

Pemberian Self-Nano Emulsion Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya) terhadap Kualitas Sperma dan Mikroanatomi Testis Tikus Galur Wistar

by 08061182025016 Siti Azzahra Nuria

Submission date: 21-Mar-2024 10:10AM (UTC+0700)

Submission ID: 2281699061

File name: ANATOMI_TESTIS_TIKUS_GALUR_WISTAR_-_Siti_Azzahra_Nuria__016.docx (94.3K)

Word count: 7708

Character count: 51938

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Jumlah penduduk Indonesia tahun 2022 meningkat sebanyak 1.481.517 orang atau 0,54%, menunjukkan adanya pertumbuhan populasi. Usaha pemerintah untuk mengatasi permasalahan peningkatan jumlah penduduk salah satunya dengan Program Keluarga Berencana (KB). Maksud dari program Keluarga Berencana (KB) ini untuk menciptakan keluarga yang sesuai dengan kondisi sosial ekonomi, dengan tujuan mengatur kelahiran anak sehingga dapat mencapai kesejahteraan keluarga (Walasendow *et al.*, 2016).

Kontribusi pria dalam kontrasepsi masih rendah dikarenakan jenis kontrasepsi pria yang tersedia sangat terbatas dan didukung keterbatasan pengetahuan tentang kesehatan reproduksi. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan teknologi kontrasepsi khusus pria. Biji pepaya (*Carica papaya*) dapat berperan sebagai agen kontrasepsi dari sumber alam (Pratiwi, 2017; Ghaffarilaleh, 2019).

Kontrasepsi yang beredar pada saat ini menggunakan obat-obat berbahan kimia dan alat-alat kontrasepsi yang telah dirancang khusus untuk mencegah pematangan sel telur dan sel sperma. Kontrasepsi yang sering digunakan berupa suntik, pil KB dan kondom. Penggunaan kontrasepsi dalam jangka panjang tidak baik untuk tubuh karena memiliki banyak efek samping (Wanjaya, 2020).

Selama beberapa tahun terakhir, pepaya telah menjadi subjek penelitian yang banyak dalam hal aktivitas biologis dan penggunaannya dalam pengobatan,

sehingga kini dianggap sebagai tanaman yang memiliki khasiat kesehatan (*neutraceutical*). Pemanfaatan limbah biji pepaya belum banyak dilakukan oleh masyarakat. Secara tradisional, biji pepaya biasa digunakan untuk mengobati cacing gelang, masalah kulit tertentu, gangguan pencernaan, diare, masuk angin, serta sebagai sumber minyak yang memiliki kandungan asam lemak khusus (Lestari, *et.al.*, 2018).

Kandungan seyawa kimia yang terdapat pada papaya merupakan senyawa yang berspektrum luas dari *phytochemical* termasuk, alkaloid saponin, lektin, sterol, flavonoid, polisakarida, glikosida, mineral, enzim, vitamin, lemak, minyak dan lain-lain. Kemungkinan efek antifertilitas dari biji pepaya diperkuat oleh hasil penelitian yang menunjukkan bahwa biji pepaya mengandung saponin yang memiliki potensi sebagai agen antifertilitas (Hasanah dan Sukarjati, 2016).

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa biji pepaya memiliki sifat antifertilitas. Hasil penelitian menggunakan ekstrak methanol, fraksi methanol, dan fraksi n-heksan dari biji pepaya dengan 100 mg/kgBB menunjukkan pengaruh pada penurunan dari berat organ reproduksi. Penurunan berat testis ini terjadi karena terdapat gangguan pada pertumbuhan serta perkembangan sel spermatogenik di dalam testis (Nita *et al.*, 2019).

Pemberian ekstrak biji pepaya kepada tikus galur Wistar menyebabkan turunnya kualitas spermatozoa, terutama pada morfologi spermatozoa. Adanya abnormalitas primer pada sperma disebabkan karena gangguan dalam proses spermatogenesis ketika pembentukan spermatozoa dari spermatid. selain itu, ditemukan abnormalitas sekunder pada sperma, yang diduga terjadi karena

gangguan pada tahap kematangan spermatozoa di dalam epididimis (Nita *et al.*, 2019).

Proses ekstraksi menjadi tahap yang krusial dalam pemulihan dan penyucian senyawa aktif dari sumber alam. Penerapan teknik ekstraksi dengan bantuan ultrasonik (*Ultrasound Assisted Extraction*) atau UAE merupakan opsi yang efektif untuk menghemat energi, mengurangi penggunaan pelarut, dan memperpendek durasi serta mengurangi biaya proses ekstraksi. Proses ekstraksi menggunakan metode UAE dilakukan pada suhu di bawah titik didih pelarut, sehingga dapat mencegah kerusakan senyawa hasil ekstraksi akibat pemanasan dan kehilangan senyawa yang mudah menguap (Fauziah & Wakidah, 2019).

Pengolahan ekstrak biji pepaya sebagai sediaan farmasi untuk kontrasepsi masih belum dilakukan. Formulasi biji pepaya dalam bentuk SNE merupakan salah satu alternatif untuk meningkatkan bioavailabilitas secara lipofilik. Formulasi ini dapat meningkatkan efikasi klinis, menyederhanakan permeabilitas, dan menurunkan dosis terhadap efek klinis. *Self-Nano Emulsion* adalah formulasi dengan komposisi surfaktan, ko-surfaktan dan minyak dalam proporsi yang tepat untuk membentuk kombinasi isotropik yang stabil. SNE menggunakan teknologi partikel nano untuk meningkatkan penyerapan dan ketersediaan hayati di dalam tubuh, terutama untuk senyawa dengan kelarutannya dalam air yang terbatas (Erliyana *et al.*, 2022).

Data dalam penelitian ini dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS, mencakup pemeriksaan normalitas, homogenitas, serta uji parametrik (*One-Way ANOVA*), atau non-parametrik (*Kruskal-Wallis*). Data hasil eksperimen kemudian

dianalisis untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan dalam berbagai parameter seperti berat badan tikus, berat testis, jumlah spermatozoa, viabilitas spermatozoa, motilitas spermatozoa, morfologi spermatozoa, Indeks Gonadosomatik (GSI), kadar hormon LH dan FSH serta histopatologi testis.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan, rumusan permasalahannya sebagai berikut:

1. Bagaimana karakterisasi ekstrak biji pepaya (EBP) sebagai material aktif kontrasepsi pria?
2. Bagaimana karakterisasi *Self-nano emulsion* ekstrak biji pepaya sebagai material aktif kontrasepsi pria?
3. Bagaimana pengaruh SNE ekstrak biji pepaya terhadap kualitas sperma tikus?

3 **1.3. Tujuan Penelitian**

Beberapa tujuan penelitian ini dilakukan, yaitu :

1. Mengetahui karakterisasi EBP sebagai material aktif kontrasepsi pria.
2. Mengetahui karakterisasi *Self-nano emulsion* ekstrak biji pepaya sebagai material aktif kontrasepsi pria.
3. Mengetahui pengaruh SNE ekstrak biji pepaya terhadap kualitas sperma tikus.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi sebagai sumber informasi ilmiah mengenai dampak dari *Self-Nano Emulsion* ekstrak biji pepaya terhadap testis tikus jantan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Pustaka

2.1.1. Pepaya

Pepaya (*Carica papaya* Linn.) termasuk dalam keluarga Caricaceae dan biasa dikenal sebagai pepaya. Pepaya dalam bahasa Hindi disebut dengan Papita, sementara dalam Bahasa Sanskerta disebut Erandakarkati. Tanaman ini awalnya berasal dari wilayah Amerika tropis dan kemudian diperkenalkan ke India pada abad ke-16. Ciri-ciri khas dari tanaman ini meliputi batang yang lembut dan mudah pecah, biasanya tidak bercabang, serta mampu menghasilkan lateks putih dalam jumlah besar. Tanaman ini memiliki daun yang besar dan panjang di ujung batangnya, tumbuh dengan cepat, dan bisa mencapai ketinggian hingga 20 meter (Yogiraj *et al.*, 2011).

Biji pepaya terdapat dalam jumlah melimpah dan berwarna kehitam-hitaman, memiliki rasa yang pahit, pedas, dan aromatik yang kuat. Karakteristik ini membuat biji pepaya sering diabaikan dan dibuang, tidak diminati untuk dimanfaatkan. Secara luas, masyarakat di seluruh dunia masih memandang biji pepaya sebagai limbah yang belum dimanfaatkan secara optimal (Angelia, 2018).

Biji pepaya merupakan 15%-20% massa buah yang mewakili sejumlah besar limbah buah pepaya. Biji pepaya berpotensi menghasilkan 30%-34% minyak dengan nutrisi dan fungsional yang sangat mirip dengan minyak zaitun. Biji pepaya berbentuk kecil, bulat, berwarna hitam, terbungkus oleh lapisan agar-agar di rongga

bagian dalam buah yang memiliki rasa kuat. Bijinya mengandung sejumlah besar nutrisi, termasuk serat 22% (Angelia, 2018).

Biji pepaya mengandung sejumlah senyawa kompleks yang memiliki efek farmakologis pada tubuh manusia. Senyawa-senyawa ini meliputi tannin, saponin, fenol, dan alkaloid, yang memberikan berbagai manfaat kesehatan. Kandungan senyawa yang kompleks ini membuat biji pepaya menjadi bahan yang bermanfaat untuk kesehatan manusia (Angelia, 2018).

2.1.2. Fitokimia Biji Pepaya

Karakterisasi fitokimia yang dilakukan oleh Saba dan Pattan (2022), menunjukkan bahwa biji pepaya memiliki kandungan flavonoid, tannin, alkaloid, fenol, saponin dan terpenoid dalam ekstrak biji pepaya. Biji pepaya dilaporkan mengandung protein kasar, serat kasar, asam lemak, minyak pepaya, karpain benzylisothiocynate, bencylthiourea, glukotropakolin, benzylglucosinolate, hentriaconatane, β -sistosterol, caricin dan enzim nyrosin. Berdasarkan hasil evaluasi minyak yang diekstrak dari biji, asam lemak utama yang dikuantifikasi adalah asam oleat (71,30%), diikuti dengan palmitat (16,16%), linoleate (6,06%), dan asam stearate (4,73%). Tokoferol yang dominan adalah α dan δ -tokoferol, masing-masing 51,85 dan 18,9 mg/kg. B-cryptozanthin (4,29 mg/kg) dan β -karoten (2,76 mg/kg) adalah karotenoid yang dikuantifikasi, dan kandungan senyawa fenolik total adalah 957,60 mg/kg.

2.1.3. Potensi Farmakologi Biji Pepaya Sebagai Kontrasepsi

Senyawa kimia yang terdapat dalam biji pepaya termasuk golongan fenol, triterpenoid, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Berkat kandungan senyawa ini, biji

pepaya memiliki sifat antifertilitas dan bisa diaplikasikan sebagai metode baru kontrasepsi pada pria (Nita *et al.*, 2019). senyawa saponin yang terdapat dalam biji pepaya memiliki potensi untuk berfungsi sebagai pembentuk hormon steroid dan kontraseptif esterogen. Sementara itu, flavonoid yang ada dalam biji pepaya dapat merangsang produksi esterogen. Interaksi antara saponin dan flavonoid dalam biji pepaya ini menghasilkan mekanisme umpan balik negatif terhadap sistem hipotalamus-hipofisis-testis (Aritonang, 2019).

Interaksi antara hipotalamus, hipofisis, dan testis memiliki dampak signifikan pada sistem reproduksi dimana umpan balik negatif dari hipotalamus memengaruhi aktivitas gonadotropin pada jantan dan betina. Hal ini berpotensi untuk mengurangi sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), yang kemudian dapat mengakibatkan penurunan sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Penurunan hormon FSH dan LH ini dapat mengganggu proses spermatogenesis. Biji pepaya yang mengandung senyawa papain dapat mengurangi jumlah lipid secara keseluruhan di dalam jaringan testis dan epididimis, serta menurunkan aktivitas enzim lipase lipoprotein. Penurunan aktivitas enzim ini berpotensi memengaruhi proses spermatogenesis di dalam testis dan maturase spermatozoa di epididimis (Aritonang, 2019).

Penurunan motilitas spermatozoa mungkin disebabkan oleh kinerja mitokondria yang tidak optimal dalam menghasilkan energi. Kondisi ini terjadi karena adanya kelainan pada organel sel di bagian leher spermatozoa, termasuk kelainan struktural seperti leher yang bengkok dan vakuolisasi pada mitokondria.

Abnormalitas pada spermatozoa ini dapat terjadi akibat gangguan dalam fase spermatogenesis, khususnya pada periode spermatogenesis (Aritonang, 2019).

2.1.4. Self- Nano Emulsion (SNE)

Self- Nano Emulsion (SNE) adalah formulasi yang mengandung zat aktif, surfaktan, ko-surfaktan, dan minyak. Ketika SNE berinteraksi dengan cairan lambung, ia secara otomatis akan membentuk emulsi dengan ukuran nano (Indratmoko *et al.*, 2021). SNE setelah mengalami dispersi berait dan agitasi ringan (seperti pada pencernaan), terbentuk secara spontan nano-emulsi minyak dalam air yang halus dengan ukuran tetesan 200 nm atau dibawahnya, seperti pada gambar 2. Emulsifikasi spotan ini terjadi ketika adanya perubahan entropi yang mendukung disperse melebihi energi yang dibutuhkan untuk meningkatkan luas permukaan disperse (Buya *et al.*, 2020).

SNE menunjukkan sebuah potensi yang sangat besar dalam mengatasi keterbatasan yang terkait dengan pemberian oral beberapa senyawa. Beberapa keterbatasan meliputi rendahnya kelarutan di saluran pencernaan, konsistensi yang tidak selalu sama pada pelarut, degradasi oleh enzim, dan penyerapan usus yang tidak stabil. Namun, surfaktan dan komponen lipid dalam SNE dapat berkolaborasi untuk meningkatkan penyerapan obat dalam sistem pencernaan. Selain itu, komponen-komponen tersebut dapat dimodifikasi sesuai dengan kebutuhan untuk membuat SNE yang layak untuk obat hidrofilik dan hidrofobik (Buya *et al.*, 2020).

Kelebihan formulasi SNE melibatkan kemampuannya untuk secara spontan membentuk nanoemulsi dalam saluran pencernaan dengan ukuran tetesan yang dihasilkan berada dalam skala nanometer. Penelitian sebelumnya menunjukkan

bahwa sediaan SNE memiliki stabilitas tinggi, memungkinkan pengurangan dosis dan frekuensi dosis karena peningkatan bioavailabilitas (Chaudhary et al., 2019). Stabilitas sediaan emulsi dapat dipengaruhi oleh ukuran globul. Sediaan nano emulsi berbeda dengan mikroemulsi, tidak menunjukkan masalah sedimentasi dan *creaming* karena ukuran globul yang sangat kecil, menghindari flokulasi. Ukuran globul yang kecil ini juga berkontribusi pada stabilitas nanoemulsi secara keseluruhan (Cahyani et al., 2020).

2.1.5. Asam Oleat sebagai Komponen Minyak

Komponen minyak yang digunakan dalam *Self-nano emulsion* pada penelitian ini menggunakan asam oleat (*oleic acid*). Asam oleat atau dengan nama lain *cis-9*-oktadekanoat adalah golongan asam lemak tak jenuh yang banyak terkandung pada minyak nabati (Mora & Selpas, 2013). Asam oleat memiliki warna kuning kecoklatan. Asam oleat memiliki titik leleh sekitar 13-14°C, viskositas 26 mPa dan berat jenis 0,895 g/ml (Polat, 2018). Asam oleat memiliki nilai koefisien partisi lebih dari 6,5 sehingga asam oleat mudah untuk berikatan dengan gugus lipofilik senyawa lain (Tungadi et al., 2021).

Komponen minyak menjadi elemen krusial dalam *Self-nano emulsion* sebagaimana unsur fitokimianya yaitu polaritas dan viskositas yang secara signifikan menentukan spontanitas proses emulsifikasi, ukuran tetesan emulsi dan kelarutan obat. Selain itu, minyak juga dapat meningkatkan fraksi obat hidrofobik yang tertransportasi dalam sistem intestinal limfatik yang kemudian meningkatkan absorpsi pada saluran gastrointestinal (Bouchemal et al., 2004).

2.1.6. Tween 80 sebagai Surfaktan

5 Tween adalah kelompok surfaktan non ionik yang memiliki beberapa jenis, termasuk tween 20, 40, 65, dan 80. Tween 80 adalah salah satu surfaktan non ionik yang memiliki dua gugus dalam satu molekulnya, yaitu gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik, yang mampu membentuk busa. Tween 80 termasuk dalam kategori ikatan sorbitan ester yang terbentuk melalui reaksi antara sorbitol, asam lemak dan oksida etilen, menghasilkan senyawa dengan lapisan aktif (Dewi, 2019).

Setiap jenis tween memegang peran yang berbeda tergantung pada nilai HLB-nya. *Hydrophilic Lipophilic Balance* (HLB) adalah parameter untuk mengukur efisiensi surfaktan, di mana semakin tinggi nilai HLB suatu surfaktan, semakin tinggi kepolarannya. Tween 80 dengan nilai HLB sebesar 15, cenderung larut di dalam air. Kelebihan dari tween 80 termasuk ketidaktertahan terhadap alergi dan aroma, kemampuannya untuk menghasilkan busa yang stabil, serta kemampuannya dalam meningkatkan laju (Isabella *et al.*, 2022).

1 2.1.7. Propilen Glikol Sebagai Ko-surfaktan

Propilen glikol yang juga dikenal dengan nama kimia 1,2-propanediol dan memiliki rumus kimia $C_3H_8O_2$, merupakan cairan yang mudah larut, transparan, tidak berwarna, dan sedikit lebih asam daripada gliserin. Sifat-sifat propilen glikol meliputi kemampuannya sebagai pelarut, agen penstabil, ko-solvent yang larut dalam air, antiseptik, dan desinfektan. Propilen glikol termasuk dalam kategori bahan yang relatif tidak beracun dan memiliki nilai HLB sebesar 3,4 (Rowe, 2009).

2.1.8. Testis

Testis merupakan gonad jantan yang biasanya ada sebagai organ berpasangan di dalam skrotum. Testis bertanggung jawab sebagai tempat produksi sperma matang, gamet jantan dan testosteron yang merupakan hormon utama yang bertanggung jawab untuk diferensiasi jenis kelamin pria. Lokasi testis di dalam skrotum sangat penting karena memberikan suhu optimal untuk fungsi sel Sertoli dan Leydig, yang terjadi beberapa derajat (33-34°C) lebih rendah dari rata-rata suhu tubuh manusia sekitar 37°C. Testis dapat menerima aliran darah arteri dari tiga sumber yaitu testis (spermatik internal), kremaster (spermatik eksternal), dan arteri deferential. Aliran darah vena dari testis terjadi terutama melalui pleksus pampiniformis, jaringan saluran vena yang mengelilingi arteri testis (Kang *et al.*, 2022).

Volume rata-rata testis dewasa sekitar 20 mL. Komponen bagian dalam, parenkim, terdiri dari tubulus seminiferous dan diselimuti oleh lapisan luar yang keras yaitu tunika albuginea. Dalam setiap testis, terdapat sekitar 200-300 lobulus yang dipisahkan oleh septa yang timbul dari tunika albuginea, dan masing-masing lobulus ini mengandung banyak loop tubulus seminiferous. Setiap tubulus seminiferous merupakan satu unit fungsional testis dan terdiri dari membran dasar yang dikelilingi oleh sel myoid peritubular, adventitia, dan matriks kolagen sel Sertoli mendorong spermatogenesis melapisi membran dasar dan diselingi dengan sel Leydig yang menghasilkan testosterone (Kang *et al.*, 2022).

Testis berperan dalam menghasilkan sebagian besar testosterone yang bersirkulasi (>95%) pada pria dewasa, dan sisanya diproduksi oleh kelenjar adrenal

(<5%). Sumbu hipotalamus-hipofisis-testis (HPT) sangat penting untuk mengatur lingkungan hormonal yang diperlukan untuk memfasilitasi spermatogenesis dan produksi testotestosterone. Hormon pelepas gonadotropin (GnRH) dilepaskan dari hipotalamus, merangsang pelepasan hormon perangsang folikel (FSH) dan hormon luteinizing (LH) dari kelenjar hipofisis anterior. LH bekerja merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testotestosterone dengan cara bergantung pada cAMP, sementara FSH merangsang sel Sertoli untuk mendorong spermatogenesis serta mengeluarkan protein pengikat inhibin dan androgen.

2.1.9. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan spermatozoa matang dan proses biologis yang rumit ini terjadi di tubulus seminiferus testis. Spermatogenesis membutuhkan kedua sel yaitu sel Sertoli yang menyediakan lingkungan mikro khusus serta memelihara termasuk faktor pertumbuhan dan nutrisi yang diperlukan untuk kesehatan dan pematangan spermatozoa, dan sel Leydig, yang menghasilkan testotestosterone yang diperlukan untuk spermatogenesis. Gangguan apa pun pada aksis HPT dan/atau faktor testis yang diperlukan untuk spermatogenesis dapat menyebabkan produksi sperma yang abnormal atau menurun. Spermatogenesis membutuhkan waktu sekitar 74 hari (kisaran 42-76 hari) dan terdiri dari tiga fase (Kang *et al.*, 2022).

Fase pertama adalah fase mitosis, ditandai dengan proliferasi sel punca spermatogonial (SSC). SSC berdiferensiasi menjadi spermatogonia A gelap dan A pucat, dan spermatogonia pucat selanjutnya berdiferensiasi menjadi spermatogonia tipe B. Spermatogonia tipe B selanjutnya mengalami serangkaian peristiwa mitosis

yang menimbulkan spermatosit primer. Fase berikutnya adalah fase meiosis, Dimana spermatosit primer mengalami perubahan menjadi spermatosit sekunder setelah selesainya meiosis I. kemudian, spermatosit sekunder menyelesaikan meiosis II untuk membentuk spermatid bulat (Neto *et al.*, 2016). Fase ketiga dan terakhir adalah spermiogenesis, pada fase ini, spermatid bulat menjadi spermatid memanjang. Spermatid menjalani serangkaian langkah termasuk kondensasi nuklir, reduksi sitoplasma, perkembangan akrosom, dan pemanjangan ekor sebelum menjadi spermatozoon dewasa. Kegagalan salah satu dari langkah-langkah ini dapat menyebabkan perkembangan sperma yang tidak normal atau menurun (Kang *et al.*, 2022).

Spermatozoon matang yang normal terbentuk, strukturnya terdiri dari akrosom pada permukaan anterior kepala, bagian tengah, dan ekor, yang semuanya memiliki fungsi penting dalam fungsi sperma. Spermatozoa dewasa dilepaskan dari permukaan apikal sel Sertoli ke dalam lumen tubulus seminiferus. Sperma ini kemudian akan diangkut melalui saluran reproduksi pria, dimana akan mengalami pematangan lebih lanjut di epididimis, bersama dengan perubahan biokimia dan morfologi tambahan. Sperma yang matang disimpan di dalam epididimis sampai ejakulasi (Kang *et al.*, 2022).

2.1.10. Morfologi Spermatozoa

Spermatozoon dewasa adalah sel tunggal yang sangat terdiferensiasi terdiri dari daerah kepala, bagian tengah dan ekor. Semua dibatasi oleh membran plasma tunggal yang kontinu. Spermatozoon manusia 'tipikal' atau 'ideal' memiliki bentuk kepala oval dengan kontur halus dan akrosom yang terlihat jelas dan terdefinisi

dengan baik. Ekor dimasukkan secara simetris tanpa ada kelainan di daerah leher, bagian tengah dan juga ekor, dan tidak ada residu sitoplasma pada bagian leher, bagian tengah atau ekor (Mortimer, 2018).

Kepala sperma memiliki panjang antara 4,0-5,0 μm dan lebar 2,0-3,0 μm (walaupun beberapa metode pewarnaan menyebabkan lebih banyak penyusutan daripada yang lain), dengan akrosom menutupi 40-60% dari wilayah anteriornya. Bagian tengah tidak lebih dari 1,5 kali panjang kepala yang khas, dan tebal sekitar 1 μm . Ekornya memiliki panjang 45-50 μm tanpa tikungan atau kekusutan yang tajam. Spermatozoa dengan ciri-ciri yang tampak 'borderline' atau sedikit atipikal dianggap atipikal. Dimensi yang tepat dari kepala sperma dapat bervariasi sesuai dengan protokol fiksasi dan pewarnaan yang digunakan (Mortimer, 2018).

2.1.11. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa

Motilitas adalah karakteristik dari fisiologi sperma yang diperlukan untuk mencapai pembuahan sel telur. Viabilitas merujuk pada keadaan hidup dari spermatozoa. Evaluasi viabilitas spermatozoa bisa menjadi tanda tentang keutuhan struktur membran mereka. Akuisisi, pemeliharaan, dan modulasi motilitas sangat penting untuk kesuburan pria. (Sukmawati *et al.*, 2014). Viabilitas berkaitan erat dengan motilitas, yang dipengaruhi oleh kekuatan membran plasma spermatozoa (Azzahra *et al.*, 2016).

Sperma memperoleh motilitas dan kesuburan dalam lumen epididimis yang merupakan lingkungan yang kompleks. Fosforilasi, glikosilasi dan pemrosesan lebih lanjut adalah modifikasi pascatranslasi yang dialami protein sperma selama

transit epididimis. Hal tersebut yang mengakibatkan perubahan fungsi protein, yang pada akhirnya mengarah pada spermatozoa matang (Sati & Huszar, 2015).

Aktivitas sperma tidak sepenuhnya selesai setelah dilepaskan dari saluran kelamin pria dan dimodifikasi lebih lanjut saat bergerak melalui saluran reproduksi wanita. Sperma setelah disimpan dalam saluran reproduksi wanita akan berusaha mencapai oosit terlebih dahulu dan memperoleh motilitas progresif hiperaktif, yang didefinisikan sebagai gerakan aktif, baik secara linier maupun dalam lingkaran besar, tanpa memperhatikan kecepatan liniernya. Sperma memperoleh motilitas hiperaktif setelah tiba di saluran telur (Sati & Huszar, 2015).

Tipe dasar motilitas dicirikan oleh gerakan ekor simetris dengan amplitudo rendah yang memungkinkan motilitas linier untuk spermatozoa. Spermatozoa harus menjadi hiperaktif setelah memasuki rahim untuk memastikan keberhasilan pembuahan. Selama hiperaktivasi, pemukulan flagella sperma menjadi lebih intensif untuk memungkinkan spermatozoa menembus lender yang padat, melepaskan diri dari epitel saluran telur dan mencapai oosit. Hiperaktivasi adalah bagian dari kapasitasi sperma yang terdiri dari serangkaian perubahan fisiologis yang memungkinkan sperma membuahi oosit (Nowicka-Bauer & Szymczak-Cendlak, 2021).

2.2. Landasan Teori

Program Keluarga Berencana (KB) merupakan inisiatif untuk merencanakan jumlah dan selang waktu dalam kehamilan dengan memanfaatkan metode kontrasepsi. Partisipasi rendah pria dalam program keluarga berencana disebabkan oleh keterbatasan pilihan metode kontrasepsi yang tersedia bagi pria serta

kurangnya pengetahuan tentang kesehatan reproduksi. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan teknologi kontrasepsi khusus pria. Biji pepaya merupakan salah satu sumber alam yang bisa difungsikan sebagai agen kontrasepsi. Kandungan senyawa kimia dalam biji pepaya diantaranya flavonoid, tannin, alkaloid, fenol, saponin dan terpenoid dalam ekstrak biji pepaya. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kandungan dalam biji pepaya tersebut memiliki efek terhadap kualitas sperma.

Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang diyakini berperan besar dalam efek antifertilitas. Alkaloid memiliki sifat sitotoksik yang menghambat pertumbuhan sel Leydig, yang bertanggung jawab atas produksi testosterone. Selain itu, triterpenoid dan steroid dalam biji pepaya juga mempengaruhi kadar testosteron dengan menghambat mekanisme umpan balik di hipofisis hipotalamus, yang mengurangi produksi dari *Luteinizing Hormon (LH)* dan *Follicle Stimulating Hormone (FSH)*. Saponin yang terdapat dalam biji pepaya memiliki potensi untuk berperan dalam sintesis hormon steroid dan esterogen yang bersifat kontraseptif. Flavonoid pada biji pepaya dapat memicu pembentukan estrogen. Tindakan saponin dan flavonoid dalam biji pepaya ini menghasilkan umpan balik negatif terhadap sistem hipotalamus-hipofisis-testis.

Penurunan motilitas spermatozoa disebabkan oleh kinerja mitokondria yang tidak optimal dalam memproduksi energi. Keadaan ini muncul karena terdapat kelainan pada organel sel pada bagian leher spermatozoa, seperti vakuolisasi pada mitokondria dan kelainan struktural seperti leher yang bengkok. Kelainan pada

spermatozoa ini dipicu oleh gangguan dalam proses spermatogenesis, khususnya pada tahap spermiogenesis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Karakterisasi Ekstrak Biji Pepaya

4.1.1. Hasil Ekstraksi Biji Pepaya

Proses ekstraksi biji pepaya dilakukan dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). Ekstraksi simplisia dilakukan dengan pelarut etanol 96%. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena memiliki sifat mampu melarutkan hampir semua zat termasuk zat yang bersifat polar, semi polar dan non polar. Etanol juga dapat sebagai pengawet sehingga senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi dapat tahan lama dan tidak mudah ditumbuhi jamur (Tarukbua *et al.*, 2018). Metode UAE dipilih sebagai teknik ekstraksi karena merupakan metode ekstraksi tanpa pemanasan yang mampu meningkatkan efisiensi transfer massa dan menghancurkan dinding sel melalui pembentukan banyak mikroaktivitasi. Hal ini menghasilkan pemendekan waktu ekstraksi dan optimalisasi penggunaan pelarut.

Kenaikan laju kontak antara ekstrak dan pelarut menghasilkan peningkatan penetrasi cairan menuju dinding sel dan pelepasan komponen dalam sel. Keunggulan tambahan dari metode UAE ini adalah kemampuannya untuk mengambil ekstrak dari matriks tanpa merusak strukturnya. Penggunaan proses ekstraksi pada suhu rendah juga dapat mencegah senyawa dengan titik didih rendah agar tidak menguap (Handaratri & Yuniati, 2019). Ekstrak biji pepaya dilakukan proses pengentalan untuk menguapkan pelarut yang digunakan dan

ditimbang sehingga didapatkan hasil ekstrak kental biji pepaya sebanyak 60 gr dengan persen rendemen sebesar 3%.

4.1.2. Hasil Karakterisasi Ekstrak dengan GC-MS

Analisis lebih rinci terhadap senyawa dalam ekstrak biji pepaya dapat dilakukan menggunakan teknik kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS). Kromatografi gas memiliki beragam aplikasi dan dapat digunakan untuk pemisahan serta analisis berbagai campuran komponen. Kromatogram dari ekstrak biji pepaya ditampilkan pada Gambar 4 melalui metode kromatografi gas. Proses identifikasi untuk setiap puncak dalam kromatogram dilaksanakan dengan membandingkan spektrum massa pada setiap puncak dengan data yang terdapat dalam basis data Wiley guna menentukan jenis senyawa yang ada (Hotmian *et al.*, 2021). Penggunaan GC-MS untuk dapat mengetahui dan menentukan fragmentasi molekul serta mengidentifikasi komponen-komponen yang terdapat dalam sampel (Zahra *et al.*, 2021).

Hasil analisis komponen kimia dalam ekstrak biji pepaya mengindikasikan adanya terdapat 12 peak dan 36 kemungkinan senyawa yang dapat diekstraksi dari pelarut etanol dengan *Similarity Index* (SI) yang berbeda dijabarkan pada tabel 4.

Senyawa yang dominan dalam ekstrak etanol dari biji pepaya terdapat pada puncak 6 dengan persentase luasan retensi sebesar 43,09%. ketiga senyawa yang kemungkinan muncul pada puncak 6 adalah cis-13-Octadecenoic, cis-Vaccenic acid, dan trans-12-Octadecenoic acid, yang termasuk dalam kategori asam lemak.

Menurut *website* PUBCHEM bahwa cis-13-Octadecenoic memiliki nama IUPAC yaitu (Z)-octadec-13-enoic acid dan termasuk dalam golongan asam lemak.

Menurut *website* PUBCHEM bahwa cis-Vaccenic acid memiliki nama IUPAC yaitu (Z)-octadec-11-enoic acid dan termasuk dalam golongan asam lemak. Cis-Vaccenic acid adalah isomer cis-9, trans-11 asam linoleat terkonjugasi (CLA), yaitu asam lemak tak jenuh ganda (PUFA). Vaccenic acid memiliki potensi baik dalam kesehatan. Berdasarkan beberapa penelitian Vaccenic acid memiliki potensi dalam pengobatan kanker, jantung coroner, diabetes, dan fungsi kekebalan tubuh (Field *et al.*, 2009). Menurut *website* PUBCHEM bahwa trans-12-Octadecenoic acid memiliki nama IUPAC yaitu (Z)-octadec-12-enoic acid dan termasuk dalam golongan asam lemak. trans-12-Octadecenoic acid adalah asam lemak dengan ekor alifatik yang mengandung 13 dan 21 atom karbon.

4.2. Karakterisasi Self-Nano Emulsion Ekstrak Biji Pepaya

4.2.1. Hasil Self-Nano Emulsion Ekstrak Biji Pepaya

Formulasi SNE mampu meningkatkan laju disolusi dari zat aktif yang diberikan secara oral salah satunya akibat peningkatan area antarmuka minyak dan air sehingga meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitasnya. SNE ekstrak biji pepaya pada penelitian ini menggunakan asam oleat sebagai minyak, tween 80 sebagai surfaktan, dan propilen glikol sebagai ko-surfaktan. Keberhasilan formula SNE dapat dilihat dari kejernihan visual dan tidak terjadinya pemisahan fase yang dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Minyak memiliki peranan penting dalam formulasi nanoemulsi, karena dapat melarutkan bahan aktif yang bersifat lipofilik dan memengaruhi ukuran emulsi yang terbentuk. Pemilihan asam oleat sebagai komponen minyak dalam formulasi ini dilakukan karena kemampuannya dalam meningkatkan bioavailabilitas obat

yang memiliki kelarutan rendah dalam air. Asam oleat dengan nilai HLB 17, umumnya digunakan dalam formulasi berbasis emulsi seperti *Self Emulsifying Drug Delivery System* (SEDDS), *Self Micro Drug Delivery System* (SMEDDS), dan ⁷ *Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). Berdasarkan penelitian (Dotto & Abihudi, 2021), biji pepaya diperkaya dengan fitokimia lipofilik dan asam lemak esensial seperti asam oleat (70,84-79,10%), sehingga akan lebih mempermudah kelarutannya apabila fase minyak pada formulasi nanoemulsi menggunakan asam oleat.

Surfaktan dalam formulasi nanoemulsi berfungsi untuk mengurangi ukuran tetesan emulsi dan menjaga stabilitas zat aktif dalam saluran absorpsi untuk mencegah pengendapan di saluran pencernaan. Penggunaan tween 80 sebagai surfaktan dipilih ¹ karena memiliki toksisitas yang rendah, tidak sensitive terhadap perubahan pH dan muatan. Tween 80 memiliki nilai *Hydrophilic Lipophilic Balance* (HLB) sebesar 15 yang membuatnya stabil untuk emulsi tipe *oil in water* (O/W) dan aman bagi tubuh. Dengan nilai HLB yang tinggi, surfaktan ini mampu menghasilkan larutan yang jernih. Keberlanjutan kelarutan obat pada surfaktan dapat mengurangi konsentrasi surfaktan yang diperlukan, sehingga dapat mengurangi kemungkinan timbulnya efek samping di saluran pencernaan.

¹ Penggunaan ko-surfaktan dalam perumusan SNE dapat mendukung surfaktan dalam mengurangi tegangan permukaan air dan minyak, meningkatkan dispersibilitas serta penyerapan zat aktif, serta meningkatkan kelarutan zat aktif. Pemilihan propilen glikol dalam formula ini dikarenakan mampu menurunkan

tegangan permukaan sehingga ukuran droplet menjadi lebih kecil. Propilen glikol merupakan ko-surfaktan yang dapat membantu absorpsi obat.

4.2.2. Evaluasi *Self-Nano Emulsion* Ekstrak Biji Pepaya

SNE dilakukan karakterisasi mencakup pH, viskositas, ukuran partikel dan *Polidispersity Index* (PDI) dari SNE ekstrak biji pepaya. Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui berapa besar derajat keasaman dari suatu sediaan. Nilai pH yang memenuhi untuk *Self-nano emulsion* berkisar pada rentang 4,5-6 (Yuliani *et al.*, 2016). Uji pH yang dilakukan pada sediaan SNE ekstrak biji pepaya, berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan didapatkan hasil pH sebesar 5,44.

Uji viskositas pada SNE ekstrak biji pepaya dilakukan untuk mengetahui kekentalan dari formula SNE yang dihasilkan. Hasil pengukuran viskositas SNE ekstrak biji pepaya sebesar 32 cP. Nilai viskositas yang baik pada SNE berkisar pada rentang 30-40 cP (Tungadi *et al.*, 2021). Nilai viskositas dipengaruhi oleh bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan formula dan teknik pembuatan. Jumlah surfaktan yang digunakan pada formula akan mempengaruhi viskositas dari SNE, surfaktan akan memberikan nilai viskositas yang tinggi bila jumlah surfaktan yang digunakan banyak. Nilai viskositas yang rendah dianggap memiliki sistem tipe w/o, maka dari itu SNE diharapkan memiliki viskositas yang rendah (Ujhelyi *et al.*, 2018).

Ukuran partikel yang dihitung mencapai 116,9 nm, berada dalam rentang persyaratan nanoemulsi (20-200 nm). Waktu optimal proses ultrasonik diukur berdasarkan kemampuan meratakan bahan dalam sistem, dimana semakin lama pencampuran, semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan. Ukuran partikel

mempengaruhi ketersediaan hayati obat dalam tubuh; partikel kecil dengan luas permukaan besar mempercepat pencernaan oleh enzim, memudahkan absorpsi obat. Distribusi ukuran partikel pada formula SNE menunjukkan keseragaman yang baik dengan satu puncak pada gambar 5, menandakan distribusi yang merata. Adanya dua puncak kurva mengindikasikan distribusi partikel di dua area, berpotensi menghasilkan nilai polidispersitas yang tinggi.

Hasil pengukuran nilai PDI pada formula SNE mencapai 0,226. PDI dengan nilai kurang dari 0,4 menandakan sifat monodispersi, yang mengindikasikan bahwa ukuran partikel secara seragam memiliki distribusi partikel yang sempit. PDI pada rentang 0,3-07 menunjukkan sifat polidispersi, di mana ukuran partikel tetap seragam namun memiliki bentuk yang berbeda dan distribusi partikel yang lebih luas. Sementara itu, PDI dengan nilai lebih dari 0,7 mencerminkan sifat superdispersi, menunjukkan ketidakseragaman ukuran partikel, variasi bentuk, dan distribusi partikel yang lebih besar (Syukri *et al.*, 2020). Hasil pengukuran nilai polidispersitas formula ini masuk ke dalam monodispersi yang mana hasil tersebut baik. pengukuran polidispersitas memiliki signifikansi karena berkaitan dengan seragamnya ukuran dalam nanoemulsi. Semakin kecil nilai PDI, semakin baik keseragaman ukuran tersebut tercermin.

4.3. Evaluasi Kualitas Spermatozoa Tikus

4.3.1. Berat Badan Tikus

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap tikus jantan galur Wistar dengan beberapa perlakuan didapatkan rata-rata berat badan tikus seperti pada tabel 5.

Dari data tersebut, dapat dilihat bahwa memberikan ⁴ ekstrak biji pepaya dan SNE ekstrak biji pepaya pada tikus Jantan tidak berpengaruh terhadap perubahan berat badan tikus. Faktor yang lebih dominan dalam menentukan bobot badan adalah jenis pakan yang dikonsumsi oleh tikus, dan pemberian ekstrak biji pepaya atau SNE ekstrak biji pepaya tidak memengaruhi pola konsumsi pakan tikus.

Pakan yang optimal untuk pertumbuhan tikus minimal harus memiliki kandungan nutrisi, seperti protein sebanyak 12%, kalsium 0,9%, fosfor 0,6%, lemak 5%, dan serat kasar sekitar 5%. Peningkatan berat badan tikus mengindikasikan bahwa komposisi pakan sehari-hari yang diberikan pada tikus memiliki keseimbangan nutrisi yang tepat, yang tidak memengaruhi berat badan tikus yang selama periode pengujian.

Berdasarkan uji nilai normalitas dan homogenitas pada berat badan tikus ini menunjukkan hasil setiap data terdistribusi dengan normal dan homogen. Hasil tersebut menunjukkan bahwa data tersebut memenuhi persyaratan dilakukannya uji ANOVA. Analisis statistik ANOVA pada berat badan tikus antar kelompok menunjukkan tidak adanya perbedaan yang sangat signifikan, ditandai dengan nilai $p > 0,05$. Hal ini mengindikasikan bahwa memberikan ² ekstrak biji pepaya dan SNE ekstrak biji pepaya tidak memiliki efek terhadap berat badan tikus.

4.3.2. Berat Testis

Testis adalah organ reproduksi yang bertanggung jawab atas produksi sperma dan hormon seks. Struktur testis meliputi tubulus seminiferus, pembuluh darah, dan jaringan ikat. Tubulus seminiferus merupakan bagian terbesar dari testis, jika terjadi kerusakan atau atrofi pada sel-sel yang membentuk tubulus seminiferus, akan

menyebabkan penurunan berat testis. Kelainan pada testis dapat mempengaruhi proses spermatogenesis dan akan berpengaruh pada kualitas spermatozoa. Berat organ merupakan parameter yang baik untuk menggambarkan aktivitas pertumbuhan sel serta fungsi sekresi hormonal. Berat testis dianalisis dengan menimbang berat testis kanan dan testis kiri (Kurniati & Nugraheni, 2019). Berdasarkan hasil penelitian didapatkan data berat testis tikus pada masing-masing kelompok seperti pada tabel 6.

Berdasarkan uji nilai normalitas dan homogenitas secara statistik menunjukkan bahwa tiap data tidak terdistribusi secara normal ($p > 0,05$) namun terdistribusi secara homogen. Hal ini menunjukkan bahwa data tersebut tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji ANOVA. Data berat testis akan dilakukan uji metode nonparametrik. Metode non parametrik yang digunakan yaitu metode *Kruskal-Wallis*.

Uji *Kruskal-Wallis* adalah metode analisis non parametrik yang digunakan untuk menguji apakah sampel berasal dari distribusi yang sama. Hipotesis nol dari uji *Kruskal-Wallis* adalah peringkat rata-rata kelompok adalah sama. Pada uji non parametrik *Kruskal-Wallis* H_0 diterima ketika nilai $p < 0,05$ (Hoffman, 2019). Berdasarkan hasil pengujian didapatkan hasil bahwa terjadi perbedaan yang signifikan antar kelompok karena nilai p sebesar 0,001 ($p < 0,05$).

4.3.3. Jumlah Spermatozoa

Sperma adalah hasil dari sekresi kelamin jantan yang dikeluarkan selama masa perkawinan. Jika konsistensi cairan semen terlalu kental, dapat menghambat gerakan sperma. Hal ini dapat mengakibatkan kesulitan dalam proses pembuahan

karena sperma tidak dapat mencapai sel telur. Namun, dalam kondisi normal, setelah ejakulasi, cairan semen yang kental cenderung mengalami pencairan dalam rentang waktu 15-60 menit. Dalam cairan semen, jumlah sperma menjadi faktor kunci dalam keberhasilan konsepsi, dengan jumlah sperma yang dianggap normal sekitar 20 juta per mililiter.

Jumlah spermatozoa yang sedikit dapat dikatakan bahwa spermatozoa tidak berkualitas. Jumlah spermatozoa yang dihasilkan oleh testis bergantung pada spermatogenesis ditubulus seminiferus. Proses spermatogenesis berjalan baik maka kualitas spermatozoa juga akan normal. Tikus memproduksi spermatozoa yang bervariasi dalam panjang, lebar dan juga bentuknya (Putra, 2014).

Berdasarkan data hasil pengujian pada tabel 7, terjadi penurunan jumlah spermatozoa pada kelompok yang diberikan ekstrak biji pepaya dan juga pada kelompok yang diberi SNE ekstrak biji pepaya. Bila dibandingkan antara kelompok positif dan kelompok uji, penurunan jumlah spermatozoa lebih mampu menurunkan jumlah spermatozoa tikus. Berdasarkan penelitian Dwi Novita Wijayanti (2016), senyawa alkaloid berperan dalam penurunan jumlah spermatozoa dan degenerasi sperma. Alkaloid memiliki kemampuan mengganggu sel-sel spermatogenik karena ²menurunnya kadar testosteron akibat efek toksik dari senyawa yang terdapat dalam biji pepaya.

Berdasarkan hasil uji nilai normalitas dan homogenitas secara statistik pada berat badan tikus ini menunjukkan hasil bahwa tiap data terdistribusi secara normal dan homogen. Hal tersebut menunjukkan bahwa data tersebut memenuhi syarat

untuk menjalani analisis ANOVA. Hasil analisis statistik ANOVA terhadap jumlah spermatozoa pada tikus di antar kelompok menunjukkan bahwa hasil yang berbeda secara signifikan yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$.

4.3.4. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh hormon serta aktivitas metabolisme yang ada dalam spermatozoa. Testosteron akan mengikat protein reseptor di epididimis, yang kemudian melakukan transduksi sinyal di dalam sel. Sinyal kimiawi akan mengaktifkan reseptor terlebih dahulu yang pada gilirannya memicu respons dalam sel target. Kadar testosteron pada tikus putih jantan dapat merangsang respons pada spermatozoa di epididimis. Proses pematangan spermatozoa dari yang tidak bergerak menjadi bergerak di epididimis dipengaruhi oleh hormon testosteron serta oleh karnitin, protein, manitol, natrium, gliserilfosforilkolin, kalsium, dan kalium. Zat-zat yang disekresikan oleh epitel epididimis berperan dalam menjaga motilitas spermatozoa (Susetyarini *et al.*, 2019).

Faktor yang dapat mempengaruhi motilitas ada 2 yakni faktor endogen dan eksogen. Salah satu faktor endogen yang sangat berpengaruh adalah ketersediaan energi yang disediakan oleh Adenosin Tri Phosphat (ATP). Pemberian ekstrak pada tikus dapat menghambat proses di tingkat hipotalamus dan mengganggu keseimbangan hormon, mengakibatkan gangguan pada sel Leydig dalam memproduksi hormon testosteron. Senyawa-senyawa yang terdapat pada biji pepaya seperti saponin, tannin, alkaloid, triterpenoid, dan flavonoid dapat menurunkan motilitas spermatozoa tikus dengan mengganggu proses transportasi sperma melalui penggumpalan spermatozoa, sehingga mengurangi motilitas dan

juga viabilitas spermatozoa. Hal ini dapat menghambat sperma dalam mencapai sel telur dan mengganggu proses pembuahan (Hasanah, 2016).

Motilitas spermatozoa dikategorikan normal apabila $>50\%$ sedangkan motilitas spermatozoa dikategorikan subfertile apabila $<50\%$ (Susilo, Akbar & Pratinaningsih, 2018). Hasil penelitian terhadap motilitas spermatozoa dapat dilihat pada tabel 8. Berdasarkan data tersebut motilitas spermatozoa masih dalam kategori normal yaitu $>50\%$, namun motilitas spermatozoa pada kelompok positif (pemberian ekstrak biji pepaya) dan kelompok negatif (pemberian SNE ekstrak biji pepaya) mengalami penurunan.

Menurut penelitian Novi Prasetyaningrum (2015), faktor yang paling penting dalam menentukan motilitas spermatozoa terletak pada tahap spermatogenesis. Ketika proses transformasi dari spermatid menjadi spermatozoa mengalami gangguan, ² pembentukan akrosom dan mitokondria akan memengaruhi kemampuan motilitas spermatozoa dalam epididimis. Motilitas spermatozoa tergantung pada energi yang dihasilkan di bagian leher yang kemudian digunakan untuk gerak pada ekor. Oleh karena itu, produksi energi oleh mitokondria di bagian leher sangat mempengaruhi kemampuan bergerak spermatozoa. Diperkirakan bahwa ekstrak biji pepaya menyebabkan kelainan pada sel dibagian leher, seperti vakuolisasi mitokondria dan kelainan struktur, seperti leher yang bengkok. Sebagai akibatnya, kinerja mitokondria dalam menghasilkan energi tidak optimal, yang berdampak pada motilitas spermatozoa. Menurut Tuti Nuraini (2012), kandungan papain pada ekstrak biji pepaya sebagai enzim penghancur polipeptida yang dapat menghambat motilitas spermatozoa pada plasma semen.

Hasil pengujian normalitas dan homogenitas secara statistik dapat dilihat meskipun setiap data tidak terdistribusi secara normal ($p > 0,05$), namun distribusinya homogen. Hasil tersebut menunjukkan bahwa data tersebut tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji ANOVA. Data berat testis akan dilakukan uji metode nonparametrik. Metode non parametrik yang digunakan yaitu metode *Kruskal-Wallis*.

Uji *Kruskal-Wallis* adalah metode analisis non parametrik yang digunakan untuk menguji sampel berasal dari distribusi yang sama atau tidak. Hipotesis nol dari uji *Kruskal-Wallis* adalah peringkat rata-rata kelompok adalah sama. Pada uji non parametrik *Kruskal-Wallis* H_0 diterima ketika nilai $p < 0,05$ (Hoffman, 2019). berdasarkan hasil pengujian didapatkan hasil bahwa terjadi perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan nilai $p < 0,001$ dimana $p < 0,05$.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* pada motilitas spermatozoa memiliki perbedaan signifikan antar kelompok uji. Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok uji diantaranya kelompok normal, kelompok kontrol positif dan kelompok uji. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai Chi-Square adalah 14,000 dengan derajat kebebasan (df) 2, dan nilai asimtotik signifikansi sebesar 0,001. berdasarkan data statistik dapat dilihat bahwa pada kelompok normal memiliki nilai mean rank tertinggi yaitu 15,00, sedangkan pada kelompok kontrol positif memiliki nilai mean rank terendah yaitu 3,50. hal tersebut menunjukkan bahwa nilai ² motilitas spermatozoa pada kelompok kontrol positif lebih besar bila dibandingkan dengan dengan kelompok normal yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar mean rank dari kelompok-kelompok uji.

4.3.5. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas sperma mengacu pada persentase sperma yang masih hidup dalam cairan semen. Proses pembuahan sulit terjadi apabila viabilitas spermatozoanya rendah karena spermatozoa sudah mati sebelum dapat membuahi sel telur. Penurunan viabilitas spermatozoa yang dapat dikenali dengan adanya peningkatan jumlah spermatozoa yang mati, disebabkan oleh adanya hambatan dalam proses pematangan spermatozoa di epididimis. Hambatan ini mungkin terjadi karena penurunan kadar hormon testosteron. Salah satu senyawa yang memiliki aktifitas antifertilitas adalah tannin. Senyawa ini dapat berefek toksik ke spermatozoa karena sifat astringent tannin akan mengerutkan sel dan mengganggu permeabilitas membrane sel sperma (Nurlely *et al.*, 2022).

Berdasarkan parameter analisis semen oleh WHO, viabilitas spermatozoa normal pada persentase 58% (Rizki *et al.*, 2019). Data viabilitas spermatozoa pada setiap kelompok dalam penelitian ini ditampilkan pada tabel 9. Berdasarkan hasil penelitian viabilitas spermatozoa masih dalam kategori normal yaitu diatas 58%, tetapi terdapat penurunan viabilitas spermatozoa kelompok positif (pemberian ekstrak biji pepaya) dan kelompok uji (pemberian SNE ekstrak biji pepaya) dibandingkan dengan kelompok normal.

Berdasarkan hasil uji nilai normalitas dan homogenitas secara statistik pada viabilitas spermatozoa hasilnya tiap data terdistribusi secara normal dan homogen. Hasil tersebut menunjukkan bahwa data tersebut memenuhi persyaratan untuk dilakukan ANOVA. Hasil statistik uji ANOVA terhadap viabilitas spermatozoa

antar kelompok menunjukkan bahwa hasil yang berbeda secara signifikan dengan nilai $p < 0,05$.

4.3.6. Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa mengalami proses pematangan saat ⁴ di dalam epididimis yang dipengaruhi oleh hormon androgen dan dihasilkan oleh sel epitel epididimis. Androgen dalam tubulus seminiferus berperan dalam mengatur proses spermiogenesis, yaitu pembelahan meiosis dan pembentukan sperma. Ketidaknormalan dalam proses pematangan dapat menyebabkan kelainan pada spermatozoa. Abnormalitas pada spermatozoa dapat meliputi ekor yang bergulung, kepala tidak ada ekor, kepala kecil, ekor tidak ada kepala, ekor melingkar, ekor yang melipat, putus ataupun terbelah (Hasanah & Sukarjati, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, data morfologi spermatozoa tikus pada masing-masing kelompok terdapat pada tabel 10. Berdasarkan hasil penelitian morfologi spermatozoa pada kelompok positif dan kelompok uji mampu mempengaruhi morfologi pada spermatozoa tikus dibandingkan dengan kelompok normal.

⁴ Dalam penelitian ini, diduga bahwa senyawa papain yang terdapat dalam biji pepaya memiliki peran dalam mengurangi morfologi spermatozoa. Papain bisa mengganggu fase spermiogenesis jika ketersediaannya kurang atau berlebihan, yang dapat menyebabkan gangguan dalam proses tersebut dan menghasilkan sperma yang tidak normal. Senyawa papain memiliki kemampuan untuk menghancurkan ikatan dalam molekul protein yang digunakan dalam sintesis hormon reproduksi. Ini menyebabkan pemecahan protein menjadi dipeptide dan

polipeptidam yang pada gilirannya mengurangi sintesis hormon reproduksi. Papain juga memiliki potensi untuk merusak ⁴ organel sel Sertoli dan sel spermatogenik. Hal ini menghasilkan penurunan jumlah sel tersebut ⁴ karena penurunan kadar hormon reproduksi, sehingga menyebabkan degenerasi komponen sel dalam tubulus seminiferus.

Berdasarkan hasil uji nilai normalitas dan homogenitas secara statistik pada morfologi spermatozoa dapat dilihat hasilnya bahwa tiap data terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji nilai normalitas dan homogenitas morfologi spermatozoa memenuhi persyaratan untuk dilakukan ANOVA. Hasil statistik uji ANOVA terhadap viabilitas spermatozoa antar kelompok menunjukkan bahwa hasil yang berbeda secara signifikan yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$.

4.3.7. Indeks Gonadosomatik

Indeks gonadosomatik adalah suatu cara pengukuran secara kuantitatif untuk menilai tingkat kematangan gonad. Menentukan status reproduksi seseorang tidak dapat hanya pada pengukuran berat badan, meskipun berat badan dapat dipengaruhi oleh hormon testosteron. Untuk evaluasi yang lebih akurat, perlu dilakukan pengukuran berat dan indeks organ tertentu pada jantan yang merupakan target pengaruh testosteron, seperti gonad dan kelenjar seks aksesori. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, data indeks gonadosomatik tikus pada masing-masing kelompok terdapat pada tabel 11.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa meskipun data tidak terdistribusi secara normal ($p > 0,05$) namun terdistribusi secara homogen. Ini mengindikasikan bahwa data tidak memenuhi syarat untuk uji ANOVA, yang mengharuskan data

terdistribusi secara normal dan homogen. Data GSI akan dilakukan uji metode nonparametrik. Metode non parametrik yang digunakan yaitu metode *Kruskal-Wallis*.

Pada uji non parametrik *Kruskal-Wallis* H_0 diterima ketika nilai $p < 0,05$ (Hoffman, 2019). Berdasarkan hasil analisis didapatkan hasil bahwa terjadi perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan nilai p sebesar 0,002 dimana $p < 0,05$. Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok uji diantaranya kelompok normal, kontrol positif dan uji. Hasil pengujian *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai Chi-Square adalah 12,142 dengan derajat kebebasan (df) 2, dan nilai asimtotik signifikansi sebesar 0,002. Berdasarkan data statistik dilihat bahwa pada kelompok normal memiliki nilai mean rank tertinggi yaitu 15,50, sedangkan pada kelompok kontrol positif memiliki nilai mean rank terendah yaitu 5,17. Hal ini menunjukkan bahwa indeks gonadosomatik kelompok positif lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok normal. Hal tersebut memperlihatkan terdapat perbedaan signifikan antar mean rank dari kelompok-kelompok uji.

Berdasarkan hasil analisis Multivariat *Loading plot* terhadap GSI menggunakan minitab, dapat terlihat bahwa yang paling berpengaruh dalam indeks gonadosomatik adalah berat testis tikus karena sudut antara GSI dan berat testis berhimpitan. Informasi mengenai kontribusi variabel sampel dalam analisis *Loading plot* dapat diperoleh dari jarak yang ditempuh. Semakin besar jarak variabel titik awal, semakin besar kontribusinya (Amin, 2016). Korelasi antara formula dapat diamati dari sudut yang terbentuk. Sudut 45° menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antar perlakuan, sudut 180° menunjukkan bahwa kedua perlakuan

tersebut memiliki korelasi yang negatif dan bila sudut terbentuk berhimpitan menunjukkan antar perlakuan memiliki korelasi yang besar (Sudol *et al.*, 2020).

4.3.8. Hormonal

4.3.8.1. Hormon FSH

Hormon FSH pada pria atau hewan Jantan memiliki peran penting dalam merangsang pertumbuhan saluran seminalis dan testis, serta berperan dalam memulai proses spermatogenesis, seperti pembentukan spermatogonium. Selama masa pubertas, konsentrasi hormon FSH dalam serum meningkat dari tingkat rendah yang terjadi pada masa kanak-kanak (Pratomo *et al.*, 2012). Sekresi FSH dikendalikan oleh GnRH, yang merupakan pusat kontrol untuk gonadotropin basal, ovulasi, dan awal pubertas pada setiap individu. Tujuan pengujian hormon FSH adalah untuk mengevaluasi fungsi sekresi hormon oleh hipotalamus serta mekanisme umpan balik fisiologis dari organ target seperti testis dan ovarium (Rahmanisa, 2014).

Peningkatan kadar FSH terjadi pada kondisi seperti hipogonadisme, pubertas dini, kegagalan diferensiasi testis, menopause, seminoma, orchitis, akromegali, dan sindrom Turner. Sementara itu, penurunan kadar FSH terjadi pada disfungsi gonad, insufisiensi hipotalamus, anovulasi, tumor ovarium, dan insufisiensi hipofisis. Faktor-faktor yang dapat berpengaruh kadar dari FSH diantaranya obat seperti steroid, profesteron, kontrasepsi oral, testosteron dan estrogen (Rahmanisa, 2014). Kadar hormon FSH menunjukkan spermatogenesis yang aktif, tetapi peningkatan kadar FSH yang cukup tinggi dapat menandakan kerusakan pada proses

spermatogenesis (Birowo *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil penelitian, berikut data kadar FSH pada masing-masing kelompok perlakuan :

Hasil uji normalitas dan homogenitas secara statistik pada hormon FSH menunjukkan hasil bahwa tiap data terdistribusi secara normal dan homogen. Data tersebut memenuhi persyaratan untuk dilakukan uji ANOVA. Hasil statistik uji ANOVA terhadap viabilitas spermatozoa antar kelompok menunjukkan bahwa hasil yang berbeda secara signifikan .

Penurunan kadar FSH pada tikus dapat disebabkan oleh saponin dan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak biji pepaya. Senyawa tersebut menghasilkan respons negatif terhadap sumbu hipotalamus-hipofisis-testis. Pengaruh umpan balik negatif dari hipotalamus terhadap aktivitas gonadotropin, baik pada tikus jantan maupun betina, menyebabkan terjadinya penurunan sekresi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*). Penurunan sekresi GnRH ini mengakibatkan ³ penurunan sekresi hormon FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*). Penurunan sekresi hormon FSH dan LH ini kemudian dapat mengganggu proses spermatogenesis.

Penurunan hormon FSH dapat terjadi karena rangsangan ke hipotalamus yang menurun. Seiring dengan penurunan rangsangan hipotalamus, rangsangan ke GnRH ikut menurun. Dampaknya adalah penurunan stimulasi terhadap Hipofisis anterior. Penurunan stimulasi ini akan mengakibatkan pengurangan produksi hormon FSH. Penurunan kadar hormon FSH akan mengurangi rangsangan pada Sertoli untuk memproduksi *Androgen Binding Protein (ABP)*. Produksi *Androgen*

Binding Protein (ABP) bergantung pada kadar hormon FSH dan juga testosteron. ABP memiliki peran dalam mengkonsentrasikan testosteron pada tubulus seminiferus, yang diperlukan dalam proses spermatogenesis. Sel Sertoli dapat mengubah testosteron menjadi estradiol. Selain itu, sel Sertoli juga menghasilkan peptida yang disebut inhibin yang berfungsi menekan sintesis dan pelepasan FSH di kelenjar hipofisis anterior (Devita & Amran, 2019).

4.3.8.2. Hormon LH

Hormon LH merupakan glikoprotein yang mengatur sintesis testosteron oleh sel Leydig ekstratubular. *Hormon luteinizing* (LH) diproduksi oleh kelenjar hipofisis dan berperan penting pada proses produksi sperma. Hormon lutein juga dapat meningkatkan produksi testosteron oleh sel Leydig. Proses sekresi **hormon FSH dan LH pada pria dan wanita** terjadi secara bertahap **dan** proses keluarnya dikontrol oleh GnRH. Produksi hormon FSH dan LH oleh otak dan kelenjar hipofisis serta kelainan organ dan epididimis dapat mempengaruhi kesubuhan pria (Zhafirah *et al.*, 2023). penurunan kadar LH gagal menstimulasi sel Leydig sehingga mengakibatkan penurunan produksi testosteron.

Penurunan kadar LH pada kelompok positif dan kelompok uji pada tabel 13 dapat terlihat bahwa ekstrak biji pepaya dapat menurunkan kadar hormon LH. Rata-rata kadar LH pada tikus normal sebesar 1,74 ng/ml, sedangkan kadar LH rata-rata pada kelompok positif sebesar 1,53 ng/ml dan pada kelompok uji sebesar 1,66 ng/ml. Hormon LH, FSH dan testosteron bekerja secara bersama pada spermatogenesis, sehingga bila hormon LH, FSH dan juga testosteron menurun maka proses spermatogenesis akan terganggu dan berpengaruh terhadap kualitas

dari spermatozoa, salah satunya akan mempengaruhi kecepatan spermatozoa mencapai ovum.

Berdasarkan analisis statistik normalitas dan homogenitas pada hormon LH, hasil menunjukkan bahwa setiap data terdistribusi secara normal dan homogen. Temuan ini menunjukkan bahwa data memenuhi syarat untuk dilakukan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA terlihat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$.

4.3.9. Histopatologi Mikroanatomi Testis

Berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan histopatologi pada testis tikus galur Wistar, hasilnya dapat dilihat pada tabel 14. Pengamatan dilakukan pada preparat testis masing-masing kelompok perlakuan. Pengamatan yang dilakukan pada testis untuk melihat spermatogenesis dengan menggunakan metode Jhonsen dengan skor 1-10. pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan dengan 5 lapang pandang dan pada setiap lapang pandang dipilih 20 tubulus secara acak untuk diamati dan diambil skor rata-rata.

Penilaian dengan metode Jhonsen dinilai berdasarkan ada atau tidaknya sel germinal pada tubulus seminiferus seperti spermatozoa, spermatid, spermatosit, spermatogonia, sel germinal dan sel Sertoli untuk mengevaluasi histologi. Skor metode Jhonson yang tinggi menandakan spermatogenesis yang baik, sedangkan skor yang rendah menandakan disfungsi yang parah. Skor 10 menunjukkan maturasi epitel penuh dianggap untuk tubulus dengan aktivitas maksimum dan skor

1 menunjukkan tidak adanya maturasi epitel yang dipertimbangkan untuk tubulus yang tidak aktif sepenuhnya.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa skor Johnsen berkurang secara signifikan pada kelompok uji dengan pemberian SNE ekstrak biji pepaya dengan kelompok positif dengan pemberian ekstrak biji pepaya dibandingkan kelompok normal. Tubulus seminiferus dinilai 1 sampai dengan 10 berdasarkan pengurangan jumlah dan kepadatan sel germinal dari lumen tubulus seminiferus. Pada kelompok normal skor Johnsen pada tingkat 10 yang artinya bahwa tubulus dengan epitel germinal berlapis-lapis dan halus serta mengandung banyak spermatozoa karena pada kelompok ini tidak diberikan perlakuan apapun. Pada kelompok positif dengan pemberian ekstrak biji pepaya didapatkan skor 6 yang artinya tubulus dengan banyak spermatid, tetapi tidak mengandung spermatozoa serta pada kelompok uji dengan pemberian SNE ekstrak biji pepaya didapatkan skor 7 yang artinya tubulus tanpa spermatozoa, dan mengandung kurang dari 10 spermatid.

Keterangan :

SP : Spermatozoa

SPA : Spermatogonium

SPT : Spermatid

SL : Sel Leydig

Berdasarkan hasil histologi tersebut, dapat dilihat bahwa pada kelompok positif dan kelompok uji mengalami penurunan kualitas spermatozoa dilihat dari ada tidaknya sel germinal. Hasil pengamatan histologi ini menunjang hasil pengamatan yang lain, bahwa terjadi penurunan jumlah spermatozoa pada kelompok yang diberi perlakuan. Hasil ini dapat disebabkan karena senyawa-

senyawa yang terdapat dalam biji pepaya salah satunya senyawa alkaloid. Senyawa ini dapat berperan dalam penurunan jumlah spermatozoa dan degenerasi sperma. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menginterferensi dengan sel-sel spermatogenik sebagai hasil dari penurunan kadar testosterone akibat efek toksik dari senyawa dalam biji pepaya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut :

1. Hasil pengujian dengan GC-MS senyawa terbanyak yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya adalah cis-13-Octadecenoic, cis-Vaccenic acid, dan trans-12-Octadecenoic acid yang termasuk *dalam fatty acid*.
2. *Self-nano emulsion* ekstrak biji pepaya memiliki pH sebesar 5,44, viskositas sebesar 32 cP dengan ukuran partikel sebesar 116,9 nm dan indeks polidispersitas sebesar 0,226 sehingga dapat dikategorikan baik.
3. Ekstrak biji pepaya dan SNE ekstrak biji pepaya efektif untuk menurunkan kualitas spermatozoa tikus meliputi penurunan berat testis, jumlah spermatozoa, motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, morfologi spermatozoa, GSI, hormon FSH dan LH.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa saran yang dapat diberikan yaitu sebagai berikut :

1. Penelitian mengenai uji stabilitas *Self-nano emulsion* ekstrak biji pepaya diperlukan.
2. Penelitian mengenai kandungan senyawa papain dan tanin pada *Self-nano emulsion* ekstrak biji pepaya diperlukan.

Pemberian Self-Nano Emulsion Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya) terhadap Kualitas Sperma dan Mikroanatomi Testis Tikus Galur Wistar

ORIGINALITY REPORT

6%

SIMILARITY INDEX

3%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	2%
2	Muhammad I. Syamsuddin, Grace L. A. Turalaki, Lydia E. N. Tendean. "Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Kualitas Sperma", Jurnal e-Biomedik, 2021 Publication	1%
3	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	1%
4	jurnal.unipasby.ac.id Internet Source	1%
5	Submitted to Udayana University Student Paper	1%
6	www.scribd.com Internet Source	1%
7	Robert Tungadi, Nur Ain Thomas, Wanda Gita Van Gobel. "Formulasi, Karakterisasi, Dan	1%

Evaluasi Drops Liquid Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Astaxanthin", Indonesian Journal of Pharmaceutical Education, 2021

Publication

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On

SURAT KETERANGAN PENGECEKAN SIMILARITY

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Siti Azzahra Nuria
Nim : 08061182025016
Prodi : Farmasi (S1)
Fakultas : MIPA

Menyatakan bahwa benar hasil pengecekan similarity Skripsi/Tesis/Disertasi/Lap. Penelitian yang berjudul Pemberian *Self-Nano Emulsion* Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Kualitas Sperma dan Mikroanatomi Testis Tikus Galur Wistar adalah 6%. Dicek oleh operator *:

1. Dosen Pembimbing

2. UPT Perpustakaan

Demikianlah surat keterangan ini saya buat dengan sebenarnya dan dapat saya pertanggung jawabkan.

Menyetujui
Dosen Pembimbing,



Dr. Apt. Shaum Shiyani, M.Sc.
NIP. 198605282012121005

Indralaya, 21 Maret 2024

Yang menyatakan,



Siti Azzahra Nuria
NIM. 08061182025016

*Lingkari salah satu jawaban tempat anda melakukan pengecekan Similarity