

Mekanisme Antifertilitas Fraksi Biji Pepaya pada Tikus Jantan

Sri Nita^{1*}, Lusia Hayati¹, Subandrate²

¹Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

²Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

E-mail: srinita1970@gmail.com

ABSTRAK

Biji pepaya dapat bersifat sebagai antifertilitas. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa dan mekanisme antifertilitas fraksi biji pepaya pada tikus jantan dari berat vesikula seminalis dan prostat serta jumlah spermatis primer dan spermatisid. Jenis penelitian eksperimental secara *in vivo* dengan rancangan acak lengkap. Hewan uji adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) galur Sprague Dawley usia 60 hari dengan berat badan 200-210 g. Dosis pemberian 100mg/kg bb selama 24 hari. Senyawa yang dikandung oleh fraksi didapat melalui uji fitokimia. Hasil penelitian memperlihatkan senyawa yang ditemukan pada fraksi nHeksan adalah steroid, terpenoid, saponin, flavonoid. Fraksi etil asetat terdapat senyawa steroid, terpenoid dan flavonoid. Fraksi etanol air mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid. Berat vesikula seminalis dan prostat meningkat dibandingkan kontrol. Rerata jumlah spermatis primer dan spermatisid menurun secara nyata pada semua fraksi namun penurunan terendah pada fraksi nHeksan. Dapat disimpulkan mekanisme antifertilitas fraksi biji pepaya adalah melalui penurunan rerata jumlah spermatis primer dan spermatisid.

Kata kunci: Fraksi biji pepaya, spermatis primer, spermatisid

Abstract

Mechanism of the antifertility fraction of papaya seeds on male rats. Papaya seeds can have an antifertility effect. This study was conducted to determine the compound and mechanism of antifertility of papaya seed fraction in male rats from the weight of seminal vesicles and prostate and the number of primary spermatocytes and spermatids. This type of experimental research was *in vivo* with a completely randomized design. The test animals were male rats (*Rattus norvegicus* L.) Sprague Dawley strain aged 60 days with a body weight of 200-210 g. Dosage of 100 mg / kg for 24 days. Compounds contained by fractions were obtained through phytochemical tests. The results showed that the compounds found in the nHexan fraction were steroids, terpenoids, saponins, flavonoids. Ethyl acetate fractions include steroid compounds, terpenoids and flavonoids. The ethanol fraction of water contains terpenoids and flavonoids. The weight of the seminal vesicles and prostate increased compared to the controls. The mean number of primary spermatocytes and spermatids decreased significantly in all fractions but the lowest decrease was in the nHexan fraction. It can be concluded that the antifertility mechanism of papaya seed fraction is through a decrease in the average number of primary spermatocytes and spermatids.

Keywords: papaya seed fraction, primary spermatocytes, spermatids

1. Pendahuluan

Penggunaan alat kontrasepsi masih dominan oleh perempuan.¹ Penggunaan kontrasepsi pria saat ini hanya kondom dan vasektomi. Salah satu kekhawatiran para pria setelah melakukan vasektomi ialah mereka merasakan kehilangan kejantannya dan pria takut terjadi impotensi karena vasektomi sehingga pria enggan menjalani vasektomi.² Hal ini membuat para pakar berusaha untuk mencari cara yang aman untuk para pria, tetapi tidak akan membuat para pria merasa dihilangkan kejantannya. Salah satu cara adalah beralih ke tanaman yang dapat menghambat spermatogenesis.

Proses spermatogenesis terjadi dalam tubulus seminiferus testis, proses ini dalam keadaan normal dapat terjadi setiap saat. Kualitas spermatozoa dapat dilihat dari berbagai faktor antara lain: morfologi (abnormalitas sperma), motilitas (gerak cepat) dan kuantitas spermatozoa atau jumlah spermatozoa.³

Spermatogenesis dapat terjadi melalui beberapa tahap pembelahan. Tahap awalnya spermatogonia akan mengalami perubahan menjadi spermatosit primer, kemudian menjadi spermatosit sekunder dan menjadi spermatid. Sebelum spermatid menjadi spermatozoa ada fase yang dilewati spermatid yang disebut fase spermiogenesis. Fase ini terdiri dari pembentukan akrosom dan flagella bertujuan untuk membentuk morfologi normal spermatozoa yang terdiri dari kepala, leher dan ekor yang normal.⁴ Jumlah sperma yang dihasilkan testis tidak cukup untuk mendiagnosis fertil atau infertilitasnya seseorang. Karena ada kalanya jumlah spermatozoa yang normal tetapi bila memiliki morfologi dan kecepatan yang kurang baik akan menyebabkan infertil. Sebaiknya dengan jumlah spermatozoa yang sedikit tapi memiliki morfologi dan kecepatan normal maka masih bisa fertil.^{5,6}

Jumlah spermatozoa yang dihasilkan sangat tergantung pada proses langsung yang terjadi selama proses spermatogenesis dalam tubulus semineferus. Bila spermatogenesis berlangsung normal maka akan dihasilkan jumlah spermatozoa yang normal juga. sebaliknya jika selama proses spermatogenesis terjadi gangguan, maka perkembangan sel spermatogonium akan mempengaruhi jumlah spermatozoa yang terbentuk. Hal ini sangat tergantung pada besarnya gangguan yang terjadi selama proses spermatogenesis.⁷

Biji pepaya berkhasiat sebagai obat cacing gelang, diare, obat masuk angin, gangguan pencernaan, penyakit kulit, dan antibakteri.⁸ Pada tanaman biji pepaya terdapat kandungan zat kimia yaitu golongan fenol, triferpenoid, flavanoid, alkaloid dan saponin. Dengan adanya kandungan senyawa aktif tersebut biji pepaya memiliki sifat antifertilitas dan dapat digunakan sebagai alat kontrasepsi pada pria.⁹ Beberapa penelitian juga membuktikan bahwa biji pepaya mempunyai efek antifertilitas.¹⁰ Penelitian mengenai pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol biji pepaya (*Carica papaya* L) dengan dosis 100mg/KgBB berpengaruh terhadap penurunan berat organ reproduksi.¹¹ Bobot testis yang lebih rendah dari kontrol negatif disebabkan terganggunya oleh pertumbuhan dan perkembangan sel-sel spermatogenik dalam organ reproduksi jantan. Pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol biji pepaya mengakibatkan terhambat dan berkurangnya perkembangan sel Leydig. Pemberian ekstrak biji pepaya dapat menyebabkan infertil dengan berkurangnya jumlah sperma dan motilitas yang menurun.¹²

Pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L) terhadap kualitas spermatozoa tikus Wistar terjadi penurunan kualitas spermatozoa dalam aspek morfologi, yaitu ditemukannya abnormalitas primer diduga

karena adanya gangguan spermatogenesis yaitu saat pembentukan spermatozoa dari spermatid, sedangkan abnormalitas sekunder diduga terjadinya gangguan pada saat maturasi spermatozoa di epididimis.¹³

Biji pepaya mengandung protein, beberapa enzim seperti papain, karpasemin, myrosin, alkaloid, caricain, oleanolic glycoside, carpain dan glukosinolat. Senyawa-senyawa tersebut terlarut dalam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda sehingga masing-masing fraksi menunjukkan aktivitas antifertilitas dengan kekuatan yang berbeda. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai mekanisme dalam memberikan efek antifertilitas. Pepaya juga mempunyai alkaloid karpain yang berpengaruh menurunkan jumlah spermatozoa dan motilitas.¹⁴ Penelitian bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam fraksi dan mekanisme antifertilitas fraksi biji pepaya pada tikus jantan.

2. Metode Penelitian

Jenis penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimen menggunakan hewan coba tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Rancangan penelitian yang digunakan untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan terhadap hewan uji adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), yaitu rancangan dengan beberapa perlakuan dan disusun secara random untuk seluruh unit percobaan dengan teknik post test only. Kelompok perlakuan dalam eksperimen ini adalah kelompok tikus yang diberikan ekstrak dan fraksi biji pepaya (*Carica papaya* L) dan kelompok kontrol diberi larutan CMC 1% secara oral.

Objek Penelitian

Hewan uji yang dilakukan dalam penelitian ini adalah Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*). Sebanyak 28 ekor yang berumur

60 hari. Hewan ini diperoleh dari Fakultas Perternakan IPB.

Persiapan Bahan Uji

Simplisia biji pepaya (*Carica papaya* L) sebanyak 1,5 kg diekstraksi dengan cara maserasi. Simplisia biji pepaya lalu lakukan maserasi dengan pelarut metanol sebanyak 1 Liter selama 2x24 jam didalam alat ekstraktor kemudian disaring menggunakan kertas saring. Setelah itu dilakukan proses evaporasi yaitu larutan yang telah didiamkan dimasukkan dalam labu, labu evaporasi dipasang pada evaporator dan water bath diisi dengan air sampai penuh kemudian dipanaskan diatur hingga suhu 70°C dan dibiarkan sampai larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu setelah itu dilanjutkan menggunakan penangas air. Ekstrak biji pepaya yang didapat kemudian dimasukkan kedalam gelas kaca.

Proses Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan untuk menarik macam-macam senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji pepaya sesuai dengan kepolarannya, pelarut n-heksan akan melarutkan senyawa nonpolar, pelarut etil asetat akan melarutkan senyawa polar dan pelarut etanol air akan melarutkan senyawa polar.

Proses fraksinasi dilakukan dengan metode FCC (Fraksi cair-cair) yakni ekstrak aktif dimasukkan kedalam labu pisah dengan menggunakan pelarut-pelarut yang sesuai menjadi 3 fraksi yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol air. Dari ekstrak biji pepaya yang diperoleh dalam tahap ekstraksi metanol ditambahkan dengan perbandingan 1:1 yaitu sebanyak 150 ml aquades dan ekstrak 150ml. Selanjutnya ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 1 L secara bertahap, setiap kali dimasukkan sebanyak 250 ml n-heksan dengan 4 kali pengulangan (4x250ml)

Fraksi metanol dan n-heksan dipisahkan dengan labu pisah sehingga diperoleh fraksi n-heksan lalu diuapkan pada rotary evaporator lalu di hair dryer sampai mengental sehingga didapatkan fraksi berbentuk pasta. Fraksi metanol air dilanjutkan dengan penambahan pelarut etil asetat sebanyak 1 L secara bertahap, setiap kali dimasukkan sebanyak 250 ml etil asetat dengan 4 kali pengulangan (4x250ml) kemudian dipisahkan dengan labu pisah sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi metanol setelah itu dilakukan penguapan pada rotary evaporator lalu di hair dryer sampai mengental sehingga didapatkan fraksi berbentuk pasta.

Tahap akhir proses fraksinasi diperoleh tiga fraksi yaitu n-heksan, etil asetat, metanol dalam bentuk pasta. Lalu dilakukan penimbangan fraksi dengan cara timbanglah botol yang kosong sebelum diisi fraksi, selisih berat botol sebelum dan sesudah diberi fraksi adalah berat fraksi yang didapatkan. Ketiga tahap fraksi yang diperoleh dilakukan penentuan senyawa yang dikandung masing-masing. Setelahnya masing-masing fraksi diujikan dengan tikus jantan.

Pelaksanaan Penelitian

Pada hari ke 25 setelah perlakuan tikus dikorbankan dengan cara memasukkan tikus kedalam wadah tertutup yang telah diberi kapas yang mengandung klorofom selama 5 menit hingga kehilangan kesadarannya. Jika sudah kehilangan kesadaran tikus dikeluarkan dan dilakukan pembedahan dibagian bawah abdomen untuk diambil testis, vesikula seminalis dan prostat.

Penghitungan jumlah spermatis primer dan spermatid

Penghitungan spermatis primer dan spermatid dapat dilakukan terhadap seluruh tubuli seminiferi yang ada dalam 1 preparat testis yang dapat diamati dan dihitung atau dengan mengambil 5 tubuli yang berada di

bagian tengah penampang testis. Hasil penghitungan baik jumlah spermatis primer dan spermatid dibagi dengan jumlah tubuli yang diamati. Sehingga untuk satu preparat testis diambil rata-ratanya.

3. Hasil Penelitian

Kelompok senyawa dalam fraksi biji pepaya (*Carica papaya* L.) dilakukan uji fitokimia, ini dilakukan sebagai screening awal dalam mengetahui kandungan metabolit sekunder pada sampel. Dilakukan 6 uji yaitu alkaloid, steroid, terpenoid, tanin, saponin dan flavonoid dari masing-masing fraksi. Prosedur fitokimia ini dikerjakan berdasarkan referensi Depkes.¹⁵ Berdasarkan hasil uji fitokimia menggunakan fraksi biji pepaya (*Carica papaya* L.) didapatkan hasil yang ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia fraksi biji pepaya (*Carica papaya* L.)

No	Senyawa Metabolik	Fraksi N-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol Air
1.	Alkaloid	-	-	-
2.	Steroid	+	+	-
3.	Terpenoid	+	+	+
4.	Tanin	-	-	-
5.	Saponin	+	-	-
6.	Flavonoid	+	+	+

Pemberian fraksi biji pepaya (*Carica papaya* L.) pada tikus putih jantan selama 24 hari menunjukkan peningkatan secara tidak signifikan rata-rata berat vesikula seminalis dan prostat yang dapat dilihat pada tabel 2.

Berat vesikula seminalis dan prostat terlihat menurun namun tidak signifikan pada fraksi nHeksan biji pepaya sedangkan pada etil asetat meningkat secara signifikan dibandingkan kontrol dan nHeksan.

Tabel 2. Rata-Rata berat vesikula seminalis dan prostat tikus putih jantan setelah pemberian fraksi biji pepaya selama 24 hari.

Kelompok Fraksi	N	Berat Vesikula Seminalis dan Prostat (g) $\bar{X} \pm SEM$
CMC	6	1,76 ± 0,11a
N.Heksan	6	1,71 ± 0,09 a
Etil Asetat	6	2,03 ± 0,08 b
Etanol Air	6	1,86 ± 0,03 ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD ($p < 0,05$)

Pemberian fraksi biji pepaya (*Carica papaya* L.) pada tikus putih jantan selama 24 hari menunjukkan adanya perubahan rerata jumlah spermatosit primer yang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rerata jumlah spermatosit primer tikus putih jantan setelah pemberian fraksi biji pepaya selama 24 hari.

Kelompok Fraksi	N	Jumlah Spermatosit Primer $\bar{X} \pm SEM$
CMC	6	56,86 ± 1,37 a
N.Heksan	6	39,48 ± 1,99 c
Etil Asetat	6	43,58 ± 2,21 bc
Etanol Air	6	46,29 ± 2,65 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut LSD ($p < 0,05$)

Jumlah spermatosit primer per tubulus seminiferous pada kelompok perlakuan signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Fraksi N Heksan signifikan lebih rendah dari fraksi etanol air setelah dilakukan uji lanjut.

Pemberian fraksi biji pepaya (*Carica papaya* L.) pada tikus putih jantan selama 24 hari menunjukkan adanya perubahan rerata jumlah spermatid yang dapat dilihat pada tabel 4.

Rerata jumlah spermatid per tubulus seminiferous juga signifikan lebih rendah dibandingkan control. Kelompok fraksi N

Heksan rerata jumlah spermatidnya lebih rendah dari kelompok fraksi etanol air berdasarkan uji lanjut Games-Howell.

Tabel 4. Rerata jumlah spermatid tikus putih jantan setelah pemberian fraksi biji pepaya selama 24 hari

Kelompok Fraksi	N	Jumlah Spermatid $\bar{X} \pm SEM$	<i>P value</i>
CMC	6	180,55 ± 11,79 a	0,00
N.Heksan	6	79,57 ± 5,56 c	
Etil Asetat	6	92,58 ± 7,38 bc	
Etanol Air	6	124,33 ± 11,82 b	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut Games-Howell ($p < 0,05$)

4. Pembahasan

Spermatogenesis dan fertilitas pria tergantung pada kehadiran testosteron di dalam testis. Jika testosteron atau reseptor androgen tidak ada proses spermatogenesis tidak sampai ke tahap meiosis. Dalam penelitian ini terjadi penurunan jumlah spermatosit primer dan spermatid (tabel 3 dan 4). Testosteron yang dihasilkan sel Leydig berdifusi menuju sel target yaitu sel Sertoli yang ada di tubulus seminiferous. Molekul sinyal berupa testosteron pada sel Sertoli secara langsung mengubah ekspresi gen (classical pathway) atau testosteron mengaktifkan protein kinase yang meregulasi proses yang dibutuhkan dalam spermatogenesis (non-classical pathway). Kadar testosteron yang diproduksi di dalam testis manusia lebih tinggi (340-2000nM) jika dibandingkan dengan serum (8,7-35 nM). Spermatogenesis tidak diproses jika tidak ada kadar yang tinggi dari testosteron (>70 nM pada tikus). Reseptor androgen terdapat pada sel Leydig, peritubular dan sel Sertoli. Sel Sertoli adalah target mayor sinyaling testosteron. Testosteron dibutuhkan untuk melanjutkan ke proses meiosis dan menyelesaikannya serta pelepasan spermatid matang^{16,17}

Withdrawal testosterone atau knockout reseptor androgen pada sel sertoli menyebabkan pertama, blood testis barrier tidak terintegritas sehingga sel-sel germinal post meiotic membentuk lingkungan terspesial yang terpisah, dapat diserang autoimun dan bahan sitotoksik. Kedua, blockade konversi dari round spermatid ke elongated spermatid karena kerusakan adhesi sel yang menyebabkan round spermatid premature terlepas dari sel sertoli. Spermatozoa mature tidak dapat lepas dari sel Sertoli dan difagosit oleh sel Sertoli.¹⁶

Berat vesikula seminalis dan prostat terlihat menurun namun tidak signifikan pada fraksi nHeksan biji pepaya sedangkan pada etil asetat meningkat secara signifikan dibandingkan kontrol dan nHeksan mungkin disebabkan oleh kandungan senyawa yang ditemukan pada fraksi N Heksan yaitu steroid, terpenoid, saponin dan flavonoid. Fraksi N Heksan ditemukan saponin sedangkan 2 fraksi yang lain tidak (tabel 1).

Saponin dapat berupa steroid dan triterpenoid glikosida. Efek biologis saponin meliputi mengganggu permeabilitas membrane, imunostimulan, antikarsinogenik dan antifertilitas. Saponin mempunyai kemampuan membentuk pori-pori pada membrane. Steroid saponin secara langsung menghambat gen yang bertanggungjawab terhadap steroidogenesis. Saponin juga dapat berikatan dengan reseptor steroid karena kesamaan struktur kimia saponin dengan hormone steroid. Saponin reseptor complexe dapat translokasi ke dalam nucleus dan mempengaruhi pola transkripsi. Ginsenoside Rg3 memperlihatkan aktivitas penghambatan tergantung dosis pada ekspresi dari gen marker yang mengkode reseptor androgen dan 5 α -reductase (enzim yang mengkonversi testosteron menjadi bentuk yang lebih aktif dihirotestosteron).¹⁸ Sehingga dapat dinyatakan saponin-reseptor steroid kompleks menyebabkan reseptor androgen

tidak terbentuk. Hal ini juga menjelaskan hasil dari adanya penurunan organ vesikula seminalis dan prostat walaupun tidak signifikan (fraksi nHeksan) yang merupakan organ testosterone dependent pada tikus jantan. Gangguan pada reseptor androgen menyebabkan testosterone tidak dapat berfungsi sebagaimana seharusnya.

5. Kesimpulan

Antifertilitas fraksi biji pepaya pada tikus jantan melalui mekanisme penurunan rerata jumlah spermatosit primer dan spermatid dan senyawa yang ditemukan pada fraksi nHeksan adalah steroid, terpenoid, saponin, flavonoid. Fraksi etil asetat terdapat senyawa steroid, terpenoid dan flavonoid. Fraksi etanol air mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid.

Daftar Pustaka

1. BKKBN. 2014. Peningkatan Partisipasi Pria dalam ber-KB dan Kesehatan Reproduksi. BKKBN. Jakarta
2. Ernawati, S. 2016. Faktor yang mempengaruhi Keluarga Berencana (KB) pria dengan partisipasi pria dalam keluarga berencana. JNKI. Vol. 4, No.2. Tahun 2016, 109-116. DOI: [http://dx.doi.org/10.21927/jnki.2016.4\(2\).109-116](http://dx.doi.org/10.21927/jnki.2016.4(2).109-116).
3. Cholifah, S., Arsyad, K.M., Basir, S. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) Spraque Dawley. Universitas Sriwijaya
4. de Kretser, D.M., Loveland, K.L., Meinhardt, A., Simorangkir, D. and Wreford, N. 1998. Spermatogenesis. Human Reproduction volume 13, Issue suppl_1:1-8. https://doi.org/10.1093/hhumrep/13.suppl_1.1

5. Guyton, AC & Hall JE, 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Jakarta: EGC
6. Ashdown, R.R. and E.S.E. Hafez. 1993. *Anatomy of Male Reproduction*. Itz E.S.E. Hafez (ed): *Reproduction in Farm Animals*. 6th ed. Lea & Febiger. Philadelphia.pp: 3-1
7. Nieschlag, E. & Behre, H.M. (Eds.). 2001. *Andrology Male Reproductive Health & Dysfunction*. 2nd edition. Springer
8. Lestari, A.R.A, Cahyo, S.T., Wardaniati, I. & Herli, M.A. 2018. Aktivitas antibakteri seduhan biji pepaya (*Carica Papaya L*) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. JOPS-volume 1 edisi 2 Juni 2018. (<https://www.resergate.net/publication/328576197>)
9. Rajab, Z., Muslichah,S., Fajrin, F.A. 2015. Uji Antifertilitas fraksi klorform biji pepaya (*Carica papaya L.*) dengan fraksi metanol biji saga (*Abrus Precatorius L.*) terhadap spermatogenesis tikus galur wistar. *Jurnal Pustaka Kesehatan* Vol. 3 No 2 :272-27
10. Christijanti, W. 2009. Penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa setelah pemberian Ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*). *Boisaintifika* Vol.1, No.1 : 19-26
11. Sari, P.D., Muslichah, S., Wiratmo. 2014. Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksan, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar Testoteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol 2 No 3.
12. Pathak N., Mishra PK., Manivannan B., Lohiya NK. 2003. *Sterility due to inhibition of sperm motility by oral administration of benzene chromatographic fraction of thechloroform extract of the seeds of Carica papaya in rats*. *Phytomedicine* 7: 325-333
13. Walansendow, R., Rumbajan, M.J., Tendean, Lydia. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 4, No 1
14. Prasetyaningrum, N, Muslichah, S., Hidayat, M.A. 2015. Pengaruh ekstrak metanol, Fraksi N- Heksana dan Fraksi metanol biji pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, Vol 3. No 1. Januari 2015. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/view/2402>
15. DEPKES RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
16. Walker, W.H. 2011. Testosterone signaling and the regulator of spermatogenesis. *Spermatogenesis* 1:2, 116-120.
17. Smith, L.B. & Walker, W.H. 2014. The regulation of spermatogenesis by Androgens. *Semen Cell Dev Biol* 0:2=13. Doi:10.1016/J.Semcdb.2014.02.012
18. Francis, G. Z. Kerem, H.P.S. Makkar & K. Becker. 2002. The biological action of saponins in animal system: a review. *British Journal of Nutrition* 88:587-605. DOI:10.1079/BJN 20027225