

## Ekstrak Daun Pepaya Jepang (*Cnidoscylus aconitifolius*) Memperbaiki Kadar Kolesterol, Morfometri dan Histologi Testis Mencit Hiperkolesterolemia

### *Japanese Papaya Leaf Extract (Cnidoscylus aconitifolius) Improves Cholesterol Levels, Testicular Morphometry and Histology of Hypercholesterolemic Mice*

Niya Maidah \*, Dyah Hariani

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

\* e-mail: niya.17030244020@mhs.unesa.ac.id

**Abstrak.** Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pepaya Jepang untuk memperbaiki kadar kolesterol, morfometri, dan histologi testis mencit hiperkolesterolemia. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap terbagi dalam 6 kelompok dengan 4 pengulangan. Dosis ekstrak daun pepaya Jepang yang digunakan yakni 11,2; 16,8; 22,4; dan 28 mg/20 g BB. Data warna, bentuk, permukaan testis dianalisis secara deskriptif. Data kadar kolesterol, panjang, diameter, berat, dan perlemakan testis dianalisis menggunakan uji ANOVA. Data histologi testis dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian menunjukkan warna, bentuk, dan permukaan testis pada kelompok kontrol negatif maupun kelompok perlakuan tampak normal, kecuali bentuk testis mengalami atrofi pada kelompok kontrol positif dan perlakuan dosis 11,2 mg/20 g BB. Ekstrak daun pepaya Jepang memperbaiki kadar kolesterol sangat signifikan ( $P < 0,000$ ), morfometri signifikan pada panjang testis ( $P < 0,027$ ), diameter testis ( $P < 0,042$ ), sangat signifikan pada berat testis ( $P < 0,000$ ), perlemakan testis ( $P < 0,002$ ), dan kerusakan histologi testis ( $P < 0,000$ ). Disimpulkan bahwa ekstrak daun pepaya Jepang memperbaiki kadar kolesterol, morfometri, dan histologi testis mencit hiperkolesterolemia dengan dosis terbaiknya adalah 16,8 mg/20 g BB.

**Kata kunci:** Histologi; Hiperkolesterolemia; Pepaya Jepang; Testis

**Abstract.** The purpose of this study was to determine the effect of Japanese papaya leaf extract to improve the cholesterol levels, morphometry, and histology of hypercholesterolemic mice testes. This study used a completely randomized design divided into 6 groups with 4 repetitions. The doses of Japanese papaya leaf extract used were 11.2; 16.8; 22.4; and 28 mg/20 g BW. Data on color, shape, and surface of the testicles were analyzed descriptively. Data on cholesterol levels, length, diameter, weight, and testicular fat were analyzed using the ANOVA test. Testicular histology data were analyzed using the *Kruskal-Wallis* test. The results showed that the color, shape, and surface of the testes in the negative control group and the treatment group looked normal, except that the testicles had atrophy in the positive control group and the treatment dose was 11.2 mg/20 g BW. Japanese papaya leaf extract improved cholesterol levels very significantly ( $P < 0.000$ ), significant morphometry on testicular length ( $P < 0.027$ ), testicular diameter ( $P < 0.042$ ), very significant on testicular weight ( $P < 0.000$ ), testicular fatness ( $P < 0.002$ ), and testicular histological damage ( $P < 0.000$ ). It was concluded that Japanese papaya leaf extract improved cholesterol levels, morphometry, and testicular histology of hypercholesterolemic mice with the best dose of 16.8 mg/20 g BW.

**Key words:** Histology; Hypercholesterolemia; Japanese Papaya; Testes

## PENDAHULUAN

Pola hidup masyarakat telah berubah seiring dengan perkembangan zaman, utamanya adalah perubahan pola makan. Masyarakat saat ini, terutama kalangan remaja telah terbiasa mengonsumsi makanan *junk food* diketahui rendah serat dan mengandung kolesterol tinggi (Sinaga, 2016). Padahal pasokan kolesterol eksogen lebih dari 300 mg/hari dapat memicu terjadinya berbagai penyakit diakibatkan oleh hiperkolesterolemia, yaitu proses peningkatan konsentrasi kolesterol dalam darah (Ujani, 2016).

Hiperkolesterolemia pada mencit terjadi ketika kadar kolesterol total darah mencapai  $\geq 128$  mg/dL (Handayani dkk., 2015) dan dapat menimbulkan gangguan fungsional tubuh, salah satunya

adalah abnormalitas fungsi reproduksi maskulina pada mencit. Hal ini diakibatkan oleh adanya peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) menyebabkan terjadinya stress oksidatif pada organ reproduksi maskulina dan terganggunya spermatogenesis mencit, akibatnya banyak terjadi kematian sel spermatogenik dan spermatozoa yang dihasilkan relatif sedikit (Dewanto dan Isnaini, 2017).

Pemberian diet atherogenik pada mencit penyebab kerusakan pada testis dapat dilihat secara makroskopis maupun mikroskopis (Scandura *et al.*, 2018). Kerusakan testis secara makroskopis dapat dilihat melalui morfometri dari testis, meliputi berat, panjang, diameter, permukaan dan warna testis (Setiyono dan Bakti, 2019). Morfologi testis mencit normal memiliki warna merah muda dengan bentuk oval, sedangkan testis mencit tidak normal memiliki warna merah kecoklatan dengan bentuk sedikit lebih kecil (atrofi) (Harun dkk., 2017). Adapun untuk melihat kerusakan testis secara mikroskopis dapat dilakukan dengan membuat preparat histologi dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* untuk melihat kondisi sel-sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus (Bilinska *et al.*, 2018). Gambaran histologi testis normal ditunjukkan dengan susunan sel yang rapat dengan lumen terisi penuh dengan sel-sel spermatogenik, sedangkan gambaran histologi testis mengalami kerusakan ditunjukkan dengan susunan antar sel tampak renggang dikarenakan adanya nekrosis pada sel-sel pembentuk spermatozoa ditandai dengan menurunnya jumlah sel-sel spermatogenik sehingga lumen tubulus seminiferus tampak kosong (Harlis dan Septiana, 2017).

Peningkatan kadar kolesterol dalam darah manusia berdampak pada penurunan kualitas spermatozoa dapat diatasi dengan penggunaan obat golongan statin. Sistem kerja dari statin ini dengan cara menghambat *Hydroxymethylglutaryl-CoA* (HMG-CoA) reduktase menyebabkan penurunan kadar kolesterol (Cantika dkk., 2019). Namun, sekitar 10-15% pasien mendapati intoleransi terhadap obat statin, sehingga obat ini harus digunakan dalam pengawasan medis (Banach and Mikhailidis, 2015). Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif dengan memanfaatkan senyawa bioaktif terkandung dalam tanaman herba berfungsi untuk melindungi tubuh dari stres oksidatif khususnya mengontrol kadar kolesterol namun memiliki konsekuensi lebih rendah bila dikonsumsi setiap hari seperti yang terdapat dalam daun pepaya Jepang (Luthfiah dkk., 2018).

Pepaya Jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) merupakan salah satu jenis tanaman yang dibudidayakan sebagai sayuran, di samping itu memiliki manfaat untuk kesehatan. Tanaman pepaya Jepang memiliki berbagai aktivitas farmakologi sebagai sumber antioksidan, antidiabetik, antimutagenik, hipoglikemik, antiinflamasi, antipprotozoal dan antibakteri (Hernandez, 2017). Daun pepaya Jepang diketahui mengandung senyawa polifenol, terdiri dari tanin terkondensasi, flavonoid, dan saponin diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Sagay dkk., 2019).

Penggunaan pepaya Jepang sebagai pengobatan alternatif terhadap hiperkolesterolemia telah dilakukan oleh Olaniyan *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya Jepang diberikan pada kelinci hiperkolesterolemia sebesar 400 mg/kg secara *in vitro* selama 7 hari, aktivitasnya sebagai antikolesterol dapat menurunkan kadar kolesterol sebesar 33 mg/dL dari kolesterol awal sebesar  $122.0 \pm 3.0$  mg/dL. Nilai kadar kolesterol normal pada kelinci menurut Dede dkk., (2019) adalah 10 - 80 mg/dL. Penelitian lain oleh Osuocha *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya Jepang diberikan pada tikus albino hiperkolesterolemia sebesar 800 mg/kg selama 28 hari, kadar kolesterolnya lebih rendah yaitu 64,23 mg/dL jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 83,56 mg/dL. Nilai kadar kolesterol normal pada tikus menurut Putri dkk., (2017) adalah 10 - 54 mg/dL. Penggunaan daun pepaya Jepang sebagai sebuah terapi alternatif terhadap penurunan kadar kolesterol, dan perbaikan kerusakan testis secara makroskopis dan mikroskopis akibat hiperkolesterolemia masih belum banyak terungkap. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai ekstrak daun pepaya Jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) memperbaiki kadar kolesterol, morfometri dan histologi testis mencit hiperkolesterolemia. Ekstrak daun pepaya Jepang dalam dosis tertentu memperbaiki kadar kolesterol, morfometri dan tingkat kerusakan struktur histologi testis mencit hiperkolesterolemia merupakan kebaruan dalam penelitian ini. Tujuan penelitian ini untuk menguji pengaruh ekstrak daun pepaya Jepang untuk memperbaiki kadar kolesterol, morfometri, dan histologi testis mencit hiperkolesterolemia.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni menggunakan Rancangan Acak Lengkap, terdiri atas 6 perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif: diberi pakan pur jenis Hi-Pro-Vite 511 dengan kandungan protein 21-23% + minum saja (A), kelompok kontrol positif: diberi kuning telur + pakan pur + minum (B), kelompok eksperimen: diberi kuning telur + pakan pur + minum + ekstrak daun pepaya Jepang dosis 11,2 mg/ 20 g BB (C), 16,8 mg/ 20 g BB (D), 22,4 mg/ 20 g BB (E),

dan 28 mg/ 20 g BB (F) dengan 4 kali ulangan. Penelitian pemberian diet aterogenik, ekstrak daun pepaya Jepang, pengambilan data kadar kolesterol dilakukan di Laboratorium Fisiologi jurusan Biologi, FMIPA, UNESA. Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Pengamatan histologi testis dilakukan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Jurusan Biologi, FMIPA, UNESA.

Daun pepaya Jepang dikoleksi dengan kriteria daun diambil adalah daun tua yang diambil mulai dari nodus ke 5 sampai ke 15 sebanyak 9 kg berat basah, dicuci dan ditiriskan. Pengeringan dilakukan menggunakan oven UF260 pada suhu 60-70°C selama 1x24 jam, setelah itu digiling menjadi serbuk dan ditimbang sebanyak 500 gram. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, yaitu merendam serbuk simplisia dalam pelarut etanol 96% selama 3 hari dengan perbandingan berturut-turut 1:3; 1:2; 1:2. Filtrat yang diperoleh yaitu filtrat hasil maserasi pada hari ke 1, 2, dan 3 dicampur dan dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* selama  $\pm$  5 jam pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Penimbangan ekstrak kental dilakukan setiap 3 hari sekali, kemudian diencerkan sesuai dengan dosis masing-masing perlakuan. Pengenceran ekstrak dilakukan dengan menimbang berat ekstrak sesuai dosis kemudian dicampurkan dengan *Sodium-Carboxymethyl Cellulose* (Na-CMC) 1% hingga mencapai volume 0,5 ml (Meliala dkk., 2020).

Proses aklimasi hewan coba dilakukan pada seluruh kelompok mencit selama 7 hari. Mencit jantan galur Swiss usia 10-12 minggu dengan berat 25-30 gram sebanyak 24 ekor dikelompokkan menjadi 6, masing-masing kelompok ditempatkan pada bak ukuran 38 x 31 x 13 cm berisi sekam padi dan ditutup dengan ram kawat. Selama proses aklimasi, mencit diberi pakan pur jenis Hi-Pro-Vite 511 sebanyak 3-4 gram/mencit/hari dan air minum secara *ad libitum* (Dahlia dkk., 2019).

Pada hari ke-0 mencit ditimbang berat badannya untuk semua kelompok penelitian. Pemberian perlakuan diet aterogenik dilakukan pada semua kelompok penelitian kecuali kelompok kontrol negatif berupa kuning telur puyuh dengan volume 0,5 ml/hari secara per oral selama 44 hari menggunakan jarum sonde (Umami dkk., 2016). Selama pemberian diet aterogenik, semua kelompok penelitian diberi pakan Hi-Pro-Vite 511 yang mengandung 21-23% protein kasar sebanyak 3-4 g/hari dan air minum secara *ad libitum* (Ifora dan Kardela, 2019).

Pada hari ke-30 seluruh kelompok mencit ditimbang kembali berat badannya, kemudian dilakukan pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 11,2; 16,8; 22,4; dan 28 mg/20 g BB selama 14 hari. Ekstrak diberikan pada kelompok perlakuan selain kelompok kontrol positif disertai dengan pemberian diet aterogenik hingga hari ke-44 (Ezebuio et al., 2020).

Pengukuran kadar kolesterol total dilakukan terhadap seluruh kelompok diukur kadar kolesterolnya dengan menggunakan alat *EasyTouch* GCU. Adapun pengecekan kadar kolesterol dilakukan pada semua kelompok penelitian pada hari ke-0, hari ke-30 dan 45. Prosedur pengecekan kolesterol darah yaitu darah diambil melalui vena caudalis mencit sebanyak 15  $\mu$ L dan diteteskan pada lubang strip berwarna merah hingga darah meresap memenuhi lubang. Hasil akan tertera pada layar alat *Easy Touch* GCU setelah 150 detik setelah darah meresap sempurna (Mutia dkk., 2018).

Pembedahan mencit dilakukan pada hari ke-45 untuk diambil organ testisnya. Pembedahan dilakukan dengan melaksanakan nekropsi pada semua kelompok mencit. Nekropsi diawali dengan pembiusan dalam toples kaca yang di dalamnya terdapat kapas yang dibasahi dengan kloroform dan ditutup rapat. Mencit dibiarkan di dalam toples kaca tersebut sampai pingsan kemudian dilakukan pembedahan. Testis yang telah diangkat dilakukan pengamatan morfometri meliputi warna, bentuk, permukaan, pengukuran panjang dan diameter testis menggunakan kertas milimeter, penimbangan berat testis dan perlemakannya menggunakan timbangan analitik digital AS200.R2 (Harun dkk., 2017).

Pembuatan preparat dimulai dengan mencuci organ testis dalam *Sodium Chloride* (NaCl) fisiologi kemudian memfiksasi organ testis yang masih segar menggunakan larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% selama 1x24 jam. Langkah selanjutnya yaitu proses *washing* dengan alkohol 70% dan proses dehidrasi dengan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, Absolute diulang sebanyak 2x, masing-masing selama 30 menit. Proses *clearing* dilakukan menggunakan xylol:parafin (perbandingan 1:3, 1:1, 3:1) masing-masing selama 30 menit, dilanjutkan proses infiltrasi menggunakan parafin cair dilanjutkan dengan proses *embedding* menggunakan balok parafin. Pemotongan organ menggunakan alat *rotary microtome* dengan ketebalan 3-4  $\mu$ m. Hasil potongan testis ditempelkan pada kaca obyek dan diolesi albumin-gliserin (37-38)°C, kemudian dilakukan pengeringan menggunakan *Hot Plate* pada suhu 35°C selama 3 menit dan diwarnai menggunakan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (Rahmadani, 2018).

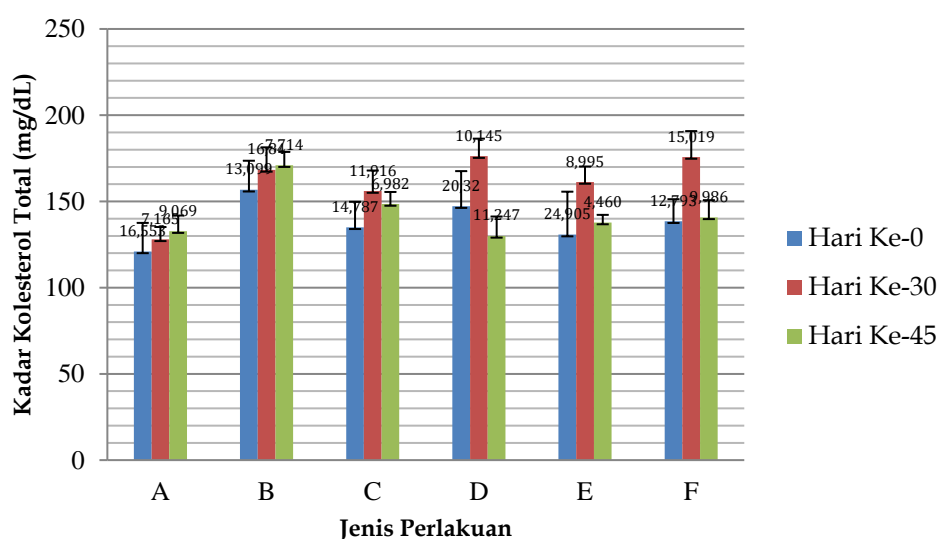
Pengamatan preparat histologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler XSG perbesaran 400x pada lima lapang pandang dari tubulus seminiferus testis yang berbeda tiap

preparat (Kusumawati dkk., 2017). Setiap lapang pandang diamati dan diskoring untuk menggambarkan kerusakan testis menggunakan skala penilaian dari skor Cosentino meliputi: skala 1 jika arsitektur testis normal dengan susunan sel germinal yang teratur. Skala 2 jika sel germinal kurang teratur dan tubulus seminiferus tertutup rapat. Skala 3 jika sel germinal tidak teratur dengan inti menyusut (piknosis) dan batas tubulus seminiferus kurang jelas, dan skala 4 jika tubulus seminiferus disertai dengan nekrosis koagulatif pada sel germinal (Yazdani *et al.*, 2019).

Data morfologi seperti warna, bentuk dan permukaan testis dianalisis secara deskriptif. Adapun data kadar kolesterol total dan morfometri seperti panjang, diameter, berat, dan perlemakan di sekitar testis diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Apabila hasilnya signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan (Musfirah dkk., 2017). Adapun data skor spermatogenesis dan nekrosis dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis*, dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* (Normasari dkk., 2021).

## HASIL

Berdasarkan hasil pengukuran rerata kadar kolesterol total pada hari ke-0, 30, dan 45, kadar kolesterol darah mencit pada setiap kelompok perlakuan selama berlangsungnya penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Grafik rerata kadar kolesterol total darah selama berlangsungnya penelitian akibat pemberian ekstrak daun pepaya jepang pada mencit hiperkolesterolemia. Keterangan: A, B, C, D, E, dan F dapat dilihat di Bahan dan Metode. Nilai perubahan (A).  $4,75 \uparrow \pm 4,272$ ; (B).  $2,75 \uparrow \pm 15,755$ ; (C).  $7,5 \downarrow \pm 2,645$ ; (D).  $46,25 \downarrow \pm 25,708$ ; (E).  $23,5 \downarrow \pm 7,724$ ; (F).  $35 \downarrow \pm 18,457$ ; ( $\uparrow$ ) Peningkatan kadar kolesterol; ( $\downarrow$ ) Penurunan kadar kolesterol.

Gambar 1 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dapat menurunkan kadar kolesterol total pada mencit diberi diet aterogenik. Kadar kolesterol total darah pada hari ke-0 merupakan kadar awal kolesterol total mencit sebelum diberi diet aterogenik. Pada hari ke-30, terdapat kecenderungan peningkatan kadar kolesterol total akibat pemberian diet aterogenik pada seluruh kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol negatif dimana peningkatan tertinggi sebesar 37,25 mg/dL terjadi pada perlakuan hiperkolesterolemia dan ekstrak daun pepaya Jepang dengan dosis 28 mg/ 20 g BB dan peningkatan terendah sebesar 7 mg/dL terjadi kelompok kontrol negatif. Pada hari ke-45, terdapat kecenderungan terjadi penurunan kadar kolesterol akibat pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dengan penurunan tertinggi sebesar 46,2 mg/dL terjadi pada perlakuan diberi diet aterogenik dan ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/ 20 g BB. Penurunan terendah sebesar 7,5 mg/dL terjadi pada perlakuan diberi diet aterogenik dan ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/ 20 g BB.

Hasil dari uji Anova menunjukkan bahwa terdapat efek pemberian daun pepaya Jepang dalam menurunkan kadar kolesterol total darah sangat signifikan ( $P < 0,005$ ). Dari hasil uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/g BB menghasilkan penurunan kadar kolesterol total terbaik dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

Secara makroskopis efek pemberian ekstrak daun pepaya Jepang terhadap testis mencit hiperkolesterolemia dilakukan dengan mengamati morfometri testis, meliputi warna, bentuk, permukaan, panjang, diameter, berat dan perlemakan di sekitar testis. Data morfometri testis akibat pemberian ekstrak daun pepaya Jepang pada mencit hiperkolesterolemia dipresentasikan dalam Tabel 1 dan Tabel 2.

**Tabel 1.** Hasil pengamatan morfologi testis akibat pemberian ekstrak daun pepaya jepang pada mencit hiperkolesterolemia

Perlakuan	Warna	Bentuk	Permukaan
A	Merah muda	Oval (normal)	Halus, licin
B	Merah muda	Oval (atrofi)	Halus, licin
C	Merah muda	Oval (atrofi)	Halus, licin
D	Merah muda	Oval (normal)	Halus, licin
E	Merah muda	Oval (normal)	Halus, licin
F	Merah muda	Oval (normal)	Halus, licin

Keterangan: A, B, C, D, E, dan F dapat dilihat di Bahan dan Metode.

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa mencit yang diberi perlakuan diet aterogenik tidak mengalami perubahan warna dan permukaan testis yaitu warna testis tetap merah muda dan permukaannya halus serta licin, namun mengalami perubahan bentuk testisnya menjadi oval diikuti dengan atrofi (mengecil) pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diet aterogenik dengan pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 11.2 mg/ 20 g BB.

**Tabel 2.** Hasil pengukuran morfometri testis akibat pemberian ekstrak daun pepaya jepang pada mencit hiperkolesterolemia

Perlakuan	Panjang (mm)±SD	Diameter (mm)±SD	Berat (g)±SD	Perlemakan (gram)±SD
A	10,12 ± 0,47 <sup>a</sup>	7,12 ± 0,47 <sup>a</sup>	0,2117 ± 0,0119 <sup>a</sup>	1,35 ± 0,1291 <sup>a</sup>
B	8,62 ± 0,94 <sup>b</sup>	5,62 ± 0,94 <sup>b</sup>	0,1452 ± 0,0187 <sup>c</sup>	1,75 ± 0,1291 <sup>b</sup>
C	8,62 ± 0,47 <sup>b</sup>	5,87 ± 0,75 <sup>b</sup>	0,1742 ± 0,0084 <sup>b</sup>	1,55 ± 0,1291 <sup>a</sup>
D	9,37 ± 0,47 <sup>ab</sup>	6,62 ± 0,62 <sup>ab</sup>	0,1842 ± 0,0053 <sup>b</sup>	1,4 ± 0,1414 <sup>a</sup>
E	8,62 ± 0,47 <sup>b</sup>	5,75 ± 0,28 <sup>b</sup>	0,1565 ± 0,051 <sup>c</sup>	1,4 ± 0,1414 <sup>a</sup>
F	8,75 ± 0,95 <sup>b</sup>	5,87 ± 0,85 <sup>b</sup>	0,1395 ± 0,0128 <sup>c</sup>	1,425 ± 0,0957 <sup>a</sup>

Keterangan: A, B, C, D, E, dan F dapat dilihat di Bahan dan Metode.

Notasi huruf subscript yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada pengaruh yang signifikan ( $P < 0,05$ ).

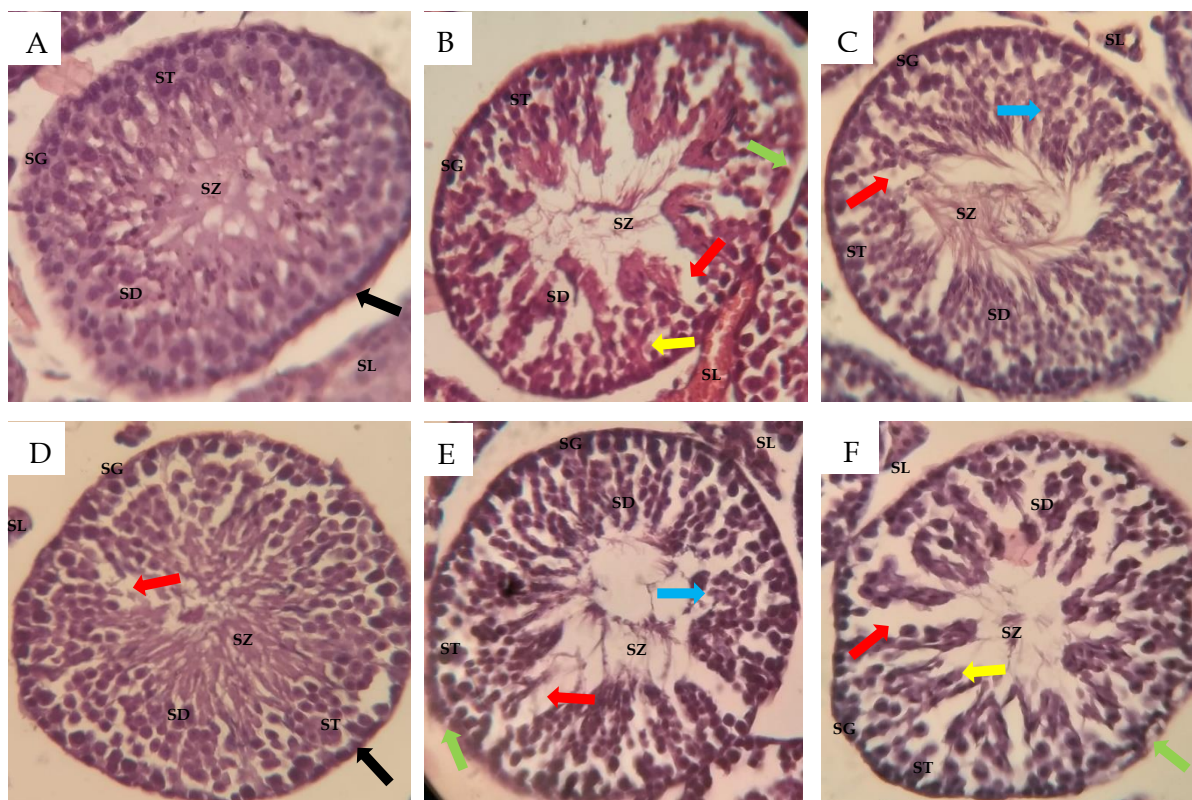
Berdasarkan Tabel 2 dihasilkan bahwa rerata panjang testis menunjukkan panjang terendah dimiliki oleh kelompok kontrol positif, kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 11,2 dan 16,8 mg/ 20 g BB dengan panjang yang sama yaitu  $8,62 \pm 0,74$  mm, sedangkan panjang testis tertinggi dimiliki oleh kontrol negatif dengan panjang  $10,12 \pm 0,47$  mm. Data diameter testis menunjukkan diameter terendah dimiliki oleh kelompok kontrol positif dengan diameter  $5,62 \pm 0,94$  mm, sedangkan diameter testis tertinggi dimiliki oleh kelompok kontrol negatif dengan diameter  $7,12 \pm 0,47$  mm. Data berat testis menunjukkan berat terendah dimiliki oleh kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 24 mg/ 20 g BB dengan berat  $0,1395 \pm 0,0128$  gram, sedangkan berat testis tertinggi dimiliki oleh kelompok kontrol negatif dengan berat  $0,2117 \pm 0,0119$  gram. Adapun data perlemakan di sekitar testis menunjukkan perlemakan tertinggi dimiliki oleh kelompok kontrol positif dengan berat lemak sebesar  $1,75 \pm 0,1291$  gram, sedangkan perlemakan tertinggi dimiliki oleh kelompok kontrol negatif dengan berat lemak sebesar  $1,35 \pm 0,1291$  gram.

Hasil dari uji Anova menunjukkan bahwa terdapat efek pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dalam meningkatkan panjang testis mencit setelah diberi diet aterogenik secara signifikan ( $P < 0,027$ ), diameter testis ( $P < 0,042$ ), berat testis sangat signifikan ( $P < 0,000$ ) dan perlemakan di sekitar testis ( $P < 0,002$ ). Dari hasil uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/g BB menghasilkan perbaikan morfometri testis mencit terbaik dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.



Secara mikroskopis, efek pemberian ekstrak daun pepaya Jepang terhadap testis mencit hiperkolesterolemia dapat dilihat melalui tingkat kerusakan preparat histologi testis seperti pada Gambar 2 dan Tabel 3.

Dari Gambar 2 dapat dilihat efek pemberian ekstrak daun pepaya Jepang terhadap histologi testis. Kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 28 mg/ 20 g BB (Kelompok F) menunjukkan tubulus seminiferus banyak ditemukan sel nekrosis. Batas tubulus seminiferus tampak samar, lumennya tampak kosong dengan sedikit spermatozoa. Keadaan ini diikuti oleh kelompok kontrol positif yang hanya diberi perlakuan diet aterogenik saja menunjukkan tubulus seminiferus banyak ditemukan sel nekrosis, batas tubulus tampak samar, dan susunan sel germinal tidak beraturan namun masih tampak beberapa spermatozoa dalam lumennya. Berbeda dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan arsitektur testis yang normal dengan susunan sel yang rapat dan teratur. Batas tubulus seminiferus tampak tertutup rapat dengan lumen terisi penuh dengan spermatozoa. Pemberian ekstrak daun pepaya Jepang mampu memperbaiki histologi testis setelah pemberian diet aterogenik secara maksimum pada kelompok dosis 16,8 mg/ 20 g BB (Kelompok D). Pada dosis tersebut ditemukan susunan sel yang kurang teratur namun batas tubulus seminiferus tampak tertutup rapat dengan lumen terisi dengan spermatozoa. Sel piknosis maupun nekrosis juga tampak sedikit dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.



**Gambar 2.** Gambaran preparat histologi testis mencit dengan diet aterogenik setelah pemberian ekstrak daun pepaya jepang dengan pewarnaan haematoxylin-eosin (perbesaran 400x) Keterangan: A, B, C, D, E, dan F dapat dilihat di Bahan dan Metode; (SG) Spermatogonium, (ST) Spermatosit, (SD) Spermatid, (SZ) Spermatozoa, (SL) Sel Leydig, (⬆) Batas Tubulus seminiferus tertutup rapat, (⬆) Sel germinal tak beraturan, (⬆) Inti sel Mengalami penyusutan (piknosis), (⬆) Sel mengalami nekrosis, (⬆) Batas tubulus seminiferus tampak samar

**Tabel 3.** Hasil pengamatan preparat histologi testis akibat pemberian ekstrak daun pepaya jepang pada mencit hiperkolesterolemia

Perlakuan	Rerata Skala Kerusakan Histologi Testis $\pm$ SD	P
A	1,15 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	>0,000
B	2,95 $\pm$ 0,88 <sup>c</sup>	
C	2,15 $\pm$ 0,87 <sup>b</sup>	

Perlakuan	Rerata Skala Kerusakan Histologi Testis $\pm$ SD	P
D	1,90 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>	
E	2,35 $\pm$ 0,87 <sup>b</sup>	
F	3,15 $\pm$ 0,74 <sup>c</sup>	

Keterangan: A, B, C, D, E, dan F dapat dilihat di Bahan dan Metode; Notasi huruf subscript pada kolom yang berbeda menunjukkan ada pengaruh yang signifikan ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan bahwa kerusakan testis tertinggi dimiliki oleh kelompok diet aterogenik dengan pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 24 mg/ 20 g BB dengan skala 3,15  $\pm$  0,74, sedangkan kerusakan testis terendah dimiliki oleh kelompok kontrol negatif dengan skala 1,15  $\pm$  0,36. Hasil uji *Kruskall wallis* menunjukkan terdapat efek pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dalam memperbaiki struktur histologi testis mencit hiperkolesterolemia sangat signifikan ( $P < 0,000$ ). Dari hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/g BB menghasilkan perbaikan struktur histologi terbaik dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

## PEMBAHASAN

Pemberian diet aterogenik pada penelitian ini adalah agar kondisi mencit sebagai kelompok perlakuan dalam kondisi hiperkolesterolemia. Diet aterogenik dapat dilakukan dengan memberikan pakan tinggi kolesterol, salah satunya dengan kuning telur puyuh mentah sebanyak 0,5 ml per mencit yang diberikan melalui sonde lambung (Umami dkk., 2016). Pemberian kuning telur puyuh sampai hari ke-30 dalam penelitian ini menunjukkan kondisi mencit sudah mengalami hiperkolesterolemia ditunjukkan dengan kadar kolesterol totalnya yang melebihi batas normal yaitu 128 mg/dL. Peningkatan kadar kolesterol total dalam penelitian ini disebabkan karena terjadi akumulasi kolesterol dan asam lemak jenuh dari kuning telur puyuh selama 44 hari. Kuning telur puyuh memiliki kandungan kolesterol mencapai 2139,17 mg/100 g sehingga cocok digunakan dalam induksi hiperkolesterolemia. Hal ini sesuai dengan pendapat Bengue dkk., (2020) menyatakan bahwa kuning telur puyuh dapat dijadikan pilihan sebagai penginduksi hiperkolesterolemia dikarenakan kandungan kolesterolnya paling tinggi jika dibandingkan dengan telur jenis unggas lainnya.

Konsumsi makanan dengan kadar kolesterol dan asam lemak jenuh tinggi dapat memicu terjadinya hiperkolesterolemia. Asam lemak jenuh yang berasal dari makanan dapat menghasilkan asetil KoA melalui oksidasi  $\beta$  merupakan prekursor kolesterol. Asetil KoA tersebut akan membentuk 3-Hidroksi-3-Metilglutaril-Koenzim A (HMG-CoA), selanjutnya direduksi oleh enzim HMG-CoA reductase menjadi mevalonat. Setelah itu, mevalonat mengalami transposisi menjadi unit isoprenoid. Jika terdapat 6 molekul isoprenoid akan berkondensasi membentuk skualen bersiklisasi menjadi lanosterol dan selanjutnya diubah menjadi kolesterol. Bachmid dkk., (2015) menegaskan bahwa semakin banyak jumlah asetil KoA, maka semakin besar peluang kadar kolesterol total dalam darah mengalami kenaikan akibat gangguan proses metabolisme serta pengeluaran kolesterol dalam tubuh. Jika kondisi ini terus dibiarkan tanpa adanya penanganan seperti pengontrolan makanan atau pemberian obat antikolesterol, maka yang akan terjadi adalah peningkatan kadar kolesterol total secara terus menerus seperti pada kelompok kontrol positif.

Pada hari ke-30 hingga hari ke-44 mencit diberi ekstrak daun pepaya Jepang dengan dosis berbeda dengan tetap diberi kuning telur puyuh menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol total. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/ 20 g BB mencit mampu menurunkan kadar kolesterol total darah tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya sebesar 46,2 mg/dL. Penurunan kadar kolesterol total dalam penelitian ini karena adanya bioaktif bersifat antikolesterol dan antioksidan terkandung dalam ekstrak daun pepaya Jepang diduga seperti tanin, flavonoid, saponin, dan vitamin C. Didukung oleh Ezebuio *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa daun pepaya Jepang dapat menurunkan kadar kolesterol darah karena adanya kandungan antioksidan di dalamnya yang dapat mengurangi stres oksidatif dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan. Senyawa tanin dalam ekstrak daun pepaya Jepang diduga mampu menghambat absorpsi lemak dengan jalan memendam protein mukosa pada permukaan sel epitel usus halus. Mekanisme lain oleh senyawa flavonoid dilakukan dengan jalan menekan aktivitas enzim *acyl-CoA cholesterol acyl transferase* (ACAT) untuk menurunkan esterifikasi kolesterol pada organ usus dan hati, serta menekan aktivitas enzim  $\beta$ -hidroksi $\beta$ -metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) reduktase untuk mensintesis kolesterol, sehingga kadar kolesterol dalam darah menurun. Di samping itu, senyawa saponin diduga dapat mengendapkan kolesterol dengan mekanisme ikatan kompleks antara

saponin dan kolesterol untuk meminimalisir kadar trigliserida dengan menekan *pancreatic lipoprotein lipase* (Sagay dkk., 2019). Adapun kandungan vitamin C yang tinggi pada ekstrak daun pepaya Jepang dapat meminimalisir kadar kolesterol total darah dengan jalan memproduksi cairan empedu yang berfungsi untuk mendukung pencernaan lipid dalam tubuh, serta absorpsi vitamin larut lemak (A, D, E, dan K). Hal ini dijelaskan oleh Sanggih, dkk., (2019) yang menyatakan bahwa vitamin C dapat memperbaiki profil lipid dengan mendukung reaksi hidroksilasi dalam pembentukan cairan empedu yang mampu meningkatkan pembuangan kolesterol, sehingga kadar kolesterol dalam darah mengalami penurunan.

Penurunan kadar kolesterol total akibat pemberian ekstrak daun pepaya Jepang ini sejalan dengan penelitian Olaniyan *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya Jepang yang diberikan pada kelinci hiperkolesterolemia sebesar 400 mg/Kg secara *in vitro* selama 7 hari aktivitasnya sebagai antikolesterol dapat menurunkan kadar kolesterol hingga 33 mg/dL dari kadar  $122.0 \pm 3.0$  mg/dL dengan kadar normalnya sebesar 10 - 80 mg/dL (Dede dkk., 2019), dan juga Osuocha *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya Jepang diberikan pada tikus albino hiperkolesterolemia sebesar 800 mg/Kg selama 28 hari, kadar kolesterolnya lebih rendah (64,23 mg/dL) dari kelompok kontrol positif (83,56 mg/dL) dengan kadar normalnya sebesar 10 - 54 mg/dL (Putri dkk., 2017). Adapun dalam penelitian ini pemberian ekstrak daun pepaya Jepang pada mencit hiperkolesterolemia menghasilkan penurunan kolesterol total mencapai 46,2 mg/dL pada dosis yang rendah yaitu 16,8 mg/ 20 g BB dengan kadar normalnya sebesar <128 mg/ dL (Handajani dkk., 2015). Hal ini diduga dengan penggunaan daun tua pepaya Jepang yang memungkinkan adanya perbedaan konsentrasi bioaktif yang terkandung di dalamnya. Didukung oleh pernyataan Hidayah dkk. (2020) bahwa semakin tua umur tanaman, maka semakin tinggi senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu tanaman.

Hiperkolesterolemia dapat memicu terjadinya kerusakan testis baik dari segi morfometri maupun histologi. Berdasarkan data morfometri, pemberian diet aterogenik tidak berpengaruh terhadap warna dan permukaan testis pada seluruh kelompok penelitian, namun berpengaruh terhadap perubahan bentuk, panjang, diameter, berat, dan perlemakan di sekitar testis. Hal ini dapat dikatakan bahwa komposisi pakan dan durasi pemberian diet aterogenik yang digunakan dalam penelitian belum berpengaruh pada kondisi testis secara luas hingga merubah warna dan permukaan testis namun kerusakan masih dalam lingkup sel. Kerusakan pada sel-sel penyusun testis tersebutlah yang menyebabkan morfometri atau ukuran testis mengalami penurunan. Hal ini dijelaskan oleh Ronasky dkk. (2019) bahwa penurunan ukuran testis dapat diakibatkan oleh atrofi, yaitu proses pengecilan atau penyusutan organ tubuh dari kondisi normalnya. Hal ini dikaitkan dengan adanya ketidakseimbangan antara proliferasi dan kematian sel dalam jangka waktu tertentu.

Penurunan morfometri testis akibat diet aterogenik diperkuat dengan struktur histologisnya menunjukkan adanya kerusakan jaringan testis ditandai dengan batas tubulus seminiferus tampak samar, berkurangnya kuantitas sel spermatogenik serta banyak ditemukan sel nekrosis. Mekanisme utama hiperkolesterolemia menyebabkan kerusakan testis masih belum jelas, namun perhatian khusus telah diberikan pada efek sitotoksik ROS dan stress oksidatif pada jaringan testis dan spermatogenesis (Mohammed *et al.*, 2020). Kerusakan testis akibat peningkatan produksi ROS pada kondisi hiperkolesterolemia dapat memicu terbentuknya lipid peroksidase pada organ testis. ROS dengan jumlah yang berlebih tidak dapat diminimalisir oleh pertahanan antioksidan tubuh pada kondisi hiperkolesterolemia sehingga dapat menyebabkan stres oksidatif. ROS dapat menyerang makromolekul sel hingga merusak membran, inti, dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) mitokondria sel tubuh dan berakhir dengan apoptosis sel, diantaranya sel Sertoli dan sel Leydig. Apabila keduanya mengalami kerusakan, maka proses spermatogenesis akan terganggu. Longdong dkk., (2017) menjelaskan bahwa gangguan spermatogenesis disebabkan oleh adanya gangguan keseimbangan hipotalamus-hipofisa-gonad dalam mempengaruhi kerja *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH) untuk melepaskan *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) secara tidak langsung mempengaruhi testis utamanya sel Sertoli yang tidak memperoleh rangsangan hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig. Irawati dkk. (2019) menambahkan bahwa hormon testosteron dan FSH memiliki peranan penting dalam perkembangan sel-sel Spermatogenik. FSH berperan dalam merangsang pembelahan sel spermatogenik, merangsang sel Sertoli untuk meningkatkan metabolisme Androgen dan menghasilkan *Androgen Binding Protein* (ABP) agar bergabung dengan testosteron untuk meningkatkan konsentrasi testosteron pada tubulus seminiferus. Adanya penurunan hormon testosteron mengakibatkan spermatid lepas dari sel Sertoli menuju



lumen tubulus seminiferus, sehingga spermatid mengalami hambatan untuk berdiferensiasi menjadi spermatozoa, dan akhirnya spermatozoa yang dihasilkan menjadi sedikit.

Pemberian ekstrak daun pepaya Jepang menunjukkan adanya peningkatan panjang, diameter, dan berat testis mencit akibat pemberian diet aterogenik. Hal ini dikuatkan oleh data mikroskopis berupa adanya perbaikan struktur histologi testis akibat pemberian diet aterogenik secara maksimum terjadi pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/ 20 g BB. Adanya perbaikan maksimum kerusakan histologi testis ini sejalan dengan penurunan kolesterol tertinggi setelah pemberian ekstrak daun pepaya Jepang.

Pada kelompok pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dosis 16,8 mg/ 20 g BB menunjukkan batas tubulus seminiferus tampak tertutup rapat dan susunan sel yang teratur dengan lumen terisi dengan spermatozoa mendekati kelompok normal yang mengindikasikan adanya proliferasi sel spermatogenik akibat pemberian diet aterogenik. Hal ini dikarenakan daun pepaya Jepang memiliki bioaktif bersifat antioksidan diduga berupa flavonoid, vitamin C, dan Vitamin E yang dapat meminimalisir adanya kerusakan organ akibat produksi ROS berlebih pada organ testis dengan jalan menyumbangkan ion hidrogen pada ROS yang ada. Kandungan antioksidan dalam pepaya Jepang mampu mentrigger agar aktivitas kerusakan sel spermatogenik dapat diminimalisir sehingga aktivitas untuk meningkatkan produksi hormon testosteron dan LH yang memiliki peranan dalam pembentukan dan pematangan spermatozoa dalam tubulus seminiferus. Dengan demikian, ikatan antara hormon yang memiliki peranan penting dalam proses spermatogenesis dengan reseptornya tidak terhambat dan proses spermatogenesis dapat berlangsung dengan baik. Vinnata dkk. (2018) menjelaskan peranan senyawa flavonoid sebagai peningkat regenerasi dengan mekanisme destruksi radikal bebas, mempercepat mekanisme pemulihan membran sel yang rusak, dan mencadangkan substrat kompetitif untuk lemak tak jenuh pada membran. Harahap dkk., (2017) juga menjelaskan bahwa vitamin C dan E dipercaya sebagai agen pemacu fertilitas yaitu untuk menormalkan epitel pada tubulus seminiferus, merangsang pertumbuhan sel Leydig, sel Sertoli, dan sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus, mengatur tingkat testosteron dan selanjutnya melindungi proses spermatogenesis. Adanya paduan kerja sama yang sinergis antara vitamin C dan E yaitu menetralkan ROS dengan cara vitamin E memberikan donor atom hidrogen pada radikal lipid sehingga vitamin E teroksidasi menjadi radikal alfa tokoferoksil yang mampu beregenerasi melalui proses reduksi dengan grup hidroksil dari antioksidan lain seperti vitamin C menjadi alfa tokoferol stabil kembali.

Penelitian mengenai penggunaan ekstrak daun pepaya Jepang terhadap sel-sel spermatogenik telah dilakukan oleh Ebeye *et al.*, (2015) yang menyebutkan bahwa pemberian ekstrak air daun pepaya Jepang menunjukkan efek penurunan sel-sel spermatogenik tikus tergantung dosis tiap kelompok perlakuan, dalam hal ini dosis 600 mg/Kg BB memperlihatkan penurunan jumlah sel spermatogenik tertinggi. Hal ini terbukti pada kelompok diet aterogenik+ekstrak daun pepaya Jepang dosis 28 mg/ 20 g BB yang mengalami penurunan berat testis beserta peningkatan kerusakan struktur histologi testis melebihi kelompok kontrol positif. Hal ini kemungkinan terjadi karena adanya kandungan senyawa pada daun pepaya Jepang yang bersifat anti fertilitas seperti alkaloid, saponin, dan tanin. Hal ini didukung oleh Harlis dan Septiana (2017) bahwa pepaya Jepang memiliki kandungan alkaloid yang dapat menekan pengeluaran hormon reproduksi selama spermatogenesis dan merusak permeabilitas membran sel Leydig. Di samping itu, senyawa toksik dari saponin juga mampu menurunkan kuantitas sel-sel spermatogenik, serta tanin menyebabkan terjadinya penggumpalan dan penurunan motilitas sperma yang dapat mencegah terjadinya pembuahan karena sperma tidak mampu mencapai sel telur. Oleh karena itu, penggunaan daun pepaya Jepang sebagai terapi untuk organ reproduksi harus hati-hati dalam penentuan dosisnya untuk menghindari efek antifertilitas dari senyawa yang terkandung dalam daun pepaya Jepang.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya Jepang dapat memperbaiki morfologi dan struktur histologi testis setelah pemberian diet aterogenik pada dosis 16,8mg/ 20 g BB merupakan kebaharuan penelitian ini.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya Jepang berpengaruh dalam menurunkan kadar kolesterol total darah, memperbaiki morfometri dan struktur histologi testis mencit setelah diberi diet aterogenik. Dosis ekstrak daun pepaya Jepang yang direkomendasikan adalah 16,8 mg/ 20 g BB dapat menurunkan kadar kolesterol, memperbaiki morfometri dan struktur histologi testis paling baik setelah diberi diet aterogenik merupakan kebaharuan dalam penelitian ini. Saran untuk penelitian selanjutnya agar dilakukan

penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme ekstrak daun pepaya jepang dalam memperbaiki kerusakan testis secara lebih rinci.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bachmid N, Sangi MS, dan Pontoh JS, 2015. Uji aktivitas antikolesterol ekstrak etanol daun patikan emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) pada tikus wistar yang hiperkolesterolemia. *Jurnal MIPA*. Vol. 4(1): hal. 29-35.
- Banach M and Mikhailidis, 2015. Statin Intolerance – An Attempt at A Unified Definition Position Paper From An International Lipid Expert Panel. *Arch. Med. Sci.* Vol. 11(1): 1-23.
- Benge ME, Mbulang YHA, dan Naja FRRR, 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*. Del) terhadap Kadar LDL Serum Tikus Hiperkolesterolemia. *CHMK Pharmaceutical Scientific Journal*. Vol. 3(1): 103-108.
- Bilinska B, Hejmej A, and Kotula-Balak M, 2018. *Preparation of Testicular Samples for Histology and Immunohistochemistry In Sertoli Cells*. New York: Humana Press.
- Cantika Y, Fauziah C, dan Setyaningsih Y, 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Gambaran Spermatogenesis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. Vol. 13(12): 62-73.
- Dahlia D, Pangkahila WI, Aman IGM, Pangkahila JA, Suryadi NT, dan Iswari IS, 2017. Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) Oral Mencegah Dislipidemia pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diberi Diet Tinggi Lemak. *Indonesia Journal of Anti-Aging Medicine*. Vol. 1(1): 17-24.
- Dede MA, Pandarangga P, dan Laut MM, 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Pembuluh Darah Aorta Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) Hiperkolesterolemia. *Jurnal Veteriner Nusantara*. Vol. 2(2): 30-42.
- Dewanto HN dan Isnaeni W, 2017. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kualitas Sperma Tikus yang Terpapar Asap Rokok. *Life Science*. Vol. 6(2): 62-68.
- Ebeye OA, Ekundina VO, Lekele CM, and Eboh DEO, 2015. The Histological Effect of *Cnidioscolus aconitifolius* Aqueous Leaf Extracts on The Architecture of The Ovary, Testis and Sperm Cells of Adult Wistar Rats. *International Journal of Herbs and Pharmacological Research*. Vol. 4(1): 7-17.
- Ezebuio I, Obiandu C, Saronee F, and Obiandu AC, 2020. Effect of Leaf Extract of *Cnidioscolus aconitifolius* on Serum Lipids and Oxidative Stress Markers of Male Wistar Rat.. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. Vol. 5(1): 47-52.
- Handajani NS, Yuliastuti T, Harini M, dan Widiyanti T, 2016. Uji Potensi Umbi Kimpul (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott.) sebagai Bahan Pangan Fungsional Antiulser pada Mencit (*Mus musculus* L.). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. Vol. 3(1): 37-43.
- Harahap EW, Sandora N dan Winarto W, 2017. Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Konsentrasi Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Ilmu Kedokteran*. Vol. 5(1): 26-34.
- Harlis WO dan Septiana A, 2017. Gambaran Histologi Testis Mencit (*Mus musculus*) setelah Pemberian Ekstrak Tumbuhan Brotowali (*Tinospora crispa*, L.). *Biowallacea*. Vol. 4(1): 558-565.
- Harun F, Dasrul, Sugito, Zuhrawaty, Nazaruddin, dan Rahmi E, 2017. Pengaruh Paparan Asap Ganja (*Cannabis sativa*) terhadap Patologi Anatomi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. *JIMVET*. Vol 1(2): 226-234.
- Hernandez IMS, Alvarez CPB, Gonzalez ORT, Camberos EP, 2017. Nutraceutical Potential of *Cnidioscolus aconitifolius*. *Journal of Nutrition and Growth*. Vol. 3(2): 27-30.
- Hidayah NWN, Dewi AOT, dan Aviv AN, 2020. Penetapan Kadar Vitamin C pada Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Muda dan Tua dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Farmasindo*. Vol. 4(1): 30-35.
- Ifora I dan Kardela W, 2019, Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Buah Malur (*Brucea javanica* (L.) Merr) terhadap Mencit Putih Jantan Hiperkolesterolemia. *Jurnal Farmasi Higea*. Vol. 11(1): 1-10.
- Irawati NBU, Sutriningsih, dan Anggraini WS, 2019. Efek Pemberian Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* roxb. Var. Rubrum) terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan yang Diinduksi Cyproterone Acetate. *Wellness and Healthy Magazine*. Vol.1(2): 295-304.
- Kusumawati SD, Queljoe ED, Fatimawati, 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Lola Kahori (*Erythrina variegata* L.) terhadap Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus* L.). *Pharmacol.* Vol. 6(3): 115-119.
- Longdong JJ, Queljoe ED, dan Yudistira A, 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 6(3): 120-127.
- Lutfiah S, Sugito BH, dan Ginarsih Y, 2018. Pengaruh Bawang Putih dan Bawang Putih Fermentasi pada Tekanan Darah dan Kadar Kolesterol. *2-Trik: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*. Vol. 8(1): 61-68.
- Meliala L, Sari W, dan Tarigan P, 2020. Uji Efek Antidiare Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* val.) pada Mencit Jantan. *Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal*. Vol.2(2): 15-21.

- Mohamed ZBH, Alfarisi HAM, Wahab AYA, binti Abd. Fuaat A, Mohamad CAC, and Ibrahim MB, 2020. Trihoney Improves Testicular Weight Change and Histopathological Alterations in Hypercholesterolemic Rabbits. *Aspac J. Mol. Biol. Biotechnol.* Vol.28(3): 75-87.
- Musfirah Y, Bachri MS, dan Nuraini, 2017. Efek Ekstrak Etanol 70% Akar Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa*, Blume kurz) terhadap Spermatogenesis dan Gambaran Histopatologi Tesis Mencit. *Jurnal Pharmascience.* Vol. 3(2): 131-141.
- Mutia S, Fauziah F, dan Thomy Z, 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia. *Jurnal Bioleuser.* Vol. 2(2): 29-35.
- Normasari R, Fauzi MI, Aziz AM, 2021. Efek Proteksi Ekstrak Metanol Biji Asam Jawa terhadap Kerusakan Jaringan Testis Tikus yang Diinduksi Aluminium Klorida (AlCl<sub>3</sub>). *Journal Of Agromedicine and Medical Science.* Vol. 7(1): 16-21.
- Olaniyan MF, Ozuaruoke DF, Afolabi T, 2017. Cholesterol Lowering Effect of *Cnidioscolous acontifolius* Leave Extract in Egg Yolk Induced Hypercholesterolemia in Rabbit. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research.* Vol. 23(1) : 1-6.
- Osuocha KU, Chukwu E, and Iwueke AV, 2020. Phytochemical profiling, body weight effect and anti-hypercholesterolemia potentials of *Cnidioscolous aconitifolius* leaf extracts in male albino rat. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy.* Vol. 12(2): 19-27.
- Rahmadani AF, 2018. Pengaruh Lama Fiksasi Bnf 10% Dan Metanol Terhadap Gambaran Mikroskopis Jaringan Dengan Pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*). *Skripsi.* Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Ronasky T, Ismy J, dan Dasrul D, 2019. Pengaruh Pemberian Vitamin E terhadap Morfologi Testis Tikus Strain Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan Diabetes Melitus Tipe I. *Indonesian J Surg.* Vol. 47(2): 33-59.
- Sagay S, Simbala H, dan de Queljoe E, 2019. Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Pakan Hiperlipidemia. *Pharmacon.* Vol. 8(3): 28-33.
- Sanggih PRA, Wahyudo R, dan Ginarana A, 2019. Efek Buah Nanas (*Ananas comosus* L. merr) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol pada Penyakit Jantung Koroner (PJK). *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung.* Vol. 3(1): 205-209.
- Putri HI, Warsito H, Amareta DI, 2017. Efek Pemberian Susu Kambing Etawa terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Hiperkolesterolemia. *Jurnal IKESMA.* Vol. 10(2): 97-102.
- Scandura G, Verrill C, Protheroe A, Joseph J, Ansell W, Sahdev A, Shamash J and Berney DM, 2018. Incidentally detected testicular lesions< 10 mm in diameter: can orchidectomy be avoided?. *BJU international.* Vol.121(4): 575-582.
- Setiyono E dan Bakti RP, 2019. Karakteristik Morfologi dan Perkembangan Testis Itik Alabio (*Anas platyrhynchos* Borneo) Periode Grower. *Life Science.* Vol. 8(2): 170-180.
- Sinaga L, 2016. Pengaruh Pola Konsumsi Makanan Cepat Saji terhadap Kadar Kolesterol Siswa Kelas XI SMA Negeri 8 dan SMA Pangudi Luhur Yogyakarta. *Skripsi.* Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Ujani S, 2016. Hubungan Antara Usia dan Jenis Kelamin dengan Kadar Kolesterol Penderita Obesitas RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung. *Jurnal Kesehatan.* Vol. 6(1): 43-48.
- Umami SR, Hapizah SS, Fitri R, dan Hakim A, 2016. Uji penurunan kolesterol pada mencit putih (*Mus musculus*) secara in-vivo menggunakan ekstrak metanol umbi talas (*Colocasia esculenta* L) sebagai upaya pencegahan cardiovascular disease. *Jurnal Pijar Mipa.* Vol. 11(2): 121-124.
- Vinnata NN, Salni S, Nita S, 2018. Pemberian Fraksi Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kesehatan.* Vol.9(3): 366-375.
- Yazdani I, Majdani R, Ghasemnejad-berenji M, and Dehpour AR, 2019. Comparison of Multiple Doses of Cyclosporin A On Germ Cell Apoptosis and Epididymal Sperm Parameters After Testicular Ischemia/Reperfusion in Rats. *Experimental and Molecular Pathology.* Vol. 110(104271): 1-8.

**Available Online:** 30 November 2021

**Published:** 31 Januari 2022

#### Authors:

Niya Maidah, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang, Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: niya.17030244020@mhs.unesa.ac.id

Dyah Hariani, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang, Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: dyahhariani@unesa.ac.id

#### How to cite this article:

Maidah N, Hariani D, 2022. Ekstrak Daun Pepaya Jepang (*Cnidioscolous aconitifolius*) Memperbaiki Kadar Kolesterol, Morfometri, dan Histologi Testis Mencit Hiperkolesterolemia. *LenteraBio*; 11(1): 52-62