebanyak 3 ekor mencit diberi 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.
2. Kelompok P1K1: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya muda dengan dosis 200 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.

3. Kelompok P1K2: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya muda dengan dosis 250 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.
4. Kelompok P1K3: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya muda dengan dosis 350 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.
5. Kelompok P1K4: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya muda dengan dosis 400 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.
6. Kelompok P2K1: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya tua dengan dosis 200 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.
7. Kelompok P2K2: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya tua dengan dosis 250 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.
8. Kelompok P2K3: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya tua dengan dosis 350 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.
9. Kelompok P2K4: kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor mencit yang diberi larutan ekstrak biji pepaya tua dengan dosis 400 mg/kg BB + 0,5 ml Na CMC 0,5%, makan dan minum.

3.2 Variabel Penelitian

Variable yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Variabel bebas yaitu faktor yang sengaja diubah atau dimanipulasi oleh peneliti dengan maksud untuk mengetahui perubahan apa yang terjadi. variabel bebas dalam penelitian ini terdiri dari 2 variabel yaitu variabel A dan variabel B. Variabel A adalah ekstrak biji pepaya muda dan biji pepaya tua, sedangkan variabel B adalah dosis 200 mg/kg BB, 250 mg/kg BB, 350 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB.
2. Variabel tergantung yaitu faktor yang diukur atau diamati sebagai akibat dari manipulasi variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid), jumlah sel leydig dan tebal epitel tubulus seminiferus testis.
3. Variabel kendali yaitu faktor yang sengaja dikendalikan supaya tidak mempengaruhi variabel bebas maupun variabel tergantung. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah jenis hewan coba yaitu mencit galur balb/c jenis kelamin jantan, fertil, kdananga atau bak plastik dengan alas sekam, pakan mencit dan air minum.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai Juli 2010 di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Optik, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Populasi dan Sampel

Hewan uji yang dipakai adalah mencit (*Mus musculus* L.) galur balb/c jenis kelamin jantan, fertil, umur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 20-25 gram sebanyak 30 ekor.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba (bak plasti), tempat makan dan minum mencit, alas, pencekok oral (gavage), timbangan digital, beaker glass, gelas ukur, labu ukur, pengaduk, kaca penutup, objek glass, ayakan tepung, kertas saring, mikrotome, hdan counter, seperangkat alat bedah, botol spesimen, rotary evaporator, corong buncher, gilingan dan mikroskop komputer (mikrotom).

3.5.2 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah biji pepaya muda dan serbuk biji pepaya tua, aquades, pakan mencit, etanol 96%, formalin 10%, alkohol 70%, 80%, 90% dan 95%, gelatin 0,5%, xylol, parafin, air, haematoxylin, eosin, etanol absolut, etilen, klorofom dan Na CMC 0,5%.

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Sebelum penelitian dilakukan, disiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang meliputi kandang (bak plastik) berbentuk segi 4, sekam, tempat makan dan minum mencit. Mencit diadaptasikan selama 2 minggu dan setelah itu dilakukan

uji fertilitas mencit jantan dengan cara mengawinkan selumh mencit jantan yang akan digunakan dalam penelitian secara alami dengan mencit betina. Hanya mencit jantan yang terbukti fertil ,yaitu yang dapat menyebabkan kebuntingan pada mencit betina, yang digunakan sebagai sampel penelitian. Mencit fertil ditempatkan terpisah dan diaklimatisasi selama 1 minggu.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak

Biji pepaya disiapkan dan disortir dengan mengambil biji yang terbaik kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Setelah itu dikeringkan dengan cara dioven selama 96 jam dengan suhu 40⁰C. Biji pepaya kemudian dibuat serbuk dengan cara digiling. Serbuk biji pepaya yang sudah halus dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Ekstrak disaring dengan corong buncher, penyaringan dilakukan sebanyak 2 sampai 3 kali dan residunya dimaserasi kembali dengan etanol 96%. Filtrat dipekatan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 70⁰C selama 3 jam sampai pelarut menguap, sehingga pada akhirnya diperoleh ekstrak yang kental kemudian hasilnya ditimbang.

3.6.3 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%

Pembuatan sediaan larutan Na CMC 0,5% dibuat dengan menimbang 500 mg Na CMC. Setelah itu memanaskan aquades sebanyak 100 ml dan menaburkan Na CMC pada aquades panas tersebut. Na CMC dibiarkan selama kurang lebih 15 menit sampai berwarna bening dan berbentuk menyerupai jeli. Selanjutnya diaduk

sampai homogen, kemudian diencerkan dengan dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan dengan aquades hingga volume 100 ml.

3.6.4 Pemberian Perlakuan

Pemberian perlakuan dilakukan dengan menimbang ekstrak kental biji pepaya sesuai dengan dosis yang telah ditentukan dan diencerkan dengan larutan Na CMC 0,5% sebanyak 0,5 ml agar tidak melebihi kapasitas gastric mencit.

3.6.5 Kegiatan Penelitian

Pemberian ekstrak biji pepaya diberikan secara oral menggunakan gavage dengan volume tidak melebihi volume intragestik (1 ml) mencit. Ekstrak biji pepaya diberikan pada mencit sekali setiap hari, yaitu pada pagi hari jam 08.00-10.30 WIB selama 36 hari dengan dosis 200, 250, 350, 400 mg/kg berat badan mencit. Pada hari ke 37 seluruh mencit dibius dengan klorofom kemudian dibedah dan diambil kedua testisnya untuk dibuat preparat mikroskop. Sediaan testis mencit diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali (40 X 10).

Dalam satu preparat histology terdapat 6 potong melintang testis mencit, kemudian yang diamati hanya 3 potong testis sebagai perwakilan. Pada masing-masing potongan testis tersebut diambil perwakilan 1 tubulus seminiferus yang terpotong bundar. Selanjutnya dengan mikroskop dilakukan pengamatan sel spermatogenik, sel leydig dan tebal epitel tubulus seminiferus. Setelah memperoleh data dari ke 3 tubulus seminiferus kemudian dijumlahkan dan dibagi 3.

Pengamatan sel spermatogenik dan tebal epitel tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikroskop Nikon E 100, yaitu pada tubulus seminiferus yang terpotong bundar dan diambil secara random. Penghitungan sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder dan spermatid) dilakukan dengan cara menghitung satu persatu sel spermatogenik sampai mengitari tubulus seminiferus (Kusumaningrum, 2008).

Tebal epitel tubulus seminiferus diukur pada mikroskop komputer (mikroskop) Olympus CX 31 dengan bantuan program aplikasi *measurements*. Pengukuran dilakukan dengan mengukur jarak terdekat pada batas antara membran basalis dan sel spermatogenik sampai ke permukaan lumen tubulus seminiferus. Hasil pengukuran dinyatakan dengan dalam satuan mikro meter (μm) (Danial, 2005).

Jumlah sel Leydig dihitung pada semua lapangan pandang, kecuali pada sediaan yang tubulus seminiferusnya terpotong kurang dari setengah. Tiap testis mencit dihitung jumlah sel Leydignya pada tiga (3) preparat yang kemudian diambil rata-rata dari ketiga preparat tersebut (Siregar, 2009).

3.6.6 Pembuatan Preparat Histologi

1. Tahapan pertama *coating*, dimulai dengan menandai objek glass yang akan digunakan dengan kikir kaca pada area tepi lalu direndam dengan alkohol 70% minimal satu malam, kemudian objek glass dikeringkan dengan tisu dan dilakukan perendaman dalam larutan gelatin 0,5% selama 30-40 detik per slide lalu dikeringkan dengan posisi disandarkan, sehingga gelatin yang melapisi kaca dapat merata.

2. Tahap kedua, organ testis yang telah disimpan dalam larutan formalin 10% dicuci dengan alkohol selama 2 jam dilanjutkan dengan pencucian secara bertingkat dengan alkohol yaitu alkohol 90%, 95%, etanol absolut (3 kali), xylol (3 kali) masing-masing selama 20 menit.
3. Tahap ketiga, adalah proses *infiltrasi* yaitu dengan menambahkan parafin 3 kali selama 30 menit.
4. Tahap keempat adalah *embedding*, bahan beserta parafin dituangkan dalam kotak karton atau wadah yang sudah disiapkan dan diatur sehingga tidak ada udara yang terperangkap di sekat bahan. Blok parafin disimpan selama 1 malam dalam suhu ruang kemudian diinkubasi dalam *freezer* sehingga benar-benar keras.
5. Tahap pemotongan dengan mikrotom. Cutter dipanaskan dan ditempelkan pada dasar blok sehingga parafin sedikit meleleh. *Holder* dijepitkan pada mikrotom putar dan ditata sejajar dengan pisau mikrotom. Pengirisan atau penyayatan dimulai dengan mengatur ketebalan, untuk testis dipotong dengan ukuran 5 μm kemudian pita hasil irisan diambil dengan menggunakan kuas dimasukan ke dalam air dingin untuk membuka lipatan kemudian masukkan dalam air hangat dan dilakukan pemilihan irisan yang terbaik. Irisan yang terpilih diambil dengan objek glass yang sudah dicoating lalu dikeringkan di atas *hot plate*.
6. Tahap deparanisasi, yakni preparat dimasukkan dalam xylol sebanyak 2 kali selama 5 menit.

7. Tahap *rehidrasi*, preparat dimasukkan ke dalam larutan etanol bertingkat mulai etanol absolut (2 kali) etanol 95%, 90%, 80% dan 70% masing-masing selama 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam aquades selama 10 menit.
8. Tahap pewarnaan, preparat ditetesi dengan hematoxylin selama 3 menit atau sampai didapatkan hasil warna yang terbaik. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan dibilas dengan aquades selama 5 menit. Setelah itu preparat dimasukkan dalam pewarna eosin alkohol selama 30 menit dan dibilas dengan aquades selama 5 menit.
9. Tahap *dehidrasi*, preparat direndam dalam etanol 80%, 90%, 95% dan etanol absolut (2 kali) masing-masing selama 5 menit.
10. Tahap *clearing*, dalam larutan xylol 2 kali selama 5 menit kemudian diangin-anginkan.
11. *Mounting*, dengan etilen hasil akhir diamati dengan mikroskop dan dipotret kemudian data dicatat.

3.7 Analisis Data

Jumlah sel spermatogonium, spermatisit, spermatid, sel leydig dan tebal epitel tubulus seminiferus yang telah dihitung kemudian dianalisis menggunakan analisis *two way* ANAVA. Untuk mengetahui perbedaan kombinasi antar perlakuan ekstrak biji pepaya muda dan ekstrak biji pepaya tua dengan dosis, 250, 350 dan 400 mg/kg BB. Apabila dari hasil analisis diperoleh nilai $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ maka dilanjutkan dengan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf signifikan 5%.



BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Spermatogenesis pada Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan

4.1.1.1 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA ganda tentang pengaruh interaksi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatogonium pada testis sebelah kanan, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 0,05}$ pada faktor K yaitu $3,64 > 3,34$, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian dosis ekstrak biji pepaya terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium. Tetapi perlakuan jenis ekstrak dan interaksi jenis ekstrak dan dosis tidak menunjukkan adanya pengaruh, sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.1. Perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 3.

Tabel 4.1 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kanan

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Ulangan	2	174,08	87,04	1,66 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(810,50)	(115,78)	(2,20) ^{tn}	(2,77)
P	1	140,17	140,17	2,67 ^{tn}	4,60
K	3	573,50	191,17	3,64 [*]	3,34
PK	3	96,83	32,28	0,61 ^{tn}	3,34
Galat	14	735,25	52,52		
Total	23	810,50			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
* menunjukkan berbeda nyata

Untuk mengetahui kombinasi antar perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium, maka dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Berdasarkan hasil uji BNJ 5% dari rata-rata sel spermatogonium pada testis sebelah kanan, maka didapat notasi BNJ 5% seperti pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	211	$211/(3 \times 2) = 35,17$	a
K3	232	$232/(3 \times 2) = 38,67$	ab
K2	271	$271/(3 \times 2) = 45,17$	ab
K1	284	$284/(3 \times 2) = 47,33$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.2 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB), K3 (dosis 350 mg/kg BB) dan K2 (dosis 250 mg/kg BB) mempunyai efek sama terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium, tetapi perlakuan K4 mempunyai efek berbeda dengan perlakuan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3, K2 dan K1 mempunyai efek yang sama terhadap jumlah sel spermatogonium.

Dari hasil notasi BNJ 5%, dapat diketahui bahwa pemberian perlakuan dosis ekstrak biji pepaya ternyata dapat menurunkan jumlah sel spermatogonium tubulus seminiferus secara bermakna. Jumlah sel spermatogonium semakin menurun sesuai dengan meningkatnya dosis yang diberikan. Perlakuan K4 mampu menurunkan jumlah sel spermatogonium lebih baik dari pada perlakuan yang lain. Rata-rata jumlah sel spermatogonium pada perlakuan K4 yaitu 35,17 lebih rendah dari pada rata-rata sel spermatogonium pada perlakuan K3, K2, K1.

Tabel 4.3 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kiri

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel (5%)}
Ulangan	2	93,25	46,62	0,35 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(2983,62)	(426,23)	(3,21) [*]	(2,77)
P	1	672,04	672,04	5,06 [*]	4,60
K	3	1881,12	627,04	4,72 [*]	3,34
PK	3	430,46	143,49	1,08 ^{tn}	3,34
Galat	14	1860,75	132,91		
Total	23	4937,62			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
^{*} menunjukkan berbeda nyata

Berdasarkan hasil tabel 4.3 tentang pengaruh interaksi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatogonium pada testis sebelah kiri, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 0,05}$ pada faktor P dan K yaitu $5,06 > 4,60$ dan $4,72 > 3,34$, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian jenis ekstrak dan dosis biji pepaya terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium. Tetapi interaksi jenis ekstrak dan dosis tidak menunjukkan adanya pengaruh. Perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 4.

Tabel 4.4 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan P	Total	Rata-rata	Notasi
P2	601	$601/(3 \times 4) = 50,08$	a
P1	728	$728/(3 \times 4) = 60,67$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Berdasarkan tabel 4.4 memperlihatkan hasil uji lanjut BNJ 5% tentang pengaruh jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatogonium pada testis sebelah kiri, dapat diketahui bahwa perlakuan P2 (ekstrak biji pepaya tua)

dan P1 (ekstrak biji pepaya muda) mempunyai efek berbeda dalam menurunkan jumlah sel spermatogonium. Perlakuan P2 mampu menurunkan rata-rata sel spermatogonium lebih rendah dari pada perlakuan P1, hal ini dapat diketahui dari rata-rata jumlah sel spermatogonium pada perlakuan P2 yaitu 50,08 lebih rendah dari pada perlakuan P1 yaitu 60,67.

Tabel 4.5 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	269	$269/(3 \times 2) = 44,83$	a
K3	306	$306/(3 \times 2) = 51$	ab
K2	341	$341/(3 \times 2) = 56,83$	ab
K1	413	$413/(3 \times 2) = 68,83$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.5 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB), K3 (dosis 350 mg/kg BB) dan K2 (dosis 250 mg/kg BB) mempunyai efek yang sama terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium, akan tetapi perlakuan K4 mempunyai efek yang berbeda dengan perlakuan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3, K2 dan K1 mempunyai efek yang sama terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium.

Berdasarkan hasil notasi BNJ 5%, pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa perlakuan dosis ekstrak biji pepaya berpengaruh dalam menurunkan jumlah sel spermatogonium. Dapat diketahui juga bahwa perlakuan K4 mampu menurunkan jumlah sel spermatogonium lebih rendah dari pada perlakuan yang lain. Hal ini berdasarkan rata-rata jumlah sel spermatogonium pada perlakuan K4 yaitu 44,83 lebih rendah dari pada perlakuan K3, K2 dan K1.

Dari hasil analisis ANAVA ganda dan BNJ 5% baik pada testis sebelah kanan maupun kiri, dapat diketahui bahwa kombinasi perlakuan dosis memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium. Kombinasi perlakuan jenis ekstrak biji pepaya berpengaruh secara nyata dalam menurunkan jumlah sel spermatogonium pada testis sebelah kiri, tetapi pada testis sebelah kanan tidak berpengaruh secara nyata. Dari semua kombinasi perlakuan yang diberikan (K1, K2, K3, K4, P1 dan P2) ternyata perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) dan P2 (ekstrak biji pepaya tua) merupakan perlakuan paling efektif dalam menurunkan jumlah sel spermatogonium tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan dan kiri.

Adanya pengaruh kombinasi pemberian dosis ekstrak biji pepaya terhadap turunnya jumlah sel spermatogonium baik pada testis sebelah kanan maupun kiri, diduga karena konsentrasi bahan aktif yang ada pada ekstrak biji pepaya berada pada konsentrasi tinggi. Apabila dilihat pada setiap perlakuan dosis, maka semakin tinggi dosis yang diberikan maka jumlah sel spermatogonium semakin menurun. Turunnya jumlah sel spermatogonium mulai terjadi pada perlakuan dosis 200 mg/kg BB. Pada perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) konsentrasi bahan aktif yang ada pada ekstrak biji pepaya berada pada konsentrasi yang lebih tinggi dari pada perlakuan dosis yang lain, sehingga jumlah sel spermatogonium pada perlakuan tersebut lebih rendah dari pada perlakuan yang lain. Hal tersebut sejalan dengan yang dikemukakan oleh Purnomo (2008) bahwa pada umumnya semakin tinggi konsentrasi suatu formulasi maka semakin tinggi pula bahan aktif yang

dikandung. Zat aktif tersebut mampu mempengaruhi kerja hormon dan metabolisme sel sehingga mengurangi jumlah sel-sel spermatogenik.

Berdasarkan hasil analisis statistik dapat diketahui bahwa perlakuan ekstrak biji pepaya menunjukkan pengaruh nyata terhadap turunnya jumlah sel spermatogonium. Meskipun kombinasi jenis ekstrak menunjukkan hasil berbeda pada testis sebelah kanan dan kiri. Kombinasi jenis ekstrak biji pepaya menunjukkan pengaruh terhadap turunnya jumlah sel spermatogonium pada testis kiri, tetapi pada testis sebelah kanan menunjukkan hasil yang berbeda. Keadaan tersebut dimungkinkan karena sel-sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus mempunyai sensitivitas yang berbeda terhadap hadirnya zat aktif pada ekstrak biji pepaya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Johnson dan Everitt (1990) yang melaporkan bahwa sel-sel dalam tubulus seminiferus mempunyai sensitivitas yang berbeda-beda terhadap pengaruh dari luar.

Kombinasi perlakuan jenis ekstrak biji pepaya memberikan pengaruh tidak nyata terhadap turunnya jumlah sel spermatogonium. Hal ini diduga karena ekstrak biji pepaya muda dan ekstrak biji pepaya tua sama-sama mengandung zat aktif yang sama, hal yang membedakan di antara kedua jenis ekstrak, ialah terletak pada konsentrasi zat aktif dari masing-masing jenis ekstrak biji pepaya. Konsentrasi senyawa metabolit sekunder pada biji pepaya tua lebih tinggi, tetapi konsentrasi enzim papain dan chymopapain rendah. Sedangkan pada biji pepaya muda konsentrasi metabolit sekunder rendah dan konsentrasi enzim papain dan chymopapain tinggi. Keadaan ini merupakan kebalikan di antara kedua jenis ekstrak.

Menurut Pratita (2008) etanol mempunyai sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar. Arfini (2006) menjelaskan bahwa alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, fenolik saponin dapat diekstraksi dengan etanol 60%. Ekstraksi biji pepaya dengan pelarut etanol maka akan dihasilkan senyawa golongan triterpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, papain dan chymopapain (Sukadana 2008 dan Yunardi, 2002).

Menurut Sukadana (2008) dan Yunardi (2002) biji pepaya dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol. Dari ekstraksi tersebut maka akan dihasilkan senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin serta enzim proteolitik yaitu papain dan chymopapain. Kandungan senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid merupakan komponen utama biji pepaya.

Hernawati (2008) menyatakan, senyawa metabolit sekunder biasanya terbentuk setelah fase pertumbuhan logaritmik atau fase stasioner. Berdasarkan uraian tersebut, diduga kadar metabolit sekunder pada biji pepaya tua lebih tinggi dari pada senyawa metabolit sekunder yang ada pada biji pepaya muda. Akan tetapi papain dan chymopapain lebih banyak terdapat pada tanaman pepaya yang masih muda. Dengan demikian terdapat perbedaan konsentrasi bahan aktif yang ada pada biji pepaya muda dan biji pepaya tua.

Turunnya jumlah sel spermatogonium akibat pemberian ekstrak biji pepaya dikarenakan hadirnya zat aktif di dalam ekstrak biji pepaya yang mampu mengganggu proses spermatogenesis baik secara hormonal maupun secara langsung (memberi efek toksik) pada sel-sel spermatogenik. Menurut Lohiya *at*

al., (2002) zat aktif yang terkandung dalam biji pepaya tersebut dapat berefek sitotoksik, antiandrogen atau berefek estrogenik.

Saponin yang terkandung pada ekstrak biji pepaya digunakan sebagai bahan untuk sintesis hormon steroid dan estrogen kontraseptif. Senyawa flavonoid dapat merangsang pembentukan estrogen pada mammalia dan strukturnya ada kemiripan dengan hormon estrogen. Senyawa yang bersifat estrogenik dan steroid akan memberikan umpan balik negatif terhadap poros hipotalamus-hipofisis-testis sehingga akan menurunkan sekresi GnRH, akibatnya sekresi LH maupun FSH juga menurun. Turunnya sekresi FSH dan LH akan berakibat gangguan pada spermatogenesis (Nurliani, 2005).

Spermatogenesis merupakan serangkaian proses yang meliputi proliferasi, diferensiasi dan pematangan sel-sel spermatogenik. Jika terjadi hambatan pada satu tahap perkembangan, maka akan mempengaruhi perkembangan selanjutnya (Junqueira, 1998). Proses normal spermatogenesis diatur oleh sistem hormon FSH, LH dan testosteron, yang pengendaliannya melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis (Adimunca, 1996).

Allah berfirman dalam dalam surat Al-Mulk ayat 3 tentang keseimbangan pada hasil ciptaan-Nya:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۗ فَأَرْجِعْ

الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya: *Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang, maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang? (Al-Mulk : 3).*

Surat Al-Mulk ayat 3 menjelaskan bahwa Allah menciptakan langit berlapis-lapis dan semua ciptaan-Nya mempunyai keseimbangan. Semua ciptaan Allah berada dalam kondisi yang seimbang, salah satu contohnya yaitu keseimbangan tubuh manusia. Allah menciptakan keseimbangan dalam tubuh manusia tidak hanya dalam bentuk morfologi saja, tetapi kegiatan fisiologi dan anatomi juga berada dalam kondisi seimbang. Keseimbangan kegiatan fisiologi yang terdapat dalam tubuh manusia adalah keseimbangan kadar hormon reproduksi. Keseimbangan hormon reproduksi akan menentukan fungsi reproduksi salah satunya pada proses spermatogenesis. Hormon FSH, LH dan testosteron merupakan hormon yang berperan penting dalam mengatur spermatogenesis. Pengendalian hormon tersebut melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis.

Hipotalamus mensekresikan GnRH yang merangsang kelenjar hipofisis anterior untuk mensekresikan FSH dan LH. Kedua hormon ini memegang peranan utama dalam mengatur fungsi seksual jantan. FSH dibawa melalui aliran darah menuju testis dan mengawali proses proliferasi spermatogenesis. Selanjutnya, LH akan menyelesaikan proses pembentukan dan pematangan spermatozoa. LH yang disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior akan dibawa melalui aliran darah menuju testis. Di dalam testis LH merangsang sel interstisial untuk mensekresikan testosteron yang diperlukan untuk pematangan akhir spermatozoa. Pembentukan testosteron sebanding dengan LH yang tersedia. Di mana gangguan pada proses sekresi dan pengangkutan LH dan FSH dapat mengganggu proses spermatogenesis (Prajogo, 2007).

Namun karena adanya pemberian perlakuan ekstrak biji pepaya yang mengandung senyawa metabolit sekunder sehingga dapat mengganggu keseimbangan hormon reproduksi akibatnya proses spermatogenesis terganggu. Gangguan spermatogenesis dapat berupa gangguan produksi dan sekresi hormon FSH, LH dan testosteron, terhambatnya proses perkembangan sel dan gangguan fungsi sel sertoli. Mekanisme terhambatnya perkembangan sel spermatogenik pada penelitian yang dilakukan oleh Muchtaromah (2009) adalah berupa penurunan jumlah selnya, yang diduga sangat erat kaitannya dengan FSH, LH dan testosteron tersebut. Gangguan pada sel sertoli akan menghambat regenerasi dan pematangan sel-sel germinal, yang mengakibatkan kematian sel germinal melalui mekanisme apoptosis (Mahriani, 2008).

Adanya gangguan dalam spermatogenesis juga dapat menyebabkan turunnya jumlah sel spermatogonium. Turunnya jumlah sel spermatogonium juga akan mengakibatkan turunnya jumlah sel spermatosit, spermatid dan sperma, karena sel spermatogonium merupakan sel benih yang akan berproliferasi menjadi sel sperma (Rahmawati, 2008).

Allah telah menurunkan ayat dalam Al-Qur'an yang menerangkan proses penciptaan manusia melalui proses pertemuan air mani laki-laki (sperma) dengan sel telur wanita. Sebagaimana firman Allah dalam surat Al-Insaan ayat 2

إِنَّا خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ مِنْ نُطْفَةٍ أَمْشَاجٍ نَبْتَلِيهِ فَجَعَلْنَاهُ سَمِيعًا بَصِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: Sesungguhnya kami telah menciptakan manusia dari setetes mani yang bercampur yang kami hendak mengujinya (dengan perintah dan larangan), karena itu kami jadikan dia mendengar dan melihat (Al Insaan : 2).

Allah menciptakan manusia melalui proses pertemuan antara air mani laki-laki dengan wanita, kemudian diuji dan dilengkapi dengan kemampuan dapat mendengar dan melihat. Bertemunya sel sperma laki-laki dengan sel telur wanita yang kemudian berubah menjadi sebuah sel yang bercampur antara keduanya dan terus membelah, sehingga akhirnya tumbuh dan berkembang menjadi manusia. Ibnu Abbas keponakan Rasulullah ketika ditanya tentang tafsir surat Al-Insaan ayat 2 mengatakan, *“Air mani yang telah bercampur, yaitu air mani laki-laki dan wanita yang telah bercampur kemudian melalui beberapa tahapan sehingga tercipta sebuah janin”* (Tafsir Ibnu Katsir dalam Utsman, 2005).

Surat Al-Insaan ayat 2 memberikan pengetahuan yang berharga, bahwa manusia diciptakan dari air mani laki-laki dengan wanita. Air mani atau sperma pada laki-laki dihasilkan di dalam tubulus seminiferus pada testis melalui proses spermatogenesis. Spermatogenesis merupakan proses perkembangan spermatogonium menjadi sel sperma yang motil. Spermatogenesis dipengaruhi oleh hormon yang dihasilkan oleh hypothalamus, hipofisa dan testis. Oleh karena itu spermatogenesis dapat berlangsung dengan baik jika hubungan fungsional hypothalamus, hipofisa dan testis berjalan normal (Widotama, 2008).

Adanya pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya terhadap menurunnya jumlah sel spermatogonium dikarenakan hadirnya zat aktif triterpenoid dan saponin yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis. Ekstrak biji pepaya mengandung zat aktif saponin yaitu golongan steroid dan golongan triterpenoid yang diperkirakan bersifat antifertilitas. Zat aktif tersebut dapat berefek sitotoksik, antiandrogen atau berefek estrogenik sehingga diduga bersifat

antifertilitas (Satriyasa, 2005 dan Lohiya *at al.*, 2002). Bersifat sitotoksik apabila pengaruhnya meracuni secara langsung terhadap sel kelamin dan bersifat hormonal apabila bekerja pada organ yang responsif terhadap hormon yang berkaitan. Bersifat antiandrogen apabila berkerja dengan menurunkan kadar hormon androgen dalam darah dan bersifat estrogenik, apabila cara kerjanya dengan meningkatkan kadar hormon estrogen dalam darah (Rusmiati, 2007).

Triterpenoid golongan saponin mempunyai kemampuan membentuk ikatan kompleks dengan lipid penyusun membran sel spermatogenik. Lipid merupakan komponen membran sel yang utama. Struktur dasar membran sel berupa 2 susunan molekul lipid fosfolipid dan glikolipid yang berperan sebagai penyeleksi masuknya molekul-molekul yang larut dalam air (Wurlina, 2002 dalam Kusumaningrum, 2008).

Membran sel berperan sebagai pemisah isi sel dengan lingkungan luar sel, mengendalikan pertukaran zat antar sel dengan lingkungan dan sebagai reseptor untuk hormon, glikoprotein pada permukaan sel. Molekul dan ion kecil masuk ke dalam sel melalui membran sel dalam dua arah. Gula, asam amino dan nutrisi memasuki sel dan produk limbah metabolisme keluar dari sel. Sel menyerap oksigen untuk respirasi seluler dan mengeluarkan karbon dioksida. Sel juga mengatur konsentrasi ion anorganik seperti Na^+ , K^+ , dan Cl^- , dengan cara membolak-balik arahnya dari satu arah ke arah lain melintasi membran sel (Campbell, 1999).

Adanya ikatan antara triterpenoid dengan lipid mengakibatkan perubahan pada permeabilitas membran sel. Permeabilitas membran sel merupakan

kemampuan membran sel dalam meloloskan partikel dengan menembusnya. Permeabilitas membran sel penting dalam mengatur materi-materi yang masuk dan keluar sel, memasukkan materi yang diperlukan dan mengeluarkan sisa metabolisme sel. Permeabilitas membran sel berkaitan erat dengan transport nutrisi seperti protein berupa asam amino, vitamin E, lemak yang berupa kolesterol yang diperlukan untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi (Wurlina, 2002 dalam Kusumaningrum, 2008).

Perubahan yang terjadi pada permeabilitas membran dan komponen penyusun membran sel spermatogenik menyebabkan nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan tidak dapat masuk ke dalam sel dan sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel. Keadaan ini akan menyebabkan gangguan pada proses metabolisme seluler. Metabolisme seluler dapat berupa katabolisme, yaitu respirasi yang menghasilkan energi berupa ATP untuk digunakan sel dalam melakukan kerjanya. Kerja sel dapat berupa pembelahan sel dengan tujuan untuk memperbanyak jumlahnya. Adanya gangguan pada proses respirasi seluler menyebabkan ATP yang terbentuk menurun. Jika energi untuk pembelahan sel menurun, maka proses pembelahan dapat terhambat sehingga jumlah sel yang dihasilkan juga menurun. Sehingga dengan adanya triterpenoid golongan saponin yang mempunyai kemampuan dalam membentuk ikatan kompleks dengan lipid penyusun membran sel spermatogenik, maka dapat menyebabkan menurunnya jumlah sel spermatogenik (Istanti, 1999 dan Campbell, 2004).

Menurut Satriyasa (2005) zat aktif steroid dan triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya mampu menurunkan jumlah sel

spermatogonium. Sel spermatogenik terdiri dari spermatogonium, spermatosit I, spermatosit II dan spermatid. Apabila pada sel spermatogonium mengalami penurunan maka jumlah sel spermatosit dan spermatid juga menurun, sehingga sperma yang dihasilkan juga menurun. Karena spermatogonium merupakan sel induk yang akan membelah menjadi spermatosit, spermatid dan akhirnya menjadi spermatozoa (Yurnadi, 2001 dalam Busman, 2007).

Elyal (2002) menyatakan bahwa senyawa triterpenoid dapat meningkatkan senyawa steroid dalam darah. Peningkatan kadar steroid dalam darah disebabkan oleh senyawa triterpenoid yang memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid dan steroid merupakan bahan baku untuk mensintesis hormon testosteron. Hal ini disebabkan karena triterpenoid mempunyai kerangka dasarnya sistem cincin *siklopentana perhidrofenantrena* dan kerangka dasar ini menyerupai kerangka steroid yaitu kolesterol. Kolesterol dipakai untuk biosintesis hormon steroid yang mencakup hormon seks, di antaranya androgen (testosteron). Meningkatnya kadar steroid akan diikuti pula dengan meningkatnya hormon testosteron (Rhobinson, 1995 dan Harborne, 1987).

Kadar testosteron yang normal dalam darah berfungsi untuk memelihara dan mempertahankan spermatogenesis. Sebaliknya, kadar testosteron yang tinggi di atas kadar normal akan menghambat spermatogenesis (Hdanelzman, 2000). Meningkatnya hormon testosteron akan menyebabkan mekanisme umpan balik negatif terhadap pituitari anterior untuk menghambat sekresi LH dan merangsang hipotalamus untuk menekan sekresi GnRH. Penurunan sekresi GnRH akan

menyebabkan penurunan sekresi FSH dan LH yang diproduksi oleh pituitar anterior (Sherwood, 2005).

Hormon LH berperan dalam merangsang perkembangan sel interstisial untuk mensekresikan testosteron. Testosteron berfungsi dalam mempertahankan spermiogenesis yaitu perkembangan dan pematangan spermatid menjadi spermatozoa. FSH pada proses spermatogenesis berperan dalam mengatur proliferasi sel sertoli yang akhirnya menentukan ukuran dan jumlah sel spermatogenik pada testis (Heckert *et al.*, 2007). FSH juga berperan dalam memelihara sel benih dan mendukung pembelahan meiosis. FSH berefek pada meningkatnya jumlah sel spermatogonia dan mendukung spermatogonia masuk pada pembelahan meiosis (O'Shaughnessy *et al.*, 2010). Gangguan pada proses sekresi dan pengangkutan LH dan FSH dapat mengganggu proses spermatogenesis (Prajogo, 2007)

Gangguan spermatogenesis dapat berupa penurunan jumlah sel spermatogonium. Spermatogonium merupakan *stem cell* dari sel-sel spermatogenik, jika spermatogonium berkurang maka sel spermatosit dan spermatid juga berkurang, akibatnya sel spermatozoa mengalami degenerasi dan jumlahnya menurun (Rahmawati, 2008).

Penurunan jumlah sel spermatogonium pada testis sebelah kanan dan kiri dikarenakan hadirnya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada biji pepaya. Hasil penelitian Satriyasa, (2005) menunjukkan bahwa penurunan jumlah sel spermatogonia A kemungkinan disebabkan oleh zat aktif yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya yaitu steroid, triterpenoid dan alkaloid, zat tersebut diduga

bersifat antifertilitas yang berefek sitotoksik, antiandrogen atau berefek estrogenik. Alkaloid yang terkandung dalam biji pepaya berefek sitotoksik. Efek sitotoksik tersebut akan menyebabkan gangguan metabolisme sel spermatogenik.

Gangguan metabolisme sel biasanya didahului oleh berkurangnya oksigen karena pengaruh masuknya senyawa toksik dalam ekstrak biji pepaya ke dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan pendapat Winekler *et al.*, (1971) dalam Rusmiati (2004) bahwa oksigen sangat penting bagi berbagai reaksi seluler sehingga terganggunya suplai oksigen berakibat reaksi seluler tidak berjalan sebagaimana mestinya.

Penurunan jumlah spermatogonia A diduga karena biji pepaya mengandung hormon estradiol (E2) maupun hormon progesteron (P4) yang terdapat dalam fraksi heksan yang dapat menyebabkan terganggunya sekresi FSH dan LH. Estradiol menyebabkan penekanan hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga menyebabkan GnRH dan hormon gonadotropin (FSH dan LH) terhambat. Hormon progesteron akan menghambat sekresi FSH yang mengakibatkan gangguan proses spermatogenesis (Satriyasa, 2005).

Terhambatnya FSH ini akan menyebabkan terganggunya proses mitosis dan proliferasi spermatogonia A. FSH melalui reseptornya pada spermatogonia A dapat menyebabkan daya tahan spermatogonia A optimal, dengan demikian dapat mempertahankan proses spermatogenesis dengan baik. Jika FSH terganggu maka daya tahan spermatogonia terganggu sehingga proses spermatogenesis juga akan terganggu (Satriyasa, 2005). FSH berpengaruh langsung terhadap sel sertoli dalam tubulus seminiferus. FSH meningkatkan sintesis protein (ABP) pengikat hormon

androgen (testosteron) dan menghasilkan nutrien bagi sel spermatogenik (Sukmaningsih, 2009). Terganggunya produksi FSH ini akan mengakibatkan degenerasi sel-sel spermatogenik karena terjadinya hambatan dalam pengangkutan glukosa ke dalam sel-sel spermatogenik. Bila pengangkutan glukosa terhambat maka sintesis protein akan terhambat juga, yang mengakibatkan perkembangan sel-sel spermatogonia A terganggu. FSH juga dapat meningkatkan kecepatan maturasi spermatogonia (Santen, 1994 dan Dupan, 1993 dalam Satriyasa, 2005).

Sel-sel spermatogonia A merupakan sel induk yang mudah dipengaruhi oleh pengaruh luar tetapi umumnya lebih tahan dari sel-sel spermatogenik yang lainnya. Dengan demikian, penurunan sekresi hormon FSH dan LH menyebabkan turunnya jumlah spermatogonium yang akan diikuti dengan menurunnya jumlah sel spermatogenik lainnya (Satriyasa, 2005).

4.1.1.2 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Jumlah Sel Spermatisit pada Testis Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA ganda tentang pengaruh interaksi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatisit pada testis sebelah kanan, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 0,05}$ pada faktor K yaitu $4,80 > 3,34$, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian dosis ekstrak biji pepaya terhadap penurunan jumlah sel spermatisit. Tetapi perlakuan jenis ekstrak dan interaksi dosis dan jenis ekstrak tidak menunjukkan adanya pengaruh, sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.6. Perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 5.

Tabel 4.6 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatisit pada Testis Sebelah Kanan

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Ulangan	2	756,08	378,04	1,70 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(3826)	(546,57)	(2,46) ^{tn}	(2,77)
P	1	416,67	416,67	1,88 ^{tn}	4,60
K	3	3194,33	1064,78	4,80*	3,34
PK	3	215	71,67	0,32 ^{tn}	3,34
Galat	14	3103,25	221,66		
Total	23	7685,33			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
* menunjukkan berbeda nyata

Untuk mengetahui kombinasi antar perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel spermatisit, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Berdasarkan hasil uji BNJ 5% dari rata-rata sel spermatisit pada testis sebelah kanan, maka didapat notasi BNJ 5% seperti pada tabel 4.27.

Tabel 4.7 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatisit pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	239	239/(3X2)=39,83	a
K3	278	278/(3X2)=46,33	ab
K2	384	384/(3X2)=64	ab
K1	403	403/(3X2)=67, 67	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.7 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB), K3 (dosis 350 mg/kg BB) dan K2 (dosis 250 mg/kg BB) mempunyai efek sama terhadap penurunan jumlah sel spermatisit, tetapi perlakuan K4 mempunyai efek berbeda dengan perlakuan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3, K2 dan K1 mempunyai efek sama terhadap penurunan jumlah sel spermatisit.

Hasil notasi BNT 5% menunjukkan bahwa pemberian perlakuan dosis ekstrak biji pepaya berpengaruh dalam menurunkan jumlah sel spermatis. Dari 4 perlakuan (K1, K2, K3 dan K4) yang diberikan, ternyata semua perlakuan mempunyai pengaruh yang berbeda dalam menurunkan jumlah sel spermatis. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka jumlah sel spermatis semakin menurun, dan pada perlakuan K4 mampu menurunkan jumlah sel spermatis lebih baik dari pada perlakuan yang lain. Rata-rata jumlah sel spermatis pada perlakuan K4 yaitu 39,83 lebih rendah dari pada perlakuan K3, K2 dan K1.

Tabel 4.8 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatis pada Testis Sebelah Kiri

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	2	1521,58	760,79	0,79 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(6072)	(867,43)	(0,90) ^{tn}	(2,77)
P	1	416,67	416,67	0,43 ^{tn}	4,60
K	3	5371	1790,33	1,86 ^{tn}	3,34
PK	3	284,33	94,78	0,09 ^{tn}	3,34
Galat	14	13473,75	962,41		
Total	23	21067,33			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil tabel 4.8 tentang pengaruh kombinasi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatis pada testis sebelah kiri, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$ 0,05, sehingga hipotesis H_0 diterima dan H_1 ditolak, yang artinya tidak terdapat pengaruh dari perlakuan dosis, jenis ekstrak dan interaksi jenis ekstrak dan dosis biji pepaya terhadap penurunan jumlah sel spermatis. Perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 6.

Berdasarkan hasil analisis ANAVA ganda dan BNP 5% tentang pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatosit pada testis sebelah kanan dan kiri ternyata memberikan hasil yang berbeda. Kombinasi perlakuan dosis memberikan pengaruh nyata dalam menurunkan jumlah sel spermatosit tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan, tetapi pada testis sebelah kiri memperlihatkan hasil yang berbeda. Pada perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) dan P2 (ekstrak biji pepaya tua) diketahui paling efektif dalam menurunkan jumlah sel spermatosit tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan.

Dari semua perlakuan dosis (K), jenis ekstrak biji pepaya (P) dan interaksi jenis ekstrak biji pepaya dengan dosis (PK) yang diberikan menunjukkan hasil tidak adanya pengaruh nyata dalam menurunkan jumlah sel spermatid pada testis sebelah kiri, tetapi pada testis sebelah kanan menunjukkan hasil yang berbeda. Hal tersebut dimungkinkan karena perbedaan aliran darah yang menuju ke testis sebelah kanan dan kiri. Suplai darah pada testis sebelah kanan secara langsung berasal dari aorta vena cava inferior dan testis sebelah kiri mendapat suplai darah dari vena renalis kiri kemudian menuju vena cava inferior. Adanya perbedaan aliran darah pada kedua testis menyebabkan jumlah zat aktif dalam ekstrak biji pepaya yang terdapat pada darah yang diterima kedua testis juga berbeda.

Menurut Hafes (1993) pada umumnya, kedua testis tidak sama besar. Dapat saja salah satu terletak lebih rendah dari yang lainnya. Hal ini diakibatkan perbedaan struktur anatomis pembuluh darah pada testis kiri dan kanan. Peredaran darah testis memiliki keterkaitan dengan peredaran darah di ginjal karena asal embriologi kedua organ tersebut. Pembuluh darah arteri ke testis berasal dari

aorta, testis sebelah kanan menerima suplai darah secara langsung dari aorta vena cava inferior, akan tetapi testis sebelah kiri menerima suplai darah yang berasal dari vena renalis kiri, kemudian menuju ke vena cava inferior baru kemudian menuju testis sebelah kiri.

Penelitian yang dilakukan oleh Satriyasa (2005) dengan menggunakan ekstrak biji pepaya muda dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer pakhten, sel spermatid dan sel sertoli dengan sangat bermakna. Penelitian yang serupa juga dilakukan oleh Kusumaningrum (2008) yang memberikan ekstrak etanol biji pepaya tua ternyata mampu menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus, penurunan jumlah sel spermatogonium dan spermatosit. Dari kedua penelitian tersebut, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya muda dan ekstrak biji pepaya tua sama-sama mampu menurunkan jumlah sel spermatogenik.

Menurut Satriyasa (2005) turunnya jumlah sel spermatogenik dikarenakan hadirnya zat aktif yang terkandung dalam fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda yaitu steroid, triterpenoid, hormon estradiol (E2) dan hormon progesteron (P4) maupun yang terkandung dalam fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda yaitu zat aktif alkaloid, zat tersebut diduga bersifat antifertilitas. Sedangkan Kusumaningrum (2008) menjelaskan bahwa zat aktif saponin golongan steroid dan saponin golongan triterpenoid dalam ekstrak biji pepaya tua mampu menurunkan jumlah sel spermatogenik. Penurunan pada sel spermatogenik menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus.

Senyawa antifertilitas pada prinsipnya bekerja dengan dua cara, yaitu melalui efek sitotoksik atau sitostatik dan melalui efek hormonal yang menghambat laju metabolisme sel spermatogenik dengan cara mengganggu sistem hormonal (Herdiningrat, 2002 dalam Muchtaromah, 2009). Menurut Satriyasa (2005) biji pepaya merupakan salah satu bahan alam yang mempunyai khasiat sebagai antifertilitas dengan menghambat spermatogenesis. Chinoy *et al.*, (1995) dalam Prajogo (2007) menjelaskan, bahwa biji pepaya mempengaruhi spermatogenesis dengan jalan menghambat penyampaian hormon yang dihasilkan *pituitary-gonadotropin* menuju *post testicular*, namun tidak menghambat efek hormon yang dihasilkan. Senyawa saponin dan flavonoid bersifat sitotoksik dan sitostatik, sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik (Nurliani, 2005).

Saponin yang tergolong berinti steroid digunakan untuk membentuk hormon progesteron, yaitu hormon yang disekresikan oleh sel leydig bersama dengan sekresi testosteron dan pengaturan sekresinya di bawah pengaruh gonadotropin. Akibat pembentukan progesteron oleh saponin berinti steroid menyebabkan jumlah hormon progesteron menjadi meningkat. Peningkatan hormon progesteron menyebabkan umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis yang menyebabkan sekresi GnRH menurun. Turunnya sekresi GnRH menyebabkan terjadinya hambatan sekresi hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH, sehingga kadar kedua hormon berkurang dari normal (Satriyasa, 2008).

Turunnya jumlah sel spermatosit diduga karena adanya hormon estradiol (E2) maupun hormon progesteron (P4) yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya. Kedua hormon tersebut akan menyebabkan terganggunya sekresi FSH dan LH. Estradiol akan menyebabkan penekanan terhadap hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga menyebabkan GnRH dan hormon gonadotropin (FSH dan LH) terhambat. FSH berperan penting dalam menunjang tahap pematangan maupun reduksi meiosis dari spermatosit primer pakhten. Sedangkan hormon progesteron akan menghambat sekresi FSH yang mengakibatkan gangguan proses spermatogenesis. Penurunan FSH akan mempengaruhi sel sertoli sebagai pensuplai nutrien. Terganggunya fungsi sel sertoli menyebabkan suplai laktat dan piruvat menurun, laktat dan piruvat merupakan sumber energi yang dipergunakan untuk pembelahan sel. Penurunan sumber energi menyebabkan gangguan pembelahan sel yang mengakibatkan penurunan jumlah sel spermatosit.

Turunnya kadar LH akibat zat aktif dalam ekstrak biji pepaya menyebabkan penurunan kadar testosteron. Perkembangan sel spermatogenik dipengaruhi oleh hormon testosteron dan FSH. FSH menstimulasi terjadinya spermatogenesis dan testosteron dalam konsentrasi intratestikuler yang normal akan menjaga proses spermatogenesis. Testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis sel spermatosit. Testosteron berperan pada pembelahan profase meiosis pertama tahap diakinesis, yaitu pada saat dimulainya pembelahan metafase (Sukmaningsih, 2009).

Penurunan jumlah sel spermatosit ini didukung oleh pernyataan Everitt dan Johnson (1990) bahwa spermatosit sangat sensitif terhadap pengaruh luar dan

cenderung mengalami kerusakan setelah profase meiosis pertama khususnya pada tahap pakiten. Tahap pakiten merupakan stadia yang paling lama dari profase meiosis I, benang-benang kromosom tampak semakin jelas karena adanya kontraksi dari kromosom sehingga kromosom tampak semakin menebal. Pada tahap ini, inti serta sitoplasma tumbuh menjadi sel terbesar di antara lapisan sel spermatogenik. Pada stadia pakiten ini berlangsung proses biologis yang sangat penting yaitu pindah silang (*Crossing over*) dan pada stadia ini spermatosit primer mudah mengalami kerusakan dan degenerasi yang sangat luas. Bila spermatosit mengalami kerusakan seperti atrofi, nekrosis tubular, hilangnya sel intermedia, maka akan mengalami degenerasi dan difagositosis oleh sel sertoli sehingga jumlah spermatosit menjadi berkurang.

Menurut Burkitt (1993) katagori kerusakan tubulus seminiferus dapat berupa atrofi tubuler, nekrosis tubular, hilangnya sel-sel intermedia di dalam tubulus dan adanya penurunan spermatogenesis. Atrofi tubuler ditandai dengan kehilangan sel-sel spermatogenik di dalam tubulus. Nekrosis tubuler ditandai dengan kerusakan seluruh unsur sel di dalam tubulus dan terlihat adanya sisa-sisa bahan nekrotik. Hilangnya sel-sel intermedia di dalam tubulus, sel intermedia adalah bentuk akhir spermatogonium A sebelum berubah menjadi spermatogonium B. Adanya penurunan spermatogenesis yaitu penurunan paling sedikit 75% dari jumlah spermatozoa yang terlihat dalam lumen dengan bentuk intermedia yang utuh.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian jenis ekstrak biji pepaya dan dosis yang berbeda dapat menyebabkan menurunnya jumlah sel spermatosit

tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan dan kiri. Penelitian yang sama juga dilaporkan oleh Lohiya *et al.*, (2002) bahwa pemberian ekstrak klorofom biji pepaya dapat menyebabkan terjadinya penurunan secara signifikan sel spermatosit, hilangnya organel-organel sitoplasma dan terjadi kerusakan membran sel. Bila jumlah sel spermatosit mengalami kerusakan dan mengalami degenerasi maka sel spermatosit ini akan difagositosis oleh sel sertoli sehingga jumlah sel spermatosit berkurang.

Istriyawati (2008) menjelaskan, perubahan spermatogonium menjadi spermatosit primer melalui pembelahan mitosis. Kemudian spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder melalui meiosis I, dan perubahan spermatosit sekunder menjadi spermatid melewati meiosis II, selanjutnya spermatid akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa. Pada proses mitosis merupakan saat-saat yang sangat rentan terhadap pengaruh senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya merupakan senyawa asing yang berasal dari luar tubuh, sehingga keberadaan senyawa metabolit sekunder tersebut diduga dapat mengganggu proses mitosis pada spermatogenesis. Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak biji pepaya dapat mengganggu spermatogenesis secara langsung pada sel spermatogenik maupun mengganggu keseimbangan hormon FSH, LH dan testosteron.

Seperti halnya pada jumlah sel spermatogonium, penurunan jumlah sel spermatosit akibat pemberian ekstrak biji pepaya dikarenakan hadirnya zat aktif yang terkandung dalam biji pepaya. Selain triterpenoid, biji pepaya juga mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid yang juga mampu

mengganggu proses spermatogenesis pada mencit. Adimunca (1996) menyatakan, flavonoid yang terdapat pada biji pepaya mampu menghambat enzim aromatase. Enzim aromatase merupakan enzim yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen, dengan dihambatnya enzim tersebut maka jumlah androgen yaitu testosteron akan meningkat. Tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis untuk menekan sekresi FSH dan LH, dengan demikian akan menghambat spermatogenesis.

Firman Allah dalam surat Al-Infithaar ayat 6-8 menjelaskan tentang kesempurnaan dan keseimbangan dalam tubuh manusia:

يَتَأْتِيهَا الْإِنْسَانُ مَا عَزَّكَ رَبِّكَ الْكَرِيمِ ﴿٦﴾ الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ﴿٧﴾ فِي
أَيِّ صُورَةٍ مَّا شَاءَ رَكَّبَكَ ﴿٨﴾

Artinya: *Hai manusia, apakah yang telah memperdayakan kamu (berbuat durhaka) terhadap Tuhanmu yang Maha Pemurah. yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh)mu seimbang, Dalam bentuk apa saja yang Dia kehendaki, Dia menyusun tubuhmu (Al Infithaar : 6-8).*

Surat Al-Infithaar ayat 6-8 memberi petunjuk kepada manusia bahwa Allah telah menciptakan tubuh manusia dalam keadaan sempurna, yakni normal, tegak, mempunyai tubuh yang seimbang, dengan tampilan dan bentuk yang sangat baik. Inilah bukti konkrit kasih sayang yang Allah berikan kepada manusia sebagai khalifah di muka bumi. Salah satu bentuk keseimbangan dalam tubuh adalah kadar hormon yang mengatur spermatogenesis. Agar spermatogenesis dapat berjalan dengan sempurna maka hormon FSH, LH dan testosteron harus berada dalam kadar normal. Keseimbangan hormon FSH, LH dan testosteron terjaga melalui mekanisme umpan balik positif dan umpan balik negatif. Apabila

salah satu dari ketiga hormon tersebut ada yang kadarnya lebih tinggi atau lebih rendah dari pada kadar normal, maka akan mengganggu keseimbangan hormon yang lain, akibatnya spermatogenesis akan terganggu. Keseimbangan FSH, LH dan testosteron merupakan bukti nyata keagungan Sang Pencipta yaitu Allah swt. Maha Benar Allah yang telah menurunkan Al-Qur'an dengan ilmu-Nya.

Sherwood (2005) menjelaskan, bahwa testosteron merupakan hormon yang disekresikan oleh sel leydig di bawah pengaruh LH dan bertindak sebagai umpan balik negatif dalam menghambat sekresi LH. Efek utama dari umpan balik negatif yang dilakukan oleh testosteron adalah untuk menurunkan sekresi GnRH oleh hipotalamus, hal ini secara tidak langsung menyebabkan penurunan sekresi FSH dan LH oleh pituitari anterior. Testosteron bertindak secara langsung pada pituitari anterior yaitu menurunkan respon sel yang mensekresikan LH terhadap rangsangan dari GnRH.

Hormon LH disekresikan oleh sel karminofil dari kelenjar hipofisis bagian anterior. Berperan dalam stimulasi sel-sel leydig untuk memproduksi testosteron, LH juga menyebabkan dihasilkannya estradiol. Sekresi hormon testosteron dilakukan oleh sel-sel leydig yang terletak di interstisium testis. Hormon ini memegang peranan penting pada satu tahap penting proses pembelahan sel-sel germinal untuk pembentukan sperma, terutama pembelahan meiosis dari spermatosit primer untuk membentuk spermatosit sekunder. Hormon FSH dihasilkan oleh sel basofil lobus anterior hipofisa. Pada testis, hormon ini mengakibatkan terpacunya *adenyl cyclase* di dalam sel sertoli yang berperan dalam meningkatkan produksi *cyclic AMP*, memacu produksi androgen binding

protein (ABP) di dalam tubuli semeniferus dan di dalam epididymis (Guyton, 1994). Apabila pelepasan FSH dan LH terganggu maka proses spermatogenesis akan terganggu, akibatnya pembentukan spermatozoa akan terhambat, testis atrofi dan produksi sperma menurun (Winarno, 1997).

Hormon reproduksi diangkut oleh plasma darah menuju organ atau jaringan target (testis, hipotalamus dan hipofisa). Glikosida flavonoid, aglikon flavonoid dan alkaloid merupakan benda asing yang dapat terakumulasi dalam aliran darah (*blood vessel*) di daerah testis. Adanya akumulasi metabolit ini dapat mengganggu sekresi LH dan FSH di daerah testis. Proses spermatogenesis dapat berlangsung normal bila transpor makanan melalui sistem vaskular testis dalam keadaan baik, sel-sel germinal tubuli dalam perkembangan normal serta suplai hormon yang cukup (Prajogo, 2007). Terhambatnya suplai nutrisi dan hormon akan menyebabkan spermatogenesis tidak dapat normal, karena nutrisi dan hormon diperlukan dalam metabolisme dan pembelahan sel.

Xiong (2009) menjelaskan, lipid dan glukosa dapat digunakan sebagai sumber energi, melalui proses glikolisis untuk produksi ATP. Selama spermatogenesis sel sertoli mendukung sel spermatogenik untuk berpindah ke bagian adluminal dari daerah basal tubulus seminiferus, dan memperpanjang umur spermatid untuk dilepaskan ke lumen tubulus seminiferus. Untuk menjalankan fungsi ini, sel sertoli memerlukan energi dalam jumlah banyak. Oleh karena itu, sel sertoli harus memproduksi ATP pada jumlah yang besar. ATP merupakan energi pada sel dan mengontrol banyak kejadian fisiologi. Sebagian besar sel

menggunakan glukosa untuk memproduksi ATP, dan lipid berperan sebagai penyimpan energi.

Menurut Nurliani (2005) senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya dapat merangsang pembentukan estrogen pada mammalia dan strukturnya ada kemiripan dengan hormon estrogen. Senyawa yang bersifat estrogenik akan memberikan umpan balik negatif terhadap poros hipotalamus-hipofisis-testis sehingga akan menurunkan sekresi GnRH, LH maupun FSH. Hambatan terhadap sekresi LH melalui umpan balik negatif terhadap hipotalamus-hipofisis dapat menekan pembentukan testosteron secara langsung pada sel Leydig, sehingga terjadi gangguan keseimbangan hormonal (Rusmiati, 2007).

Fungsi sel sertoli dan spermatogenesis bergantung pada FSH dan androgen (testosteron) yang bertindak pada sel sertoli. FSH pada proses spermatogenesis berperan dalam mengatur proliferasi sel sertoli yang akhirnya menentukan ukuran dan jumlah sel spermatogenik pada testis. Testosteron bekerja pada sel sertoli untuk menghasilkan zat gizi yang diperlukan dalam proliferasi dan diferensiasi sel germinal untuk membentuk spermatozoa yang fungsional. Di samping itu, testosteron yang berdifusi ke sel peritubuler diperlukan untuk menghasilkan faktor pemacu sel sertoli (P-mod-S) yang penting untuk meningkatkan aktifitas sel sertoli untuk menghasilkan zat-zat gizi bagi sel germinal (Heckert, 2002).

Selama spermatogenesis, aktivitas sel-sel spermatogenik tinggi dengan melibatkan proses perubahan morfologi dan biokimia dari sel-sel spermatogenik menjadi sel spermatozoa. Untuk mendukung aktivitas tersebut, sel-sel spermatogenik sangat tergantung pada sumber energi terutama glukosa.

Spermatisit primer menggunakan sumber energinya secara tidak langsung bukan dalam bentuk glukosa melainkan dalam bentuk asam laktat dan piruvat yang disuplai oleh sel sertoli dan aktivitas sel sertoli ini dipengaruhi oleh hormon FSH. Penurunan kadar FSH dapat menurunkan aktivitas sel-sel sertoli dalam memproduksi asam laktat dan piruvat, sehingga spermatisit primer kekurangan energi untuk membelah menjadi spermatisit sekunder, akibatnya jumlah sel spermatisit akan menurun (Yunardi, 2002).

4.1.1.3 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA ganda tentang pengaruh interaksi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatid pada testis sebelah kanan, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 0,05}$ pada faktor K yaitu $4,84 > 3,34$, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian dosis ekstrak biji pepaya terhadap penurunan jumlah sel spermatid. Tetapi pada perlakuan jenis ekstrak dan interaksi jenis ekstrak dan dosis tidak menunjukkan adanya pengaruh, sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.9. Perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 7.

Tabel 4.9 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kanan

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Ulangan	2	804,33	402,17	0,94 tn	3,74
Perlakuan:	(7)	(7011,17)	(1001,59)	(2,33) tn	(2,77)
P	1	600	600	1,39 tn	4,60
K	3	6232,83	2077,61	4,84*	3,34

PK	3	178,33	59,44	0,14 tn	3,34
Galat	14	6014,33	429,59		
Total	23	13829,83			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
* menunjukkan berbeda nyata

Untuk mengetahui kombinasi antar perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel spermatid, maka dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Berdasarkan hasil uji BNJ 5% dari rata-rata sel spermatid pada testis sebelah kanan, maka didapat notasi BNJ 5% seperti pada tabel 4.10.

Tabel 4.10 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	248	$248/(3 \times 2) = 41,33$	a
K3	310	$310/(3 \times 2) = 51,67$	ab
K2	439	$439/(3 \times 2) = 73,67$	ab
K1	489	$489/(3 \times 2) = 81,50$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi BNJ 0,05.

Berdasarkan hasil tabel 4.10 menunjukkan bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB), K3 (dosis 350 mg/kg BB) dan K2 (dosis 250 mg/kg BB) mempunyai efek sama terhadap penurunan jumlah sel spermatid, tetapi perlakuan K4 mempunyai efek berbeda dengan perlakuan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3, K2 dan K1 mempunyai efek yang sama terhadap penurunan jumlah sel spermatid.

Hasil notasi BNJ 5%, memperlihatkan bahwa semua perlakuan dosis (K1, K2, K3 dan K4) dapat menurunkan jumlah sel spermatid secara bermakna, tetapi dari semua perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang berbeda dalam menurunkan jumlah sel spermatid. Semakin tinggi dosis yang diberikan,

menyebabkan jumlah sel spermatid semakin menurun dan jumlah sel spermatid terendah ditemukan pada perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB). Pada perlakuan K4 terlihat bahwa rata-rata sel spermatid yaitu 41,33 lebih rendah dari pada rata-rata sel spermatogonium pada perlakuan yang lain.

Tabel 4.11 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kiri

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Ulangan	2	747,25	373,62	0,978 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(8355,96)	(1193,71)	(3,12) ^{tn}	(2,77)
P	1	2301,04	2301,04	6,02*	4,60
K	3	4732,46	1577,49	4,12*	3,34
PK	3	1322,46	440,82	1,15 ^{tn}	3,34
Galat	14	5353,42	382,39		
Total	23	14456,62			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata

* menunjukkan berbeda nyata

Berdasarkan hasil tabel 4.11 tentang pengaruh interaksi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatid pada testis sebelah kiri, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 0,05}$ pada faktor P dan K yaitu $6,02 > 4,60$ dan $4,12 > 3,34$, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian jenis ekstrak dan dosis biji pepaya terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium. Tetapi pada interaksi jenis ekstrak dan dosis tidak menunjukkan adanya perbedaan, perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 8.

Tabel 4.12 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan P	Total	Rata-rata	Notasi
P2	1084	$1084/(3 \times 4) = 90,33$	a
P1	1319	$1319/(3 \times 4) = 109,92$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Hasil uji lanjut dengan BNJ 5% pada tabel 4.12 menunjukkan bahwa perlakuan P2 (ekstrak biji pepaya tua) dan P1 (ekstrak biji pepaya muda) mempunyai efek berbeda terhadap penurunan jumlah sel spermatid, dengan demikian ekstrak biji pepaya tua mampu menurunkan rata-rata sel spermatid lebih rendah dari pada ekstrak biji pepaya muda. Dapat diketahui juga bahwa rata-rata sel spermatid pada perlakuan P2 yaitu 90,33 lebih rendah dari pada perlakuan P1 yaitu 109,92.

Tabel 4.13 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Spermatid pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	501	$501/(3 \times 2)=83,5$	a
K3	536	$536/(3 \times 2)=89,33$	ab
K2	664	$664/(3 \times 2)=110,67$	ab
K1	702	$702/(3 \times 2)=117$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.13 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB), K3 (dosis 350 mg/kg BB) dan K2 (dosis 250 mg/kg BB) mempunyai efek sama terhadap penurunan jumlah sel spermatid, tetapi perlakuan K4 mempunyai efek berbeda dengan perlakuan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3, K2 dan K1 mempunyai efek sama terhadap jumlah sel spermatid.

Berdasarkan hasil notasi BNJ 5%, dapat diketahui bahwa semua perlakuan dosis mampu menurunkan jumlah sel spermatid, tetapi mempunyai pengaruh yang berbeda dalam menurunkan jumlah sel spermatid. Pada perlakuan K4 memperlihatkan terjadinya penurunan jumlah sel spermatid yang lebih rendah dari

pada perlakuan yang lain, rata-rata sel spermatid pada perlakuan K4 yaitu 44,83 lebih rendah dari pada perlakuan K3, K2 dan K1. Dengan demikian, perlakuan K4 merupakan perlakuan terbaik dalam menurunkan jumlah sel spermatid tubulus seminiferus pada testis sebelah kiri.

Berdasarkan hasil analisis ANAVA ganda dan BNJ 5% tentang pengaruh ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatid pada testis sebelah kanan dan kiri dapat diketahui bahwa kombinasi perlakuan dosis memberikan pengaruh nyata dalam menurunkan jumlah sel spermatid. Perlakuan jenis ekstrak biji pepaya memberikan hasil pengaruh secara nyata dalam menurunkan jumlah sel spermatid pada testis sebelah kiri, akan tetapi pada testis sebelah kanan memberikan hasil yang berbeda. Dari semua perlakuan yang diberikan, ternyata perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) dan P2 (ekstrak biji pepaya tua) merupakan perlakuan terbaik dan paling efektif dalam menurunkan jumlah sel spermatid tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan dan kiri.

Seperti halnya pada penurunan jumlah sel spermatogonium dan sel spermatosit, penurunan jumlah sel spermatid diduga karena adanya peran dari zat aktif saponin yang terkandung dalam biji pepaya. Nio (2006) menyatakan bahwa biji pepaya mengandung dua kelompok saponin, yaitu steroid dan triterpenoid. Saponin yang tergolong berinti steroid digunakan untuk membentuk hormon progesteron, yaitu hormon yang disekresikan oleh sel leydig bersama dengan sekresi testosteron dan pengaturan sekresinya di bawah pengaruh gonadotropin. Akibat pembentukan progesteron oleh saponin berinti steroid menyebabkan jumlah hormon progesteron menjadi meningkat. Peningkatan hormon progesteron

menyebabkan umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis yang menyebabkan sekresi GnRH menurun. Penurunan sekresi GnRH menyebabkan terjadinya hambatan sekresi hormon gonad yaitu FSH dan LH, sehingga kadar kedua hormon berkurang dari normal (Satriyasa, 2008). Steroid dapat berperan sebagai penghambat spermatogenesis dan bersifat reversibel (Hernawati, 2008).

Senyawa yang mempunyai inti steroid dan struktur molekul mirip kolesterol merupakan prekursor testosteron, sehingga dapat menempati reseptor testosteron. Reseptor testosteron terdapat pada sel-sel di hipotalamus yang mensekresikan GnRH dan sel-sel di pituitari anterior pensекреksi gonadotropin. Dengan ditempatinya reseptor testosteron, maka menimbulkan *feed back* negatif terhadap sekresi GnRH dan LH. Penurunan GnRH dan LH menyebabkan sekresi FSH dan testosteron menurun (Wiryawan, 2009).

FSH berperan dalam mengawali proses spermatogenesis. Perubahan spermatogonia menjadi spermatisit di dalam tubulus seminiferus dirangsang oleh FSH dari kelenjar hipofisis anterior. Penurunan kadar FSH akan menyebabkan spermatogenesis terganggu. Spermatogenesis dapat berlangsung sempurna ketika testosteron disekresikan dalam jumlah yang normal oleh sel interstisial di bawah pengaruh LH secara serentak. Testosteron berdifusi dari sel interstisial masuk tubulus seminiferus dan berperan dalam pematangan akhir spermatozoa. FSH dan LH harus disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior agar spermatogenesis dapat berlangsung (Guyton, 1990).

FSH dan testosteron berperan dalam mengendalikan fungsi sel sertoli (Wiryawan, 2009). Sel sertoli berperan dalam menyediakan nutrien dan ABP

untuk metabolisme sel germinal. Penurunan FSH dan testosteron menyebabkan kerja sel sertoli menjadi tidak optimal, hal ini menyebabkan suplai nutrisi dan ABP terganggu. Sehingga terjadi gangguan proses spermiogenesis, gangguan metabolisme sel germinal dan dapat menyebabkan apoptosis sel (Wiryawan, 2009).

Turunnya jumlah sel spermatogonium dan spermatosit menyebabkan jumlah spermatid juga menurun, karena spermatosit sekunder yang mengalami meiosis II menjadi spermatid menurun. Sekresi hormon testosteron dan FSH yang menurun karena perlakuan ekstrak biji pepaya menyebabkan terganggunya spermiogenesis (Udoh, 2009). Hormon testosteron dan FSH menyebabkan spermatid terikat pada sel sertoli. Hormon testosteron akan menjaga semua tahap perkembangan spermatid. Penurunan hormon mengakibatkan terlepasnya spermatid dari sel sertoli ke lumen tubulus. Hal ini mengakibatkan gagalnya tahap spermiogenesis, sehingga jumlah sel sperma juga menurun (Sukmaningsih, 2009).

Apabila ditinjau dari pengaruh dosis, maka dapat dilihat bahwa pada perlakuan K4 yaitu dosis 400 mg/kg BB jumlah sel spermatid mengalami penurunan lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lain yaitu K3 (dosis 350 mg/kg BB), K2 (dosis 250 mg/kg BB) dan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Seperti halnya pada sel spermatogonium dan spermatosit, besar kemungkinan hal tersebut dikarenakan jumlah zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak biji pepaya tua maupun ekstrak biji pepaya muda pada perlakuan K4 berada dalam kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan K1, K2 dan K3.

Hal serupa juga disampaikan oleh Muchtaromah (2009) bahwa penurunan jumlah sel-sel spermatogenik tubulus seminiferus testis mencit dipengaruhi oleh besarnya dosis yang diberikan. Semakin tinggi dosis yang diberikan, maka zat aktif yang terkandung juga semakin tinggi. Zat aktif tersebut mampu mempengaruhi kerja hormon sehingga mengurangi jumlah sel-sel spermatogenik.

Menurut Susetyarini (2003) pemberian senyawa aktif tanin ditunjang dengan senyawa aktif alkaloid dapat menghambat pembentukan sel spermatogonia menjadi spermatosit, spermatosit menjadi spermatid dan spermatid menjadi spermatozoa. Rahmawati (2008) menjelaskan bahwa tanin berperan sebagai *chelator* yakni mengikat enzim-enzim kunci pada sintesis protein dan dapat menggumpalkan protein sehingga phospat yang dihasilkan tubuh menjadi tidak aktif, hal ini mengakibatkan energi metabolisme tubuh menurun. Protein penting dalam pembentukan enzim, hormon dan pengganti sel-sel tubuh yang rusak.

Apabila produksi protein terganggu maka produksi enzim dan hormon juga terganggu. Salah satu hormon yang dibentuk oleh protein adalah hormon reproduksi di antaranya FSH dan LH yang penting dalam proses spermatogenesis. Apabila kadar kedua hormon tersebut kurang dari kadar normal, maka dapat menyebabkan gangguan pada spermatogenesis. Gangguan spermatogenesis dapat berupa turunnya jumlah sel spermatogonium. Spermatogonium merupakan *stem cell* dari sel-sel spermatogenik, jika spermatogonium berkurang maka sel spermatosit dan spermatid juga berkurang, akibatnya sel spermatozoa mengalami degenerasi (Rahmawati, 2008).

Seperti halnya pada jumlah sel spermatogonium, dan sel spermatosit penurunan jumlah sel spermatid diduga karena pemberian ekstrak biji pepaya yang mengandung bahan aktif sehingga mampu mempengaruhi spermatogenesis, yaitu dengan cara mengganggu keseimbangan hormon atau menyebabkan gangguan pada pembelahan atau kerusakan sel spermatogenik, sel sertoli maupun sel leydig (Pathak, 2000). Selain triterpenoid dan flavonoid, senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid juga memiliki peran dalam mempengaruhi proses spermatogenesis.

Menurut Kaspul (2007) senyawa alkaloid dan alkaloid steroid bersifat kompetitif terhadap reseptor FSH yang terletak pada sel sertoli. Sel sertoli mempunyai reseptor untuk FSH dan hormon steroid testosteron, dengan demikian alkaloid dapat berikatan dengan sel sertoli. Hal ini menyebabkan FSH tidak dapat berikatan dengan sel reseptornya, yang terikat di reseptor FSH adalah alkaloid, sehingga pelepasan FSH dari hipofisis akan terganggu. Sejumlah besar alkaloid bersifat terpenoid dan triterpenoid memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid (Rhobinson, 1995). Meningkatnya senyawa steroid dalam darah akibat adanya alkaloid steroid dalam ekstrak biji pepaya akan menghambat hipofisis anterior untuk menekan produksi FSH dan LH. Menurunnya kadar LH dapat menyebabkan menurunnya produksi testosteron oleh sel leydig (Kaspul, 2007).

Adanya gangguan pada pelepasan FSH akan menyebabkan kadar FSH menurun. Penurunan kadar FSH dapat mempengaruhi sel sertoli dalam menghasilkan nutrien dan hormon yang penting untuk perkembangan spermatid

(Guyton, 1990) dan menurunkan rangsangan untuk pembentukan dan pendewasaan spermatozoa dalam tubulus seminiferus. Selain itu, penurunan FSH juga dapat menyebabkan perubahan struktur sitoskeletal sel sertoli sehingga mengurangi kemampuan dalam mengikat spermatid, sedangkan penurunan hormon testosteron akan menyebabkan penurunan daya adhesi antara spermatid dengan sel sertoli yang menyebabkan sel spermatid terlepas ke dalam lumen tubulus seminiferus. FSH juga turut membantu pematangan spermatid menjadi spermatozoa selama proses spermatogenesis. Penurunan FSH dan testosteron tersebut akan menyebabkan sintesis protein spermatid terganggu yang akhirnya menyebabkan sel spermatid mengalami degenerasi (Satriyasa, 2005).

Degenerasi merupakan suatu keadaan terjadinya perubahan biokimia intraselular yang disertai perubahan morfologik akibat jejas non fatal pada sel, dan reaksi sel terhadap jejas yang masih reversibel. Pada degenerasi terjadi proses penimbunan dan perubahan berlemak. Penimbunan (*storage*) atau akumulasi cairan atau zat dalam organel sel. Secara mikroskopik akan tampak pembengkakan sel, jika sel tidak mampu mempertahankan homeostatis ion dan cairan (Purnama, 2009).

Maha Benar Allah dalam firman-Nya surat Al-Qamar ayat 49, yang telah menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini sesuai dengan ukurannya:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: *Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran* (Al-Qamar : 49).

Firman Allah dalam surat Al-Qamar ayat 49 mempunyai makna yang mirip dengan surat Al-Furqaan ayat 2, yaitu “Allah menetapkan suatu ukuran dan

memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut” (Tafsir Ibnu Katsir). Berdasarkan penjelasan ayat tersebut dapat diartikan bahwa semua yang Allah ciptakan di bumi ini mempunyai ukuran yang sesuai. Penjelasan dari surat Al-Furqaan ayat 2 sesuai dengan penemuan hasil penelitian. Bahwa perlakuan dengan dosis rendah sudah dapat menurunkan jumlah sel spermatid, dan perlakuan dengan dosis tinggi memberikan hasil terbaik dalam menurunkan jumlah sel spermatid.

Dari hasil notasi dapat diketahui bahwa turunnya jumlah sel spermatid mulai terjadi pada pemberian perlakuan P1K1 yaitu ekstrak biji pepaya muda dengan dosis 200 mg/kg BB. Kemudian jumlah sel spermatid semakin menurun seiring dengan meningkatnya dosis dan perbedaan jenis ekstrak biji pepaya yang diberikan. Perlakuan P2K4 yaitu ekstrak biji pepaya tua dosis 400 mg/kg BB diketahui sebagai perlakuan terbaik, karena dapat menurunkan jumlah sel spermatid lebih rendah dari pada perlakuan yang lain. Keadaan ini menunjukkan bahwa dengan dosis rendah sudah mampu memberikan efek yang diinginkan dan tidak memerlukan dosis yang lebih tinggi, sehingga lebih efisien.

Pemberian ekstrak biji pepaya dapat menurunkan kadar hormon FSH, LH dan testosteron (Udoh, 2009). FSH berperan dalam menstimulasi aktivitas sel sertoli dalam mensekresikan nutrien dan hormon yang berperan dalam proses spermiasi. Lohiya *et al.*, (2002) melaporkan bahwa pemberian ekstrak kloroform biji pepaya dapat menyebabkan terjadinya penurunan dan vakuolisasi sel sertoli dan sel benih. Sel sertoli ini akan membentuk *blood testis barrier* yang mengatur pertukaran nutrien dan metabolit. Adanya *blood testis barrier* ini akan

menyebabkan terbentuk lingkungan yang optimal untuk berlangsungnya proses spermatogenesis.

Sel benih bergantung pada suplai nutrisi dan faktor pertumbuhan dari sel sertoli. Sel sertoli menyediakan faktor yang diperlukan sebagai bahan metabolisme sel benih (laktat, transferin, androgen binding protein), faktor pengatur pertumbuhan (*stem cell factor*, TGF α dan TGF β (*transforming growth factors alpha dan beta*), IGF-I (*insulin-like growth factor-I*), FGF (*fibroblast growth factor*) dan EGF (*epidermal growth factor*) serta hormon MIS (*mullerian-inhibiting substance*) dan inhibin (Walker, 2005). Jika fungsi sel sertoli terganggu maka sekresi *androgen binding protein* (ABP), inhibin, estrogen juga terganggu sehingga mengakibatkan proses spermatogenesis akan terganggu, karena zat tersebut sangat dibutuhkan dalam proses spermatogenesis (Satriyasa, 2005).

Adanya penurunan dan vakuolisasi pada sel sertoli dan sel benih tersebut kemungkinan disebabkan oleh zat aktif yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya yaitu steroid, triterpenoid dan alkaloid yang diduga bersifat antifertilitas. Menurunnya jumlah sel spermatid terjadi akibat terganggunya fungsi sel sertoli yang menyebabkan suplai laktat dan piruvat menurun. Laktat dan piruvat merupakan sumber energi bagi spermatid. Tergaggunya fungsi sel sertoli akibat dari menurunnya kadar FSH dan testosteron, sedangkan menurunnya jumlah sel spermatid ini kemungkinan melalui beberapa mekanisme seperti adanya gangguan dalam proses meiosis, gangguan dalam proses spermiogenesis, lepasnya spermatid ke lumen tubulus seminiferus dan apoptosis spermatid (Satriyasa, 2005).

Vakuolisasi yang terjadi pada sel sertoli akibat pemberian ekstrak biji pepaya akan menghambat regenerasi dan pematangan sel-sel germinal, yang mengakibatkan kematian sel germinal melalui suatu mekanisme yang disebut apoptosis (Mahriani, 2008). Apoptosis dapat diamati pada penampakan fisiologis, antara lain berupa pengerutan sel, kerusakan pada plasma membran dan adanya kondensasi kromatin. Bila program apoptosis telah selesai pada sebuah sel maka akan meninggalkan kepingan sel mati yang disebut badan residu yang akan dikenali oleh sel makrofag dan dimakan (*engulfed*) (Sukardiman, 2006). Sel spermatogenik yang mengalami apoptosis, badan residu akan difagositosis dan akan didegradasi oleh sel sertoli (Xiong, 2009)

4.1.1.4 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA ganda tentang pengaruh interaksi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel leydig baik pada testis sebelah kanan maupun kiri, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 0,05}$ pada faktor P dan K, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian perlakuan jenis dan dosis ekstrak biji pepaya terhadap penurunan jumlah sel leydig. Akan tetapi pada interaksi jenis ekstrak dan dosis tidak menunjukkan adanya pengaruh, sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.14 dan 4.17. Perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 9 dan 10.

Tabel 4.14 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel leydig pada Testis Sebelah Kanan

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
----	----	----	----	---------------------	-----------------------

Ulangan	2	31,08	15,54	1,05 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(2185,62)	(312,23)	(21,19) ^{tn}	(2,77)
P	1	876,04	876,04	59,46*	4,60
K	3	1224,79	408,26	27,71*	3,34
PK	3	84,79	28,26	1,92 ^{tn}	3,34
Galat	14	206,25	14,73		
Total	23	2422,96			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
* menunjukkan berbeda nyata

Untuk mengetahui kombinasi antar perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel leydig, maka dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Berdasarkan hasil uji BNJ 5% dari rata-rata sel leydig pada testis sebelah kanan dan kiri, maka didapat notasi BNJ seperti pada tabel 4.15, 4.16, 4.18 dan 4.19.

Tabel 4.15 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan P	Total	Rata-rata	notasi
P2	284	$284/(3 \times 4) = 23,67$	a
P1	429	$429/(3 \times 4) = 35,75$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil notasi BNJ 5% pada tabel 4.15 menunjukkan bahwa perlakuan P2 (ekstrak biji pepaya tua) dan P1 (ekstrak biji pepaya muda) mempunyai efek berbeda dalam menurunkan jumlah sel leydig. Dapat diketahui bahwa ekstrak biji pepaya tua mampu menurunkan rata-rata sel leydig lebih rendah dari pada ekstrak biji pepaya muda. Hal ini diketahui dari rata-rata jumlah sel leydig pada perlakuan P2 yaitu 23,67 lebih rendah dari pada perlakuan P1 yaitu 35,75.

Tabel 4.16 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
-------------	-------	-----------	--------

K4	130	$130/(3 \times 2) = 21,67$	a
K3	153	$153/(3 \times 2) = 25,50$	ab
K2	186	$186/(3 \times 2) = 31$	b
K1	244	$244/(3 \times 2) = 40,67$	c

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.16 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) dan K3 (dosis 350 mg/kg BB) mempunyai efek sama terhadap penurunan jumlah sel leydig, tetapi perlakuan K4 mempunyai efek berbeda dengan perlakuan K2 (dosis 250 mg/kg BB) dan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3 dan K2 mempunyai efek sama terhadap penurunan jumlah sel leydig, tetapi mempunyai efek berbeda dengan perlakuan K1.

Hasil notasi BNJ 5% menunjukkan bahwa pemberian perlakuan dosis ekstrak biji pepaya dapat menurunkan jumlah sel leydig. Semua perlakuan yang diberikan memperlihatkan hasil yang berbeda dalam menurunkan jumlah sel leydig. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka jumlah sel leydig akan semakin menurun, sehingga dapat diketahui bahwa perlakuan K4 merupakan perlakuan terbaik karena mampu menurunkan jumlah sel leydig lebih rendah dari pada perlakuan yang lain. Rata-rata sel leydig pada perlakuan K4 yaitu 21,67 lebih rendah dari pada perlakuan K3, K2 dan K1.

Tabel 4.17 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kiri

SK	Db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Ulangan	2	13,58	6,79	0,31 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(918,62)	(131,23)	(6,01) [*]	(2,77)
P	1	345,04	345,04	15,79 [*]	4,60
K	3	455,12	151,71	6,95 [*]	3,34
PK	3	118,46	39,49	1,81 ^{tn}	3,34

Galat	14	305,75	21,84
Total	23	1237,95	

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
* menunjukkan berbeda nyata

Tabel 4.18 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan P	Total	Rata-rata	Notasi
P2	285	$285/(3 \times 4) = 23,75$	a
P1	376	$376/(3 \times 4) = 31,33$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Hasil uji lanjut dengan BNJ 5% pada tabel 4.18 menunjukkan bahwa perlakuan P2 (ekstrak biji pepaya tua) dan P1 (ekstrak biji pepaya muda) mempunyai efek yang berbeda terhadap jumlah sel leydig. Berdasarkan rata-rata jumlah sel leydig dapat diketahui bahwa perlakuan ekstrak biji pepaya tua mampu menurunkan rata-rata sel leydig lebih rendah dari pada ekstrak biji pepaya muda. Terlihat bahwa rata-rata sel leydig pada perlakuan P2 yaitu 23,75 lebih rendah dari pada perlakuan P1 yaitu 31,33, sehingga perlakuan P2 merupakan perlakuan terbaik dalam menurunkan jumlah sel leydig.

Tabel 4.19 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Jumlah Sel Leydig pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	138	$138/(3 \times 2) = 23$	a
K3	145	$145/(3 \times 2) = 24,17$	ab
K2	174	$174/(3 \times 2) = 29$	ab
K1	204	$204/(3 \times 2) = 34$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.19 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB), K3 (dosis 350 mg/kg BB) dan K2 (dosis 250 mg/kg BB) mempunyai efek yang sama terhadap penurunan jumlah sel leydig, tetapi perlakuan K4 mempunyai efek yang berbeda dengan perlakuan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3, K2 dan K1 mempunyai efek yang sama terhadap penurunan jumlah sel leydig.

Berdasarkan hasil notasi BNJ 5%, dapat diketahui bahwa perlakuan dosis ekstrak biji pepaya dapat menurunkan jumlah sel leydig. Dari semua perlakuan yang diberikan, ternyata perlakuan K1 sudah mulai menunjukkan adanya penurunan jumlah sel leydig. Jumlah sel leydig semakin menurun seiring dengan tingginya dosis yang diberikan, sehingga perlakuan K4 mampu menurunkan jumlah sel leydig lebih baik dari pada perlakuan yang lain. Pada perlakuan K4 terlihat bahwa rata-rata jumlah sel leydig yaitu 23, lebih rendah dari pada perlakuan K3, K2 dan K1.

Berdasarkan hasil analisis ANAVA ganda dan BNJ 5% tentang pengaruh dosis ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel leydig pada testis sebelah kanan dan kiri dapat diketahui bahwa kombinasi perlakuan dosis dan jenis ekstrak memberikan pengaruh secara nyata terhadap penurunan jumlah sel leydig. Akan tetapi pada interaksi dosis dan jenis ekstrak memberikan pengaruh yang berbeda. Rata-rata jumlah sel leydig menurun paling rendah pada perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) dan P2 (ekstrak biji pepaya tua), sehingga perlakuan K4 dan P2 merupakan perlakuan paling efektif dalam menurunkan jumlah sel leydig tubulus seminiferus.

Perlakuan P2K4 yaitu kombinasi perlakuan jenis ekstrak biji pepaya tua dosis 400 mg/kg BB memberikan pengaruh nyata terhadap turunnya jumlah sel leydig pada testis sebelah kanan dan kiri. Hal ini dikarenakan zat aktif yang terdapat pada ekstrak biji pepaya tua berada pada konsentrasi lebih tinggi dari pada ekstrak biji pepaya muda. Meskipun biji pepaya tua kandungan enzim papain dan chymopapain rendah, tetapi kandungan senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid, alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin berada pada konsentrasi tinggi.

Penelitian yang dilakukan oleh Udoh (2005) memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya tua ternyata dapat menyebabkan penurunan kadar FSH dan LH, degenerasi pada sel spermatogenik, sel sertoli dan sel leydig. Hasil penelitian Satriyasa (2005) menunjukkan fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda tidak dapat menurunkan secara bermakna sel leydig maupun kadar hormon testosteron, kemungkinan disebabkan karena sel-sel leydig tersebut paling kuat terhadap pengaruh dari luar dibandingkan sel-sel spermatogenik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Johnson dan Everitt (1990) yang melaporkan bahwa sel-sel dalam tubulus seminiferus mempunyai sensitivitas yang berbeda-beda terhadap pengaruh dari luar. Sedangkan Lohiya *et al.*, (2005) menyatakan bahwa ekstrak biji pepaya bekerja secara selektif pada sel-sel tubulus seminiferus.

Rusmiati (2007) menyatakan bahwa suatu bahan antifertilitas dapat bersifat sitotoksik atau bersifat hormonal dalam memberikan pengaruhnya. Bersifat sitotoksik bila pengaruhnya langsung terhadap sel kelamin, dan bersifat hormonal bila bekerja pada organ yang responsif terhadap hormon yang berkaitan.

Zat aktif golongan alkaloid pada ekstrak biji pepaya dapat menyebabkan gangguan pada membran sel sehingga komponen penyusun membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu sehingga terjadi kerusakan dan pengkerutan pada membran tersebut (Istanti, 1999).

Gangguan atau perubahan yang terjadi pada permeabilitas membran dan komponen penyusun membran menyebabkan nutrisi yang dibutuhkan tidak dapat masuk ke dalam sel, sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel. Sehingga proses metabolisme pembentukan energi berupa ATP yang terjadi di dalam mitokondria terganggu, energi yang terbentuk dipakai untuk pembelahan sel. Jika proses pembelahan sel terganggu maka jumlah sel menurun (Istanti, 1999).

Menurut Susetyarini (2004) zat aktif flavonoid pada biji pepaya bersifat estrogenik, sehingga dapat menghambat sekresi LH dan FSH. Penurunan LH dapat menyebabkan berkurangnya jumlah sel Leydig. Sel Leydig merupakan tempat terjadinya steroidogenesis. Jika sel Leydig mengalami degenerasi maka jumlahnya akan menurun, sehingga jumlah androgen (testosteron) yang diproduksi juga akan menurun. Penurunan yang signifikan pada kadar testosteron plasma terjadi akibat degenerasi sel Leydig, reduksi nukleus sel Leydig, atau karena penurunan kadar LH (Sopia, 2009).

Rendahnya kadar LH menyebabkan LH tidak mampu menstimulasi sel Leydig untuk mensekresikan testosteron dan akibatnya terjadi penurunan testosteron dalam plasma dan terhambatnya sekresi testosteron dari testis. Penurunan konsentrasi testosteron dalam plasma menyebabkan penurunan volume ejakulasi, termasuk jumlah sperm yang motil dan masak pada ejakulat tersebut,

sedangkan penekanan sekresi testosteron pada testis dapat menghilangkan reseptor untuk LH, sehingga menyebabkan atrofinya sel-sel leydig. Dimana reseptor-reseptor LH hanya ditemukan pada sel-sel leydig dan LH bekerja merangsang sekresi testosteron pada sel-sel leydig (Ixwantoro, 2002). Rusaknya sel-sel leydig menyebabkan gangguan pada proses sintesis hormon testosteron yang mengakibatkan penurunan kadar hormon testosteron plasma, di mana penurunan hormon testosteron ini akan mengganggu proses spermatogenesis. (Sopia, 2009).

Selama tahap transformasi atau spermiogenesis testosteron sangat diperlukan terutama untuk menjaga agar spermiogenesis berlangsung dengan sempurna. Sekresi testosteron oleh sel-sel leydig merupakan akibat dari aktifitas LH. Dalam hal ini LH menstimulasi aktivitas *adenil siklase* sehingga meningkatkan cAMP intraseluler. Kenaikan cAMP menyebabkan terjadinya fosforilasi protein intraseluler oleh aktivasi protein kinase, yang akan mengubah pregnenolon menjadi testosteron. Penurunan konsentrasi LH berpengaruh terhadap sel leydig sehingga produksi testosteron menurun. Mekanisme penurunan testosteron disebabkan terganggunya aktivitas *adenil siklase* karena kecilnya konsentrasi LH. Gangguan ini mengakibatkan cAMP menurun dan diikuti menurunnya fosforilasi protein intraseluler, sehingga perubahan pregnenolon menjadi testosteron terganggu dan berakibat menurunnya kadar testosteron (Handayani, 2001).

Mekanisme turunnya jumlah sel leydig dimulai saat ekstrak biji pepaya dicekokkan ke mencit jantan, menuju ke saluran pencernaan. Ekstrak kemudian

diserap oleh pembuluh darah, mengikuti peredaran darah menuju organ sasaran, yaitu testis. Di dalam testis terdapat sel spermatogenik, sel sertoli dan sel leydig. Sel leydig, pembuluh darah, limfe, sel saraf dan jaringan ikat berada pada jaringan interstisial di antara celah tubulus seminiferus dalam testis. Sel leydig sebagai tempat biosintesis testosteron (Junqueira, 1988). Bila jumlah sel leydig menurun berarti jumlah testosteron juga menurun. Bila testosteron menurun (kurang dari normal) berakibat ke hipotalamus, sehingga hipotalamus menghambat sekresi GnRH. Akibat penurunan GnRH menyebabkan hipofisa anterior menekan sekresi FSH dan LH. Jika sekresi LH menurun maka kadar testosteron juga menurun, dengan demikian proses spermatogenesis terhambat (Susetyarini, 2004).

Alkaloid, flavonoid dan tanin yang terdapat pada ekstrak biji pepaya dapat merusak beberapa organel penyusun sel target, di antaranya ialah sel sertoli, sel spermatogonium, sel spermatosit, sel spermatid dan sel leydig. Di sekitar sel spermatogenik dan sel leydig tersebut banyak dijumpai mitokondria yang mengalami vakuolisasi, hal ini sebagian besar nampak pada sitoplasma dan membran selnya. Adanya peristiwa vakuolisasi ini salah satu faktornya disebabkan karena respon ketidakcukupan suplai hormon. Bila keadaan ini berlanjut menyebabkan terjadinya penurunan jumlah mitokondria pada sel-sel tersebut. Mitokondria merupakan organel sel tempat sintesis ATP melalui proses fosforilasi oksidatif pada saat respirasi. ATP merupakan sumber energi di dalam sel, sehingga mempunyai fungsi yang penting dalam kegiatan sel. Apabila terjadi gangguan pada mitokondria dapat menurunkan produksi ATP dan mengganggu kegiatan sel-selnya, di antaranya pada proses pembelahan sel (Susetyarini, 2004).

Bahan aktif alkaloid, flavonoid dan saponin (steroid dan triterpenoid) dalam ekstrak biji pepaya mampu menurunkan jumlah sel spermatogenik, sel seroli dan sel leydig secara hormonal, yaitu melalui perangsangannya melalui susunan saraf pusat. Menurunkan sekresi hormon steroid (testosteron) sehingga hormon polipeptida (FSH dan LH) juga menurun yang pada akhirnya dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik sel seroli dan sel leydig karena ada gangguan pada proses pembelahan selnya (Susetyarini, 2004).

Seperti halnya pada sel spermatogonium, sel spermatosit dan sel spermatid, penurunan jumlah sel leydig dikarenakan adanya peran zat aktif triterpenoid, flavonoid dan didukung pula oleh alkaloid yang terkandung dalam biji pepaya. Hasil penelitian Udoh (2009) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya dengan kandungan bahan aktif senyawa alkaloid pada dosis 150 mg/kg BB memperlihatkan penurunan yang signifikan terhadap kadar FSH, LH dan testosteron. Dengan demikian ekstrak biji pepaya mampu menurunkan hormon FSH, LH dan testosteron yang penting bagi spermatogenesis.

Proses spermatogenesis diatur oleh sinyal endokrin dan parakrin yang saling mempengaruhi. Hormon utamanya yaitu GnRH. GnRH menstimulasi produksi FSH dan LH yang berefek pada testis untuk mengatur sel spermatogenik melakukan spermatogenesis. LH berikatan dengan reseptor pada permukaan sel leydig dan merangsang produksi testosteron, yaitu suatu hormon steroid yang didifusikan ke dalam tubulus seminiferus (Walker, 2005).

Testosteron berperan dalam pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Fungsi utama FSH adalah memelihara sel benih dan

mendukung pembelahan mitosis. FSH berefek pada meningkatnya spermatogonia dan mendukung spermatogonia masuk pada pembelahan mitosis (O'shaughnessy, 2010). FSH mempengaruhi sel sertoli dan sel spermatogenik untuk metabolisme normal, sel sertoli di bawah pengaruh FSH mensintesis protein pengikat androgen (ABP) yang berfungsi untuk mengikat testosteron, untuk selanjutnya digunakan dalam proses pembelahan dan pematangan spermatogonia menjadi spermatozoa (Adimunca, 1997).

Adanya hambatan pada sekresi hormon FSH, LH dan testosteron akibat pemberian perlakuan ekstrak biji pepaya dapat menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis. Gangguan pada spermatogenesis ditunjukkan dengan adanya penurunan jumlah sel spermatogenik, sel leydig dan sel sertoli (Rahmawati, 2008). Terganggunya sintesis dan sekresi LH akan menyebabkan terjadinya penurunan fungsi sel leydig, sehingga produksi testosteron berkurang. (Susetyarini, 2004).

Proliferasi sel leydig dipengaruhi oleh beberapa hormon yaitu hormon pertumbuhan, hormon thyroid, LH, steroids, hormon anti-Mullerin, plateled-derived growth factor-A, $TGF\alpha/\beta$, IGF-I dan sitokin, sehingga dengan adanya penurunan pada LH maka dapat menurunkan jumlah sel leydig. Penurunan jumlah sel leydig akan mempengaruhi kadar testosteron yang dihasilkan sehingga dapat mempengaruhi proses spermatogenesis (Siregar, 2009).

Senyawa alkaloid dalam ekstrak biji pepaya dapat mengganggu permeabilitas membran sel leydig sebagai penghasil testosteron. Terganggunya permeabilitas membran sel leydig mengakibatkan transfer zat makanan sebagai

sumber energi biosintesis testosteron juga terganggu sehingga mengakibatkan kecenderungan penurunan kadar testosteron (Kaspul, 2007). Terganggunya permeabilitas membran sel menyebabkan bahan-bahan yang semestinya tidak dapat melewati membran sel dapat secara bebas keluar masuk ke dalam sel dan akhirnya integritas sel terganggu (Susilowati, 2008).

Menurut Purwaningsih (2003) senyawa alkaloid pada ekstrak biji pepaya bersifat toksik dan dapat mengganggu permeabilitas membran sel Leydig sebagai penghasil testosteron. Senyawa alkaloid bersifat toksik dan dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase. Enzim ATP-ase merupakan enzim yang berperan untuk mengaktifkan gerakan ion H^+ , Na^+ , Ca^{2+} , H^+ dan K^+ ke luar dan masuk ke dalam sel melalui sistem transport aktif. Enzim ATP-ase berfungsi mempertahankan homeostatis internal ion natrium dan kalium. Jika aktifitas enzim ATP-ase terganggu, maka homeostatis ion natrium dan kalium akan terganggu. Adanya gangguan pada homeostatis ion anorganik menyebabkan permeabilitas *gap junction* juga terganggu, sehingga homeostatis membran terganggu. Akibatnya senyawa dapat keluar dan masuk ke dalam sel dengan mudah dan hal ini menyebabkan integritas membran sel terganggu dan kerusakan pada sel (Sumardi, 2007).

Membran sel pada umumnya terdiri atas dua lapis lipid dan di antara kedua lapis lipid tersebut terdapat protein integral dan protein perifer di permukaannya. Penurunan integritas membran sel disebabkan oleh alkaloid yang dapat mengganggu integritas protein dan dua lapis lipid pada membran, sehingga

membran sel menjadi rusak dan mengakibatkan integritasnya menurun (Robertis dan Robertis, 1979 dalam Purwaningsih, 2000).

Kaspul (2007) menambahkan, terganggunya permeabilitas membran sel leydig mengakibatkan transfer zat makanan sebagai sumber energi biosintesis testosteron juga terganggu sehingga mengakibatkan kecenderungan penurunan kadar testosteron. Testosteron berperan dalam pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Testosteron juga bekerja pada sel sertoli untuk menghasilkan zat gizi yang diperlukan dalam proliferasi dan diferensiasi sel germinal untuk membentuk spermatozoa yang fungsional. Akibat penurunan sekresi testosteron akan menyebabkan proses spermatogenesis terganggu (Guyton, 1994).

Selain alkaloid, flavonoid juga mampu menurunkan sekresi testosteron. Menurut Winarno (1997) zat aktif flavonoid dapat menghambat enzim aromatase. Aromatase merupakan enzim yang berfungsi mengkatalis konversi testosteron (androgen) menjadi estradiol (estrogen). Sehingga dalam proses steroidogenesis dalam sel, pembentukan estradiol dari konversi testosteron akibat adanya enzim aromatase akan terhambat, dengan dihambatnya enzim aromatase oleh flavonoid menyebabkan kadar testosteron meningkat. Testosteron yang meningkat dapat berakibat umpan balik negatif pada hipotalamus untuk menekan sekresi GnRH, sehingga berakibat pada hipofisa anterior yang berpengaruh pada penurunan sekresi FSH dan LH. FSH dan LH berfungsi dalam proses spermatogenesis. LH berperan merangsang sel-sel leydig untuk memproduksi testosteron. Jika konsentrasi LH turun maka dapat menyebabkan menurunnya rangsangan pada sel

leydig untuk beraktifitas termasuk melakukan pembelahan, jika keadaan ini terus berlangsung maka dapat menyebabkan sel leydig mengalami degerasi dan jumlahnya menurun. Sel leydig yang mengalami degenerasi ditunjukkan dengan adanya inti yang mengalami piknosisi dan terjadi vakuolisasi pada sitoplasma (Susetyarini, 2004).

Pemberian senyawa yang bersifat estradiol atau estrogen yaitu flavonoid yang relatif tinggi dalam darah dapat merangsang pembentukan estrogen pada mammalia dan strukturnya ada kemiripan dengan hormon estrogen (Nurliani, 2005). Senyawa yang bersifat estrogenik akan memberikan umpan balik negatif terhadap poros hipotalamus-hipifisis-testis sehingga akan menurunkan sekresi LH maupun FSH (Nurliani, 2005 dalam Muchtaromah, 2009). Dengan terhambatnya sekresi LH dan kadarnya dalam darah menurun akan menyebabkan terganggunya pertumbuhan sel leydig. Menurut Jhonson dan Thomson (1986) dalam Susetyarini (2004) jumlah sel leydig tiap testis berkorelasi signifikan dengan volume total sel leydig tiap testis dengan kadar LH, jika LH turun maka jumlah sel leydig juga berkurang.

Para ulama yang membolehkan Keluarga Berencan (KB) sepakat bahwa KB yang dibolehkan syari`at adalah suatu usaha pengaturan atau penjarangan kelahiran atau usaha pencegahan kehamilan sementara atas kesepakatan suami dan isteri karena situasi dan kondisi tertentu untuk kepentingan (maslahat) keluarga. Dengan demikian KB disini mempunyai arti sama dengan *tanzim al nasl* (pengaturan keturunan). Sejauh pengertiannya adalah *tanzim al nasl* (pengaturan

keturunan), bukan *tahdid al nasl* (pembatasan keturunan) dalam arti pemandulan (*taqim*) dan aborsi (*isqot al-haml*), maka KB tidak dilarang (Fuaidah, 2009).

Hasil penelitian Lohiya (2002) membuktikan bahwa ekstrak biji pepaya bersifat reversibel, yaitu ditunjukkan dengan monyet yang diberi ekstrak biji pepaya selama 360 hari dengan dosis 50 mg/kg BB. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa konsentrasi sperma mulai menurun sejak pemberian perlakuan hari ke 30 sampai 60 dan azoospermia terjadi pada hari ke 90. Proses pemulihan kembali ke keadaan normal terjadi setelah 150 hari dihentikannya perlakuan.

Penggunaan biji pepaya sebagai alat kontrasepsi dapat menurunkan produksi FSH, LH dan testosteron tetapi bersifat sementara (reversible) yaitu bila obat tidak digunakan lagi, sistem reproduksinya normal kembali agar tidak terjadi kemandulan, sehingga tidak menurunkan libido (Lohiya, 2002). Jika libido menurun maka tidak akan ada akseptor yang bersedia menggunakan biji pepaya sebagai obat antifertilitas. Proses-proses fisiologi yang memerlukan testosteron tersebut menurut De Kretser (1997) dalam kaspul (2007) antara lain perkembangan dan pemeliharaan organ genitalia, sifat kelamin sekunder, perkembangan sistem otot rangka.

Testosteron sangat penting untuk aktivitas seksual normal dan proses ereksi. Testosteron berfungsi pada fungsi tubuh, seperti produksi sel darah pada sumsum tulang, pembentukan tulang, metabolisme lemak, metabolisme karbohidrat, metabolisme protein, fungsi hati dan pertumbuhan kelenjar prostat. Penurunan kadar testosteron akan mempengaruhi semua metabolisme yang terkait

dengan otot, tulang, susunan saraf pusat, prostat, sumsum tulang dan fungsi seksual (Herman, 1996).

4.1.2 Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA ganda tentang pengaruh interaksi dosis dan jenis ekstrak biji pepaya terhadap tebal epitel tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan dan kiri, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 0,05}$ pada faktor P dan K, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian jenis dan dosis ekstrak biji pepaya terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus. Selaian itu, dapat pula diketahui interaksi jenis ekstrak dan dosis biji pepaya memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan, akan tetapi pada testis sebelah kiri menunjukkan hasil yang berbeda. Sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.20 dan 4.23. Perhitungan selengkapnya terdapat pada lampiran 11 dan 12.

Tabel 4.20 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kanan

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Ulangan	2	5,16	2,58	0,78 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(235,75)	(33,68)	(10,13) [*]	(2,77)
P	1	47,73	47,73	14,36 [*]	4,60
K	3	154,58	51,53	15,51 [*]	3,34
PK	3	33,44	11,15	3,35 [*]	3,34
Galat	14	46,54	3,33		
Total	23	287,44			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
^{*} menunjukkan berbeda nyata

Untuk mengetahui kombinasi antar perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus, maka dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Berdasarkan hasil uji BNJ 5% dari rata-rata sel leydig pada testis sebelah kanan dan kiri, maka didapat notasi BNJ seperti pada tabel 4.21, 4.22, 4.24 dan 4.25.

Tabel 4.21 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan P	Total	Rata-rata (μm)	Notasi
P2	424,94	$424,94/(3 \times 4)=35,41$	a
P1	458,78	$458,78/(3 \times 4)=38,23$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Berdasarkan hasil uji lanjut dengan BNJ 5% pada tabel 4.21 menunjukkan bahwa perlakuan P2 (ekstrak biji pepaya tua) dan P1 (ekstrak biji pepaya muda) mempunyai efek berbeda dalam menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus. Dari hasil rata-rata dapat diketahui bahwa rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus pada perlakuan P2 yaitu $35,41\mu\text{m}$ lebih rendah dari pada perlakuan P1 yaitu $38,23\mu\text{m}$. Dengan demikian, perlakuan P2 lebih baik dalam menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus dari pada perlakuan P1.

Tabel 4.22 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan K	Total	Rata-rata (μm)	Notasi
K4	203,16	$203,16/(3 \times 2)=33,86$	a
K3	213,51	$213,51/(3 \times 2)=35,58$	ab
K2	222,58	$222,58/(3 \times 2)=37,10$	b
K1	244,47	$244,47/(3 \times 2)=40,74$	c

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.22 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) dan K3 (dosis 350 mg/kg BB) mempunyai efek yang sama terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus, akan tetapi perlakuan K4 mempunyai efek yang berbeda dengan perlakuan K2 (dosis 250 mg/kg BB) dan K1 (dosis 200 mg/kg BB). Selain itu perlakuan K3 dan K2 mempunyai efek sama terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus, akan tetapi mempunyai efek berbeda dengan perlakuan K1.

Hasil notasi BNJ 5%, menunjukkan bahwa semua perlakuan dosis ekstrak biji pepaya dapat menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus, tetapi memberikan hasil yang berbeda-beda di antara perlakuan. Dari hasil rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus dapat diketahui bahwa perlakuan K4 mampu menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus lebih baik dari pada perlakuan yang lain. Terlihat bahwa rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus pada perlakuan K4 yaitu 33,86 μm lebih rendah dari pada perlakuan K3, K2 dan K1.

Tabel 4.23 Ringkasan ANAVA Dua Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kiri

SK	db	JK	KT	F_{hitung}	F_{tabel 5%}
Ulangan	2	105,65	52,83	15,09*	3,74
Perlakuan:	(7)	(211,72)	(30,24)	(8,64)*	(2,77)
P	1	29,06	29,06	8,30*	4,60
K	3	172,11	57,37	16,39*	3,34
PK	3	10,54	3,51	1,01 ^{tn}	3,34
Galat	14	49,02	3,50		
Total	23	366,39			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata
* menunjukkan berbeda nyata

Tabel 4.24 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Jenis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan P	Total	Rata-rata (μm)	Notasi
P2	424,37	$424,37/(3 \times 4) = 35,36$	a
P1	450,78	$450,78/(3 \times 4) = 37,56$	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Berdasarkan hasil uji lanjut dengan BNJ 5% pada tabel 4.24 menunjukkan bahwa perlakuan P2 (ekstrak biji pepaya tua) dan P1 (ekstrak biji pepaya muda) mempunyai efek berbeda dalam menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus. Perlakuan ekstrak biji pepaya tua mampu menurunkan rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus lebih rendah dari pada ekstrak biji pepaya muda. Terlihat bahwa rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus pada perlakuan P2 yaitu 35,36 μm lebih rendah dari pada perlakuan P1 yaitu 37,56 μm .

Tabel 4.25 Ringkasan BNJ 5% tentang Pengaruh Dosis Ekstrak Biji Pepaya terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan K	Total	Rata-rata (μm)	Notasi
K4	195,12	$195,12/(3 \times 2) = 32,52$	a
K3	214,05	$214,05/(3 \times 2) = 35,67$	b
K2	228,16	$228,16/(3 \times 2) = 38,03$	bc
K1	237,82	$237,82/(3 \times 2) = 39,64$	c

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Dari hasil tabel 4.25 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) mempunyai efek yang berbeda dengan perlakuan K3 (dosis 350 mg/kg BB), K2 (dosis 250 mg/kg BB) dan K1 (dosis 200 mg/kg BB) terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus. Pada perlakuan K3 dan K2 mempunyai efek yang sama terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus, akan tetapi perlakuan

K3 mempunyai efek yang berbeda dengan perlakuan K1. Perlakuan K2 dan K1 mempunyai efek yang sama terhadap penurunan tebal epitel tubulus seminiferus.

Berdasarkan notasi BNJ 5%, dapat diketahui bahwa semua perlakuan dosis yang diberikan dapat menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus. Rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus pada perlakuan K4 yaitu 32,52 μm lebih rendah dari pada perlakuan K3, K2 dan K1, sehingga perlakuan K4 merupakan perlakuan terbaik untuk menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus.

Berdasarkan hasil analisis ANAVA ganda tentang pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya terhadap tebal epitel tubulus seminiferus, dapat diketahui bahwa kombinasi perlakuan dosis dan jenis ekstrak memberikan pengaruh nyata dalam menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan dan kiri. Hasil notasi BNJ 5% memperlihatkan bahwa perlakuan K4 (dosis 400 mg/kg BB) dan P2 (ekstrak biji pepaya tua) merupakan perlakuan terbaik, karena mampu menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus lebih rendah dari pada perlakuan yang lain.

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak biji pepaya dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik dan sel laydig. Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Lohiya *et al.*, (2005) menyebutkan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya selain dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik juga dapat menyebabkan degenerasi epitel germinal, vakuolisasi pada sel sertoli, penurunan, motilitas dan jumlah sperma serta meningkatnya sperma abnormal.

Turunnya jumlah sel spermatogenik, sel leydig dan sel sertoli dapat melalui mekanisme penghambatan produksi dan sekresi hormon FSH, LH dan testosteron, maupun melalui mekanisme gangguan secara langsung pada sel target yaitu dapat berupa rusaknya membran sel, degenerasi dan apoptosis serta gangguan pada proses pembelahan. Sel yang mengalami degenerasi biasanya ditandai dengan terjadi storage (penimbunan), akumulasi cairan atau zat dalam organel sel, perubahan morfologik terutama dalam sitoplasma dan sel mengembung. Sitoplasma keruh atau granuler kasar, disebut degenerasi bengkak keru (*claudes swelling*) (Purnama, 2009). Sedangkan histologi testis yang mengalami degenerasi ditunjukkan dengan adanya vakuolisasi pada sel sertoli dan sel benih, organel sitoplasma pada sel sertoli hilang, inti sel mengalami degenerasi dan mitokondria mengalami vakuolisasi pada sel spermatosit dan spermatid (Lohiya, 2005).

Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Udoh (2009) dalam Singh *et al.*, (2010) yang menjelaskan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya mampu menyebabkan degenerasi sel benih, sel sertoli dan sel leydig secara berangsur-angsur. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kekosongan pada tubulus seminiferus dan penurunan jumlah sel sperma pada lumen. Pemberian ekstrak biji pepaya juga mampu mengganggu hubungan pituitari-gonad dalam menghasilkan hormon reproduksi (FSH, LH, testosteron), sehingga mempengaruhi fungsi reproduksi hewan jantan.

Menurut Muchtaromah (2009) mekanisme terhambatnya perkembangan sel spermatogenik adalah berupa penurunan jumlah selnya, yang diduga sangat

erat kaitannya dengan FSH, LH dan testosteron. Hormon FSH, LH dan testosteron memegang fungsi penting dalam proses spermatogenesis. FSH berperan dalam merangsang pembentukan dan pendewasaan spermatozoa. FSH berperan dalam menstimulus sel-sel sertoli, tanpa stimulasi ini perubahan spermatid menjadi sperma (proses spermiasi) tidak akan terjadi. LH berfungsi merangsang perkembangan sel interstisial leydig untuk mensekresikan testosteron. Hormon testosteron berperan dalam pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Apabila terjadi gangguan pada sekresi ketiga hormon tersebut, maka spermatogenesis akan terganggu akibatnya jumlah sel spermatogenik, sel sertoli dan sel leydig menurun (Guyton, 1994).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak biji pepaya dengan berbagai jenis ekstrak dan dosis ternyata dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik dan sel leydig secara bermakna. Nurliani (2005) menjelaskan bahwa senyawa saponin dan flavonoid pada ekstrak biji pepaya dapat bersifat sitotoksik dan sitostatik, sehingga menyebabkan turunnya jumlah sel spermatogenik, sedangkan bahan aktif alkaloid steroid dapat dipakai sebagai bahan dasar pembuatan hormon steroid dan alkaloid steroid ini dapat mengganggu keseimbangan hormon gonadotropin. Adanya senyawa saponin, flavonoid dan alkaloid steroid dapat mengganggu spermatogenesis dan menurunkan jumlah sel spermatogenik, sel sertoli dan sel leydig (Kaspul, 2007).

Menurut Wiji (2006) enzim papain dan chymopapain pada biji pepaya mempunyai kemampuan menguraikan ikatan-ikatan dalam molekul protein sebagai bahan baku sintesis hormon reproduksi, sehingga protein terurai menjadi

polipeptida dan dipeptida akibatnya sintesis hormon reproduksi akan menurun. Fungsi protein selain sebagai bahan baku untuk sintesis protein, juga digunakan untuk membentuk enzim dan mengganti organel sel yang rusak atau tua. Akibat dari terurainya protein adalah enzim sebagai katalisator reaksi akan menurun dan organel sel yang rusak atau tua tidak dapat diganti, sehingga reaksi dalam sel terhambat dan kerja sel tidak dapat berjalan sempurna.

Menurunnya kadar hormon reproduksi akibat enzim papain dan chymopapain akan menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis dan komponen sel dalam tubulus seminiferus mengalami degenerasi (Wiji, 2006). Proses spermatogenesis dipengaruhi oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh hipotalamus, hipofisa dan testis. Hormon yang terlibat adalah testosteron, hormon lutein (LH), hormon perangsang folikel (FSH), estrogen, progesteron, inhibin, ABP (Guyton, 1994).

Turunnya kadar hormon reproduksi (FSH, LH dan testosteron) menyebabkan turunnya jumlah sel sertoli dan sel spermatogenik sehingga komponen sel dalam tubulus seminiferus mengalami degenerasi. Keadaan ini menyebabkan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli menurun, sehingga tebal epitel tubulus seminiferus juga menurun. Karena sel spermatogenik dan sel sertoli merupakan sel yang menyusun epitel tubulus seminiferus.

LH merangsang sel-sel leydig untuk memproduksi testosteron. FSH dan testosteron merangsang sel-sel spermatogenik untuk melakukan meiosis dan berdiferensiasi menjadi sperma. FSH juga mampu merangsang sel sertoli untuk mensekresikan ABP dan inhibin. ABP berfungsi mengangkut testosteron ke dalam

lumen tubulus seminiferus. Tanpa ABP testosteron tidak dapat memasuki lumen tubulus. Selain menghasilkan inhibin dan ABP, sel sertoli juga berfungsi sebagai penyedia nutrisi bagi sel-sel spermatogenik yang sedang tumbuh, memakan (fagositosis) sel-sel germinal yang abnormal, menggetahkan lendir yang ikut membina plasma semen, dan sebagai pelindung sel-sel germinal yang sedang tumbuh (Surjono, 2001). Menurunnya kadar hormon reproduksi akan menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis dan komponen sel dalam tubulus seminiferus mengalami degenerasi.

Firman Allah dalam surat Al-Hijr ayat 19, Allah menciptakan segala sesuatu di bumi ini sesuai dengan ukurannya:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

Artinya : Dan kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran (Al-Hijr : 19).

Berdasarkan surat Al-Hijr ayat 19 dapat diketahui bahwa Allah menciptakan bumi yang dilengkapi dengan gunung-gunung dan menumbuhkan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya. Allah menciptakan segala sesuatu tidak dengan sia-sia, melainkan dengan penuh manfaat dan pengetahuan. Tetapi manusia sering mengabaikan hal tersebut. Susunan sel penyusun epitel tubulus seminiferus merupakan salah satu bukti konkret keagungan Sang Pencipta kebenaran Allah dan keajaiban ciptaan-Nya, Dialah yang Maha Suci lagi Maha Kuasa. Allah mengatur sel-sel penyusun epitel tubulus seminiferus di dalam testis sesuai dengan ukurannya. Sel spermatogenik dan sel sertoli sebagai penyusun epitel tubulus seminiferus tersusun berlapis sesuai dengan tingkat

perkembangannya, sehingga menghasilkan epitel tubulus seminiferus yang ketebalannya sesuai dengan susunan sel penyusunnya. Apabila terjadi perubahan terhadap jumlah sel penyusun epitel tubulus seminiferus maka dapat merubah ketebalan epitel tubulus seminiferus.

Menurut Junqueira (1988) epitel tubulus seminiferus terdiri atas 2 jenis sel, yaitu sel sertoli dan sel yang merupakan turunan spermatogenik. Mikroanatomi tubulus seminiferus yang normal akan menunjukkan asosiasi sel spermatogenik tersusun berlapis sesuai dengan tingkat perkembangannya dari membran basalis menuju ke arah lumen tubulus yakni spermatogonia, spermatosit, dan spermatid, sedangkan sel sertoli merupakan sel berbentuk piramid memanjang yang sebagian melekat dengan sel-sel spermatogenik. Dasar sel sertoli melekat pada lamina basalis, ujung apeksnya sering meluas ke dalam lumen tubulus seminiferus. Lumen tampak terisi penuh oleh spermatozoa baik yang masih menempel pada sel sertoli maupun yang telah mengalami spermiogenesis (Sukmaningsih, 2009).

Menurunnya tebal epitel tubulus seminiferus pada testis sebelah kanan maupun kiri dikarenakan hadirnya zat aktif dalam ekstrak biji pepaya. Zat aktif tersebut mampu menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit, spermatid) dan sel sertoli penyusun epitel tubulus seminiferus, serta sel leydig yang berada di jaringan interstisial. Apabila sel penyusun tubulus seminiferus menurun maka tebal epitel tubulus seminiferus juga akan berkurang.

Danial (2005) menjelaskan bahwa terjadinya penurunan tebal epitel tubulus seminiferus merupakan pengaruh langsung dari ekstrak biji pepaya

terhadap sel spermatogenik yang menimbulkan terjadinya degenerasi sel-sel spermatogenik yang berakibat berkurangnya jumlah sel-sel spermatogenik. Seperti diketahui bahwa epitel tubulus seminiferus tersusun oleh dua jenis sel, yaitu sel spermatogenik dan sel sertoli, sehingga dengan adanya pengurangan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli akan menyebabkan pengurangan pada tebal epitel tubulus seminiferus.

Turunnya tebal epitel tubulus seminiferus dikarenakan hadirnya zat aktif di dalam ekstrak biji pepaya berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, papain dan chymopapain yang mampu menurunkan jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit, spermatid), sel sertoli dan sel leydig. Turunnya jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli akan menurunkan ketebalan epitel tubulus seminiferus. Darmanto (2004) menjelaskan bahwa turunnya tebal epitel tubulus seminiferus tampaknya disebabkan oleh turunnya jumlah sel spermatogenik penyusun tubulus seminiferus.

Epitel tubulus seminiferus disusun oleh sel sertoli atau sel penyokong dan sel-sel spermatogenik. Sel spermatogonia berukuran $12\ \mu\text{m}$ terletak pada bagian dalam dari lamina basal tubulus seminiferus. Spermatosit primer mempunyai ukuran terbesar yaitu $17-19\ \mu\text{m}$ menempati bagian tengah dari epitel. Spermatosit sekunder berukuran setengah lebih kecil dari spermatosit primer terletak lebih ke arah lumen. Spermatid mempunyai diameter $9\ \mu\text{m}$ dan terletak dekat lumen. Spermatozoa mempunyai ukuran panjang sekitar $55-65\ \mu\text{m}$ dan menempati lumen tubulus seminiferus. Sedangkan sel sertoli berada pada lamina basal dan terletak di antara sel spermatogenik (Danial, 2005).

Berdasarkan uraian pembahasan tentang pengaruh ekstrak biji pepaya terhadap jumlah sel spermatogonium, spermatisit, spermatid dan sel leydig, maka dapat diketahui bahwa turunnya jumlah sel spermatogenik dan sel leydig diduga akibat adanya bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya. Menurut Nurliani (2005) senyawa saponin dan flavonoid bersifat sitotoksik dan sitostatik, sehingga menyebabkan turunnya jumlah sel spermatogenik. Sitotoksik merupakan suatu zat atau senyawa yang mempunyai efek dapat menyebabkan kerusakan dan kematian terhadap sel dari makhluk hidup. Senyawa tersebut dapat berasal dari luar tubuh dan dapat berasal dari dalam tubuh itu sendiri (Sugiyanto, 1993). Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis (Pebrian, 2008).

Algiansyah (2009) menjelaskan, apoptosis merupakan proses kematian secara alami dan terprogram. Apoptosis terjadi ketika sel mengalami kerusakan yang tidak dapat diperbaiki lagi misalnya terinfeksi virus, mengalami stress misalnya kekurangan nutrien, kerusakan DNA akibat radiasi, ionisasi atau bahan beracun, atau juga disebabkan aktivitas gen penekan tumor dan radikal bebas. Peristiwa apoptosis biasanya dikarakterisasi oleh adanya perubahan permeabilitas membran mitokondria. Kerusakan sel merupakan gangguan atau perubahan yang dapat mengurangi viabilitas atau fungsi esensial sel (Sugiyanto, 1993).

Allah menciptakan tumbuhan yang ada di muka bumi agar dapat dimanfaatkan untuk kepentingan umat manusia, salah satu kegunaan tumbuhan adalah untuk mengobati penyakit. Sebagaimana firman Allah yang terdapat dalam surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۗ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا

مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya : *Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang, dan kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik (Luqman : 10).*

Surat Luqman ayat 10 menjelaskan bahwa Allah menciptakan bumi yang dilengkapi dengan langit dan gunung serta bermacam-macam binatang, Allah juga menurunkan air hujan yang membasahi bumi sehingga dapat menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuh-tumbuhan yang telah Allah ciptakan memiliki manfaat bagi kehidupan manusia, tetapi manusia sering tidak menyadari adanya manfaat tersebut. Manfaat tumbuhan bagi manusia adalah sebagai bahan makanan, obat-obatan dan sebagai bahan bangunan. Salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat adalah pepaya, tetapi masyarakat umumnya hanya mempergunakan daging buah, daun, akar dan batangnya saja. Biji pepaya sering kali dibuang, padahal biji pepaya mengandung bahan aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Biji pepaya mengandung zat aktif flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, papain dan chymopapain, sehingga mempunyai khasiat sebagai obat antifertilitas dengan menghambat spermatogenesis (Satriyasa, 2008 dan Sukadana, 2008).

Zat aktif steroid, triterpenoid dan alkaloid yang terkandung dalam biji pepaya mampu menurunkan jumlah sel spermatogenik yaitu dengan mengganggu hormon FSH, LH dan testosteron (Satriyasa, 2005). Sejumlah besar alkaloid

bersifat terpenoid dan triterpenoid memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid (Rhobinson, 1995). Senyawa yang mempunyai inti steroid dan struktur molekul mirip kolesterol merupakan prekursor testosteron, sehingga dapat menempati reseptor testosteron. Reseptor testosteron terdapat pada sel-sel di hipotalamus yang mensekresikan GnRH dan sel-sel di pituitari anterior pensекреksi gonadotropin, dengan ditempatinya reseptor testosteron, maka menimbulkan *feed back* negatif terhadap sekresi GnRH dan LH. Turunnya GnRH dan LH menyebabkan sekresi FSH dan testosteron menurun (Wiryawan, 2009).

FSH berpengaruh langsung terhadap sel sertoli dalam tubulus seminiferus. (Sukmaningsih, 2009). Fungsi sel sertoli dan agar spermatogenesis dapat sempurna bergantung pada aksi FSH dan testosteron. (O'Shaughnessy, 2010). Apabila kadar FSH dan testosteron rendah, maka sel sertoli tidak dapat berfungsi secara maksimal. Sel sertoli berperan dalam mesuplai nutrisi dan bahan metabolisme sel benih serta melindungi lingkungan pada testis tubulus seminiferus untuk perkembangan sel benih. Apabila sel sertoli tidak dapat berfungsi secara maksimal maka pertumbuhan sel germinal akan terhambat, keadaan ini dapat menyebabkan menurunnya jumlah sel germinal (Walker, 2005).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Satriyasa (2010) menunjukkan bahwa fraksi heksan mengandung zat aktif steroid dan triterpenoid, dan fraksi metanol mengandung zat aktif alkaloid dari ekstrak biji pepaya muda dapat menurunkan sel spermatogonia dengan sangat bermakna. Menurut Yurnadi dkk., (2001) dalam Busman (2007) sel spermatogonium merupakan *stem cell* dari sel-

sel spermatogenik. Jika sel spermatogonium berkurang maka jumlah sel spermatosit primer, spermatosit sekunder dan spermatid juga berkurang. Akibatnya sel bakal spermatozoa mengalami degenerasi, sehingga dapat memicu kekosongan dari sel germinal yang secara otomatis menyebabkan turunnya jumlah spermatozoa.

Allah berfirman dalam surat Ali Imron ayat 190-191 tentang faedah selalu ingat kepada Allah dan merenungkan ciptaan-Nya:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا
 مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka (Ali Imron : 190-191).

Surat Ali Imron ayat 190-191 menerangkan tentang hasil ciptaan Allah pada ketinggian dan keluasan langit dan juga pada kerendahan bumi serta kepadatannya, dan juga pada tanda-tanda kekuasaan-Nya yang terdapat pada ciptaan-Nya yang dapat dijangkau oleh indera manusia pada keduanya (langit dan bumi). Dan pada silih bergantinya, susul menyusulnya, panjang dan pendeknya malam dan siang terdapat tanda bagi orang berakal (Ulul Albab). Yaitu mereka yang mempunyai akal yang sempurna lagi bersih, yang mengetahui hakikat banyak hal secara jelas dan nyata. Insan ulul albab tidak putus-putus berdzikir dalam semua keadaan baik dengan hati maupun dengan lisan mereka. Mereka

memahami apa yang terdapat pada langit dan bumi dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan Allah. Allah tidak menciptakan semuanya ini dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran. Sebagai insan ulul albab harus mampu mengintegrasikan hasil pendidikan dalam kehidupan sehari-hari, sehingga banyak dikembangkan penelitian-penelitian biologi yang sesuai dengan syari'at Islam (Tafsir Ibnu Katsir).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya dapat mengganggu spermatogenesis, yaitu dengan menurunkan jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit, spermatid), sel leydig dan tebal epitel tubulus seminiferus pada testis mencit. Biji pepaya yang biasanya sering dibuang dan terkadang dibuat untuk pembibitan oleh masyarakat sekarang dapat dimanfaatkan sebagai obat antifertilitas. Hal ini sungguh menjadikan pelajaran yang berharga jika kita senantiasa berfikir akan tanda-tanda kekuasaan Allah.

BAB V

PENUTUP

1.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian ekstrak biji pepaya dapat mempengaruhi spermatogenesis mencit yaitu dengan menurunkan jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit, spermatid) dan sel Lydig pada testis sebelah kanan maupun sebelah kiri. Terdapat interaksi antara ekstrak biji pepaya muda dan tua, dan interaksi dosis dalam mempengaruhi spermatogenesis, tetapi interaksi antara jenis dan dosis ekstrak biji pepaya menunjukkan hasil yang berbeda.
2. Pemberian ekstrak biji pepaya dapat mempengaruhi tebal epitel tubulus seminiferus mencit pada testis sebelah kanan maupun sebelah kiri. Terdapat interaksi antara ekstrak biji pepaya muda dan tua, dan interaksi dosis dalam menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus, tetapi interaksi antara jenis dan dosis ekstrak biji pepaya menunjukkan hasil yang berbeda.

1.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan guna mengetahui efek terhadap libido melalui pengukuran kadar hormon testosteron. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian efek toksisitas ekstrak biji pepaya melalui organ-organ yang terkait dengan uji toksisitas seperti hepar dan ginjal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimunca, Cornelis. 1996. Kemungkinan Pemanfaatan Ekstrak Buah Pare sebagai Bahan Kontrasepsi Pria. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. (112): 12-14.
- Algiansyah. 2009. Kemampuan Ekstrak Dedaunan Berpotensi Antioksidan untuk Memodulasi Apoptosis pada Sel Khamir. *Skripsi diterbitkan*. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Busman, Hendri. 2007. Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) Akibat Paparan Medan Listrik Tegangan Tinggi. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat*. Universitas Lampung. 275-190.
- Campbell, Reece-Mitchell. 2004. *Biologi, Edisi Kelima, Jilid 3*. Alih bahasa: Wasmen Manulu. Jakarta: Erlangga.
- Chinoy, N.J., J.M., D'Sauza., dan P., Padman, 1995. Contraceptive Efficacy of *Carica pepaya* Seed Extract in Male Mice. *Phytotherapy Research An International Journal*. 9: 30-36.
- Danial. 2005. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Asetat Peroral terhadap Berat Testis, Diameter dan Tebal Apitel Tubulus Seminiferus Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Tesis tidak diterbitkan*. Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Elyal, Berna dan Dadang Kusmana. 2002. Pengaruh Infus Daun Puding (*Polyscias guilfoylei* L.H. Bailey) Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur DDY. *Jurnal makara, sains*. 6 (2): 99-104.
- Ferdinandus, I. A. 1991. Spermatogenesis. *Prosiding Seminar spermatogenesis*. Surabaya: Perkumpulan Danrologi Indonesia.
- Guyton, Arthur C. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7 Bagian III*. Jakarta: ECG Penerbit Buku Kedokteran.
- Hafes, E., S., E. 1993. *Reproduction in farm Animals*. Philadelphia. LEA & FEBIGER.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- Heckert, Leslie L. dan Michael D. Griswold. 2002. The Expression of the Follicle-stimulating Hormone Receptor in Spermatogenesis. *Artickle The*

Endocrine Society All rights of reproduction in any form reserved. 129-148.

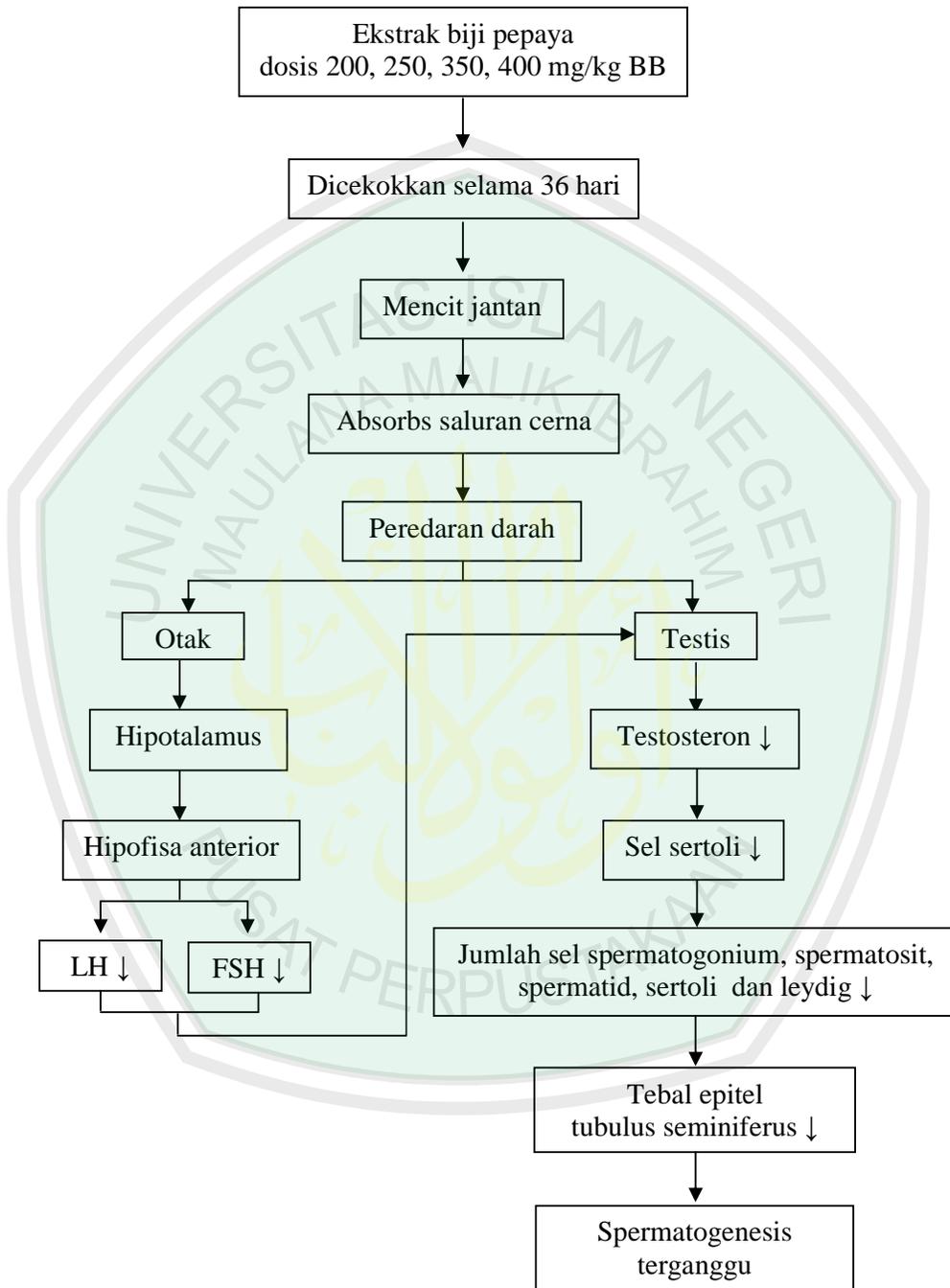
- Herdiningrat. 2002. Efek pemberian Infuse Buah Mangga Muda (*gracinia mangostana*) Terhadap Spermatozoa Mencit (*mus musculus*). *Majalah Adrologi Indonesia*.
- Istanti, A., Prasetyo, T., I., dan Listyorini D. 1999. *Biologi Sel*. Malang: IMSTEP-IIICA F MIPA Universitas Negeri Malang.
- Istriyati dan Susilowati, Febri. 2008. Pengaruh Ekstrak Biji Jaraj (*Ricus communis* L.) terhadap Struktur Histologis Testis Tikus Sawah (*Ratus argentiventer* Robinson&Kloss). *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 15 (2): 47-58.
- Ixwantoro, Yance dan Junaidi, Aris. 2002. Pengaruh Pemberian Agonis GnRH Deslorelin terhadap Perubahan Histologi Testis dan Epididimis Anjing Jnatan. *Jurnal Sain Vet*. 10 (2): 20-24.
- Junqueira, L. C. dan Carneiro. 1988. *Basic Histology. 3rd Edition*. Terjemahan: H. Dharma. Jakarta: ECG Penerbit Buku Kedokteran.
- Kamil, Jurnalis. 1986. *Teknologi Benih*. Padang: Angkasa Raya.
- Kaspul. 2007. Kadar Testosteron Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Setelah Mengonsumsi Buah Terong Tukak (*Solanum torvum* Sw). *Jurnal Bioscientiae* . 4 (1): 1-8.
- Katno dan S.Pramono. 2009. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Fakultas Farmasi, UGM.
- Kiptiyah. 2007. *Embriologi dalam Al-Qur'an Kajian pada Proses Penciptaan Manusia*. Malang: UIN Press.
- Kusumaningrum, Endhah. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica pepaya* L.) terhadap Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Kusumawati, Dian. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Lestari, Damayanti. 2007. *Peran Inhibin pada Proses Reproduksi Ternak*. Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.

- Lohiya, N. K., Manivannan B., Mishra, P. K., Pathak, N., Sriram, S., Bhdane, S. S., dan Panneerdoss, S. 2002. Chloroform extract of *Carica pepaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in langur monkey. *Asian Journal Danrology*. 4 (1): 17-26.
- Mahriani. 2008. Kajian Ekspresi Protein Bax pada Gangguan Spermatogenesis Pasca Pemaparan 2,5-hexanadione, pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L). *Jurnal Biologi*. 7(1): 1-5.
- Muchtaromah, Bayyinatul. 2009. Potensi Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Spermatogenesis Mencit. *Jurnal penelitian Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus: 3D*: 57-60.
- Nalbdanov, A. V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas*. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Nurliani, Anni, Rusmiati dan Santoso, B. Heri. 2005. Perkembangan Sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Kayu Duarian (*Durio zibethinus*). *Jurnal penelitian berl. Penel. Hayati*. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarmasin Kalimantan Selatan: 11: 77-79.
- O'Shaughnessy, P., J., *et al.* 2010. Effect of FSH on Testicular Morphology and Spermatogenesis in Gonadotrophin-Deficient Hypogonadal Mice Lacking Androgen Receptors. *Artickle Society for Reproduction and Fertility*. 139 : 177-184.
- Partodiharjo, Soebadi, 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara Sumber Widya.
- Pebrian, Ratna Budhi, dkk. 2008. Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Jurnal Pharmacon*. 9 (1): 21-26 .
- Prajogo Bambang., Whida SA, Wiwied E., dan Widjiati. 2007. Pengaruh Daun *Justicia gendarussa* Burm. f. Terhadap Spermatogenesis Mencit. *Jurnal Ilmiah Keluarga Berencana dan Kesehatan Reproduksi*. Tahun I, 1: 1-8.
- Purwaningsih, Endang. 2003. Pengaruh Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata* L.) terhadap Kualitas Sperma Manusia In Vitro. *Jurnal Kedokteran YARSI*. 11 (2): 77-84.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kdanungan Organik Tumbuhan Tinggi*: Bdanung. ITB.

- Rusmiati. 2007. Pengaruh Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit jantan (*Mus musculus* L). *Jurnal penelitian BIOSCIENTIAE*. 4 (2):63-70.
- Rustaman, Maman Abdurahman, dan Jamaludin Al Anshori. 2005. Skrining Fitokimia Tumbuhan di Kawasan Gunung Kuda Kabupaten Bdanung Sebagai Penelaahan Keanekaragaman Hayati. *Lembaga penelitian Universitas Padjadjaran*.
- Satriyasa, Bagus Komang. 2008. Fraksi Heksan Ekstrak Biji Pepaya Muda Dapat Menghambat Proses Spermatogenesis Mencit Jantan Lebih Besar Daripada Fraksi Metanol Ekstrak Biji Papaya Muda. *Jurnal Penelitian Juli 2005*. Bagian Fharmakologi Ilmu Kedokteran Universitas Udayana Denpasar-Bali.
- Satriyasa, Bagus Komang., Pangkahila, Wimpie I. 2010. Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda Menghambat Spermatogonia Mencit (*Mus Musculus*) Jantan. *Jurnal Veteriner*. 1 (11): 36-40.
- Sherwood, Lauralee., Kldanorf, Hillar dan Yancey, Paul H. 2005. *Animal Physiology From Genes to Organisms*. United States: Thomson Brooks/cole.
- Siregar, Julahir Hodmatu. 2009. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Jumlah Sel Leydig dan Jumlah Sperma Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus* L.) yang Dipapar Monosodium Glutamate (Msg). *Disertasi* diterbitkan. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Singh D. K., Preetee Jaiswal, Pradeep Kumar, dan V. K. Singh. 2010. *Carica papaya* Linn: A Potential source for various health problems. *Review Article Journal of Pharmacy Research* 2010. 3(5) : 998-1003.
- Sloane, Ethel. 2003. *Anatomi dan Fisiologi untk Pemula*. Alih bahasa: James Veldman. Jakarta: ECG Penerbit Buku Kedokteran.
- Sopia, Siti. 2009. Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Wistar Hiperlipidemia. *Skripsi* diterbitkan. Semarang: Universitas Diponegoro Semarang.
- Sugiyanto, Johanes. 1993. pengaruh Diosgenin terhadap Perkembangan Embrio Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Biologi*. 1 (6): 273-181.
- Suherman KS. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke-4 Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Sukadana, I M. Sri Rahayu Santi, dan N. K. Juliarti. 2008. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari biji pepaya (*Carica pepaya* L.). *Jurnal Kimia* 2 (1): 15-18.
- Sukmaningsih, Sg A.,A.A. 2009. Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatisid Tubulus Seminiferus Testis pada Mencit (*Mus musculus*) yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Biologi*. 8 (2) : 31 – 35.
- Sumardi dan Aditya Marinati. 2007. *Biologi Sel*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Suparjo. 2009. Saponin: *Peran dan Pengaruhnya Bagi Ternak dan Manusia*. *Laboratorium Makanan Ternak*. Fakultas Peternakan Universitas Jambi.
- Susetyarini, Eko. 2003. Efek Senyawa Aktif Daun Beluntas Terhadap Kadar Testosteron Tikus Putih (*Ratus norwegicus*) Jantan. *Tesis Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan F. MIPA-Biologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Susilowati, Suherni. 2008. Kompleks Insulin Like Growth Factor-I Mempengaruhi Persentase Membran Plasma Utuh dan Kadar Malondialdehid Spermatozoa. *Jurnal Veteriner* Desember 2008. 9 (4): 168-175.
- Tolihere, Mozes R. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Angkasa.
- Turner, C. Donnel, Joseph T dan Bagnara. 1988. *Endokrinologi Umum*. Penerjemah: Harsojo. Surabaya: Airlangga University Press.
- Udoh, P. B., Udoh, F. V., Umoren, E. B., James, U. W., Okeke, C. P. dan Agwu, B. 2009. Effect of Caricapryl-99 Seed Alkaloid Extract on The Serum Levels of Sex Hormons dan Pituitary Gonadotrophins in Male Albino Rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*. 24 (1): 13 –15.
- Utsman, Nabih Abdurrahman. 2005. *Mukjizat Penciptaan Manusia Tinjauan Al-Qur;an dan Medis*. Jakarta: Akbar.
- Walker, William H. dan Jing Cheng. 2005. FSH and Testosterone Signaling in Sertoli Cells. *Artickle Review Reproduction*. 130 : 15–28.
- Widotama, I G. B. Gupta. 2008. Pengaruh Isolat Herba *Vernonia cinerea* Terhadap Spermatogenesis Tikus Putih. Instalasi Farmasi RSUP Sanglah, Denpasar. *Jurnal Kimia*. 2 (2): 117-124.
- Wiji, Isni. 2006. Pengaruh Filtrat Buah Pepaya (*Carica pepaya* L.) Muda terhadap Jumlah Spermatozoa. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Malang.

- Winarno, M. Wien dan Dian Sundari. 1997. Informasi Tanaman Obat untuk Kontrasepsi Tradisional. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. (120): 25-28.
- Wirawan, I. G. Nyoman Sri dan Ida Ayu Ika Wahyuniari. 2009. Ekstrak Biji Klabat Menurunkan Jumlah Sel Spermatozoa pada Kelinci. *Jurnal Veteriner*. 10 (2) : 71-76.
- Wurlina dan Widayat, S. 2002. Pengaruh Perasan *Achyranthes aspera* Linn. terhadap Perkembangan Embrio (Cleavage) Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*. 3 (3).
- Xiong, Weipeng *et al.* 2009. Apoptotic spermatogenic cells can be energy sources for Sertoli cells. *Research Society for Reproduction and Fertility*. 137 : 469-479 (100)
- Yatim, Wildan. 1996. *Histologi*. Bandung: Tarsito.
- Yurnadi, Puji Sari, Dwi Ari Pujianto dan Oentoeng Soeradi. 2002. Pengaruh Peyuntika Ekstrak Biji Pepaya (*Carica pepaya* L.) terhadap Konsentrasi Spermatozoa dan Keadaan Sel Spermatogenik Tikus Jantan (*Rattus norvegicus* L.) Strain LMR. *Artikel ilmiah*. Jakarta: Lembaga penelitian Universitas Indonesia. Bagian Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.
- Yuniwati, Murni dan Ani Purwanti. 2008. Optimasi Kondisi Proses Ekstraksi Minyak Biji Pepaya. *Jurnal Teknologi Technoscientia*. 1 (1): 74-82.

Lampiran 1. Kerangka Konsep Penelitian

Lampiran 2. Data Jumlah Sel Spermatogenik, Sel Leydig dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Setelah Perlakuan Ekstrak Biji Pepaya

1. Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	82	84	87	253	84,33
P1K1	40	42	73	155	51,67
P1K2	50	50	49	149	49,67
P1K3	38	38	42	118	39,33
P1K4	31	30	45	106	35,33
P2K1	47	44	38	129	43
P2K2	37	42	43	122	40,67
P2K3	39	37	38	114	38
P2K4	33	37	35	105	35

2. Sel Spermatogonium pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	96	135	87	318	106
P1K1	102	72	70	244	81
P1K2	51	48	83	182	60,67
P1K3	53	52	53	158	52,67
P1K4	48	38	58	144	48
P2K1	51	62	56	169	56,33
P2K2	45	61	53	159	53
P2K3	51	55	42	148	49,33
P2K4	38	38	49	125	41,67

3. Sel Spermatisit pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	180	183	142	505	168,33
P1K1	46	66	113	225	75
P1K2	87	64	60	211	70,33
P1K3	34	37	70	141	47
P1K4	42	35	48	125	41,67
P2K1	59	56	63	178	59,33
P2K2	65	51	57	173	57,67
P2K3	48	42	47	137	45,67
P2K4	33	42	39	114	38

4. Sel Spermatisit pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	223	212	134	569	189,67
P1K1	98	196	53	347	115,67
P1K2	114	84	113	311	103,67
P1K3	77	106	65	248	82,67
P1K4	84	41	83	208	69,33
P2K1	77	117	107	301	100,33
P2K2	83	94	89	266	88,67
P2K3	78	76	93	247	82,33
P2K4	61	85	54	200	66,67

5. Sel Spermatisid pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	194	161	137	492	164
P1K1	57	73	119	249	83
P1K2	65	71	110	246	82
P1K3	68	48	57	173	57,67
P1K4	47	45	43	135	45
P2K1	121	58	61	240	80
P2K2	87	53	53	193	64,33
P2K3	51	43	43	137	45,67
P2K4	36	39	38	113	37,67

6. Sel Spermatisid pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	220	203	171	594	198
P1K1	147	163	99	409	136,33
P1K2	136	113	127	376	125,33
P1K3	89	90	94	273	91
P1K4	114	51	96	261	87
P2K1	98	94	101	293	97,67
P2K2	91	120	77	288	96
P2K3	99	82	82	263	87,67
P2K4	79	93	68	240	80

7. Sel Leydig pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	60	40	50	150	50
P1K1	46	50	53	149	49,67
P1K2	42	31	39	112	37,33
P1K3	33	28	29	90	30,00
P1K4	23	24	31	78	26,00
P2K1	32	28	35	95	31,67
P2K2	29	24	21	74	24,67
P2K3	24	23	16	63	21
P2K4	17	17	18	52	17,33

8. Sel Leydig pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	55	67	50	172	57,33
P1K1	48	34	39	121	40,67
P1K2	37	32	35	104	34,67
P1K3	25	28	24	77	25,67
P1K4	21	20	33	74	24,67
P2K1	28	29	26	83	27,67
P2K2	18	28	24	70	23,33
P2K3	21	21	26	68	22,67
P2K4	25	20	19	64	21,33

9. Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kanan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah (μm)	Rata-rata (μm)
	1(μm)	2 (μm)	3 (μm)		
Kontrol	60,69	72,2	62,65	195,54	65,18
P1K1	41,38	47,89	43,14	132,41	42,47
P1K2	36,88	37,51	39,6	113,99	37,33
P1K3	35,87	34,65	37,09	107,61	34,54
P1K4	35,09	34,77	34,915	104,775	33,59
P2K1	36,96	37,48	37,62	112,06	36,35
P2K2	37,85	35,4	35,34	108,59	34,86
P2K3	35,45	37,55	32,9	105,9	34,3
P2K4	32,97	34,54	30,88	98,39	32,8

10. Tebal Epitel Tubulus Seminiferus pada Testis Sebelah Kiri

Perlakuan	Ulangan			Jumlah (μm)	Rata-rata (μm)
	1 (μm)	2 (μm)	3 (μm)		
Kontrol	75,65	56,46	60,71	192,82	64,27
P1K1	47,09	39,31	39,12	125,52	41,84
P1K2	40,9	38,61	37,67	117,18	39,06
P1K3	42,41	34,02	32,34	108,77	36,26
P1K4	34,46	32,58	32,27	99,31	33,10
P2K1	38,76	39,53	34,01	112,3	37,43
P2K2	40,28	35,63	35,07	110,98	36,99
P2K3	37,05	33,71	34,52	105,28	35,09
P2K4	33,79	31,82	30,2	95,81	31,94



Lampiran 3. Data Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Kanan Mencit (*Mus musculus*) dengan Perhitungan Manual

Tabel 3.1 Jumlah Sel Permatogonium

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
P1K1	40	42	73	155	51,6666667
P1K2	50	50	49	149	49,6666667
P1K3	38	38	42	118	39,3333333
P1K4	31	30	45	106	35,3333333
P2K1	47	44	38	129	43
P2K2	37	42	43	122	40,6666667
P2K3	39	37	38	114	38
P2K4	33	37	35	105	35
Jumlah	315	320	363	998	332,666667

Menghitung faktor korelasi (FK)

$$FK = \frac{\sigma^2}{r \times n} = \frac{998^2}{8 \times 3} = \frac{996004}{24} = 41500,16667$$

Menghitung jumlah kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{\text{Total}} &= 40^2 + 42^2 + \dots + 37^2 + 35^2 - FK \\ &= 43220 - 41500,16667 \\ &= 1719,833333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Ulangan}} &= \frac{314^2 + 320^2 + 363^2}{8} - FK \\ &= 41674,25 - 41500,16667 \\ &= 174,0833333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Perlakuan}} &= \frac{155^2 + 149^2 + \dots + 105^2}{3} - FK \\ &= \frac{24025 + 22201 + \dots + 11025}{3} - 41500,16667 \\ &= 42310,66667 - 41500,16667 = 810,5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Ulangan}} \\ &= 1719,833333 - 810,5 - 174,0833333 = 735,25 \end{aligned}$$

Karena merupakan perlakuan kombinasi, maka JK perlakuan harus diuraikan menjadi JK komponen penyusun (JK P dan JK K) dan JK interaksi PK.

Untuk dapat menghitung JK P, JK K dan JK PK maka perlu dibuat daftar dwi kasta antara faktor P dan faktor K.

Tabel 3.2 Jumlah Sel Spermatozoon antara Faktor Jenis Ekstrak dan Faktor Dosis

Jenis ekstrak	Dosis (mg/Kg BB)				∑ jenis ekstrak	Rata-rata
	K1	K2	K3	K4		
P1	155	149	118	106	528	132
P2	129	122	114	105	470	117,5
∑ dosis	284	271	232	211	998	
Rata-rata	142	135,5	116	105,5		

$$JK P = \frac{528^2 + 470^2}{\text{taraf dosis} \times \text{ulangan}} - FK$$

$$= \frac{278784 + 220900}{4 \times 3} - 41500,16667 = 140,1666667$$

$$JK K = \frac{284^2 + 271^2 + \dots + 211^2}{\text{taraf jenis ekstrak} \times \text{ulangan}} - FK$$

$$= \frac{80656 + 73441 + \dots + 44521}{2 \times 3} - 41500,16667$$

$$= 573,5$$

$$JK PK = JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Jenis ekstrak}} - JK_{\text{Dosis}}$$

$$= 810,5 - 140,1666667 - 573,5$$

$$= 96,83333333$$

Tabel 3.3 ANOVA Dua Jalur

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel (5%)}
Ulangan	2	174,0833333	87,04166665	1,6573728 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(810,5)	(115,7857143)	(2,2046923) ^{tn}	(2,77)
P	1	140,1666667	140,1666667	2,6689335 ^{tn}	4,6
K	3	573,5	191,1666667	3,6400317 [*]	3,34
PK	3	96,83333333	32,27777778	0,6146058 ^{tn}	3,34
Galat	14	735,25	52,51785714		
Total	23	810,5			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata

* menunjukkan berbeda nyata

Dari analisis ragam diketahui bahwa interaksi dosis berbeda nyata, sehingga perlu uji lanjut BNJ 5%.

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ 5\%} &= Q_{0,05(p;db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{\text{KT Galat}}{\text{ulangan}}} \\
 &= Q_{0,05(8;14)} \times \sqrt{\frac{52,51785714}{3}} \\
 &= 4,99 \times 4,184 \\
 &= 20,878
 \end{aligned}$$

Tabel 3.4 Notasi BNJ 5%

Perlakuan		Hasil	Notasi
Jenis ekstrak	Dosis		
P2	K4	35	a
PI	K4	35,33	a
P2	K3	38	a
PI	K3	39,33	a
P2	K2	40,67	a
P2	K1	43	a
P1	K2	49,67	a
P1	K1	51,67	a

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk P} &= Q_{0,05(p;db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{\text{KT Galat}}{\text{ulangan} \times \text{level K}}} \\
 &= Q_{0,05(2;14)} \times \sqrt{\frac{52,51785714}{3 \times 4}} \\
 &= 3,03 \times 2,092 \\
 &= 6,339
 \end{aligned}$$

Tabel 3.5 Notasi BNJ 5% pada Faktor Jenis Ekstrak

Perlakuan P	Total	Rata-rata	Notasi
P2	470	470/(3X4)=39,167	a
P1	528	528/(3X4)=44	a

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Kesimpulan: ekstrak biji pepaya muda dan ekstrak biji pepaya tua sama-sama mampu menurunkan jumlah sel spermatogonium

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk K} &= Q_{0,05(p;db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{\text{KT Galat}}{\text{ulangan} \times \text{level P}}} \\
 &= Q_{0,05(4;14)} \times \sqrt{\frac{52,51785714}{3 \times 2}} \\
 &= 4,11 \times 2,958 \\
 &= 12,159
 \end{aligned}$$

Tabel 3.6 Notasi BNJ 5% pada Faktor Dosis

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	211	211/(3X2)=35,167	a
K3	232	232/(3X2)=38,67	ab
K2	271	271/(3X2)=45,167	ab
K1	284	284/(3X2)=47,33	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Kesimpulan: dosis terbaik yang mampu menurunkan jumlah sel spermatogonium adalah dosis K4 yaitu 400 mg/kg BB

Lampiran 4. Data Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada Testis Kiri Mencit (*Mus musculus*) dengan Perhitungan Manual

Tabel 4.1 Jumlah Sel Spermatogonium

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
P1K1	102	72	70	244	81,3333333
P1K2	51	48	83	182	60,6666667
P1K3	53	52	53	158	52,6666667
P1K4	48	38	58	144	48
P2K1	51	62	56	169	56,3333333
P2K2	45	61	53	159	53
P2K3	51	55	42	148	49,3333333
P2K4	38	38	49	125	41,6666667
Jumlah	439	426	464	1329	443

Menghitung faktor korelasi (FK)

$$FK = \frac{\sigma^2}{r \times n} = \frac{1329^2}{8 \times 3} = \frac{1766241}{24} = 73593,375$$

Menghitung jumlah kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{\text{Total}} &= 102^2 + 72^2 + \dots + 38^2 + 49^2 - FK \\ &= 10404 + 5184 + \dots + 1444 + 2401 - 73593,375 \\ &= 4937,625 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Ulangan}} &= \frac{439^2 + 426^2 + 464^2}{8} - FK \\ &= 73686,625 - 73593,375 \\ &= 93,25 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Perlakuan}} &= \frac{244^2 + 182^2 + \dots + 148^2 + 125^2}{3} - FK \\ &= 76577 - 73593,375 \\ &= 2983,625 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Ulangan}} \\ &= 4937,625 - 2983,625 - 93,25 \\ &= 1860,75 \end{aligned}$$

Karena merupakan perlakuan kombinasi, maka JK perlakuan harus diuraikan menjadi JK komponen penyusun (JK P dan JK K) dan JK interaksi PK. Untuk dapat menghitung JK P, JK K dan JK PK maka perlu dibuat daftar dwi kasta antara faktor P dan faktor K.

Tabel 4.2 Jumlah Sel Spermatozoon antara Faktor Jenis Ekstrak dan Faktor Dosis

Jenis ekstrak	Dosis (mg/Kg BB)				Σ jenis ekstrak	Rata-rata
	K1	K2	K3	K4		
P1	244	182	158	144	728	182
P2	169	159	148	125	601	150,25
Σ dosis	413	341	306	269	1329	
Rata-rata	206,5	170,5	153	134,5		

$$\begin{aligned}
 JK P &= \frac{728^2 + 601^2}{4 \times 3} - FK \\
 &= \frac{891185}{12} - 73593,375 \\
 &= 672,0416667
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK K &= \frac{413^2 + \dots + 269^2}{2 \times 3} - FK \\
 &= \frac{452847}{6} - 73593,375 = 1881,125
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK PK &= JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Jenis ekstrak}} - JK_{\text{Dosis}} \\
 &= 2983,625 - 672,0416667 - 1881,125 \\
 &= 430,4583
 \end{aligned}$$

Tabel 4.3 ANOVA Dua Jalur

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel (5%)
Ulangan	2	93,25	46,625	0,35079941 ^{tn}	3,74
Perlakuan:	(7)	(2983,625)	(426,232143)	(3,20690582) [*]	(2,77)
P	1	672,0417	672,0417	5,05633954 [*]	4,6
K	3	1881,125	627,041667	4,71776613 [*]	3,34
PK	3	430,4583	143,4861	1,07956759 ^{tn}	3,34
Galat	14	1860,75	132,910714		
Total	23	4937,625			

Keterangan: ^{tn} menunjukkan tidak berbeda nyata

* menunjukkan berbeda nyata

Dari analisis ragam diketahui bahwa interaksi jenis ekstrak dan dosis berbeda nyata, sehingga perlu uji uji lanjut BNJ 5%.

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ } 5\% &= Q_{0,05(p;db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{\text{KT Galat}}{\text{ulangan}}} \\
 &= Q_{0,05(8;14)} \times \sqrt{\frac{132,910714}{3}} \\
 &= 4,99 \times 6,65 \\
 &= 33,18
 \end{aligned}$$

Tabel 4.4 Notasi BNJ 5%

Perlakuan		Hasil	Notasi
Jenis ekstrak	Dosis		
P2	K4	41,67	a
P1	K4	48	a
P2	K3	49,33	a
P1	K3	52,67	ab
P2	K2	53	ab
P2	K1	56,33	ab
P1	K2	60,67	ab
P1	K1	81,33	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ }_{0,05} \text{ untuk P} &= Q_{0,05(p;db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{\text{KT Galat}}{\text{ulangan} \times \text{level K}}} \\
 &= Q_{0,05(2;14)} \times \sqrt{\frac{132,910714}{3 \times 4}} \\
 &= 3,03 \times 3,328 \\
 &= 10,08
 \end{aligned}$$

Tabel 4.5 Notasi BNJ 5% pada Faktor Jenis Ekstrak

Perlakuan P	Total	Rata-rata	Notasi
P2	601	601/(3x4)=50,083	a
P1	728	728/(3X4)=60,667	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Kesimpulan: ekstrak biji pepaya tua mampu menurunkan jumlah sel spermatogonium lebih baik daripada ekstrak biji pepaya muda

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk K} &= Q_{0,05(p;db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{\text{KT Galat}}{\text{Ulangan} \times \text{Level P}}} \\
 &= Q_{0,05(4;14)} \times \sqrt{\frac{132,910714}{3 \times 2}} \\
 &= 4,11 \times 4,7066 \\
 &= 19,34
 \end{aligned}$$

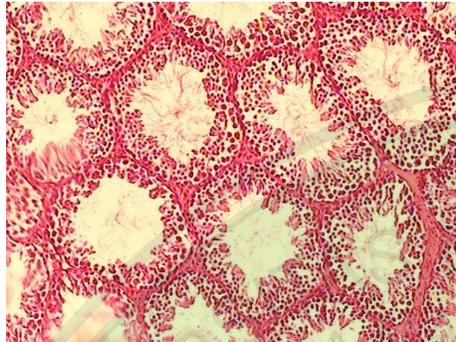
Tabel 4.6 Notasi BNJ 5% pada Faktor Dosis

Perlakuan K	Total	Rata-rata	Notasi
K4	269	269/(3X2)=44,833	a
K3	306	306/(3X2)=51	ab
K2	341	341/(3X2)=56,833	ab
K1	413	413/(3X2)=68,833	b

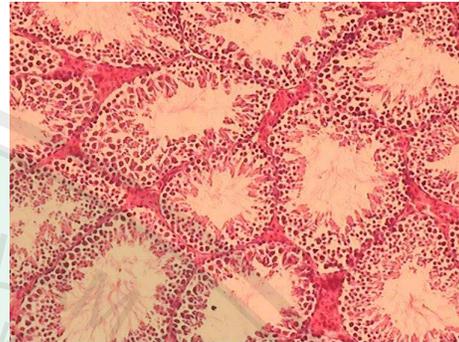
Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf signifikan BNJ 0,05.

Kesimpulan: dosis terbaik yang mampu menurunkan jumlah sel spermatogonium adalah dosis K4 yaitu 400 mg/kg BB

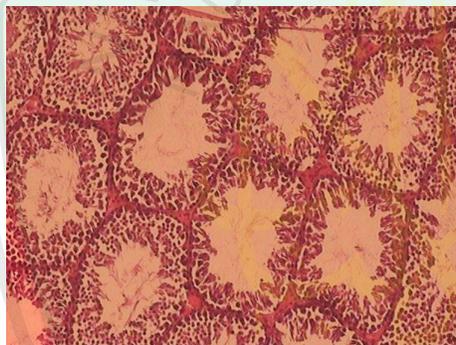
Lampiran 5. Gambar Irisan Melintang Testis dengan Mikroskop Komputer (mikroskop) Olympus CX 31 perbesaran 100 kali



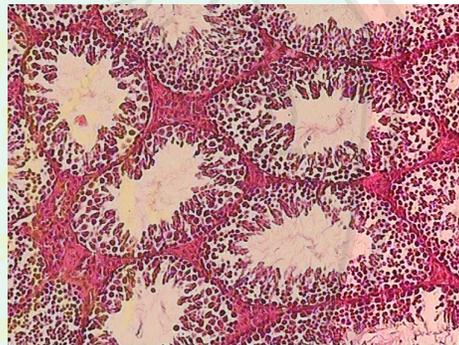
a



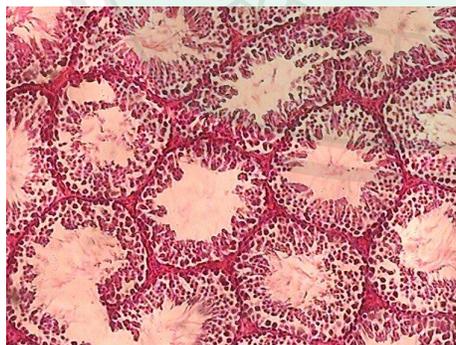
b



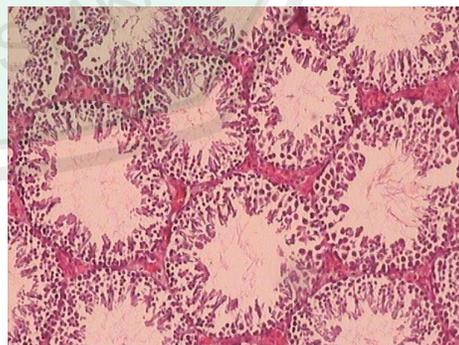
c



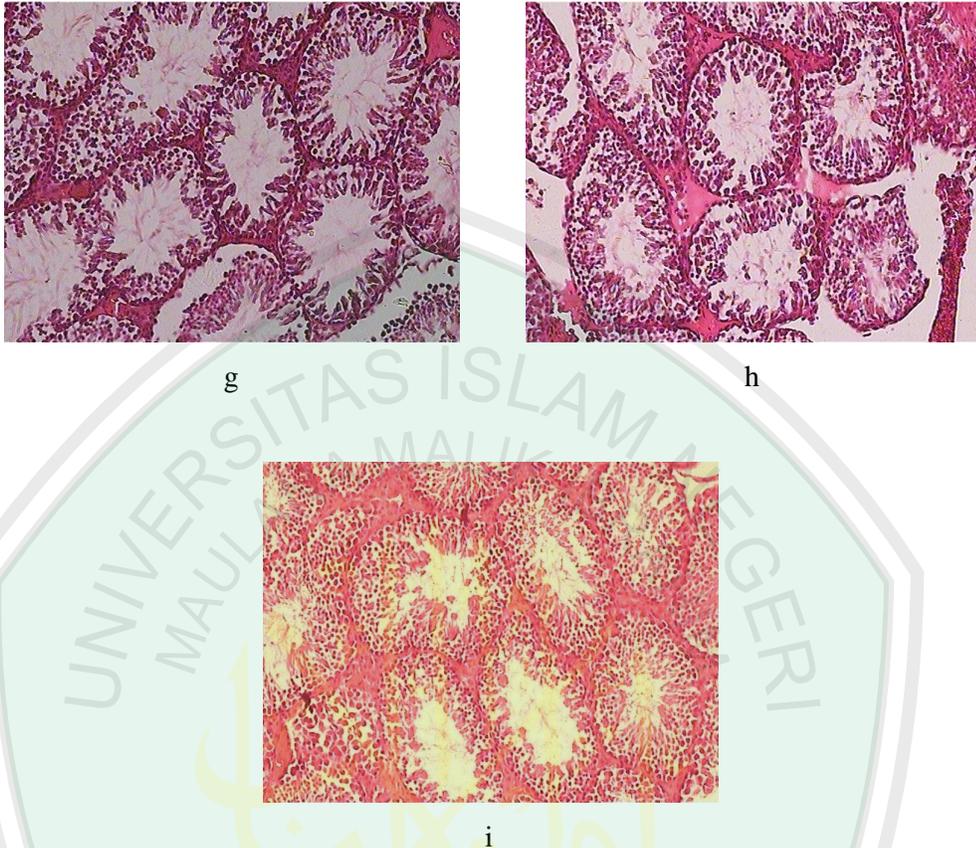
d



e



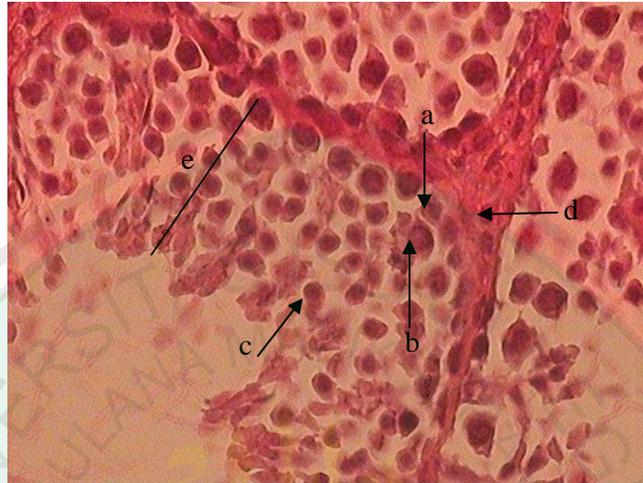
f



Adapaun keterangan gambar irisan melintang testis adalah sebagai berikut:

- a : Kelompok P1K1 (ekstrak biji pepaya muda dosis 200 mg/kg BB)
- b : Kelompok P1K2 (ekstrak biji pepaya muda dosis 250 mg/kg BB)
- c : Kelompok P1K3 (ekstrak biji pepaya muda dosis 350 mg/kg BB)
- d : Kelompok P1K4 (ekstrak biji pepaya muda dosis 400 mg/kg BB)
- e : Kelompok P2K1 (ekstrak biji pepaya tua dosis 200 mg/kg BB)
- f : Kelompok P2K2 (ekstrak biji pepaya tua dosis 250 mg/kg BB)
- g : Kelompok P2K3 (ekstrak biji pepaya tua dosis 350 mg/kg BB)
- h : Kelompok P2K4 (ekstrak biji pepaya tua dosis 400 mg/kg BB)
- i : Kelompok kontrol

Lampiran 6. Gambar Irisan Melintang Testis dengan Mikroskop Komputer (mikroskop) Olympus CX 31 perbesaran 400 kali



Adapaun keterangan gambar irisan melintang testis adalah sebagai berikut

- a : Sel spermatogonium
- b : Sel spermatogit
- c : Sel spermatid
- d: Sel leydig
- e : Epitel tubulus seminiferus

