

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN BIJI PEPAYA  
(*Carica papaya* Linn) TERHADAP MOTILITAS  
VIABILITAS DAN INTEGRITAS MEMBRAN  
SPERMATOZOA SECARA *IN VITRO***



Oleh :

**IKA DEWI CAHYANI**  
060112871

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN BIJI PEPAYA (*Carica papaya* Linn)  
TERHADAP MOTILITAS, VIABILITAS DAN INTEGRITAS  
MEMBRAN SPERMATOZOA SECARA *IN VITRO***

Skripsi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan , Universitas Airlangga

oleh

**IKA DEWI CAHYANI**  
NIM 060112871

Menyetujui  
Komisi Pembimbing,



**(Maslichah Mafruchati, drh., M.Si.)**  
Pembimbing Pertama



**(Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes.)**  
Pembimbing Kedua

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Pengaruh Pemberian Perasan Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn) Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Secara In Vitro**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 22 Januari 2007

Ika Dewi Cahyani  
NIM. 060112871

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 27 Desember 2006

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

**Ketua** : Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., M.S.

**Sekretaris** : Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si.

**Anggota** : Dr. Hardijanto, drh., M.S.

**Pembimbing I** : Maslichah Mafruchati, drh., M.Si.

**Pembimbing II** : Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes.

Telah diuji pada

Tanggal : 16 Januari 2007

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., M.S.  
Anggota : Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si.  
Dr. Hardijanto, drh., M.S.  
Maslichah Mafruchati, drh., M.Si.  
Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes.

Surabaya, 22 Januari 2007



Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,

Prof. Dr. Ismudiono, drh., M.S.  
NIP. 130 687 297

**THE EFFECTS OF PAPAYA SEEDS (*Carica papaya* Linn)  
SQUEEZED-OUT ON MOTILITY, VIABILITY  
AND SPERM MEMBRANE INTEGRITY  
BY *IN VITRO***

Ika Dewi Cahyani

**ABSTRACT**

This research due to conclude the motility, viability and sperm membrane integrity after given various of papaya seeds (*Carica papaya* Linn) squeezed-out and the spread times treatment. The experiment used fresh semen of ram in Veterinary Medicine Faculty, Airlangga University. Before treatment, ram semen were examined by macroscopy and microscopy. Papaya seed were squeezed by physiological NaCl. The treatments contained Hank's solution as negative control (P1), papaya seed squeezed-out within concentration 1% (P2), 3% (P3), 9% (P4), 27% (P5) and nonoxynol-9 as positive control (P6). After given treatments, each of them were examined the motility, viability and sperm membrane integrity at 30 (T1), 60 (T2), 90 (T3) and 27 minutes (T4) by using microscope. The sperm viability examinations were carried out by nigrosin-eosin and for sperm membrane integrity used *hypo osmotic swelling* solution. The results of experiment were analyzed by Anova two factors interaction and continued with Duncan's multiple range test if the significant differences were found out. The motility, viability and sperm membrane integrity started to decrease at 1% concentration of papaya seed squeezed-out. The most effective treatment reducing sperm quality occurred at 27% concentration (although within time difference of each parameter) that insignificantly difference with nonoxynol-9 (positive control).

**Key words :** *Carica papaya*, papaya seed, sperm quality, nonoxynol-9

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tulisan dengan judul Pengaruh Perasan Biji Pepaya (*Carica papaya* Linn) Terhadap Motilitas, Viabilitas Dan Integritas Membran Spermatozoa Secara *In vitro*.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Ismudiono, drh., M.S.

Kepada Ibu Maslichah Mafruchati, drh., M.Si. dan Bapak Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing atas bimbingan, saran dan nasihat yang sangat berguna dalam penelitian dan penyusunan tulisan ini.

Kepada papa, mama dan adik-adik tercinta yang telah memberikan doa, kasih sayang dan dorongan semangat selama ini.

Tika Fiona Sari dan Sri Danar Dana yang telah meluangkan waktu untuk membantu pelaksanaan penelitian serta semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu atas partisipasinya selama penelitian dan penyusunan tulisan ini.

Penulis sadar bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu, dengan senang hati bila ada kritik atau saran yang bisa memperbaiki dan menjadikan tulisan ini lebih baik dan bermanfaat.

Surabaya, Januari 2007

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN IDENTITAS.....	iv
ABSTRACT .....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
SINGKATAN DAN LAMBANG.....	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Landasan Teori.....	3
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
1.6. Hipotesis Penelitian.....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Tinjauan Tanaman Pepaya ( <i>Carica papaya</i> Linn) .....	6
2.1.1. Pepaya ( <i>Carica papaya</i> Linn) .....	6
2.1.2. Morfologi Tanaman.....	7
2.1.3. Kandungan Pepaya .....	8
2.1.4. Kegunaan Biji Pepaya .....	10
2.1.5. Studi Terhadap Biji Pepaya.....	10
2.2. Tinjauan Spermatozoa.....	11
2.2.1 Spermatozoa .....	11
2.2.2. Plasma Semen .....	13
2.2.3. Metabolisme Spermatozoa .....	15
2.2.4. Membran Spermatozoa .....	16
<b>BAB 3 MATERI DAN METODE .....</b>	<b>20</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	20
3.2. Bahan dan Materi Penelitian .....	20
3.2.1. Sampel Penelitian.....	20
3.2.2. Bahan dan Alat Penelitian .....	20
3.3. Metode Penelitian.....	21
3.3.1. Persiapan Alat dan Bahan .....	21
3.3.2. Pembuatan Perasan Biji Pepaya .....	22
3.3.3. Penampungan Semen .....	22



3.3.4.	Perlakuan terhadap Semen Domba .....	22
3.4.	Rancangan Penelitian .....	25
3.5.	Peubah yang Diamati .....	25
3.5.1.	Peubah Bebas .....	25
3.5.2.	Peubah Tidak Bebas .....	25
3.6.	Analisis Data .....	26
BAB 4	HASIL PENELITIAN.....	27
4.1.	Semen Domba Sebelum Perlakuan .....	27
4.2.	Pemeriksaan Mikroskopis Semen Domba Setelah Perlakuan.....	28
4.2.1.	Motilitas Spermatozoa.....	28
4.2.2.	Viabilitas Spermatozoa .....	31
4.2.3.	Integritas Membran Spermatozoa .....	34
BAB 5	PEMBAHASAN .....	38
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
6.1.	Kesimpulan.....	42
6.2.	Saran.....	42
	RINGKASAN .....	43
	DAFTAR PUSTAKA .....	45
	LAMPIRAN .....	50

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Komposisi plasma semen domba .....	14
4.1. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen domba sebelum perlakuan .....	27
4.2. Rataan motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya pada selang waktu tertentu (%).....	28
4.3. Rataan motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya dengan konsentrasi yang berbeda (%) .....	29
4.4. Rataan motilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji pepaya (%) .....	30
4.5. Rataan viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya selama selang waktu tertentu (%).....	31
4.6. Rataan viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya dengan konsentrasi yang berbeda (%) .....	32
4.7. Rataan viabilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji pepaya (%) .....	33
4.8. Rataan integritas membran spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya dan HOS pada selang waktu tertentu (%) .....	34
4.9. Rataan integritas membran spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya dan HOS dengan konsentrasi yang berbeda (%).....	35
4.10. Rataan integritas membran spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji pepaya dan HOS (%).....	36

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Pepaya ( <i>Carica papaya</i> Linn) .....	8
2.2. Spermatozoa .....	12
3.1. Skema prosedur penelitian .....	24

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Uraian analisis hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa .....	50
2. Uraian analisis hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa .....	56
3. Uraian analisis hasil pemeriksaan integritas membran spermatozoa .....	62
4. Komposisi larutan Hank's dan HOS .....	68
5. Tampilan gambar hasil pemeriksaan spermatozoa.....	69
6. Tampilan gambar hasil pemeriksaan spermatozoa.....	70

## SINGKATAN DAN LAMBANG

ADP	=	Adenosin Diphosphat
AMP	=	Adenosin Monophosphat
ATP	=	Adenosin Triphosphat
GPC	=	Glyerylphosphorylcholine
HIV	=	Human Immunodeficiency Virus
HOS	=	Hypo Osmotic Swelling
HOST	=	Hypo Osmotic Swelling Test
N-9	=	Nonoxynol-9
PBP	=	Perasan Biji Pepaya
PUFA	=	Poly Unsaturated Fatty Acid

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Peningkatan populasi penduduk secara global terutama di negara-negara berkembang seperti Indonesia merupakan masalah serius yang harus segera ditangani, karena laju pertumbuhan penduduk yang semakin cepat seringkali menimbulkan masalah yang serius dalam berbagai bidang, seperti bidang pendidikan, perumahan, pencemaran lingkungan, lapangan pekerjaan dan lain sebagainya. Oleh karena itu, metode kontrasepsi dan sterilisasi baru yang aman, efektif dan lebih ekonomis telah banyak dikembangkan untuk menekan peningkatan jumlah penduduk (Suri, 2004).

Pada dasarnya, pengendalian fertilitas pada pria jauh lebih sulit dibandingkan pada wanita. Hal ini disebabkan jutaan sperma yang diproduksi harus dikendalikan agar tidak bisa membuahi ovum. Selain itu, dalam mencari bahan kontrasepsi yang ideal bagi pria selain harus mencegah terjadinya pembuahan juga harus bersifat tidak berbahaya bagi kesehatan pemakainya terutama potensi seks dan libido (Donaldson, 1984; Arsyad, 1986).

Menurut Weir *et al.* (1995), agen spermisid paling potensial yang saat ini tersedia di pasaran adalah nonoxynol-9, akan tetapi produk tersebut telah diobservasi menyebabkan inflamasi dan ulserasi genital dan karena itu pula dapat meningkatkan resiko infeksi HIV-1 pada pemakaian yang berulang-ulang.

Banyak tanaman yang mengandung komponen tertentu yang dapat memberikan pengaruh baik pada hewan dan manusia. Indonesia terkenal kaya akan sumber daya tanaman obat, mempunyai peluang untuk memperoleh bahan

kontrasepsi untuk pria yang berasal dari tanaman (Sutarji, 1983). Ada beberapa tanaman yang menyebabkan antifertilitas pada pria, tetapi juga mempunyai potensi sebagai spermisidal (Farnsworth dan Waller, 1982).

Setty *et al.* (1977) melaporkan bahwa lebih dari 160 ekstrak tanaman yang diuji pada spermatozoa tikus dan manusia secara *in vitro* dengan konsentrasi 2 % dapat menyebabkan adanya aktivitas spermisida, 30 tanaman menunjukkan adanya bahan spermisida dan 16 diantaranya menyebabkan immobilisasi spermatozoa manusia secara langsung.

Hilangnya fertilitas telah dilaporkan terjadi pada kelinci jantan, tikus dan monyet yang diberi pakan biji pepaya (Lohiya *et al.*, 1999; Pathak, 2000; Lohiya *et al.*, 2002), dan biji pepaya dapat berpengaruh buruk pada fertilitas pria dan mamalia jantan lainnya.

Farnsworth dan Waller (1982) telah menemukan sejumlah tanaman berefek spermisida dan dilaporkan bahwa bahan aktif yang bekerja sebagai spermisida adalah triterpen saponin dengan berbagai tipe struktur, flavonoid, dan senyawa fenol.

Penelitian ini dirancang untuk membuktikan apakah biji pepaya (*Carica papaya* Linn) dapat bersifat spermisidal terhadap spermatozoa domba secara *in vitro* dengan pengamatan terhadap motilitas (*motility*), viabilitas (*viability*) dan integritas (*integrity*) membran spermatozoa, mengingat pada biji pepaya juga mempunyai banyak kandungan senyawa kontraseptif (Heyne, 1987).



## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, dalam penelitian ini dapat dirumuskan beberapa permasalahan antara lain :

1. Apakah berbagai konsentrasi perasan biji pepaya (*Carica papaya* Linn) dan waktu pemaparan dapat menurunkan motilitas spermatozoa domba secara *in vitro* ?
2. Apakah berbagai konsentrasi perasan biji pepaya (*Carica papaya* Linn) dan waktu pemaparan dapat menurunkan viabilitas spermatozoa domba secara *in vitro* ?
3. Apakah berbagai konsentrasi perasan biji pepaya (*Carica papaya* Linn) dan waktu pemaparan dapat menurunkan integritas membran spermatozoa domba secara *in vitro* ?

## 1.3. Landasan Teori

Bagian dari pepaya yang memiliki efek antifertilitas, terletak pada bijinya yang telah dievaluasi secara signifikan menggunakan hewan coba sebagai model, bahkan di negara India telah dikembangkan sebagai alat kontrasepsi pria yang efektif dan aman (Lohiya *et al.*, 1999).

Das (1980) melaporkan bahwa biji pepaya mempunyai komposisi senyawa aktif seperti caricacin, enzim carpasemin dan *oleanolic glycoside* yang ditemukan sebagai penyebab sterilitas pada tikus jantan. Namun, menurut Hegnauer (1964), kandungan biji pepaya yang diduga sebagai senyawa kontraseptif adalah palmitin, stearin, behen, hexadecen, dan linol.

Fransworth dan Waller (1982) menyatakan bahwa tanaman yang mempunyai efek sebagai spermisida adalah tanaman yang mengandung triterpene saponin, flavonoid dan fenol.

Menurut Farnsworth dan Waller (1982), tanaman yang berkhasiat sebagai spermisida kebanyakan bekerja di permukaan spermatozoa, yaitu merusak lipid yang ada di membran plasma, biasanya terjadi dalam akrosom dan bagian tengah ekor spermatozoa sehingga mengakibatkan turunnya motilitas (*motility*) spermatozoa. Jeyendran *et al.*, (1984) menyatakan bahwa permeabilitas membran erat kaitannya dengan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

#### 1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk menghitung :

1. Motilitas spermatozoa domba secara *in vitro* akibat pengaruh berbagai konsentrasi perasan biji pepaya (*C. papaya* Linn) dan waktu pemaparan.
2. Viabilitas spermatozoa domba secara *in vitro* akibat pengaruh berbagai konsentrasi perasan biji pepaya (*C. papaya* Linn) dan waktu pemaparan.
3. Integritas membran spermatozoa domba secara *in vitro* akibat pengaruh berbagai konsentrasi perasan biji pepaya (*C. papaya* Linn) dan waktu pemaparan.

#### 1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah dapat memberi informasi ilmiah tentang pengembangan eksplorasi obat Indonesia yang pemakaiannya terkait dengan antifertilitas.'

### 1.6. Hipotesis Penelitian

1. Perasan biji pepaya (*C. papaya* Linn) dalam berbagai konsentrasi dan waktu pemaparan menurunkan motilitas spermatozoa domba secara *in vitro*.
2. Perasan biji pepaya (*C. papaya* Linn) dalam berbagai konsentrasi dan waktu pemaparan menurunkan viabilitas spermatozoa domba secara *in vitro*.
3. Perasan biji pepaya (*C. papaya* Linn) dalam berbagai konsentrasi dan waktu pemaparan menurunkan integritas membran spermatozoa domba secara *in vitro*.

## **BAB 2**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tanaman Pepaya (*Carica papaya* Linn)

#### 2.1.1 Pepaya (*Carica papaya* Linn)

Klasifikasi tanaman pepaya menurut Tjitrosoepomo (2000) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonia
Ordo	: Caricales
Famili	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Species	: <i>Carica papaya</i> Linn

Pepaya termasuk tanaman tropik, tumbuh pada 32° Lintang Utara dan 32° Lintang Selatan serta tumbuh baik pada daerah ekuator. Pepaya menyukai tanah dengan pH 6 – 6,5 dan tidak tahan terhadap genangan air (Rukmana, 1995). Menurut Nurkolis (1992) yang mengutip dari Purseglove (1974), pepaya sering dibudidayakan pada dataran rendah sampai ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut. Pada usia empat bulan sudah mulai berbunga dan pada usia lima sampai enam bulan buahnya sudah mulai dapat dipetik. Selanjutnya akan berbuah sepanjang tahun, dan pada tahun keempat sampai kelima produksi buahnya mulai menurun.

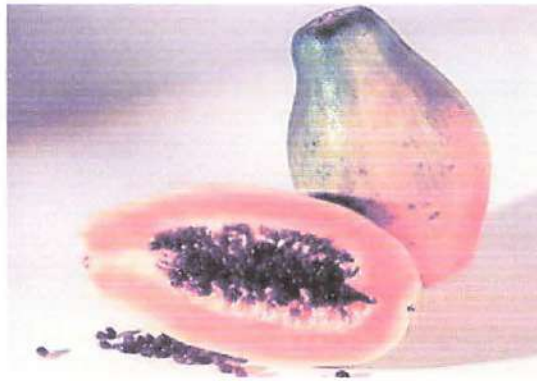
### 2.1.2. Morfologi Tanaman

Pepaya merupakan tanaman pohon, tumbuh dengan cepat, tinggi pohon bisa mencapai 10 meter dan mencapai umur 15 – 25 tahun, tetapi umur efektif untuk berbuah hanya sampai 5 – 8 tahun saja (Muljana, 1982; Heyne, 1987). Batang berbentuk lurus silindris dan tidak berkayu, tampak bekas daun menempel dan berongga di tengahnya, diameter antara 10-30 cm, dan biasanya tidak bercabang tetapi bisa bercabang bila dipotong. Daunnya bertangkai panjang menyerupai pipa dan helaian daunnya berbentuk jari, berwarna hijau muda sampai hijau tua, bergerombol di ujung batang yang berkedudukan spiral. Bunga umumnya menempel pada batang, berwarna putih atau kekuningan dan sedikit berbau harum. Buah berwarna hijau atau kekuningan dan akan berwarna kemerahan bila sudah masak (Purseglove, 1974; Anonimus, 1985). Bijinya berbentuk bulat telur dan terdapat dalam rongga buah dalam lima larikan (Purseglove, 1982; Heyne, 1987).

Ciri-ciri dari buah pepaya yang muda adalah kulit buah berwarna hijau, daging buah berwarna hijau muda, bijinya berukuran lebih kecil daripada biji dari buah yang sudah masak dan berwarna putih dan apabila dalam beberapa hari, buah nya tidak meranum atau masak di luar pohonnya. Sedangkan buah pepaya yang sudah masak, kulit buah yang berwarna hijau kekuningan atau kemerahan, daging buah berwarna merah, biji berwarna hitam dan lebih berair dari biji yang lebih muda (Heyne, 1987). Sedikit atau banyaknya biji dalam buah pepaya akan sangat tergantung dari besar atau kecilnya buah pepaya itu sendiri. Semakin besar

buah pepaya, semakin banyak pula biji yang terdapat di dalamnya (Nurkolis, 1992).

Biji pepaya pada permukaan luarnya terbungkus oleh kulit ari yang lunak, bila kulit ari tidak kering terlihat seperti agar-agar (Muljana, 1982). Banyaknya biji dalam satu buah tidak sama, tergantung pada jenis pepaya dan besar kecilnya ukuran buah tersebut. Menurut Purseglove (1974), 20 butir biji pepaya kering beratnya kurang lebih satu gram. Pada umumnya orang Indonesia selalu membuang biji pepaya atau bila ada yang mengumpulkan karena akan dipakai sebagai bibit (Muljana, 1982).



Gambar 2.1. Pepaya (*Carica papaya* Linn)

### 2.1.3. Kandungan Pepaya

Pepaya (*C. papaya*) terdiri dari pelbagai macam bahan biologi aktif, namun kandungan yang terpenting adalah *papain* yang merupakan proteolitik. Papain ini dapat ditemukan pada buah, batang, bangkai, tangkai, daun, bunga dan biji. Kandungan zat lainnya adalah papayotin, pepayachin, nirosin, karpain, karisin, pseudokarpain, glikosida karposid, saponin, tannin, karotenoid, pectin,

dammar, protein, vitamin C dan enzim yang meliputi enzim proteolitik, amilolitik, lipolitik, dan koagulan (Rudyanto, 2001).

Menurut Sri Sugati dan Johny (1991), daun, akar, dan kulit batang *C. papaya* mengandung alkaloida, saponin dan flavanoida, disamping itu daun dan akar juga mengandung polifenol dan bijinya mengandung saponin.

Dalam biji pepaya dilaporkan terdapat 24,3 gram protein, 25,3 gram minyak lemak, 32,5 gram total karbohidrat, 17 gram serat kasar, 8,8 gram abu, 0,09% volatile oil, glikosida *caricin*, dan enzim *myrosin*. Minyak lemak pada biji pepaya mengandung 16,97% asam lemak jenuh (11,38% palmitin, 5,25% stearin, dan 0,31% arachidin) dan 78,63% asam lemak tak jenuh (76,5% asam oleat dan 2,13% asam linoleat). Biji pepaya menghasilkan 660-760 miligram BITC (*Bactericidal Aglycone of Glucotropaeolin Benzyl Isothiocyanate*), glikosida *sinigrin*, enzim *myrosin*, dan *carpasemine* (Sharma dan Ogbeide, 1982).

Biji pepaya juga mengandung karpain, suatu alkaloida dari kelompok pyrrolidin yang dilaporkan dapat menyebabkan bradikardia dan menekan CNS (*Central Nervus system*) (Henry, 1949; Manuputty, 1990; anonim, 1990) pada cacing. Selain itu karpain juga diisolasi dari daun pepaya (Osol dan Farrar, 1955; Windloz dan Budavari, 1983; Hegnauer, 1964; Heyne, 1987).

Kandungan lain yang juga didapatkan pada biji pepaya adalah karpasemin dan glikosida karisin (Henry, 1949). Dalam biji pepaya juga ditemukan papain (Wiryawan dkk., 1986), *myrosin*, *sinigrin* (Osol – Farrar, 1955), juga diduga mengandung senyawa kontraseptif seperti palmitin, stearin, *behen*, *hexadecen* dan linol (Hegnauer, 1964).



#### 2.1.4. Kegunaan Biji Pepaya

Manfaat pepaya (*C. papaya*), baik itu daun, buah, akar maupun ekstrak bijinya dapat digunakan sebagai obat tradisional (Akah *et al.*, 1997; Eno dkk., 2000). Penggunaan tanaman pepaya sangat luas di masyarakat. Dari akar, batang, daun, bunga, buah, biji sampai getahnya pernah dan atau masih digunakan baik untuk makanan, pengobatan maupun industri (Heyne, 1987; Anonimus, 1985), baik digunakan secara sendiri-sendiri maupun dikombinasi dengan bahan lain.

Menurut Van de Burg yang dikutip oleh Muljana (1982) dan Heyne (1987), biji pepaya banyak mempunyai khasiat obat yang cukup ampuh, diantaranya sebagai antelmintik, yaitu dengan menelan biji pepaya.

Menurut Sastromidjojo (1988), biji pepaya juga mempunyai khasiat *diaforetikum*, obat demam, obat influenza, *vermifuge* dan *emmenagogum* (obat peluruh haid).

Berbagai macam ekstrak biji pepaya telah diuji khasiatnya sebagai kontrasepsi, ekstrak kloroform dan fraksi *benzene chromatographic* dalam ekstrak kloroform menyebabkan terhambatnya motilitas spermatozoa pada tikus jantan (Lohiya *et al.*, 1992) dan azoospermia pada kelinci jantan (Lohiya *et al.*, 1999).

#### 2.1.5. Studi Terhadap Biji Pepaya

Untuk biji pepaya, menurut penelitian Chinoy *et al.* (1994) dapat menghambat motilitas spermatozoa pada tikus albino jantan sehingga laju fertilitas menurun. Hasil yang sama juga diperoleh pada mencit jantan, kelinci jantan dan hamster jantan. Namun pada mencit dengan jenis kelamin betina laju fertilitas tidak terpengaruhi (Suprihatin dkk., 1986).

Penelitian Lohiya *et al.* (2000) yang menggunakan biji pepaya dalam ekstrak chloroform dan benzene menyebutkan bahwa motilitas spermatozoa manusia menjadi kurang dari 10 % setelah diteliti secara *in vitro*. Viabilitas dan abnormalitas spermatozoa setelah inkubasi menyebabkan infertil dan efek yang terjadi hanyalah efek spermisid, bukan spermioostat.

Ekstrak biji pepaya dapat menurunkan respon kontraksi tubulus cauda epididimis secara reversibel pada tikus jantan. Hal ini dilaporkan oleh Verma dan Chinoy (2002) dalam penelitian mereka yang menggunakan ekstrak biji pepaya dengan adrenalin.

Menurut Lohiya *et al.* (2002), biji pepaya yang diekstrak dengan chloroform dapat mempengaruhi perkembangan *germ cell*, yang kemungkinan disalurkan melalui sel Sertoli, mengawali terjadinya azoospermia reversibel pada kera langur (*Presbytis entellus entellus*).

Studi lainnya menunjukkan bahwa biji pepaya dengan jumlah tertentu diberikan pada ikan Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) guna mengendalikan fertilitas dan laju perkembangbiakannya (Ekanem dan Okoronkwo, 2003).

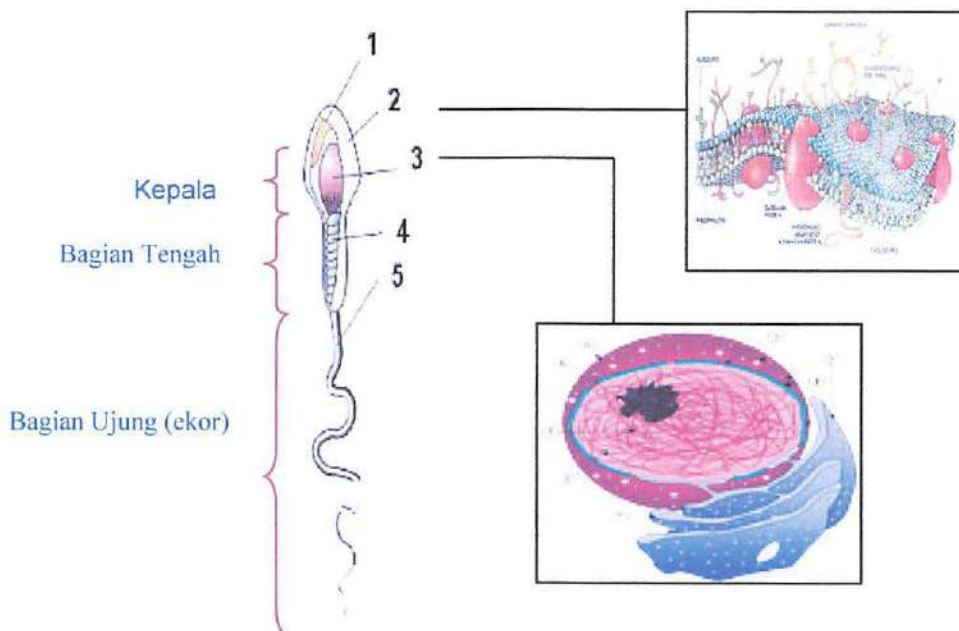
## 2.2. Tinjauan Spermatozoa

### 2.2.1. Spermatozoa

Semen terdiri dari dua bagian, sel spermatozoa atau disingkat sperma dan plasma semen. Sel spermatozoa dihasilkan oleh tubulus seminiferus di dalam testes, sedangkan plasma semen adalah campuran sekresi yang berasal dari epididimis (Ismudiono, 1999).

Menurut Bearden dan Fuquay (1992), spermatozoa terdiri dari kepala, leher dan ekor. Kepala spermatozoa mengandung nukleus yang berisi DNA, akrosom (sebagai pengikat protein dan karbohidrat) dan enzim hyaluronidase. Pada leher spermatozoa terdapat lipid (lipoprotein), *cytochrome* (untuk reaksi respirasi) dan plasmalogen. Sedangkan pada ekor spermatozoa mengandung plasmalogen dan protein keratin yang bersifat kontraktile.

Menurut Toelihere (1981) sekurang-kurangnya empat bahan organik di dalam semen yang dapat direaksikan langsung atau tidak langsung sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Bahan tersebut adalah fruktosa, sorbitol, *glycerylphosphorylcholine* (GPC) dan plasmalogen. Berikut ini adalah gambar anatomi spermatozoa :



Gambar 2.2. Spermatozoa: (1) akrosom, (2) membran sel, (3) 1. *nuclear envelope*; 2.ribosom3. *Nuclear pore complexes*; 4. *Nucleolus*; 5. *Chromatin*; 6. *Nucleus*; 7. *Endoplasmic reticulum*; 8. *Nucleoplasm*; seluruh struktur diselubungi oleh sitoplasma, (4) mitokondria, dan (5) *flagellum* (ekor)

Sumber : <http://en.wikipedia.org/wiki/Spermatozoa> (2006)

Bagian tengah spermatozoa terdapat mitokondria sebagai tempat berlangsungnya proses-proses metabolisme spermatozoa dalam menghasilkan energi bagi kehidupan dan motilitas spermatozoa (Dielemen *et al.*, 1992). Mitokondria mengandung sistem enzim yang menggerakkan siklus Krebs dan transport electron serta fosforilasi oksidatif yang menghasilkan energi dalam bentuk *Adenosin Triphosphat* (ATP) untuk menggerakkan spermatozoa (Hinting dan Marlinata, 1981).

#### 2.2.2. Plasma Semen

Sebagian besar volume semen terdiri dari plasma semen. Fungsi utama plasma semen adalah sebagai suatu media pembawa spermatozoa dari saluran reproduksi jantan ke dalam saluran reproduksi betina. Fungsi ini dapat dijalankan karena plasma semen mengandung bahan penyangga dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Ismudiono, 1999).

Menurut Hafez (1993), plasma semen mengandung nutrisi dan buffer untuk kapasitas spermatozoa. Plasma semen mengandung bahan pengencer yang berfungsi untuk merangsang motilitas dan metabolisme spermatozoa di dalam epididimis.

Plasma semen mengandung bermacam-macam zat organik, anorganik, dan air. Zat organik yang terdapat dalam plasma semen adalah GPC (*glycerylphosphorylcholine*), asam sitrat, fruktosa, inositol, sorbitol, ergothionin, dan spermine. Zat-zat anorganik adalah K, Ca dan bikarbonat (Partodihardjo, 1982).

Fruktosa merupakan gula yang ditemukan di dalam semen sapi, domba dan babi yang berasal dari glukosa darah. Konsentrasi fruktosa dalam semen sapi dan domba sangat tinggi dan merupakan makanan utama bagi spermatozoa. Sorbitol juga terdapat dalam semen dan dapat dioksidasi menjadi fruktosa oleh sel-sel spermatozoa untuk dikonsumsi kemudian. Asam sitrat tidak dipakai sebagai sumber energi oleh spermatozoa. Inositol dan asam sitrat tidak dimetabolisir oleh spermatozoa (Ismudiono, 1999). Komposisi plasma semen domba secara lengkap dapat dilihat dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi plasma semen domba

Bahan	Konsentrasi (mg/100ml)
Air	85
Fruktosa	250
Sorbitol	72
<i>Glycerylphosphorylcholine</i>	1650
Inositol	12
Asam sitrat	140
Ergothionin	0
Plasmalogen	380
Natrium	190
Kalium	90
Klorida	86
Kalsium	11
Magnesium	8

Sumber : Bearden dan Fuquay (1992)

### 2.2.3. Metabolisme Spermatozoa

Fungsi untuk motilitas dan daya hidup spermatozoa berasal dari fruktosa, sorbitol, *glycerylphosphorylcholine* (GPC). Fruktosa dan sorbitol dihasilkan oleh kelenjar vesikularis, sedangkan GPC diproduksi di dalam epididimis (Bearden dan Fuquay, 1992).

Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan ATP di dalam selubung mitokondria melalui reaksi penguraiannya menjadi *Adenosin Diphosphat* (ADP) dan *Adenosin Monophosphat* (AMP). Kelangsungan motilitas spermatozoa ini mengharuskan dibangunnya kembali ADP dari ATP (reaksi berlangsung bolak-balik). Usaha yang dilakukan untuk membangun kembali ATP dari ADP maupun ADP dari ATP adalah dengan penambahan gugus phosphoril yang dapat diperoleh dari karbohidrat dan lemak (Toelihere, 1981).

Kehidupan sel spermatozoa di dalam semen sangat bergantung pada besarnya kadar fruktosa sebagai sumber energi yang utama. Dalam keadaan anaerobik, sel spermatozoa memakai karbohidrat sebagai sumber energi. Bila sel spermatozoa disimpan dalam keadaan anaerobik, maka kadar fruktosa dalam semen akan berkurang sedangkan kadar asam laktat akan bertambah. Sel spermatozoa pada mamalia sanggup mencerna beberapa zat yang ada di dalam cairan asesoris atau cairan yang ada di dalam alat kelamin betina dan cairan yang ada di dalam media bahan pengencer. Dalam keadaan aerobik, sumber energi sel spermatozoa dapat juga diperoleh dengan jalan mengadakan oksidasi asam laktat menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Pemecahan ATP berguna sebagai sumber energi untuk kontraksi fibril-fibril sel spermatozoa. ATP dalam spermatozoa berhubungan dengan motilitas sel spermatozoa. Jika sel spermatozoa disimpan dalam keadaan anaerobik dan tidak ada persediaan gula, maka motilitas sel spermatozoa menjadi lambat. Motilitas tersebut kembali normal dengan penambahan fruktosa atau beberapa gula lain dalam semen. Motilitas sel spermatozoa yang maksimal dicapai bila tersedia fruktosa dan oksigen bersama-sama dalam semen (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Ada korelasi positif antara motilitas sel spermatozoa dan kecepatan fruktolisis. Fruktosa dapat digunakan sebagai sumber energi oleh spermatozoa baik dalam keadaan anaerobik maupun aerobik. Dalam keadaan anaerobik, hasil proses fruktolisis berupa asam laktat tidak dioksidasi lebih lanjut. Sebaliknya dengan tersedianya cukup oksigen (aerobik), maka asam laktat dapat dioksidasi untuk menghasilkan energi yang dapat digunakan untuk motilitas sel spermatozoa (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

#### 2.2.4 Membran Spermatozoa

Membran spermatozoa masing-masing daerah mempunyai fungsi yang khusus. Membran pada kepala spermatozoa berperan pada proses kapasitasi, reaksi akrosom dan penembusan zona pelusida ovum pada proses fertilisasi. Membran kepala spermatozoa pada bagian belakang (*post acrosomal region*) berfungsi mengadakan kontak pertama dan menjadi satu dengan oolema ovum pada proses fertilisasi (*sperm egg recognition*). Membran pada bagian ekor spermatozoa berfungsi untuk mendapatkan substrat untuk energi serta pengantar

gerakan gelombang bagi spermatozoa (Zanevelt, 1985; Darnel *et al.*, 1990; Subrata, 1998).

Membran kepala spermatozoa terdiri dari 2 lapisan fosfolipid yang susunannya sebagai berikut: lapisan fosfolipid hidrofobik membentuk permukaan membran bagian dalam, sedangkan lapisan fosfolipid hidrofilik ada di permukaan luar. Diantaranya terdapat protein globuler dan protein fibrus dengan distribusi yang bervariasi, ada yang terletak di permukaan luar ada yang sebagian masuk ke dalam dua lapisan fosfolipid yang disebut sebagai protein integral, dan ada yang terletak di permukaan luar membran sebagai pengikat dua lapisan fosfolipid. Protein-protein ini bersifat dinamis dan bergerak bebas di antara kedua lapisan fosfolipid tersebut. Protein pada membran spermatozoa berfungsi sebagai reseptor terhadap rangsangan dari luar (eksternal) misalnya cahaya, aroma, hormon, obat-obatan dan faktor penumbuh. Karbohidrat sebagian besar terdapat pada daerah eksternal dari dua lapisan fosfolipid yang disebut glikokalis, merupakan oligosakarida yang berikatan dengan protein dan membran lipid (Darnell *et al.*, 1990; Subrata, 1998).

Fosfolipid pada spermatozoa merupakan suatu komponen membran yang berfungsi sebagai stabilisator. Penyempurnaan dan penyerapan fosfolipid terjadi selama proses maturasi di epididimis bersamaan dengan penyempurnaan struktur membran dan penyempurnaan sifat permeabilitas membran spermatozoa (Hafez dan Prasad, 1976).

Pengenalan antara spermatozoa dengan ovum (*sperm-egg-recognition*) melibatkan perlekatan membran spermatozoa dengan permukaan luar zona



pelusida ovum. Hal ini merupakan fungsi kunci spermatozoa normal, selanjutnya diikuti dengan terjadinya perubahan sifat membran spermatozoa yang memegang peranan sangat penting pada reaksi akrosom, untuk terjadinya fusi spermatozoa dengan ovum. Apabila terjadi kerusakan dari membran spermatozoa maka akan terjadi kegagalan kemampuan spermatozoa untuk mengikat zona pelusida ovum, sehingga berakibat kegagalan proses fertilisasi (Subrata, 1998).

Kerusakan membran spermatozoa dapat disebabkan adanya peroksida asam lemak tak jenuh atau PUFA (*poly unsaturated fatty acid*) oleh oksigen reaktif dan radiikal bebas yang terdapat pada plasma spermatozoa sehingga fluiditas membran akan berkurang.

Adanya oksigen reaktif dalam plasma spermatozoa yaitu anion superoksida ( $O_2^-$ ), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan radikal hidroksi ( $OH$ ) hasil metabolisme sebagai produk antara dan proses fagositosis oleh sel fagosit (neutrofil, monosit, makrofag) maka akan menyebabkan reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yaitu asam lemak tak jenuh (PUFA = *poly unsaturated fatty acid*).

Senyawa oksigen reaktif (SOR) merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktifitas yang berbeda-beda. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas membran dan kehidupan sel. Setiap SOR yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang akan terus berlanjut sampai SOR itu dihilangkan oleh SOR yang lain atau sistem antioksidannya (Wijaya, 1996)

Siregar (1992) menjelaskan bahwa oksigen merupakan suatu unsur yang esensial, tetapi kelebihan oksigen dapat menyebabkan kerusakan peroksidatif. Oksigen yang masuk ke dalam tubuh sebagian besar menuju ke mitokondria. Pada saat proses respirasi pada mitokondria, oksigen terlibat dalam pembentukan ATP. Dalam proses respirasi, oksigen mengalami reduksi dalam rangkaian transport elektron di dalam mitokondria. Proses reduksi oksigen tersebut dapat menghasilkan anion superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) sebagai zat perantara.

Lass *et al.*, (1997) menyatakan bahwa produksi anion superoksida di dalam mitokondria diketahui mempunyai hubungan negatif (terbalik) dengan kemampuan hidup sel secara maksimum pada mamalia. Reaksi anion superoksida dengan oksidan yang lain di lingkungan membran menghasilkan kerusakan membran yang tidak dapat dipulihkan seperti semula (*irreversible*).

Hidrogen peroksida dapat terbentuk dari berbagai proses, seperti proses dismutasi dari anion superoksida dan aktivitas enzim di organel peroksisom. Hidrogen peroksida dapat membentuk radikal hidroksil bila bertemu ion  $Fe^{2+}$  (reaksi Fenton) maupun radikal superoksida (reaksi Haber Weiss). Hidrogen peroksida dapat menembus membran sehingga dampak pengaruhnya tersebar luas (Halliwell *and* Gutteridge, 1999).

# **BAB 3**

## **MATERI DAN METODE**

## BAB 3 MATERI DAN METODE

### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian di mulai tanggal 9 Agustus sampai dengan 20 September 2006.

### 3.2. Bahan dan Materi Penelitian

#### 3.2.1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan selama penelitian berlangsung adalah semen segar domba peranakan ekor gemuk berumur lebih kurang tiga tahun yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Adapun besar sampel yang digunakan adalah lebih kurang 1 ml pada tiap ulangan.

#### 3.2.2. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan selama penelitian berlangsung adalah biji pepaya kering, larutan Hank's, larutan NaCl fisiologis, pewarna eosin – negrosin, alkohol 70%, vaselin dan air hangat, serta nonoxynol-9.

Nonoxynol-9 (N-9) merupakan surfaktan non-ion nonoxynol yang digunakan sebagai bahan untuk berbagai macam pembersih dan produk kosmetik, namun secara luas juga digunakan untuk alat kontrasepsi sebagai agen spermisida. N-9 merupakan bahan aktif pada kebanyakan spermisida (krim, *jelly*, sabun, *gel* dan suppositoria). Ada banyak model kondom yang dipelumasi dengan N-9. Pada mulanya penggunaan N-9 sangat dianjurkan guna mencegah terjadinya infeksi penyakit menular termasuk HIV, tetapi pada studi lebih lanjut menunjukkan

bahwa N-9 dapat meningkatkan resiko terjadinya infeksi tersebut. Sebagai spermisida, nonoxynol-9 bekerja dengan cara merusak membran akrosom spermatozoa sehingga menyebabkan immobilisasi spermatozoa (<http://en.wikipedia.org/wiki/Nonoxynol-9>).

Alat – alat yang digunakan selama penelitian berlangsung adalah satu set vagina buatan untuk menampung semen, mikroskop, obyek glass dan cover glass, mortir ukuran paing besar, pipet ukur dan pipet pasteur, tabung reaksi, tabung erlenmeyer, gelas ukur, timbangan analitik, kertas saring ukuran 42, dan alat penghitung (*counter*).

### 3.3. Metode Penelitian

#### 3.3.1. Persiapan Alat dan Bahan

Sebelum penampungan semen, satu set vagina buatan yang terdiri dari selongsong karet tebal (*heavy rubber cylinder*) yang di dalamnya terdapat karet tipis (*inner liner*), corong karet (*rubber funnel*) dan tabung penampungan semen berskala dibersihkan dengan air bersih. Bagian-bagian vagina buatan setelah dibersihkan kemudian dipasang dan diisi dengan air hangat hingga mencapai suhu  $\pm 45^{\circ}$  C. Selanjutnya bagian dalam dari vagina buatan diolesi vaselin sebagai pelicin sejauh  $\pm 5$  cm dari ujung depan vagina buatan.

Pembuatan larutan Hank's dan HOS (*Hypo Osmotic Swelling*) dilakukan sebelum pengambilan semen. Larutan ini kemudian disimpan dalam suhu  $4^{\circ}$  -  $5^{\circ}$  C agar tidak rusak.

### 3.3.2. Pembuatan Perasan Biji Pepaya

Biji pepaya dicuci kemudian diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering biji tersebut digerus, kemudian ditimbang sebanyak 1 gram, 3 gram, 9 gram dan 27 gram. Tiap gerusan biji pepaya tersebut ditambah larutan NaCl fisiologis hingga mencapai volume 100 ml. Setiap hasil gerusan disaring dan diperas. Masing-masing hasil perasan ini merupakan biji pepaya dengan konsentrasi 1%, 3%, 9%, 27% (Wagner dan Wolff, 1976).

### 3.3.2. Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan pada pagi hari antara pukul 08.00 – 09.00 WIB. Frekuensi pengambilan semen dilakukan dua kali seminggu agar diperoleh semen yang baik (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Penampungan semen menggunakan vagina buatan. Sebelum ditampung semennya, domba pejantan dipersiapkan dulu dengan mencukur bulu dan mencuci daerah sekitar preputium agar semen terhindar dari kontaminasi kuman. Setelah itu pejantan dirangsang dengan berjalan-jalan mengelilingi hewan betina pemancing beberapa kali, agar menambah libidonya. Pejantan akan menaiki betina pemancing dan akan berejakulasi pada saat penis dimasukkan ke dalam vagina buatan untuk ditampung semennya. Semen yang ditampung pada tabung berskala dihindarkan dari sinar matahari langsung untuk menjaga kualitas supaya tetap baik (Salisbury dan Van Demark, 1985).

### 3.3.3. Perlakuan terhadap Semen Domba

Semen hasil penampungan diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, konsistensi, bau dan warna semen.

Sedangkan pemeriksaan mikroskopis terdiri dari pemeriksaan gerakan-gerakan massa, motilitas individu dan viabilitas spermatozoa.

Setelah semen diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis, semen lalu diencerkan. Sampel semen kemudian dibagi ke dalam enam tabung reaksi yang berbeda. Dari keenam tabung reaksi tersebut, dua tabung digunakan untuk kontrol negatif dan kontrol positif, sedangkan empat tabung lainnya digunakan untuk perlakuan. Perlakuan yang diberikan kepada masing-masing sampel ialah sebagai berikut:

P1 : 1 ml semen + 1 ml larutan Hank's (kontrol negatif)

P2 : 1 ml semen + 1 ml perasan biji pepaya 1 %

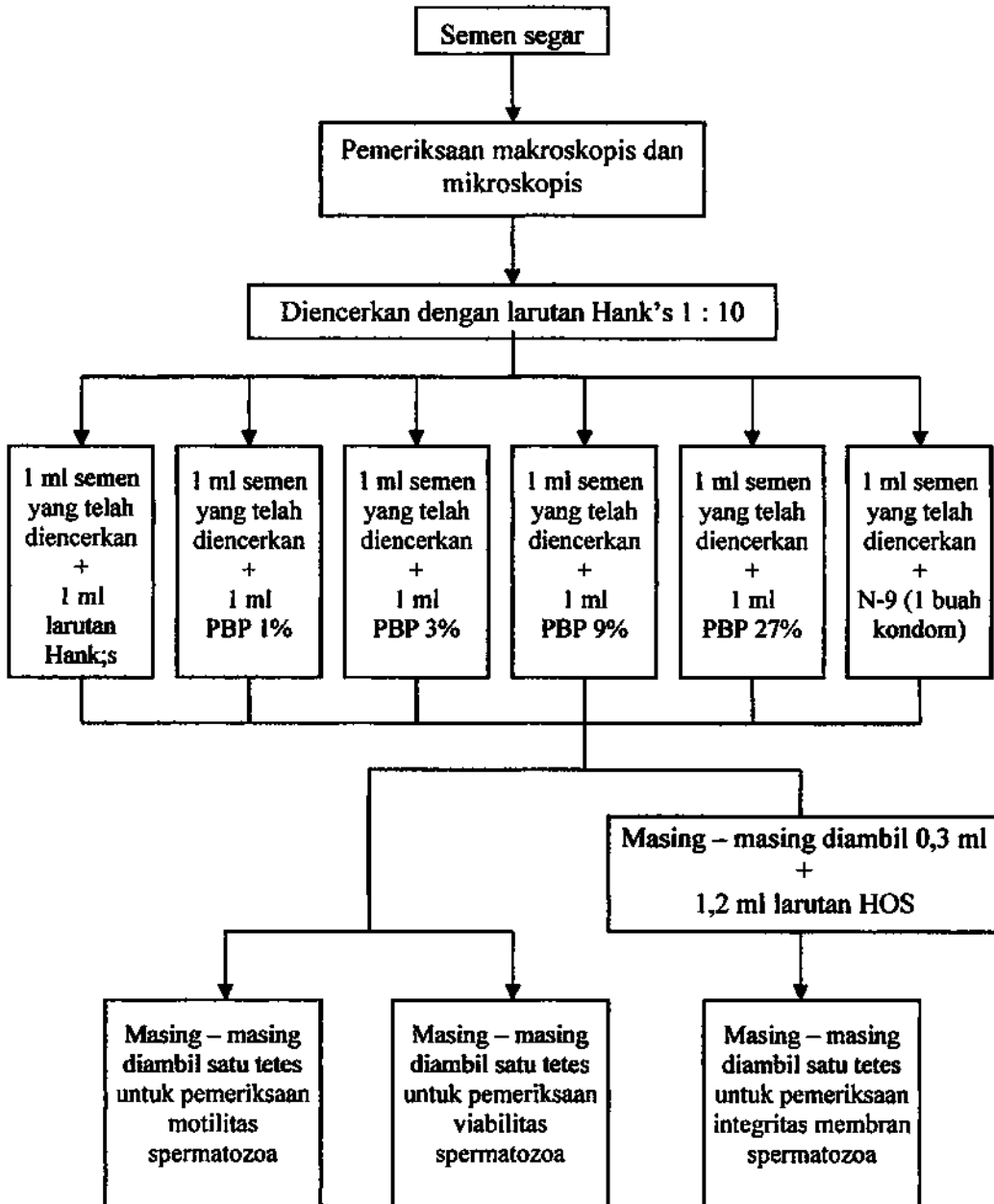
P3 : 1 ml semen + 1 ml perasan biji pepaya 3 %

P4 : 1 ml semen + 1 ml perasan biji pepaya 9 %

P5 : 1 ml semen + 1 ml perasan biji pepaya 27 %

P6 : 1 ml semen + 1 buah kondom yang mengandung N-9 (kontrol positif)

Penghitungan motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa dilakukan pada menit ke-30, 60, 90 dan 120 (Sari, 2005). Semua perlakuan diulang sebanyak delapan kali.



Gambar 3.1. Skema prosedur penelitian



### 3.4. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan pola faktorial  $6 \times 4$ , dimana enam perlakuan terdiri dari dua perlakuan kontrol dan empat perlakuan dosis perasan biji pepaya (1%, 3%, 8% dan 27%) dikombinasikan dengan empat perlakuan waktu (30, 60, 90 dan 120 menit) sehingga akan diperoleh 24 perlakuan kombinasi. Penelitian dilakukan sebanyak delapan kali ulangan.

### 3.5. Peubah yang Diamati

#### 3.5.1. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah pergerakan spermatozoa yang ditandai dengan ekor spermatozoa yang bergerak maju.

Cara pemeriksaan motilitas adalah dengan meneteskan semen domba di atas obyek glass kemudian ditutup dengan cover glass. Preparat dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Penilaian dilakukan berdasarkan persentase gerakan spermatozoa aktif (bergerak progresif) dibanding dengan seluruh spermatozoa yang tampak dalam lapangan pandang (Djanuar dkk., 1990).

#### 3.5.2. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup.

Cara pemeriksaan jumlah spermatozoa yang hidup dan yang mati adalah dengan meneteskan satu tetes zat warna eosin-negrosin dan satu tetes semen domba di atas obyek glass yang bersih. Secepatnya kedua larutan dicampurkan hingga homogen kemudian dibuat preparat ulas setipis mungkin dan dipanaskan di atas nyala api. Kemudian dilakukan pemeriksaan dibawah mikroskop dengan

pembesaran 400 kali. Cara penilaiannya adalah dengan membandingkan spermatozoa yang hidup (tidak berwarna) dan spermatozoa yang mati (berwarna merah) terutama bagian kepalanya (Djanuar dkk., 1990).

### 3.5.3. Integritas Membran Spermatozoa

Integritas membran spermatozoa adalah keadaan membran plasma spermatozoa yang dievaluasi dengan *Hypo Osmotic Swelling Test* (HOST).

Integritas membran spermatozoa dihitung dengan cara meneteskan satu tetes semen domba dari masing-masing perlakuan pada obyek glass yang bersih, kemudian ditambahkan zat warna eosin-negrosin dan dibuat preparat ulas. Langkah selanjutnya adalah melakukan pemeriksaan dan penghitungan minimal 100 sel spermatozoa dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa yang memiliki membran plasma yang utuh ditandai dengan ekor melingkar, sedangkan spermatozoa yang membran plasmanya rusak ditandai dengan ekor lurus (Hafez, 1993).

### 3.6. Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan *two way* Anova dan jika terdapat perbedaan yang nyata akan diteruskan dengan uji jarak berganda Duncan (Santoso, 2004).

**BAB 4**  
**HASIL PENELITIAN**

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

### 4.1. Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan.

Sebelum diberi perlakuan, semen domba diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan tersebut meliputi volume, warna, bau, konsistensi, gerakan massa, motilitas dan viabilitas spermatozoa. Hasil pemeriksaan semen domba sebelum perlakuan dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen domba sebelum perlakuan

Data pemeriksaan	Ulangan							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Volume	1 ml	1,2 ml	1,3 ml	1,1 ml	1,1 ml	1,2 ml	1,4 ml	1,2 ml
Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih
Bau	Spesifik	Spesifik	Spesifik	Spesifik	Spesifik	Spesifik	Spesifik	Spesifik
Konsistensi	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat
Gerakan massa	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Motilitas	90	85	85	85	80	80	85	85
Viabilitas	95	95	90	90	90	90	90	95

Pemeriksaan gerakan massa spermatozoa domba dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Penilaian positif tiga pada kolom gerakan massa artinya spermatozoa yang digunakan sangat baik, merupakan gambaran gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak dan bergerak cepat (Hardijanto dkk, 1999).

Semen domba yang digunakan dalam penelitian ini telah memenuhi kriteria normal, yaitu volume antara 1 ml sampai dengan 1,3 ml, bau spesifik,

konsistensi pekat, warna putih, motilitas antara 80% sampai dengan 85% dan kematian spermatozoa tidak melebihi 20%.

#### 4.2. Pemeriksaan Mikroskopis Semen Domba Setelah Perlakuan

##### 4.2.1. Motilitas Spermatozoa

Setelah semen domba diencerkan dan diberi perlakuan, maka dilakukan pemeriksaan terhadap motilitas spermatozoa. Hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 4.2, Tabel 4.3 dan Tabel 4.4.

Tabel 4.2. Rataan motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya pada selang waktu tertentu (%)

Waktu pemaparan	N	Motilitas spermatozoa ( $X \pm SB$ )
T1 (menit ke 30)	48	42,69 <sup>a</sup> $\pm$ 18,50
T2 (menit ke 60)	48	33,98 <sup>b</sup> $\pm$ 23,15
T3 (menit ke 90)	48	28,83 <sup>c</sup> $\pm$ 21,33
T4 (menit ke 120)	48	25,61 <sup>d</sup> $\pm$ 19,03

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 1, terdapat perbedaan yang nyata antara keempat waktu pemaparan terhadap motilitas spermatozoa ( $P < 0,05$ ).

Penurunan motilitas spermatozoa pada menit ke 30 berbeda nyata dengan menit ke 60, 90 dan 120. Penurunan motilitas spermatozoa paling rendah- terjadi pada menit ke 120, sehingga makin lama waktu pemaparan maka motilitas spermatozoa makin menurun.

Tabel 4.3. Rataan motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya dengan konsentrasi yang berbeda (%)

Perlakuan	N	Motilitas spermatozoa ( $X \pm SB$ )
P1 (Hank's)	32	55,67 <sup>a</sup> $\pm$ 7,01
P2 (PBP 1%)	32	49,14 <sup>b</sup> $\pm$ 6,97
P3 (PBP 3%)	32	44,43 <sup>c</sup> $\pm$ 6,01
P4 (PBP 9%)	32	36,56 <sup>d</sup> $\pm$ 5,99
P5 (PBP 27%)	32	6,92 <sup>e</sup> $\pm$ 9,42
P6 (Nonoxynol-9)	32	3,94 <sup>f</sup> $\pm$ 7,03

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 1, terdapat perbedaan yang nyata antara keempat konsentrasi PBP terhadap motilitas spermatozoa ( $P < 0,05$ ).

Penurunan motilitas spermatozoa pada P2 berbeda nyata dengan P1, P3, P4, P5 dan P6. Pada Tabel 4.3 dapat dilihat, bahwa makin besar konsentrasi perasan biji pepaya yang diberikan, maka motilitas spermatozoa semakin menurun. Motilitas spermatozoa paling rendah terjadi pada P6.

Tabel 4.4. Rataan motilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji pepaya (%)

Perlakuan kombinasi	N	Motilitas spermatozoa ( $X \pm SB$ )
T1 – P1	8	64,85 <sup>a</sup> $\pm$ 1,95
T2 – P1	8	58,79 <sup>b</sup> $\pm$ 1,66
T1 – P2	8	57,59 <sup>b</sup> $\pm$ 1,49
T2 – P2	8	52,99 <sup>c</sup> $\pm$ 1,37
T3 – P1	8	51,88 <sup>c</sup> $\pm$ 1,53
T1 – P3	8	51,51 <sup>c</sup> $\pm$ 1,37
T2 – P3	8	48,23 <sup>d</sup> $\pm$ 1,03
T4 – P1	8	47,15 <sup>dc</sup> $\pm$ 1,33
T3 – P2	8	46,07 <sup>c</sup> $\pm$ 1,49
T1 – P4	8	45,36 <sup>c</sup> $\pm$ 1,01
T3 – P3	8	40,99 <sup>f</sup> $\pm$ 2,19
T4 – P2	8	39,91 <sup>f</sup> $\pm$ 1,37
T2 – P4	8	37,34 <sup>g</sup> $\pm$ 1,48
T4 – P3	8	36,98 <sup>g</sup> $\pm$ 1,32
T3 – P4	8	33,97 <sup>h</sup> $\pm$ 1,42
T4 – P4	8	29,57 <sup>i</sup> $\pm$ 1,22
T1 – P5	8	21,16 <sup>j</sup> $\pm$ 2,25
T1 – P6	8	15,68 <sup>k</sup> $\pm$ 2,95
T2 – P5	8	6,48 <sup>l</sup> $\pm$ 6,89
T4 – P6	8	0,03 <sup>m</sup> $\pm$ 0,00
T4 – P5	8	0,03 <sup>m</sup> $\pm$ 0,00
T3 – P6	8	0,03 <sup>m</sup> $\pm$ 0,00
T3 – P5	8	0,03 <sup>m</sup> $\pm$ 0,00
T2 – P6	8	0,03 <sup>m</sup> $\pm$ 0,00

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 1, terdapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi PBP dengan waktu pemaparan ( $P < 0,05$ ).



Berdasarkan Tabel 4.4, Penurunan motilitas spermatozoa pada T1-P1 berbeda nyata dengan T2-P1, T1-P2, T2-P2, T3-P1 dan T1-P3. Perlakuan kombinasi yang tidak berbeda nyata adalah T2-P1 dengan T1-P2, T2-P2 dengan T3-P1 dan T1-P3, T2-P3 dengan T4-P1, T4-P1 dengan T3-P2 dan T1-P4. Pada T2-P3 berbeda nyata dengan T3-P2 dan T1-P4. Pada perlakuan kombinasi T2-P6, penurunan motilitas spermatozoa tidak berbeda nyata dengan T3-P5, T3-P6, T4-P5 dan T4-P6. Pada T2-P6, penurunan motilitas spermatozoa berbeda nyata dengan T2-P5, T1-P6, T1-P5, T4-P4 dan T3-P4.

#### 4.2.2. Viabilitas Spermatozoa

Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 4.5, Tabel 4.6 dan Tabel 4.7.

Tabel 4.5. Rataan viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya pada selang waktu tertentu (%)

Waktu pemaparan	N	Viabilitas spermatozoa ( $X \pm SB$ )
T1 (menit ke 30)	48	54,61 <sup>a</sup> $\pm$ 14,20
T2 (menit ke 60)	48	49,09 <sup>b</sup> $\pm$ 14,96
T3 (menit ke 90)	48	44,51 <sup>c</sup> $\pm$ 15,54
T4 (menit ke 120)	48	39,76 <sup>d</sup> $\pm$ 17,13

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 2, terdapat perbedaan yang nyata antara keempat waktu pemaparan terhadap viabilitas spermatozoa ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan Tabel 4.5, penurunan viabilitas spermatozoa pada menit ke 30 berbeda nyata dengan penurunan viabilitas spermatozoa pada menit ke 60, 90 dan



120. Viabilitas spermatozoa paling rendah terjadi pada menit ke 120, sehingga makin lama waktu pemaparan, maka makin banyak pula spermatozoa yang mati.

Tabel 4.6. Rataan viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya dengan konsentrasi yang berbeda (%)

Perlakuan	N	Viabilitas spermatozoa ( $X \pm SB$ )
P1 (Hank's)	32	65,76 <sup>a</sup> $\pm$ 4,82
P2 (PBP 1%)	32	61,72 <sup>b</sup> $\pm$ 4,33
P3 (PBP 3%)	32	55,70 <sup>c</sup> $\pm$ 4,38
P4 (PBP 9%)	32	42,92 <sup>d</sup> $\pm$ 8,05
P6 (Nonoxynol-9)	32	28,02 <sup>e</sup> $\pm$ 6,58
P5 (PBP 27%)	32	27,85 <sup>e</sup> $\pm$ 6,46

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 2, terdapat perbedaan yang nyata antara keempat konsentrasi PBP terhadap viabilitas spermatozoa ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan Tabel 4.6, penurunan viabilitas spermatozoa pada P2 berbeda nyata dengan P1, P3, P4, P5 dan P6. Seperti halnya motilitas, ternyata viabilitas spermatozoa juga menurun akibat pemberian perasan biji pepaya (PBP). Makin tinggi konsentrasi PBP yang diberikan, maka makin banyak pula spermatozoa yang mati. Viabilitas spermatozoa terendah terjadi pada P5, yaitu perasan biji pepaya konsentrasi 27% yang tidak berbeda nyata dengan P6 (nonoxynol-9).

Tabel 4.7. Rataan viabilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji pepaya (%)

Perlakuan kombinasi	N	Viabilitas spermatozoa ( $X \pm SB$ )
T1 – P1	8	72,36 <sup>a</sup> $\pm$ 1,75
T1 – P2	8	67,60 <sup>b</sup> $\pm$ 1,29
T2 – P1	8	66,87 <sup>b</sup> $\pm$ 1,91
T3 – P1	8	63,47 <sup>c</sup> $\pm$ 1,61
T2 – P2	8	62,92 <sup>c</sup> $\pm$ 1,13
T1 – P3	8	61,52 <sup>d</sup> $\pm$ 0,94
T4 – P1	8	60,35 <sup>dc</sup> $\pm$ 1,67
T3 – P2	8	59,29 <sup>e</sup> $\pm$ 1,72
T2 – P3	8	57,34 <sup>f</sup> $\pm$ 0,71
T4 – P2	8	57,05 <sup>f</sup> $\pm$ 2,05
T3 – P3	8	53,81 <sup>g</sup> $\pm$ 1,13
T1 – P4	8	52,83 <sup>g</sup> $\pm$ 0,71
T4 – P3	8	50,11 <sup>h</sup> $\pm$ 0,85
T2 – P4	8	47,37 <sup>i</sup> $\pm$ 1,08
T3 – P4	8	39,38 <sup>j</sup> $\pm$ 0,92
T1 – P5	8	36,72 <sup>k</sup> $\pm$ 1,14
T1 – P6	8	36,64 <sup>k</sup> $\pm$ 0,71
T4 – P4	8	32,10 <sup>l</sup> $\pm$ 1,10
T2 – P6	8	30,65 <sup>m</sup> $\pm$ 1,17
T2 – P5	8	29,40 <sup>m</sup> $\pm$ 1,31
T3 – P5	8	25,83 <sup>n</sup> $\pm$ 1,04
T3 – P6	8	25,27 <sup>n</sup> $\pm$ 1,35
T4 – P6	8	19,53 <sup>o</sup> $\pm$ 2,01
T4 – P5	8	19,44 <sup>o</sup> $\pm$ 1,59

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 2 didapatkan  $P < 0,05$ , terdapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi PBP dengan waktu pengamatan.

Berdasarkan Tabel 4.7, penurunan viabilitas spermatozoa pada T1-P1 berbeda nyata dengan T1-P2, T2-P1, T3-P1, T2-P2 dan T1-P3. Perlakuan kombinasi yang tidak berbeda nyata adalah T1-P2 dengan T2-P1, T3-P1 dengan T2-P2, T4-P1 dengan T1-P3 dan T3-P2. Penurunan viabilitas spermatozoa pada T2-P5 tidak berbeda nyata dengan T2-P6, namun berbeda nyata dengan T4-P4, T3-P5, T3-P6, T4-P6 dan T4-P5. Viabilitas spermatozoa paling rendah diperoleh dari perlakuan kombinasi T4-P5 yang tidak berbeda nyata dengan T4-P6. Makin lama spermatozoa terpapar dengan bahan spermisida, maka kualitas spermatozoa akan semakin turun.

Berdasarkan gambar pada Lampiran 7, spermatozoa hidup berwarna putih dan yang mati berwarna merah.

#### 4.2.3. Integritas Membran Spermatozoa

Hasil pemeriksaan integritas membran spermatozoa dengan *hypo osmotic swelling* (HOS) dapat dilihat pada Tabel 4.8, Tabel 4.9 dan Tabel 4.10.

Tabel 4.8. Rataan integritas membran spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya pada selang waktu tertentu (%)

Waktu pemaparan	N	Integritas membran spermatozoa ( $\bar{X} \pm SB$ )
T1 (menit ke 30)	48	49,44 <sup>a</sup> $\pm$ 9,90
T2 (menit ke 60)	48	44,53 <sup>b</sup> $\pm$ 11,58
T3 (menit ke 90)	48	40,88 <sup>c</sup> $\pm$ 12,29
T4 (menit ke 120)	48	36,70 <sup>d</sup> $\pm$ 13,57

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 3, terdapat perbedaan yang nyata antara keempat waktu pemaparan terhadap integritas membran spermatozoa ( $P < 0,05$ )

Berdasarkan Tabel 4.8, penurunan integritas membran spermatozoa pada menit ke 30 berbeda nyata dengan menit ke 60, 90 dan 120. Penurunan integritas membran spermatozoa paling rendah terjadi pada menit ke 120, sehingga makin lama spermatozoa terpapar dengan perasan biji pepaya integritas membran spermatozoa makin menurun.

Tabel 4.9. Rataan integritas membran spermatozoa setelah diberi perasan biji pepaya dengan konsentrasi yang berbeda (%)

Perlakuan	N	Integritas membran spermatozoa ( $X \pm SB$ )
P1 (Hank's)	32	58,07 <sup>a</sup> $\pm$ 3,69
P2 (PBP 1%)	32	53,10 <sup>b</sup> $\pm$ 3,97
P3 (PBP 3%)	32	49,40 <sup>c</sup> $\pm$ 3,96
P4 (PBP 9%)	32	39,42 <sup>d</sup> $\pm$ 4,91
P5 (PBP 27%)	32	30,75 <sup>e</sup> $\pm$ 7,10
P6 (Nonoxynol-9)	32	26,60 <sup>f</sup> $\pm$ 7,05

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 3, terdapat perbedaan yang nyata antara keempat konsentrasi PBP terhadap integritas membran spermatozoa ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan Tabel 4.9, penurunan integritas membran spermatozoa pada P2 berbeda nyata dengan P1, P3, P4, P5 dan P6. Seperti halnya motilitas dan viabilitas, ternyata integritas membran spermatozoa juga menurun akibat

pemberian perasan biji pepaya (PBP). Makin tinggi konsentrasi PBP yang diberikan, maka integritas membran spermatozoa makin menurun.

Tabel 4.10. Rataan integritas membran spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji pepaya (%)

Perlakuan kombinasi	N	Integritas membran spermatozoa ( $X \pm SB$ )
T1 – P1	8	62,75 <sup>a</sup> $\pm$ 1,31
T2 – P1	8	59,76 <sup>b</sup> $\pm$ 0,79
T1 – P2	8	57,10 <sup>bc</sup> $\pm$ 1,83
T3 – P1	8	56,41 <sup>c</sup> $\pm$ 0,88
T2 – P2	8	54,42 <sup>d</sup> $\pm$ 1,70
T1 – P3	8	54,35 <sup>d</sup> $\pm$ 1,80
T4 – P1	8	53,36 <sup>dc</sup> $\pm$ 0,55
T3 – P2	8	51,66 <sup>cf</sup> $\pm$ 1,59
T2 – P3	8	50,71 <sup>f</sup> $\pm$ 1,82
T4 – P2	8	48,31 <sup>g</sup> $\pm$ 1,74
T3 – P3	8	47,66 <sup>gh</sup> $\pm$ 1,75
T1 – P4	8	46,01 <sup>hi</sup> $\pm$ 2,15
T4 – P3	8	44,88 <sup>i</sup> $\pm$ 1,71
T2 – P4	8	40,24 <sup>j</sup> $\pm$ 2,27
T1 – P5	8	38,63 <sup>jk</sup> $\pm$ 2,13
T3 – P4	8	37,22 <sup>k</sup> $\pm$ 2,43
T1 – P6	8	36,94 <sup>k</sup> $\pm$ 1,21
T2 – P5	8	34,27 <sup>l</sup> $\pm$ 2,27
T4 – P4	8	34,20 <sup>l</sup> $\pm$ 2,03
T3 – P5	8	29,29 <sup>m</sup> $\pm$ 2,22
T2 – P6	8	27,78 <sup>m</sup> $\pm$ 1,27
T3 – P6	8	23,04 <sup>n</sup> $\pm$ 1,82
T4 – P5	8	20,82 <sup>o</sup> $\pm$ 2,50
T4 – P6	8	18,62 <sup>p</sup> $\pm$ 1,69

Superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).



Berdasarkan hasil analisis pada Lampiran 3, terdapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi PBP dan waktu pemaparan ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan tabel 4.10, penurunan integritas membran spermatozoa pada T1-P1 berbeda nyata dengan T2-P1, T1-P2, T3-P1, T2-P2 dan T4-P1. Perlakuan kombinasi yang tidak berbeda nyata adalah T2-P2 dengan T1-P3, T3-P4 dengan T1-P6, T2-P5 dengan T4-P4, T3-P5 dengan T2-P6. Penurunan integritas spermatozoa pada T1-P2 tidak berbeda nyata dengan T2-P1 dan T3-P1, tetapi berbeda nyata dengan T2-P2. Turunnya integritas membran spermatozoa pada T4-P1 tidak berbeda nyata dengan T1-P3 dan T3-P2. Perlakuan kombinasi T2-P3 juga tidak berbeda nyata dengan T3-P2, namun berbeda sangat nyata T4-P2.

Turunnya integritas membran spermatozoa paling rendah diperoleh pada perlakuan kombinasi T4-P6 yang berbeda nyata dengan T4-P5, T3-P6, T2-P6, T3-P5 dan T4-P4, sehingga makin tinggi konsentrasi perasan biji pepaya dan makin lama waktu pemaparan akan menurunkan kualitas spermatozoa. Membran spermatozoa yang utuh ditandai dengan ekor melingkar (*swelling*) dan yang membrannya rusak ditandai dengan ekor lurus (lihat gambar pada Lampiran 7 dan 8).

# **BAB 5**

## **PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Kualitas dan kuantitas semen dipengaruhi oleh pakan (protein, mineral, vitamin), temperatur dan musim, frekuensi pengambilan semen, perlakuan terhadap pejantan, penyakit, transportasi, umur, herediter dan latihan (Hardijanto dan Harjopranto, 1994).

Menurut Hafez (1993) volume semen per ejakulat berbeda-beda tergantung umur, kondisi hewan, frekuensi pengambilan, musim dan jumlah cairan yang diminum. Pada hewan muda atau terlalu tua, gemuk dan yang sudah lama tidak diambil semennya akan menghasilkan volume yang rendah.

Hasil pemeriksaan mikroskopis spermatozoa domba sebelum pengenceran menunjukkan bahwa semen domba yang digunakan dalam penelitian ini memberikan hasil yang baik, yaitu motilitas sebesar  $84 \pm 3,2\%$  dan viabilitas sebesar  $92 \pm 2,59\%$ . Pada pemeriksaan makroskopis semen domba didapatkan hasil sebagai berikut, volume semen antara 1 ml sampai dengan 1,3 ml, warna putih, bau khas untuk semen domba dan konsistensi pekat.

Penurunan motilitas spermatozoa mulai tampak pada P2 (konsentrasi perasan biji pepaya 1%) dan berbeda sangat nyata dengan semua perlakuan, seperti yang terlihat pada Tabel 4.3. Pengamatan penurunan motilitas spermatozoa pada menit ke- 30 berbeda nyata dengan menit ke- 60, 90 dan 120 (Tabel 4.3). Pada Tabel 4.4, dapat diketahui bahwa penurunan motilitas spermatozoa paling besar terjadi pada P6 (kontrol positif) menit ke-60 pada yang tidak berbeda nyata dengan menit ke-90 pada P6 dan P5 serta menit ke-120 pada P6 dan P5



(konsentrasi PBP 27%). Hal ini membuktikan bahwa PBP 27% sama khasiatnya dengan Nonoxynol-9 dalam menurunkan motilitas spermatozoa, yang membedakan hanyalah faktor waktu.

Viabilitas spermatozoa mulai menurun pada menit ke-30 dan terdapat perbedaan yang nyata dengan menit ke- 60, 90 dan 120 (Tabel 4.5). Penurunan viabilitas spermatozoa mulai terjadi pada P2 dan berbeda nyata dengan tiap-tiap perlakuan, seperti yang terlihat pada Tabel 4.6. Penurunan terbesar terjadi pada P5 (konsentrasi PBP 27%) menit ke-120 yang tidak berbeda nyata dengan P6 (kontrol positif) pada menit ke-120 pula (Tabel 4.7). Hal ini menunjukkan bahwa khasiat PBP 27% tidak beda jauh dengan nonoxynol-9 dalam menurunkan viabilitas spermatozoa.

Perihal tersebut juga terjadi pada integritas membran spermatozoa, sebagaimana yang terlihat dalam Tabel 4.8 dan Tabel 4.9. Pada Tabel 4.10, penurunan integritas membran spermatozoa terbesar terjadi pada P6 (kontrol positif) menit ke-120 yang mana dengan waktu yang sama tidak berbeda nyata dengan P5 (konsentrasi PBP 27%).

Keterangan – keterangan di atas menunjukkan bahwa zat yang bersifat antifertilitas dalam perasan biji pepaya (PBP) dengan konsentrasi 1% tersebut sudah mampu menurunkan kualitas spermatozoa, sehingga semakin besar konsentrasi perasan biji pepaya yang diberikan maka persentase motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa makin menurun. Kualitas spermatozoa juga semakin menurun seiring dengan makin lamanya spermatozoa terpapar dengan bahan spermisida.

Fransworth dan Waller (1982) menyatakan bahwa tanaman yang mempunyai efek sebagai spermisida adalah tanaman yang mengandung triterpene saponin, flavonoid dan fenol. Adanya penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa akibat pemberian perasan biji pepaya (PBP) tersebut disebabkan oleh zat yang dikandung (saponin) dalam perasan biji pepaya, khususnya yang bersifat sebagai antifertilitas dapat bersifat toksin, sehingga dapat menurunkan motilitas atau bahkan dapat mematikan spermatozoa.

Dalam studi laboratorium saponin 0,04% sampai 0,2% dapat digunakan untuk meningkatkan permeabilitas membran plasma bahkan membran organel dalam seperti retikulum endoplasmik dan badan golgi, kecuali membran nukleus (<http://en.wikipedia.org/wiki/Saponin>).

Saponin dan triterpenoid dapat mempengaruhi membran sel sehingga dapat menyebabkan pengkerutan membran sel yang berakibat pada penurunan integritas membran sel (Mitaine *et al.*, 2001).

Kemungkinan lain terjadinya penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa tersebut disebabkan oleh terganggunya permeabilitas spermatozoa sehingga transportasi zat makanan (nutrisi) bagi spermatozoa akan terganggu. Seperti diketahui permeabilitas membran erat kaitannya dengan transportasi nutrisi yang penting peranannya dalam metabolisme sel. Dengan terganggunya permeabilitas membran spermatozoa, maka kebutuhan nutrisi akan terganggu pula dan selanjutnya berakibat sel spermatozoa mati (Purwaningsih, 1998). Hal ini sesuai pendapat Jeyendran *et al.* (1984) yang menyatakan bahwa permeabilitas membran spermatozoa erat kaitannya dengan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Konsentrasi perasan biji pepaya berbanding lurus dengan efek spermisida. Semakin besar konsentrasi perasan biji pepaya maka efek spermisida semakin besar pula, integritas membran spermatozoa menjadi menurun.

Beberapa tes yang digunakan untuk mengevaluasi membran plasma adalah dengan teknik pewarnaan supravital (Evenson *et al.*, 1982; Garner dan Johnson, 1995) atau dengan *hypo osmotic test* (Jeyendran *et al.*, 1984). Metode ini dapat dipakai untuk membedakan spermatozoa yang hidup, spermatozoa yang mati atau spermatozoa yang membrannya rusak tetapi tidak bisa dipakai untuk memonitor fase awal terjadinya kerusakan membran sel. Pada saat spermatozoa terpapar dengan kondisi hipo osmotik maka air akan masuk ke dalam spermatozoa untuk mencapai keseimbangan osmotik, akibatnya volume spermatozoa meningkat dan membran plasma menjadi bocor (Chakrabarty *et al.*, 1994).

Dalam penelitian ini nonoxynol-9 sedikit lebih efektif dalam menurunkan kualitas spermatozoa terutama pada motilitas dan integritas membran, namun menurut Lohiya *et al.* (2000) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak biji pepaya dengan kloroform jauh lebih menguntungkan daripada nonoxynol-9. Dalam penggunaannya yang berulang-ulang nonoxynol-9 dapat menyebabkan inflamasi dan ulserasi genital yang dapat menaikkan resiko infeksi HIV-1 pada pria (Weir *et al.*, 1995; Fichorova *et al.*, 2001) serta iritasi epitel vagina pada wanita, sedangkan pada penggunaan ekstrak biji pepaya efek demikian tidak ditemukan sehingga aman untuk digunakan sebagai alat kontrasepsi walaupun dengan pemakaian yang berulang-ulang.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian perasan biji pepaya (*C. papaya* Linn) terhadap motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa domba secara *in vitro* dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Konsentrasi perasan biji pepaya (PBP) 27% dengan waktu paparan 90 menit paling efektif menurunkan motilitas spermatozoa domba secara *in vitro*.
2. Konsentrasi perasan biji pepaya (PBP) 27% dengan waktu paparan 120 menit paling efektif menurunkan viabilitas spermatozoa domba secara *in vitro*.
3. Konsentrasi perasan biji pepaya (PBP) 27% dengan waktu paparan 90 menit paling efektif menurunkan integritas membran spermatozoa domba secara *in vitro*.

### 6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk mempertimbangkan dosis pemberian biji pepaya (*Carica papaya* Linn) serta perlunya pengembangan dan penelitian lebih lanjut tentang biji pepaya (*Carica papaya* Linn) sebagai obat antifertilitas secara *in vitro* dengan mengadakan *swim up* spermatozoa terlebih dahulu agar diperoleh spermatozoa dengan kualitas yang lebih baik.

## RINGKASAN

Biji pepaya (*Carica papaya* Linn) telah lama dikenal sebagai obat tradisional. Dalam bidang kedokteran hewan sendiri utamanya sering digunakan sebagai anthelmintik dan antimikroba. Biji pepaya juga mempunyai efek antifertilitas, namun secara umum penggunaannya masih belum lazim.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Tujuan penelitian ini adalah menentukan pengaruh berbagai konsentrasi perasan biji pepaya dan waktu pemaparan terhadap motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa.

Penelitian ini menggunakan sampel domba dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian terdiri dari dua kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan dengan masing-masing delapan ulangan. Kelompok kontrol terdiri dari kontrol negatif (P1) berisi semen dalam larutan Hank's ditambah larutan Hank's dan kontrol positif (P6) berisi semen dalam larutan Hank's ditambah nonoxynol-9. Kelompok perlakuan (P2, P3, P4 dan P5) masing-masing berisi semen dalam larutan Hank's ditambah perasan biji pepaya dengan konsentrasi berturut-turut, yaitu 1%, 3%, 9% dan 27%. Tiap perlakuan dipaparkan dalam waktu 30, 60, 90 dan 120 menit untuk dihitung motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa secara mikroskopis. Penelitian ini menggunakan disain rancangan faktorial. Data dianalisis dengan Anova yang dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi perasan biji pepaya (PBP) 27% paling efektif menurunkan motilitas, viabilitas dan integritas spermatozoa masing-masing dalam waktu pemaparan 90 menit, 120 menit dan 90 menit.

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk mempertimbangkan dosis pemberian biji pepaya (*C. papaya* Linn) serta perlunya pengembangan dan penelitian lebih lanjut tentang biji pepaya (*C. papaya* Linn) sebagai obat antifertilitas secara *in vitro* dengan mengadakan *swim up* spermatozoa terlebih dahulu agar diperoleh spermatozoa dengan kualitas yang lebih baik.



## DAFTAR PUSTAKA



**DAFTAR PUSTAKA**

- Akah, P.A., Oli, A.N., Enwerem, N.M., Gamaniel, K. 1997. Preliminary Studies on purgative effect of *Carica papaya* root extract. *Fitoterapia* 68: 327-331.
- Anonimus, 1985. Obat golongan fitoterapi. Dep. Kes. Republik Indo. 17-20.
- Arsyad, K.M. 1986. Kemungkinan pengembangan kontrasepsi pria. *MKI* 4. 342-351.
- Bearden, J.H. and Fuquay, J. 1992. Applied animal reproduction. 3<sup>rd</sup> ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. 136-137, 141.
- Chakrabarty, K., Pal, S., Bhattacharyya, A.K., 2003. Sperm immobilization activity of *Allium sativum* L. and other plant extracts. *Asian J androl.* Jun; 5: 131-135.
- Chinoy, N.J., D'Souza J.M., Priya Padman. 1994. Effect of crude aqueous extract of *Carica papaya* seeds on male albino mice. *Reproduction Toxicol.* 8: 75-80.
- Darnell, J.H. Lodish and Baltimore. 1990. Molecular cell biology, Second Edition Sci. Am. Bokks.
- Das, R.P. 1980. Effect of papaya seeds on the genital organs and fertility of male rats. *Indian J. of Experimental Biology.* 18: 408-409.
- Dielmen, S.J., Brander, B.C. and Booman, P. 1992. Clinical trends and basic research in animal reproduction. Elsevier. Amsterdam, London, New York, Tokyo.
- Donaldson, D. 1984. Male contraception review. *J. The Royal Society of Health* 3. (2). 91 – 98.
- Ekaneem, S.B., Okoronkwo, T.E. 2003. Pawpaw seed as fertility control agent on Nile tilapia. *NAGA, WorldFish Center Quarterly.* Vol. 26: No.2.
- Eno, A.E., Owo, O.I., Itam, E.H., Konya, R.S. (2000). Blood pressure depression by the fruit juice of *Carica papaya* L. in renal and DOCA-induced hypertension in the rat. *Phytotherapy Research* 14: 235-239.
- Evenson, D.P., Darzynkiewicz, Z. and Melamed, M.R. (1982). Simultaneous measurement by flow cytometry of sperm cell viability and mitochondrial

membrane potential related to cell motility. *J. Histochem. Cytochem.* 30: 279-280.

Farnsworth, N.R. and D.P. Waller. 1982. Current status of plant products reported inhibit sperm. *Research Frontiers in Fertility Regulation.* 2. 1-16 [+ abstract].

Fichorova, R.N., Tucker, L.D., Anderson, D.J. 2001. The molecular basis of nonoxynol-9-induced vaginal inflammation its possible relevance to human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J infect Dis.* 184: 418-28.

Garner, D.L. and Johnson, L.A. (1995). Viability assesment mamalian sperm using SYBR-14 and Propidium Iodide. *Biol.Reprod.* 57: 539-546.

Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction in farm animal.* 6<sup>th</sup> Edition. Lea and Febiger. Philadelphia.

Hafez, E.S.E. and Prasad, M.R.N. 1976. *Functional aspect of the epididymis. human semen and fertility regulation in men.* St. Louis. The C.V. Mosby Comp.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free radicals in biology and medicine.* 3<sup>rd</sup> ed. Oxford Univ Press. New York.

Hardijanto dan Hardjopranto. 1994. *Ilmu inseminasi buatan.* Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 34-36.

Hegnauer, R. 1964. *Chemotaxonomie der Pflazen* 3. Birkhauser Verlaq Basel und Stuttgart. 373-377.

Henry, T.A. 1949. *The next alkaloids,* 4<sup>th</sup> Edition. J & A. Churchill Ltd. London. 599-600.

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna indonesia.* Jilid III. Terj. Badan Litbang Kehutanan. Penerbit Yayasan Sarana Wana Yana. Jakarta. 1459-1462.

Hinting, A. dan Marlinata, A. 1981. Beberapa obat yang meningkatkan energi spermatozoa. Editor Arsyad, K.M. prosiding Seminar Spermatogenesis Pengurus Besar Perkumpulan Andrologi Indonesia. Surabaya.

Ismudiono, 1999. *Fisiologi reproduksi pada ternak.* Edisi ke-2. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 27-29.

Jeyendran, R.S., Van der Ven, H.H., Perez-Palaez. 1984. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane nd

its Relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fertil.* 70. 210-228 [abstract].

- Lass, A., Agarwal, S., Sohal, R.S. 1997. Mitochondrial ubiquinone homologues, superoxide radical generation and longevity in different mammalian species. *J Biol Chem.* 272. 199-204.
- Lohiya, N.K., Goyal, R.B. 1992. Antifertility on the crude chloroform extract of *Carica papaya* Linn seeds in male albino rats. *Ind J Exp Biol* 30: 1051-5.
- Lohiya, N.K., Mishra, P.K., Pathak, N., Manivannan B., Jain, S.C. 1999. Reversible azoospermia by oral administration of the benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in rabbits. *Advances in Contraception.* 15: 141-61.
- Lohiya, N.K., Kothari, L.K., Manivannan, B., Mishra, P.K., Pathak, N. 2000. Human sperm immobilization effect of *Carica papaya* seed extracts: an *in vitro* study. *Asian J Androl.* 2: 103-9
- Lohiya, N.K., Manivannan, B., Mishra, P.K., Pathak, N., Sriram, S., Bhande, S.S., Panneerdoss, S. 2002. Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in Langur monkey. *Asian Journal of Andrology* 4: 17-26.
- Manuputty, A.H. 1990. Pengobatan tradisional daerah maluku. Dep. P dan K. 170-180.
- Mitaine, A.C., A. Marouf, B. Hanquet, N. Birlirakis and M.A. Lacaile. 2001. Two triterpenoid and saponins from *Achyranthes bidentata*. *Chem Pharm Bull.* 49. (11). 1492-1494.
- Muhidin, D. 2003. Agrobisnis industri papain dan pektin. Cetakan ke III. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Muljana, W. 1982. Bercocok tanam pepaya. C.V. Aneka Ilmu. Semarang.
- Nuraini, I. 1990. Pengaruh perasan daun pepaya gantung (*Carica papaya* Linn) terhadap mortalitas cacing hati sapi (*Fasciola gigantica*) secara *in vitro* [Skripsi]. FMIPA Universitas Airlangga.
- Norkholis, 1992. Daya anthelmintik perasan biji pepaya terhadap cacing *Ascaris suum* secara *in vitro* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Osol, A., G.E. Farrar and R. Pratt. 1955. The dispensatory of United States of America. 25<sup>th</sup> Edition. Lippincott. Company Philadelphia. 1782-1783.

- Partodihardjo, S. 1982. Ilmu reproduksi hewan. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Pathak, N., Mishra, P.K., Manivannan, B., Lohiya, N.K. 2000. Sterility due to inhibition of sperm motility by oral administration of benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in rats. *Phytomedicine*. 7: 325-333.
- Primorac, M., Sekulovic, D., Antonic, S., 1985. *In vitro* Determination of the spermicidal activity of Plant Saponins. *Pharmazie*. 40: 585.
- Purseglove, J.W. 1974. Tropical crops dicotyledon. English Language Book Society/Longman. Singapore. 45-51.
- Rudyanto, M.D. 2001. Serba-serbi manfaat pepaya. Infonet Ed. Juni 2001. Jakarta. Hal. : 34-35.
- Rukmana, R. 1995. Pepaya. budidaya dan pasca panen. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Salisbury, G.W. and Van Demark, N.I. 1985. Fisiologi dan inseminasi buatan pada sapi. Diterjemahkan oleh Januar, R. Gajah Mada Univ Press. Jakarta. 437-439.
- Sari, T.F. 2005. Pengaruh pemberian biji labu merah (*Cucurbita moschata*) terhadap motilitas, viabilitas dan keutuhan membrane spermatozoa secara *in vitro* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Setty, B.S., Kamboj, V.P., Khanna, N.M. 1977. Screening of Indian plants for biological activity: Part VII-Spermicidal Activity of Indian Plants. *Ind. J. Exp. Biol.* 15: 231-2.
- Sharma, V.C. and Ogbeide, O.N. 1982. Pawpaw as a renewable energy resource for the production of alcohol fuels. *Energy* 7(10): 871-873.
- Siregar, P. 1992. Metabolit oksigen radikal bebas dan kerusakan jaringan. *Cermin Dunia Kedokteran*. 80. 112-115.
- Soeradi, O. 1986. Meneliti tanaman yang berkhasiat kontrasepsi. *Medika* No.3. Tahun 12. 224.
- Sri Sugati, S. dan Johny R.H. 1991. Dep. Kesehatan Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Subrata, 1998. Pemberian fosfolipid esensial dan antioksidan (Vitamin E) meningkatkan integritas membran spermatozoa [Disertasi Doktor]. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Suprihatin, M.K. Tahjudin dan J. Sabikun. 1986. Pengaruh penyuntikan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) pada mencit (*Mus musculus*) betina strain CBR terhadap laju fertilitas. MKI vol.36. No.6. 276-277.
- Suri, A. 2004. Sperm specific protein candidat molecular for fertility control. National Institut of Technology. New Delhi. India.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. Taksonomi tumbuhan (Spermatophyta). Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Toelihere, M.R. 1981. Fisiologi reproduksi pada ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Verma, R.J., Chinoy, N.J. 2002. Effect of papaya seed extract on contractile response of cauda epididymal tubules. Asian J Androl. 4: 77-78
- Wagner, H. and Wolff, P. 1976. New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity. Springer – Verlag. Berlin Heidelberg. 35-37.
- Weir, S.S., Roody, R.E., Zekeng, L., Feldbium, P.J. 1995. Nonoxynol-9 use, genital ulcer, and HIV Infection in a Cohort of Sex Workers. Genitourin Med. 71: 78-81.
- Wijaya, A. 1996. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. Forum diagnostikum prodia diagnostics education services. 1-12.
- Zanevelt, L.J.D. 1985. The biology of human spermatozoa in proceeding Pandi Congress Pandi. Jakarta.

<http://en.wikipedia.org/wiki/Saponin> (November 2006)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Spermatozoa> (November 2006)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Nonoxynol-9> (Januari 2007)

# LAMPIRAN

**LAMPIRAN****Lampiran 1. Uraian analisis hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa****Data hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa (%)**

Perlakuan	Ulangan	Motilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	80	75	60	55
	2	80	70	65	55
	3	85	75	65	50
	4	85	75	60	55
	5	85	75	60	55
	6	80	70	60	55
	7	80	70	65	50
	8	80	75	60	55
P2	1	70	65	50	45
	2	75	65	55	40
	3	70	65	55	40
	4	70	60	55	45
	5	70	65	50	40
	6	75	60	50	40
	7	70	65	50	40
	8	70	65	50	40
P3	1	60	55	45	40
	2	65	55	50	40
	3	60	55	40	35
	4	60	55	40	35
	5	60	55	45	35
	6	60	55	45	35
	7	65	60	40	35
	8	60	55	40	35
P4	1	50	40	35	25
	2	50	40	30	25
	3	50	35	30	25
	4	50	35	30	25
	5	55	35	30	20
	6	50	40	35	25
	7	50	35	30	25
	8	50	35	30	25
P5	1	15	5	0	0
	2	15	5	0	0
	3	10	0	0	0
	4	10	0	0	0
	5	10	5	0	0
	6	15	0	0	0
	7	15	0	0	0
	8	15	5	0	0
P6	1	10	0	0	0
	2	10	0	0	0
	3	10	0	0	0
	4	5	0	0	0
	5	5	0	0	0
	6	5	0	0	0
	7	5	0	0	0
	8	10	0	0	0

## Lanjutan

## Data pemeriksaan motilitas spermatozoa setelah ditransformasi (%)

Perlakuan	Ulangan	Motilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	63,44	60,00	50,77	47,87
	2	63,44	56,79	53,73	47,87
	3	67,21	60,00	53,73	45,00
	4	67,21	60,00	50,77	47,87
	5	67,21	60,00	50,77	47,87
	6	63,44	56,79	50,77	47,87
	7	63,44	56,79	53,73	45,00
	8	63,44	60,00	50,77	47,87
P2	1	56,79	53,73	45,00	42,13
	2	60,00	53,73	47,87	39,23
	3	56,79	53,73	47,87	39,23
	4	56,79	50,77	47,87	42,13
	5	56,79	53,73	45,00	39,23
	6	60,00	50,77	45,00	39,23
	7	56,79	53,73	45,00	39,23
	8	56,79	53,73	45,00	39,23
P3	1	50,77	47,87	42,13	39,23
	2	53,73	47,87	45,00	39,23
	3	50,77	47,87	39,23	36,27
	4	50,77	47,87	39,23	36,27
	5	50,77	47,87	42,13	36,27
	6	50,77	47,87	42,13	36,27
	7	53,73	50,77	39,23	36,27
	8	50,77	47,87	39,23	36,27
P4	1	45,00	39,23	36,27	30,00
	2	45,00	39,23	33,21	30,00
	3	45,00	36,27	33,21	30,00
	4	45,00	36,27	33,21	30,00
	5	47,87	36,27	33,21	26,56
	6	45,00	39,23	36,27	30,00
	7	45,00	36,27	33,21	30,00
	8	45,00	36,27	33,21	30,00
P5	1	22,79	12,92	0,03	0,03
	2	22,79	12,92	0,03	0,03
	3	18,44	0,03	0,03	0,03
	4	18,44	0,03	0,03	0,03
	5	18,44	12,92	0,03	0,03
	6	22,79	0,03	0,03	0,03
	7	22,79	0,03	0,03	0,03
	8	22,79	12,92	0,03	0,03
P6	1	18,44	0,03	0,03	0,03
	2	18,44	0,03	0,03	0,03
	3	18,44	0,03	0,03	0,03
	4	12,92	0,03	0,03	0,03
	5	12,92	0,03	0,03	0,03
	6	12,92	0,03	0,03	0,03
	7	12,92	0,03	0,03	0,03
	8	18,44	0,03	0,03	0,03



Lanjutan

Gambaran statistik motilitas spermatozoa

## Descriptive Statistics

Dependent Variable: Motilitas Arc.SinVy%

Waktu	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
30 menit	P1	64.8538	1.95116	8
	P2	57.5925	1.48594	8
	P3	51.5100	1.37021	8
	P4	45.3588	1.01470	8
	P5	21.1588	2.25134	8
	P6	15.6800	2.95056	8
	Total		42.6923	18.50233
60 menit	P1	58.7963	1.66133	8
	P2	52.9900	1.37021	8
	P3	48.2325	1.02530	8
	P4	37.3425	1.48019	8
	P5	6.4750	6.88999	8
	P6	.0300	.00000	8
	Total		33.9777	23.15251
90 menit	P1	51.8800	1.53195	8
	P2	46.0763	1.48537	8
	P3	40.9888	2.19796	8
	P4	33.9750	1.41650	8
	P5	.0300	.00000	8
	P6	.0300	.00000	8
	Total		28.8300	21.32580
120 menit	P1	47.1525	1.32855	8
	P2	39.9050	1.37399	8
	P3	36.9850	1.32392	8
	P4	29.5700	1.21622	8
	P5	.0300	.00000	8
	P6	.0300	.00000	8
	Total		25.6121	19.03276
Total	P1	55.6706	7.00913	32
	P2	49.1409	6.96713	32
	P3	44.4291	6.01459	32
	P4	36.5616	5.99872	32
	P5	6.9234	9.42005	32
	P6	3.9425	7.02639	32
	Total		32.7780	21.42617

Lanjutan

Data sidik ragam motilitas spermatozoa

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	87010.168	23	3783.051	942.583	.000
Intercept	206284.54	1	206284.54	51397.758	.000
Waktu	8000.138	3	2666.713	664.437	.000
Perlakuan	78138.407	5	15627.681	3893.785	.000
Waktu * Perlakuan	871.621	15	58.108	14.478	.000
Error	674.267	168	4.013		
Total	293968.96	192			
Corrected Total	87684.428	191			

a. R Squared = .992 (Adjusted R Squared = .991)

Dependent Variable: Motilitas Arc.SinVy%

Post Hoc Tests

Waktu Pengamatan

**Pengamatan motilitas spermatozoa pada menit ke- (%)**

**Motilitas Arc.SinVy%**

Duncan<sup>a,b</sup>

Waktu	N	Subset			
		1	2	3	4
120 menit	48	25.6121			
90 menit	48		28.8300		
60 menit	48			33.9777	
30 menit	48				42.6923
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 4.013.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 48.000.

b. Alpha = .05.

Lanjutan

Post Hoc Tests

Konsentrasi PBP

Pengamatan motilitas spermatozoa sesudah diberi konsentrasi PBP (%)

Motilitas Arc.Sin Vy%

Duncan<sup>a,b</sup>

Perlakuan	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
P6	32	3.9425					
P5	32		6.9234				
P4	32			36.5616			
P3	32				44.4291		
P2	32					49.1409	
P1	32						55.6706
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 4.013.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 32.000.

b. Alpha = .05.

Lanjutan

Rata-rata motilitas spermatozoa perlakuan kombinasi

Interaksi Waktu Pengamatan\*Konsentrasi PBP

Motilitas spermatozoa (%)

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13								
60menit*P6	8	.0300																				
90menit*P5	8	.0300																				
90menit*P6	8	.0300																				
120menit*P5	8	.0300																				
120menit*P6	8	.0300																				
60menit*P5	8		6.475																			
30menit*P6	8			15.68																		
30menit*P5	8				21.159																	
120menit*P4	8					29.57																
90menit*P4	8						33.975															
120menit*P3	8							36.985														
60menit*P4	8								37.343													
120menit*P2	8									39.905												
90menit*P3	8										40.989											
30menit*P4	8											45.359										
90menit*P2	8												46.076									
120menit*P1	8													47.153								
60menit*P3	8														47.153							
30menit*P3	8															48.233						
90menit*P1	8																51.510					
60menit*P2	8																	51.880				
30menit*P2	8																		52.990			
60menit*P1	8																			57.593		
30menit*P1	8																				58.796	
60menit*P1	8																					64.854
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.722	.281	.092	.282	.166	.231	1.000								

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

## Lampiran 2. Uraian analisis hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa

## Data hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa (%)

Perlakuan	Ulangan	Viabilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	92	85	82	78
	2	90	82	79	74
	3	90	86	80	77
	4	90	85	81	77
	5	88	80	76	72
	6	93	85	78	72
	7	93	88	81	76
	8	90	85	83	78
P2	1	86	81	77	73
	2	84	78	73	71
	3	86	79	71	68
	4	87	78	73	69
	5	84	78	70	68
	6	85	80	77	73
	7	84	78	74	69
	8	88	82	76	68
P3	1	78	71	67	61
	2	78	70	63	59
	3	76	70	65	58
	4	79	73	67	59
	5	76	70	67	61
	6	78	71	65	58
	7	75	70	62	57
	8	78	72	65	58
P4	1	64	56	39	31
	2	65	54	40	31
	3	64	56	42	27
	4	64	55	40	27
	5	61	56	40	27
	6	63	52	43	27
	7	63	52	38	28
	8	64	52	40	28
P5	1	36	25	19	10
	2	34	23	19	10
	3	34	27	21	15
	4	38	23	17	10
	5	36	23	19	12
	6	39	21	17	10
	7	34	25	20	12
	8	35	26	20	10
P6	1	38	27	18	15
	2	36	27	21	15
	3	35	24	16	10
	4	35	28	17	10
	5	34	27	17	10
	6	35	23	18	10
	7	36	25	17	10
	8	36	27	20	10

## Lanjutan

## Data hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa setelah ditransformasi (%)

Perlakuan	Ulangan	Viabilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	73,57	67,21	64,90	62,03
	2	71,46	64,90	62,72	59,34
	3	71,56	68,03	63,44	61,34
	4	71,56	67,21	64,16	61,34
	5	69,73	63,44	60,67	58,05
	6	74,66	67,21	62,03	58,05
	7	74,66	69,73	64,16	60,67
	8	71,56	67,21	65,65	62,0368,03
P2	1	68,03	64,16	61,34	58,69
	2	66,42	62,03	58,69	57,42
	3	68,03	62,72	57,42	55,55
	4	68,87	62,03	58,69	56,17
	5	66,42	62,03	56,79	55,55
	6	67,21	63,44	61,34	58,69
	7	66,42	62,03	59,34	56,17
	8	69,73	64,90	60,67	55,55
P3	1	62,03	57,42	54,94	51,35
	2	62,03	56,79	52,33	50,18
	3	60,67	56,79	53,73	49,60
	4	62,72	58,69	54,94	50,18
	5	60,67	56,79	54,94	51,35
	6	62,03	57,42	53,73	49,60
	7	60,00	56,79	51,94	49,02
	8	62,03	58,05	53,73	49,60
P4	1	53,13	48,45	38,65	33,83
	2	53,73	47,29	39,23	33,83
	3	53,13	48,45	40,40	31,31
	4	53,13	47,87	39,23	31,31
	5	51,35	48,45	39,23	31,31
	6	52,33	46,15	40,98	31,31
	7	52,33	46,15	38,06	31,95
	8	53,13	46,15	39,23	31,95
P5	1	36,87	30,00	25,84	18,44
	2	35,67	28,66	25,84	18,44
	3	35,67	31,31	27,28	22,79
	4	38,06	28,66	24,35	18,44
	5	36,87	28,66	25,84	20,27
	6	38,65	27,28	24,35	18,44
	7	35,67	30,00	26,56	20,27
	8	36,27	30,66	26,56	18,44
P6	1	38,06	31,31	25,10	22,79
	2	36,87	31,31	27,28	22,79
	3	36,27	29,33	23,58	18,44
	4	36,27	31,95	24,35	18,44
	5	35,67	31,31	24,35	18,44
	6	36,27	28,66	25,10	18,44
	7	36,87	30,00	24,35	18,44
	8	36,87	31,31	26,56	18,44

Lanjutan

Gambaran statistik viabilitas spermatozoa

## Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viabilitas Arc.SinVy%

Waktu	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
30 menit	P1	72.3575	1.75340	8
	P2	67.6038	1.28989	8
	P3	61.5225	.94383	8
	P4	52.8325	.71117	8
	P5	36.7163	1.13863	8
	P6	36.6438	.70979	8
	Total	54.6127	14.20020	48
60 menit	P1	66.8675	1.91361	8
	P2	62.9175	1.12990	8
	P3	57.3425	.71207	8
	P4	47.3700	1.08370	8
	P5	29.4038	1.31436	8
	P6	30.6475	1.16848	8
	Total	49.0915	14.95795	48
90 menit	P1	63.4663	1.61362	8
	P2	59.2850	1.72290	8
	P3	53.8100	1.13296	8
	P4	39.3763	.92316	8
	P5	25.8275	1.03850	8
	P6	25.2663	1.35184	8
	Total	44.5052	15.54201	48
120 menit	P1	60.3488	1.67269	8
	P2	57.0550	2.05389	8
	P3	50.1100	.84966	8
	P4	32.1000	1.10371	8
	P5	19.4413	1.58566	8
	P6	19.5275	2.01366	8
	Total	39.7638	17.13328	48
Total	P1	65.7600	4.81710	32
	P2	61.7153	4.32861	32
	P3	55.6963	4.38170	32
	P4	42.9197	8.04780	32
	P5	27.8472	6.45804	32
	P6	28.0213	6.57975	32
	Total	46.9933	16.33211	192

Lanjutan

Data sidik ragam viabilitas spermatozoa

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	50640.398	23	2201.756	1206.785	.000
Intercept	424006.749	1	424006.749	232398.533	.000
Waktu	5803.903	3	1934.634	1060.375	.000
Perlakuan	44408.789	5	8881.758	4868.100	.000
Waktu*Perlakuan	427.706	15	28.514	15.628	.000
Error	306.513	168	1.824		
Total	474953.659	192			
Corrected Total	50946.910	191			

R<sup>2</sup>Squared = .994 (Adjusted R Squared = .993)

Dependent Variable: Viabilitas Arc.SinVy%

Post Hoc Tests

Waktu Pengamatan

Pengamatan viabilitas spermatozoa pada menit ke- (%)

**Viabilitas Arc.SinVy%**

Duncan<sup>a,b</sup>

Waktu	N	Subset			
		1	2	3	4
120 menit	48	39.7638			
90 menit	48		44.5052		
60 menit	48			49.0915	
30 menit	48				54.6127
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.824.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 48.000.

b. Alpha = .05.



Lanjutan

Post Hoc Tests

Konsentrasi PBP

Pengamatan viabilitas spermatozoa sesudah diberi konsentrasi PBP (%)

**Viabilitas Arc.SinVy%**

Duncan<sup>a,b</sup>

Perlakuan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
P5	32	27.8472				
P6	32	28.0213				
P4	32		42.9197			
P3	32			55.6963		
P2	32				61.7153	
P1	32					65.7600
Sig.		.607	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.824.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 32.000.

b. Alpha = .05.

Lanjutan

Rata-rata viabilitas spermatozoa perlakuan kombinasi

Interaksi Waktu Pengamatan\*Konsentrasi PBP

Spermatozoa hidup (%)

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
120menit*P5	8	19.44														
120menit*P6	8	19.53														
90menit*P6	8		25.27													
90menit*P5	8		25.83													
60menit*P5	8			29.40												
60menit*P6	8			30.65												
120menit*P4	8				32.10											
30menit*P6	8					36.64										
30menit*P5	8					36.72										
90menit*P4	8						39.38									
60menit*P4	8							47.37								
120menit*P3	8								50.11							
30menit*P4	8									52.83						
90menit*P3	8									53.81						
120menit*P2	8										57.06					
60menit*P3	8										57.34					
90menit*P2	8											59.29				
120menit*P1	8											60.35	60.35			
30menit*P3	8												61.52			
60menit*P2	8													62.92		
90menit*P1	8													63.47		
60menit*P1	8														66.87	
30menit*P2	8														67.60	
30menit*P1	8															72.36
Sig.		.899	.407	.067	1.000	.915	1.000	1.000	1.000	.150	.671	.117	.084	.418	.277	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

## Lampiran 3. Uraian analisis hasil pemeriksaan integritas membran spermatozoa

## Data hasil pemeriksaan integritas membran spermatozoa (%)

Perlakuan	Ulangan	Viabilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	80	77	72	65
	2	78	75	70	63
	3	78	74	69	65
	4	76	74	70	65
	5	78	74	68	63
	6	80	75	68	64
	7	80	73	68	65
	8	82	75	70	65
P2	1	76	70	67	61
	2	70	66	60	55
	3	68	63	59	52
	4	75	69	62	58
	5	72	66	60	56
	6	70	68	63	55
	7	74	62	59	52
	8	70	65	62	57
P3	1	70	66	61	56
	2	64	59	55	51
	3	66	57	51	48
	4	68	60	54	48
	5	64	59	54	50
	6	61	56	52	46
	7	69	62	55	49
	8	66	60	56	50
P4	1	58	50	46	39
	2	49	43	35	31
	3	50	43	38	33
	4	52	40	36	30
	5	48	39	35	30
	6	48	37	32	28
	7	56	42	36	32
	8	53	40	35	30
P5	1	47	38	30	18
	2	36	31	26	15
	3	39	32	26	12
	4	40	34	25	10
	5	35	29	22	10
	6	37	30	21	10
	7	39	32	20	12
	8	39	32	22	15
P6	1	35	23	17	12
	2	39	20	15	10
	3	33	25	20	13
	4	35	21	15	10
	5	38	20	14	10
	6	36	22	15	10
	7	35	23	12	8
	8	38	20	15	10

Lanjutan

Data hasil pemeriksaan integritas membran spermatozoa setelah transformasi (%)

Perlakuan	Ulangan	Viabilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	63,44	61,34	58,05	53,73
	2	62,03	60,00	56,79	52,53
	3	62,03	59,34	56,17	53,73
	4	60,67	59,34	56,79	53,73
	5	62,09	59,34	55,55	52,53
	6	63,44	60,00	55,55	53,13
	7	63,44	58,69	55,55	53,73
	8	64,90	60,00	56,79	53,73
P2	1	60,67	56,79	54,94	51,35
	2	56,79	54,33	50,77	47,87
	3	55,55	52,53	50,18	46,,15
	4	60,00	56,17	51,94	49,60
	5	58,05	54,33	50,77	48,45
	6	56,79	55,55	52,53	47,87
	7	59,34	51,94	50,18	46,15
	8	56,79	53,73	51,94	49,02
P3	1	56,79	54,33	51,35	48,45
	2	53,13	50,18	47,87	45,45
	3	54,33	49,02	45,57	43,85
	4	55,55	50,77	47,29	43,85
	5	53,13	50,18	47,29	45,00
	6	51,35	48,45	46,15	42,71
	7	56,17	51,94	47,29	44,43
	8	54,33	50,77	48,45	45,00
P4	1	49,60	45,00	42,71	38,65
	2	44,43	40,98	36,27	33,83
	3	45,00	40,98	38,06	35,06
	4	46,15	39,23	36,27	33,21
	5	43,85	38,65	36,27	33,21
	6	43,85	37,47	34,45	31,95
	7	48,45	40,40	36,87	34,45
	8	46,72	39,23	36,87	33,21
P5	1	43,26	38,06	33,21	25,10
	2	36,87	33,83	30,66	22,79
	3	38,65	34,45	30,66	20,27
	4	39,23	35,67	30,00	18,44
	5	36,27	30,00	30,00	18,44
	6	37,47	33,21	27,97	18,44
	7	38,65	34,45	27,28	20,27
	8	38,65	34,45	26,56	22,79
P6	1	36,27	28,66	24,35	20,27
	2	38,65	26,56	22,79	18,44
	3	35,06	30,00	26,56	21,13
	4	36,27	27,28	22,79	18,44
	5	38,06	26,56	21,97	18,44
	6	36,87	27,97	22,79	18,44
	7	36,27	28,66	20,77	15,34
	8	38,06	26,,56	22,79	18,44

Lanjutan

Gambaran statistik integritas membran spermatozoa

## Descriptive Statistics

Dependent Variable: Membran Arc.SinVy%

Waktu	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
30 menit	P1	62.7475	1.30561	8
	P2	57.9975	1.82529	8
	P3	54.3475	1.80014	8
	P4	46.0063	2.14519	8
	P5	38.6313	2.13176	8
	P6	36.9388	1.21414	8
	Total		49.4448	9.90027
60 menit	P1	59.7563	.78769	8
	P2	54.4213	1.69752	8
	P3	50.7050	1.81855	8
	P4	40.2425	2.26840	8
	P5	34.2650	2.26688	8
	P6	27.7813	1.26652	8
	Total		44.5285	11.58458
90 menit	P1	56.4050	.87823	8
	P2	51.6563	1.58732	8
	P3	47.6575	1.74614	8
	P4	37.2213	2.43402	8
	P5	29.2888	2.22332	8
	P6	23.0388	1.81951	8
	Total		40.8779	12.28800
120 menit	P1	53.3550	.54968	8
	P2	48.3075	1.73813	8
	P3	44.8800	1.71397	8
	P4	34.1963	2.02640	8
	P5	20.8175	2.49795	8
	P6	18.6175	1.68790	8
	Total		36.6956	13.56817
Total	P1	58.0659	3.68780	32
	P2	53.0956	3.96983	32
	P3	49.3975	3.95507	32
	P4	39.4166	4.91169	32
	P5	30.7506	7.06681	32
	P6	26.5941	7.05318	32
	Total		42.8867	12.71738

Lanjutan

Data sidik ragam integritas membran spermatozoa

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Membran Arc.SinVy%

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	30347.788 <sup>a</sup>	23	1319.469	408.247	.000
Intercept	353139.964	1	353139.964	109262.322	.000
Waktu	4227.304	3	1409.101	435.979	.000
Perlakuan	25657.540	5	5131.508	1587.700	.000
Waktu * Perlakuan	462.944	15	30.863	9.549	.000
Error	542.982	168	3.232		
Total	384030.734	192			
Corrected Total	30890.770	191			

a. R Squared = .982 (Adjusted R Squared = .980)

Post Hoc Tests

Waktu Pengamatan

Pengamatan integritas membran spermatozoa pada menit ke- (%)

**Membran Arc.SinVy%**

Duncan<sup>a,b</sup>

Waktu	N	Subset			
		1	2	3	4
120 menit	48	36.6956			
90 menit	48		40.8779		
60 menit	48			44.5285	
30 menit	48				49.4448
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.232.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 48.000.

b. Alpha = .05.

Lanjutan

Post Hoc Tests

Konsentrasi PBP

Pengamatan integritas membran spermatozoa sesudah diberi konsentrasi PBP (%)

**Integritas membran Arc.SinVy%**

Duncan <sup>a,b</sup>		Subset					
Perlakuan	N	1	2	3	4	5	6
P6	32	26.594					
P5	32		30.750				
P4	32			39.416			
P3	32				49.397		
P2	32					53.095	
P1	32						58.065
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.232.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 32.000.

b. Alpha = .05.

Lanjutan

Rata-rata integritas membran spermatozoa perlakuan kombinasi

Interaksi Waktu Pengamatan\*Konsentrasi PBP

Integritas membran spermatozoa (%)

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
120menit*P6	8	18.62															
120menit*P5	8		20.82														
90menit*P6	8			23.04													
60menit*P6	8				27.78												
90menit*P5	8				29.29												
120menit*P4	8					34.20											
60menit*P5	8					34.27											
30menit*P6	8						36.94										
90menit*P4	8						37.22										
30menit*P5	8						38.63	38.63									
60menit*P4	8							40.24									
120menit*P3	8								44.88								
30menit*P4	8								46.01	46.01							
90menit*P3	8									47.66	47.66						
120menit*P2	8										48.31						
60menit*P3	8											50.71					
90menit*P2	8											51.66	51.66				
120menit*P1	8												53.36	53.36			
30menit*P3	8													54.35			
60menit*P2	8													54.42			
90menit*P1	8														56.41		
30menit*P2	8														58.00	58.00	
60menit*P1	8															59.76	
30menit*P1	8																62.75
Sig.		1.000	1.000	1.000	.095	.939	.076	.075	.212	.068	.471	.291	.061	.267	.078	.052	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.



## Lampiran 4. Komposisi larutan Hank's dan HOS

Larutan Hank's *Balanced Salt Solution*

Komposisi	mg/L
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	1855
KCl	400
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	60
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	200
NaCl	8000
NaHCO <sub>3</sub>	350
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	47,5
D. glukosa	1000
Phenol Red Sodium sol	17

Sumber : Bichemical Organic Compounds for Research and Diagnostic Reagens. 1984. Sigma Chemica Company.

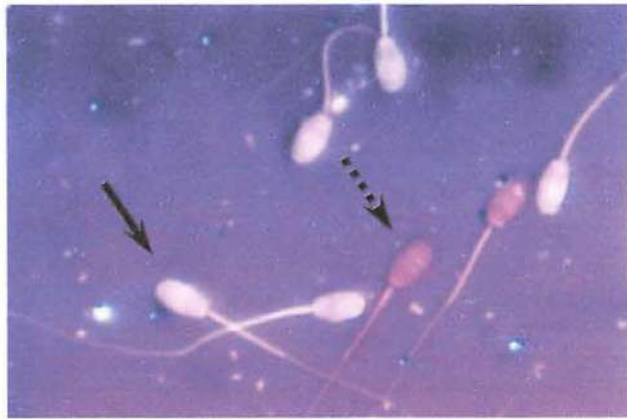
Larutan HOS (*Hypo Osmotic Swelling*)

Komposisi	
Natrium citrat 2H <sub>2</sub> O	7,35 g
Fruktosa	13,52 g
Aquades ad	1000 ml

Pembuatan larutan HOS : 7, 35 gram Natrium citrat 2H<sub>2</sub>O dan 13, 52 gram Fruktosa dilarutkan dalam 1000 ml aquadest, maka akan didapatkan larutan hipoosmotik 150 m osmol.

Jeyendran, R.S. , H.H. Van der Ven, Perez-Pelaez. 1984

Lampiran 5. Tampilan gambar hasil pemeriksaan spermatozoa



Spermatozoa hidup dan mati

Keterangan :

- ➔ Spermatozoa hidup
- ➔ Spermatozoa mati

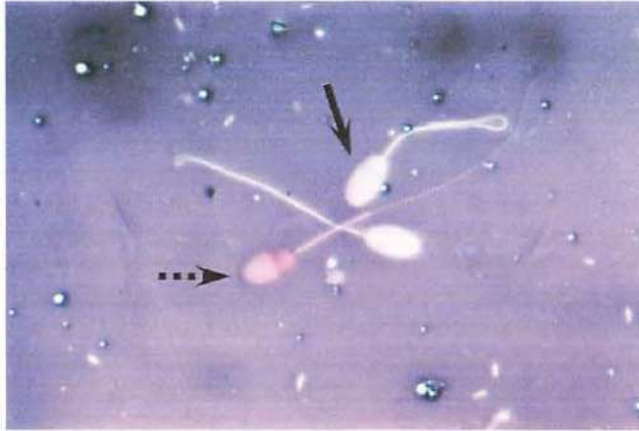


Spermatozoa yang mengalami swelling

Keterangan :

- ➔ Spermatozoa hidup yang membrannya utuh
- ➔ Spermatozoa hidup yang membrannya rusak

## Lampiran 6. Tampilan gambar hasil pemeriksaan spermatozoa



Spermatozoa yang mengalami swelling

Keterangan :

- Spermatozoa hidup yang membrannya utuh
- Spermatozoa mati yang membrannya rusak



Spermatozoa yang mengalami swelling

Keterangan :

- Spermatozoa hidup yang membrannya utuh
- Spermatozoa mati yang membrannya utuh