

- GINSENG
- LIBIDO

serah 9



KKC
KK
LP 29/09
Win
P.

LAPORAN PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK UNAIR
TAHUN ANGGARAN 2008

PERAN β SITOSTEROL DALAM AKAR GINSENG JAWA TERHADAP PENINGKATAN LIBIDO



Oleh :
Dra. Dwi Winarni, M.Si.

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : APBN/RM Nomor : 0171.0/023-04.0/XVI/2008, Tanggal 31 Desember 2007
Nomor S.K. Rektor : 4318/J03/PG/2008
Tanggal : 19 Mei 2008

Fakultas Sains Dan Teknologi
Universitas Airlangga

Tahun 2008



UNIVERSITAS AIRLANGGA

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. Judul Penelitian	: Peran β -Sitosterol Dalam Akar Ginseng Jawa Terhadap Peningkatan Libido
a. Macam Penelitian	: <input type="checkbox"/> Fundamental <input type="checkbox"/> Terapan <input type="checkbox"/> Pengembangan
b. Katagori Penelitian	: <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III
2. Kepala Proyek Penelitian	
a. Nama lengkap dan Gelar	: Dr. Dwi Winarni, M.Si.
b. Jenis Kelamin	: Perempuan
c. Pangkat/Golongan/NIP	: Pembina / IVa / 131 836 619
d. Jabatan Sekarang	: Lektor Kepala
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Fakultas Sains dan Teknologi
f. Univ./Ins/Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang ilmu yang diteliti	: Fisiologi Reproduksi
3. Jumlah Tim Peneliti	: 1 (satu) orang
4. Lokasi Penelitian	: Lab. Biologi Reproduksi Fakultas Sains dan Teknologi Unair
5. Kerjasama dengan Instansi Lain	
a. Nama Instansi	: -
b. A l a m a t	: -
6. Jangka waktu penelitian	: 6 (Enam) bulan
7. Biaya yang diperlukan	: Rp 10.000.000,00 (Sepuluh Juta Rupiah)
8. Seminar Hasil Penelitian	
a. Dilaksanakan Tanggal	: 5 Desember 2008
b. Hasil Penelitian	: () Baik Sekali (V) B a i k () S e d a n g () K u r a n g

Surabaya, 10 Desember 2008



Mengetahui/Mengesahkan
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga,

Prof. Dr. Bambang Sektiari Lukiswanto, DEA., drh.
NIP 131 837 004

RINGKASAN

PERAN β -SITOSTEROL DALAM AKAR GINSENG JAWA TERHADAP PENINGKATAN LIBIDO

Dwi Winarni

Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya
Kampus C. Mulyorejo Surabaya, 60115. Telp. 031-5936501
(2008, 75 halaman)

Libido (*sexual desire*) merupakan fase awal respons seksual. Perilaku seksual pada mamalia merupakan serangkaian respons terhadap berbagai stimuli baik internal maupun eksternal yang memicu libido (*sexual desire*) dan memberikan sinyal adanya potensi untuk kawin. Libido tergantung pada stimuli psikogenik dan faktor hormonal. Testosteron merupakan hormon yang berpengaruh pada libido. Status testosteron menentukan kepekaan terhadap stimuli. Testosteron mengatur aktivitas NOS (*nitric oxide synthase*) di dalam MPOA. Peningkatan aktivitas NOS akan meningkatkan kadar NO (*nitric oxide*). Peningkatan kadar NO mengakibatkan peningkatan dopamin saat jantan dihadapkan pada betina. Peningkatan kadar dopamin di beberapa area integratif menyebabkan timbulnya libido, kinerja motorik dan refleks genital yang mengawali terjadinya kopulasi.

Akar ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.), yang selama ini dikenal berkhasiat sebagai tonikum dan afrodisiaka diketahui mengandung senyawa β -sitosterol. Kesamaan strukturnya dengan kolesterol (prekursor sintesis testosteron), memungkinkan dikonversinya β -sitosterol menjadi testosteron. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran β -sitosterol dalam akar ginseng jawa pada peningkatan libido, dan pengaruh lama waktu pemberian akar ginseng jawa dan peran β -sitosterol di dalamnya terhadap libido mencit.

Untuk tujuan tersebut, pada penelitian ini digunakan akar ginseng jawa dalam bentuk ekstrak metanol dan isolat dari ekstrak n-heksan. Standar β -sitosterol yang digunakan sebagai pembanding mempunyai tingkat kemurnian 97%. Penentuan kadar β -sitosterol dilakukan dengan HPLC Agilent 1100 series dengan detektor DAD (*diode array detector*), pada $\lambda=210$ nm, kolom Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250 mm, dan

suhu kolom 40°C. Fasa mobil yang digunakan adalah asetonitril : metanol (65:35) secara isokratik pada laju alir 1,2 ml/min dan volume injeksi 50 ul.

Penelitian ini menggunakan tujuh puluh dua ekor mencit (*Mus musculus*) strain BALB-C jantan umur 8-10 minggu, dengan berat badan berkisar 25-30 g dan kadar testosteron total serumnya dibuat rendah. Kadar testosteron total serum rendah dibuat dengan jalan memberikan pra perlakuan etinilestradiol 1,4 µg/20 g BB/hari (EE₂) selama 9 hari. Setelah pra perlakuan, pemberian EE₂ dihentikan untuk tigapuluh enam ekor hewan coba (kelompok tanpa EE₂), sedangkan 36 sisanya tetap diberi EE₂ dengan dosis sama (kelompok EE₂). Masing-masing kelompok dibagi menjadi 4 subkelompok yaitu subkelompok Pg yang diberi ekstrak, Pf diberi isolat, Ps diberi standar dan kelompok kontrol tanpa ginseng (Po). Baik ekstrak, isolat maupun standar yang diberikan mengandung β-sitosterol setara dengan β-sitosterol dalam 1.96 mg akar ginseng kering /20 g BB/hari. Tiap sub-subkelompok dibagi lagi menjadi 3 kelompok yang diberi perlakuan 9, 18, dan 27 hari. Pada akhir perlakuan dilakukan uji libido. Uji libido dilakukan malam hari dalam keadaan gelap dan direkam dengan kamera. Uji libido terhadap hewan jantan 1 jam setelah pemberian perlakuan dengan memasukkan betina estrus ke dalam kandang. Indikator libido adalah *mount latencies*, yaitu waktu yang diperlukan jantan untuk melakukan *mounting* pertama kalinya. Pengukuran kadar testosteron total dalam serum darah terhadap kelompok tambahan yaitu kelompok dengan dan tanpa pra perlakuan untuk memastikan terjadinya penurunan kadar setelah praperlakuan, dilakukan dengan RIA (*radioimmunoassay*).

Analisis data menggunakan uji statistik dilakukan pada α=0,05. Data berdistribusi normal dan bervariansi homogen diuji dengan analisis varians 2 arah untuk mengetahui pengaruh faktor-faktor yang diuji dan interaksinya, dan dengan analisis varians 1 arah untuk mengetahui pengaruh kelompok-kelompok hasil interaksi faktor. Jika hasil analisis varians bermakna (p<0,05), dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui beda antar tiap 2 kelompok perlakuan. Data berdistribusi normal dengan varians tidak homogen diuji dengan uji Brown Forsythe dilanjutkan dengan uji t. Data kadar testosteron dianalisis dengan uji Mann Whitney.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa β-sitosterol dalam akar ginseng jawa setara dengan 1.96 mg akar ginseng kering /20 g BB/hari yang diberikan pada mencit selama 9 hingga 27 hari pada hewan coba mencit berperan dalam meningkatkan libido

dan tidak memberikan peningkatan libido lebih lanjut pada waktu pemberian lebih lama.

Dibayai oleh DIPA - PNBP Universitas Airlangga
Nomor SK. Rektor : 4318/JO3/PG/2008
Tanggal : 19 Mei 2008

SUMMARY

THE ROLE OF β -SITOSTEROL IN JAVA GINSENG ROOT IN ENHANCING LIBIDO

Dwi Winarni

Biology Department, Faculty of Science and Technology

Airlangga University Surabaya

Kampus C. Mulyorejo Surabaya, 60115. Telp. 031-5936501

Libido is a initial phase of sexual responses. Mammalian sexual behavior are responses for stimuli both from external or internal stimuli which trigger libido o sexual desire as signals for mating. Libido depends on psychogenic and hormonal factors. Testosterone is a hormone that give effect on libido. Sensitivity to stimuli depend on testosterone status. Testosterone regulates NOS (nitric oxide synthase) activity in MPOA. Increase of NOS causes dopamin increase at some integrative areas that further raise libido, motoric performance and genital reflex. Those initiate copulation.

*Java ginseng (*Talinum paniculatum* Gaertn.) root is locally used as tonicum and aphrodisiacs. The root of java ginseng has been reported contain β -sitosterol that structurally similar to cholesterol (precursor for testosterone synthesis). Because that, β -sitosterol could convert to testosterone.*

The aims of this research were to know the role of β -sitosterol in enhancing libido, and the effect of the length of java ginseng root treatment on libido

For that, this research used java ginseng root in metanol extract and isolate of n-hexane extract.. Standard β -sitosterol has 97% β -sitosterol. Measurement of β -sitosterol level in java ginseng root had been done by HPLC Agilent 1100 series, DAD (diode array detector), $\lambda=210$ nm, column Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250 mm, column temperature 40°C, and injection volume 50 μ l. Mobile phase was acetonitril : metanol (65:35) in flow rate 1,2 ml/min isocratically.

*This research used seventy two male mice (*Mus musculus*) strain BALB-C, aged 8-10 weeks, weighed 25-30 g that had low total testosterone level. Testoterone level was decreased by ethynilestradiol (EE_2) 1,4 μ g/20 g BW/day pretreatment for 9 days. After that, pretreatment EE_2 was stopped for 36 mice (group without EE_2), and still given for the other (group with EE_2). Each of group was divided to 4 subgroups. Subgroup Pg was administered by methanol extract of java ginseng, subgroup Pf was*

administered by isolate of n-hexane extract, subgroup Ps was administered by standard of β -sitosterol and subgroup Po as control (without java ginseng root). Extract, isolate and standard which have been administered contained the equivalent amount of β -sitosterol as found in 1.96 mg dry root of java ginseng /20 g BW/day. Further, each subgroup was divided to sub-subgroups that were administered treatment for 9, 18 and 27 days.

Libido test was carried out in dark and recorded by camera. It was taken 1 hour after the last treatment. Libido test was done to 1 male for 1 estrous female mice. Indicator of libido was mount latencies (time that needed by male mice to first mounting). Blood serum were collected next morning. The level of serum total testosterone level of addition groups (with and without EE2 pretreatment) was measured by RIA (radioimmunoassay).

Data were analyzed stastically with $\alpha=0,05$. Normally-distributed data which had homogen variance were analyzed by anova and Duncan test whereas data which had non homogen variance by Brown Forsythe test and t test

The results of this research revealed that β -sitosterol in 1.96 mg dry root of java ginseng/20 g bw/day for 9 until 27 days to mice had a role in enhancing libido and the length of treatment couldn't give more significant effect on libido.

Funded by DIPA - PNBPA Airlangga University
Number of SK. Rektor : 4318/JO3/PG/2008
Date : May 19th 2008

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan yang Mahaesa, hanya karena rahmatNyalah laporan penelitian ini dapat terselesaikan.

Ucapan terimakasih disampaikan juga kepada yang terhormat

- (1) Segenap Pimpinan Universitas dan Pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi, dan Pimpinan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga yang memungkinkan didanainya penelitian ini
- (2) Para pengambil keputusan pemberian Dana Penelitian melalui DIPA PNBPU Universitas Airlangga sehingga dengan dana tersebut, penelitian ini bisa berlangsung
- (3) Kepala Lab. Biologi Reproduksi yang amat membantu dalam masalah fasilitas dan teknis penelitian selama penelitian berlangsung
- (4) Para mahasiswa yang sangat membantu mulai awal hingga selesainya penelitian ini.
- (5) Laboran dan teknisi, atas peran sertanya baik langsung maupun tidak langsung hingga penelitian ini selesai

Akhir kata, tidak ada gading yang tak retak, laporan penelitian ini masih jauh dari sempurna. Masukan dan saran untuk perbaikan sangat diharapkan.

Surabaya, Nopember 2008

Peneliti

DAFTAR ISI

	halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Ginseng Jawa	5
2.2. Sterol.....	8
2.3. Libido	11
2.4. Tinjauan Tentang Estradiol.....	17
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	18
3.1. Tujuan Penelitian	18
3.2. Manfaat Penelitian	18
BAB IV METODE PENELITIAN	19
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	19
4.2. Unit Eksperimen dan Replikasi	19
4.3. Variabel Penelitian.....	19
4.4. Bahan Penelitian	20
4.5. Alat Penelitian	20
4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian	21
4.7. Tahap-Tahap Penelitian.....	21
4.4. Analisis Data	26
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	27
5.1. Kadar β -sitosterol Akar Ginseng Jawa.....	27
5.2. Pengaruh pra perlakuan terhadap kadar T.....	32
5.3. Pengaruh Pemberian dan Lama Waktu Pemberian EE ₂ terhadap Libido.....	35
5.4. Pengaruh Perlakuan Terhadap Libido	38
5.5. Pengaruh Lama Pemberian Terhadap ML.....	41
BAB VI KESIMPULAN.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Matriks pengelompokan hewan coba	24
Tabel 5.1. Hasil uji Mann Whitney kadar testosteron total serum mencit kelompok yang diberi dan tidak diberi pra perlakuan	32
Tabel 5.2 Hasil analisis varians dua arah data <i>mount latencies</i> kelompok kontrol	37
Tabel 5.3. Hasil uji beda pengaruh jenis sediaan terhadap <i>mount latencies</i>	39
Tabel 5.4. Hasil uji beda data <i>mount latencies</i> untk mengetahui lama pemberian	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Tanaman ginseng jawa (<i>Talinum paniculatum</i> Gaertn.)	6
Gambar 2.2. Struktur umum steroid dengan penomoran pada kerangka atom.....	9
Gambar 2.3. Struktur beberapa jenis sterol	10
Gambar 2.4. Diagram mekanisme hubungan antara stimulus dan status hormonal	13
Gambar 2.5. Profil perubahan kadar LH serum mencit jantan sebelum dan dengan mencit dan urin mencit betina	15
Gambar 2.6. Biosintesis estrogen melalui aromatisasi cincin A androgen oleh enzim aromatase	16
Gambar 4.1. Bagan pengelompokan hewan coba	23
Gambar 4.2. Bagan langkah-langkah uji libido	25
Gambar 5.1. Kromatogram HPLC isolat dari ekstrak n-heksan yang mengandung β -sitosterol dan standar β -sitosterol	28
Gambar 5.2. Kromatogram HPLC pada uji konfirmasi β -sitosterol.....	29
Gambar 5.3. Gambar yang menunjukkan tahap awal sintesis testosteron	31
Gambar 5.5. Bagan yang menunjukkan umpan balik negatif pada tingkat hipotalamus dan hipofisis oleh peningkatan kadar estradiol ...	35
Gambar 5.6. Diagram yang menunjukkan perubahan <i>mount latencies</i> pada kelompok-kelompok perlakuan	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Usaha pengembangan obat tradisional telah dicanangkan lebih dari dua dasawarsa terakhir. Garis-garis Besar Haluan Negara 1988 telah mencantumkan perlunya penggalian, penelitian, pengujian dan pengembangan obat-obatan serta pengobatan tradisional melalui hasil-hasil penelitian dan pengujian ilmiah.

Akar ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) dikenal berkhasiat sebagai obat tradisional untuk khasiat tonikum dan aprodisiaka-sama seperti sebagian khasiat akar ginseng korea (Pramono *et al.*, 1993; Adimoelja, 1996). Ginseng jawa mudah dibiakkan dan harganya jauh lebih murah dibanding ginseng korea. Namun, dibanding dengan akar ginseng korea, popularitas ginseng jawa yang hanya dikenal lokal, jauh di bawah ginseng korea. Popularitas ginseng korea ditunjang oleh banyaknya publikasi hasil penelitian. Oleh karena itu ginseng korea dapat diperoleh dalam berbagai bentuk sediaan. Selain itu, produk-produk yang beredar di pasaran banyak yang menggunakan akar ginseng korea sebagai komponen yang ditonjolkan, meskipun hanya untuk khasiat utama tonikum dan aprodisiaka seperti ginseng jawa.

Faridah dan Isfaryanti (1996). menyebutkan bahwa akar ginseng Jawa mengandung steroid /sterol (stigmasterol dan β -sitosterol) dan saponin (β sitosterol- β -D-glukosida), senyawa pereduksi dan senyawa yang diduga kumarin. Hasil uji pendahuluan secara kualitatif menunjukkan bahwa akar ginseng jawa mengandung β -sitosterol.



Senyawa sterol (bentuk steroid dalam tumbuhan) yang berstruktur mirip kolesterol dapat diubah menjadi pregnenolon. Penambahan β -sitosterol ke dalam sistem mitokondria testis babi dapat menghasilkan pregnenolon dengan laju relatif 98% terhadap pembentukan pregnenolon dari kolesterol pada sistem sama (Arthur, *et al.* 1976). Kesamaan struktur memungkinkan dikonversinya sterol tertentu menjadi hormon steroid (Fernandez *et al.*, 2002). Sterol dalam bentuk glikosida (saponin) di dalam lambung yang bersifat asam mengalami pemutusan bagian gula, sehingga dapat memberikan efek seperti sterol bebas.

Winarni (1999) membandingkan pengaruh ekstrak akar ginseng korea dan akar ginseng jawa terhadap sintesis protein testis tikus yang diberi perlakuan estrogen. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya kesamaan khasiat keduanya dalam menstimulasi sintesis protein testis dengan BM 14, 44, dan 68 kDa. Ketiga jenis protein tersebut berperan dalam spermatogenesis tahap meiosis. Pemberian ekstrak kasar akar ginseng jawa pada mencit normal yang mengakibatkan peningkatan kadar testosteron sedangkan pemberian fraksi polar tidak memberikan pengaruh, mengindikasikan adanya peran sterol dalam khasiat tersebut. (Winarni dan Husen, 2005).

Testosteron yang dihasilkan testis merupakan androgen paling aktif. Androgen merupakan hormon yang bersifat anabolik (meningkatkan sintesis protein dan menurunkan pemecahan protein). Aksi androgen pada jaringan target mengakibatkan efek maskulinisasi, ikut bertanggung jawab terhadap keberlangsungan spermatogenesis di testis, peningkatan sifat agresif, pertumbuhan tulang dan otot serta perilaku seksual. (Ganong, 2003).

Testosteron dan hormon steroid lain disintesis dari prekursor kolesterol (Litwack, 1991). Sintesis testosteron diawali oleh terjadinya pembentukan pregnenolon dari kolesterol. Konversi kolesterol menjadi pregnenolon merupakan urutan dua kali reaksi hidroksilasi yang diikuti dengan reaksi pemutusan ikatan karbon pada rantai samping (Arthur *et al.*, 1976; Champe dan Harvey, 1994).

Testosteron merupakan hormon steroid yang berperan mengatur perilaku seksual terutama melalui peningkatan pemrosesan stimuli yang sesuai, dan pengaruhnya terhadap perubahan sintesis enzim, reseptor dan atau protein yang mempengaruhi fungsi neurotransmiter. Neurotransmiter yang diketahui berperan dalam peningkatan motivasi seksual adalah dopamin terutama yang dihasilkan di MPOA (*medial pre optic area*) yang berlokasi di depan hipotalamus (Hull *et al.*, 2004). Libido (*sexual desire*) merupakan fase awal respons seksual. Perilaku seksual pada mamalia merupakan serangkaian respons terhadap berbagai stimuli baik internal maupun eksternal yang memicu libido (*sexual desire*) dan memberikan sinyal adanya potensi untuk kawin (Pfaus *et al.*, 2001). Libido tergantung pada stimuli psikogenik dan faktor hormonal (Gutierrez, 1999).

Status testosteron menentukan kepekaan terhadap stimuli. Testosteron mengatur aktivitas NOS (*nitric oxide synthase*) di dalam MPOA. Peningkatan aktivitas NOS akan meningkatkan kadar NO (*nitric oxide*). Peningkatan kadar NO mengakibatkan peningkatan dopamin saat jantan dihadapkan pada betina. Peningkatan kadar dopamin di beberapa area integratif menyebabkan timbulnya libido, kinerja motorik dan refleksi genital yang mengawali terjadinya kopulasi (Hull *et al.*, 2004). Hasil penelitian Winarni (2006) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak akar ginseng jawa setara dengan 1,4 mg/20 g BB/hari pada prakondisi

testosteron rendah berpengaruh terhadap perubahan perilaku, meningkatkan libido dibandingkan kontrol tanpa akar ginseng.

Dari latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menggali potensi akar ginseng jawa lebih lanjut dengan terutama peran β -sitosterol terhadap libido. Analisis potensi tersebut dilengkapi dengan uji efek yang ditimbulkan berdasar lama waktu pemberian dan kadar testosteron. Dengan demikian, dari hasil penelitian ini, diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi ilmiah yang diperlukan bagi peningkatan nilai komersial akar ginseng jawa di masa datang.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut di atas, dirumuskan masalah sebagai berikut.

1. Apakah β -sitosterol merupakan komponen akar ginseng jawa yang berperan dalam peningkatan libido ?
2. Apakah lama waktu pemberian akar ginseng jawa berpengaruh terhadap libido mencit?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ginseng Jawa

2.1.1. Klasifikasi dan morfologi ginseng jawa

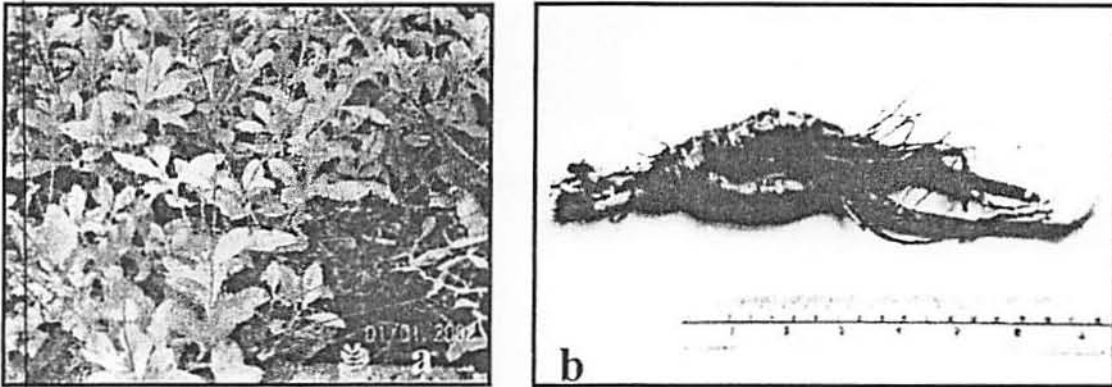
Ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn), di Indonesia banyak ditanam sebagai tanaman hias (Heyne, 1987 dalam MHII, 1994), mudah dibudidayakan melalui bijinya, dan tidak memerlukan penanganan khusus (Pramono *et al.*, 1993)

Menurut van Steenis (1992), ginseng jawa diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisio	: Spermatophyta
Sub-divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Sub-classis	: Apetalae
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Portulacaceae
Genus	: <i>Talinum</i>
Species	: <i>Talinum paniculatum</i> Gaertn

Ginseng jawa merupakan tanaman herba menahun dengan tinggi sekitar 0,3-0,8 m. Daun berwarna hijau agak tua, sedikit sukulen, agak kaku dengan bentuk jorong memanjang. Bunga ginseng jawa berwarna merah muda keunguan, infloresensi malai (panikula) dengan waktu berbunga sekitar 74-80 hari setelah disemai. Bentuk buah globose, kuning saat masih muda dan merah kecoklatan setelah masak. Saat buah masak, mudah pecah disertai keluarnya biji-biji berwarna hitam. Akar ginseng jawa berwarna coklat, bentuknya mirip dengan akar ginseng korea

tetapi lebih gelap dan kurang berkerut (Santa dan Prayogo, 1996; Wahyuni dan Hadipoenlyanti, 1996; Tyler *et al.*, 1988 dalam Pramono *et al.*, 1993.).



Gambar 2.1. Tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn). Habitus tanaman (a) dan akar ginseng jawa (b)

2.1.2. Khasiat akar ginseng jawa

Akar ginseng jawa dikenal berkhasiat sebagai tonikum untuk mengatasi segala macam kelelahan fisik, dan digunakan dalam ramuan obat tradisional sebagai bahan yang berkhasiat aprodisiaka (pembangkit nafsu seksual) (Suryakartawinata (1991) dalam Pramono *et al.*, 1993; Adimoelja, 1996; Soegijono dan Handayani, 1996). Akar ginseng jawa digunakan juga sebagai obat impotensia (Heyne , 1987 dalam MHII, 1994).

Hasil penelitian Sa'roni *et al.* (1996) terhadap mencit jantan menunjukkan bahwa infus akar ginseng jawa setara dengan serbuk 3,5 mg/100 g BB dapat meningkatkan persentase jumlah spermatozoa motil.

Winarni *et al.* (1998) mengamati pengaruh akar ginseng jawa dengan ginseng korea pada sintesis protein serum tikus. Hasil penelitian menunjukkan adanya

kesamaan pengaruh ekstrak akar ginseng jawa dengan ginseng korea (setara dengan 3,5 mg ekstrak akar ginseng kering/ 100 g BB/ hari) dalam menstimulasi sintesis protein serum dengan BM 80,8 kDa.

Winarni (1999) membandingkan pengaruh ekstrak akar ginseng korea dan akar ginseng jawa terhadap sintesis protein testis tikus yang diberi perlakuan estrogen (etinilestradiol 1 $\mu\text{g}/100\text{g}$ BB/hari selama $\frac{1}{4}$ siklus spermatogenesis). Hasil penelitian tersebut dengan dilengkapi pengamatan histologi testis menunjukkan adanya kesamaan khasiat keduanya dalam menstimulasi sintesis protein testis dengan BM 14, 44, dan 68 kDa. Ketiga jenis protein tersebut diduga berperan dalam spermatogenesis tahap meiosis. Penelitian berikutnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol setara dengan akar ginseng kering 0,7 mg/20 g BB/hari pada mencit mengakibatkan peningkatan rerata kadar testosteron dibanding kontrol tanpa akar ginseng jawa (Winarni dan Husen, 2005).

Taylor (2005) menyebutkan bahwa khasiat suatu tanaman obat pada umumnya merupakan interaksi antar komponen penyusunnya. Ekstrak tanaman obat dalam bentuk *crude extract* mengandung 400 atau lebih jenis senyawa. Seringkali isolat komponen yang diduga bahan aktif tidak seefektif *crude extract*, karena efek yang dihasilkan oleh *crude extract* merupakan hasil interaksi antara bahan aktif dengan komponen penyusun yang lain (Taylor, 2005; Deocaris *et al.*, 2008).

2.1.3. Kandungan akar ginseng jawa

Akar ginseng jawa mengandung steroid, saponin dan tanin (Sugiastuti *et al.*, 1996). Faridah dan Isfaryanti (1996). menyebutkan bahwa akar ginseng jawa mengandung steroid /sterol (stigmasterol dan β -sitosterol) dan glikosida sterol

(β sitosterol- β -D-glukosida), senyawa pereduksi dan senyawa yang diduga kumarin. Sukardiman (1996) menyebutkan bahwa dari hasil analisis KLT (kromatografi lapis tipis) densitometri, diketahui ada sedikitnya dua senyawa (golongan terpenoid dan steroid) yang terkandung dalam ginseng jawa sama dengan yang terkandung dalam ginseng korea.

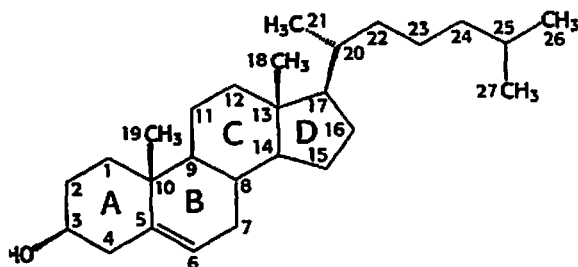
2.2. Sterol

Istilah sterol digunakan untuk menunjukkan steroid alkohol. Umumnya, steroid tumbuhan merupakan sterol, dan disebut sebagai fitosterol. Ekstraksi sterol dilakukan dalam pelarut lemak. Pemisahan awal untuk tujuan isolasi dapat dilakukan dengan KLT. Identifikasi sterol secara kualitatif dapat dilakukan dengan menyempatkan pereaksi Lieberman Burchard /anhidrida asetat dan asam sulfat pekat (Robinson, 1995).

Sterol tersusun atas kerangka dasar kolestan (suatu siklopentanaperhidroferantrena) dengan jumlah atom C27 hingga 30, yang mengandung gugus hidroksil pada posisi 3β dan rantai alifatik yang terdiri dari 8 atom atau lebih, terikat pada posisi C17 (Gambar 2.2.) (Robinson, 1995). Kolesterol adalah sterol yang umum ditemukan pada hewan, sedangkan pada tumbuhan adalah β -sitosterol (Mc. Murry, 1984).

Fungsi utama sterol adalah sebagai komponen membran biologi. Sterol terakumulasi di membran, mengatur fluiditas dan permeabilitas membran (Demel dan de Kruiff, 1983 dalam Benveniste, 2004). Sterol berperan dalam fungsi regulasi antara lain pada induksi terbentuknya *microdomain* pada membran (*caveolae*) yang memungkinkan terbentuknya pusat sinyal yang diperlukan untuk komunikasi antara

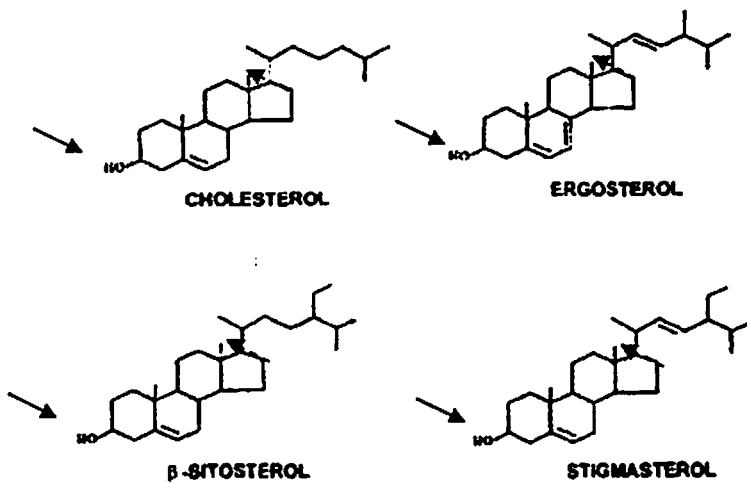
sel dengan sel dan sel dengan lingkungannya (Karpen *et al.*, 2001 *dalam* Benveniste, 2004). Sterol juga merupakan prekursor beberapa senyawa dengan aktivitas fisiologik tinggi seperti brassinosteroid dan kelompok hormon penting yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan pada tanaman tinggi (Li *et al.* 1996 *dalam* Benveniste, 2004), ekdisteroid yang berperan dalam ekdisis (pergantian kulit) pada hewan Avertebrata (Svodoba dan Weirich, 1995 *dalam* Benveniste, 2004; Lutjohann, 2004) dan beberapa hormon steroid Vertebrata, yang berperan dalam pembentukan dan perkembangan organ seks, perilaku seks, metabolisme mineral dan karbohidrat serta asam empedu yang berperan dalam metabolisme lipid (Timberlake, 2003; Lutjohann, 2004).



Gambar 2.2. Struktur umum steroid dengan penomoran pada kerangka atom karbon (Berg *et al.*, 2002)

Kolesterol (C₂₇) merupakan sterol khas pada jaringan hewan Vertebrata. Hewan hanya mensintesis kolesterol, sedangkan tumbuhan selain mensintesis kolesterol dalam jumlah sangat sedikit, juga mensintesis fitosterol. Fitosterol mempunyai struktur mirip dengan kolesterol, bedanya adalah pada jenis substitusi rantai samping dan atau saturasinya (Awad dan Fink, 2000; Lutjohann, 2004).

Dibandingkan dengan kolesterol, fitosterol mempunyai tambahan alkil pada C24 rantai samping. Enampuluh persen atau lebih total fitosterol tumbuhan tinggi merupakan campuran 24-etil sterol ((sitosterol dan stigmasterol (C29)) dan sangat sedikit kolesterol, sisanya 40% atau kurang merupakan campuran 24-metil sterol (Pegel, 1997). Fitosterol dapat ditemukan dalam keadaan bebas atau terikat dengan glikosida. Keduanya ditemukan dalam fraksi non polar (Robinson, 1995).



Gambar 2.3. Struktur beberapa jenis sterol. Sterol tersusun atas kerangka utama kolestan mengandung 3β hidroksil (anak panah sinambung) dan rantai alifatik terikat pada posisi C17 (anak panah putus-putus) (Robinson, 1995)

Di dalam saluran cerna, absorpsi fitosterol oleh sel-sel intestinal Vertebrata sangat terbatas (5% dari total yang diingesti). Fitosterol yang masuk ke dalam darah, akan ditranspor dalam keadaan terikat protein plasma seperti halnya transpor kolesterol, sterol utama Vertebrata. Hepar akan mengeksresikan fitosterol secara efektif, tetapi akan diakumulasikan pada jaringan lain terutama ginjal, ovarium dan testis. Kesamaan struktur memungkinkan fitosterol dikonversi menjadi hormon

steroid (Fernandez *et al.*, 2002). Clejan (1989) dalam Pegel (1997) menyatakan bahwa dalam tubuh hewan, sitosterol dapat diubah menjadi pregnenolon. Pregnenolon merupakan prekursor hormon steroid, termasuk hormon steroid yang dihasilkan oleh ovarium dan testis (Litwack, 1992). Penambahan β -sitosterol ke dalam sistem mitokondria testis babi dapat menghasilkan pregnenolon dengan laju relatif 98% terhadap pembentukan pregnenolon dari kolesterol (Arthur *et al.*, 1976).

Minyak tumbuhan yang belum mengalami refinisasi, biji, kacang-kacangan dan polong-polongan merupakan sumber terbaik fitosterol (Awad dan Fink, 2000). Beta-sitosterol menyusun 45-95% fitosterol tumbuhan, campesterol dan stigmasterol menyusun sekitar 30% dan 25% total fitosterol minyak yang berasal dari biji-bijian (*seed oil*) (Lutjohann, 2004). Kedelai mengandung 190 mg β -sitosterol/100 g, minyak zaitun 131 mg, minyak biji matahari 253,2 mg, minyak jagung 746 mg dan minyak kelapa 189,4 mg (Gunstone *et al.*, 1994). Diet orang Eropa pada umumnya mengandung sekitar 80 mg/hari, diet vegetarian 345 mg/hari dan diet orang Jepang sekitar 400 mg/hari (Awad dan Fink, 2000).

2.3. Libido

Libido didefinisikan sebagai keinginan biologis untuk melakukan aktivitas seksual dan umumnya ditunjukkan sebagai perilaku *sex-seeking* (Kandeel *et al.*, 2001). Libido merupakan fase awal respons seksual yang tergantung pada multifaktor, terutama adalah adanya stimuli psikogenik, faktor hormonal (Gutierrez dan Stimmel, 1999), dan faktor eksternal (adanya stimulasi seksual yang sesuai) (Pfaus dan Scepkowski, 2001). Pada mamalia, faktor yang dominan sebagai penentu libido

adalah adanya feromon (stimuli kemosensorik dari lingkungan yang dihasilkan oleh individu lain dalam satu spesies) dan faktor hormonal (Dominguez *et al.*, 2001).

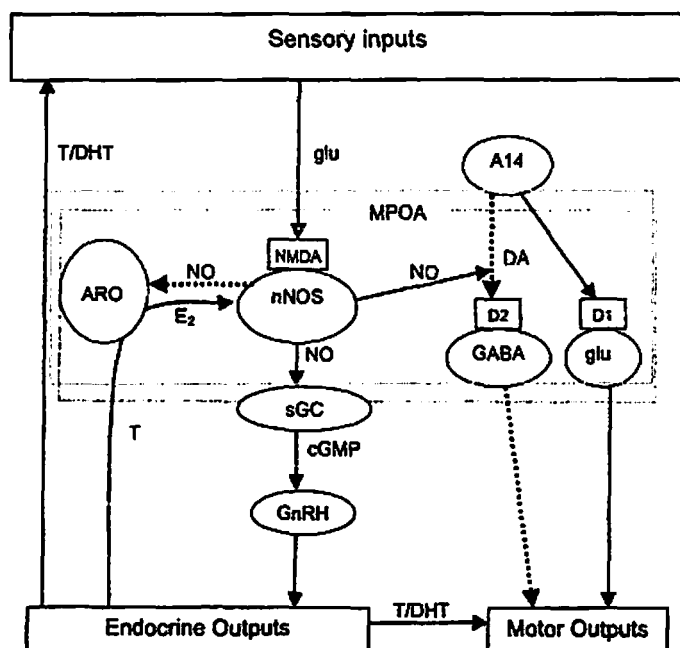
Testosteron sebagai salah satu faktor yang berperan mengatur perilaku seksual, bekerja melalui peningkatan pemrosesan stimuli yang sesuai, dan pengaruhnya terhadap perubahan sintesis enzim, reseptor dan atau protein yang mempengaruhi fungsi neurotransmitter (Gutierrez dan Stimmel, 1999; Hull *et al.*, 2004). Neurotransmitter yang diketahui berperan dalam peningkatan motivasi seksual banyak spesies termasuk rodentia dan manusia adalah dopamin terutama yang dihasilkan di MPOA (*medial pre optic area*) (Melis dan Argiolas *dalam* Dominguez, *et al.*, 2001; Hull *et al.*, 2004). Kadar testosteron yang diperlukan untuk memelihara libido normal lebih rendah dibandingkan yang diperlukan untuk fungsi lain (Kandeel *et al.*, 2001).

Salah satu sumber utama input sensorik bagi MPOA adalah dari bagian media amygdala. Media amygdala menerima input sensorik antara lain dari bulbus olfaktorius dan organ vomeronasal, memrosesnya dan kemudian meneruskannya ke MPOA dan bagian lain (Domingues *et al.*, 2001). Bagian anterior medial amygdala merupakan bagian penerima input, sedangkan bagian posteriodorsal sensitif terhadap hormon steroid (Maras, 2006).

Stimuli yang merupakan input sensorik, mengakibatkan aktivasi NOS (*nitric oxide synthase*) di MPOA melalui reseptor glutamatergik NMDA (N-metil-D-aspartat), yang kemudian mengakibatkan pelepasan NO (*nitric oxide*). *Nitric oxide* menstimulasi output motorik dan endokrin dari MPOA. *Nitric oxide* menyebabkan pelepasan dopamin dari neuron periventrikular A14. Dopamin kemudian dapat menghambat inhibisi tonik oleh sel-sel GABAergik atau menstimulasi output eksitatori glutamatergik. Selain itu NO melalui jalur cGMP mengaktivasi aksis

hypothalamo-pituitary-gonadal (HPG), yang kemudian memacu pelepasan hormon gonad (testosteron) (Hull *et al.*, 2004).

Testosteron menimbulkan efek pro-kopulatori di otak (pada sel-sel sensorik, motorik dan integratif) dan di jaringan perifer yang memungkinkan kesiapan beberapa sistem yang terlibat untuk timbulnya kopulasi. Estradiol sebagai hasil aromatisasi testosteron mengatur aktivitas NOS, NO yang dihasilkan dapat memberikan umpan balik bagi aktivitas aromatisasi (Gambar 2.4) (Hull *et al.*, 2004).



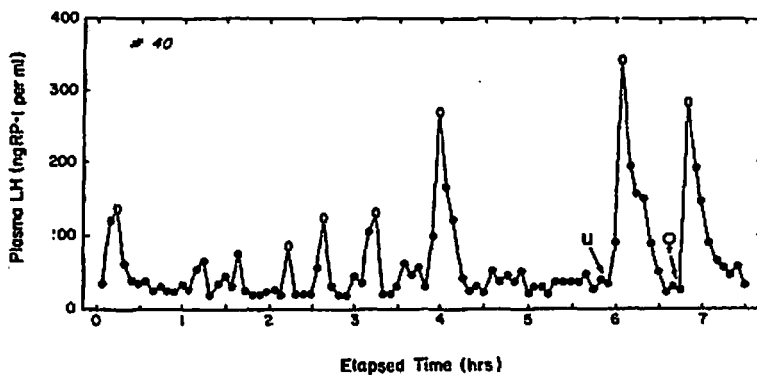
Gambar 2.4. Diagram mekanisme hubungan antara stimulus (input sensorik) dan status hormonal dalam timbulnya libido (Hull *et al.*, 2004).

MPOA=*medial pre optic area*; NOS=*nitric oxide synthase*; NO=*nitric oxide*; T/DHT=*testosteron/dihidrotestosteron*; T= *testosteron*; E₂=*estradiol*; NMDA=*N-metil-D-aspartat*, reseptor glutamat; ARO=*aromatase*; D2 & D1 = reseptor dopamin, GABA = *gamma amino butyric acid*; GnRH=*gonadotropin releasing hormone*; A14=*neuron dopaminergik periventrikular*; sGC=*soluble guanylyl cyclase*.

Status testosteron menentukan kepekaan terhadap stimuli. Testosteron meningkatkan aktivitas NOS di dalam MPOA. Peningkatan kadar NO karena peningkatan aktivitas NOS mengakibatkan peningkatan dopamin saat jantan dihadapkan pada betina. Peningkatan kadar dopamin di beberapa area integratif menyebabkan timbulnya libido, kinerja motorik dan refleksi genital yang mengawali terjadinya kopulasi (Kandeel *et al.*, 2001 dan Hull *et al.*, 2004).

Pada jantan dewasa sehat, tingginya kadar testosteron berkaitan dengan tingginya libido. Pemberian testosteron pada pria hipogonad mengembalikan libido dan penghentian terapi androgen pada penderita hipogonad mengakibatkan penurunan libido (Kandeel *et al.*, 2001). Kastrasi pada tikus menunjukkan adanya penurunan kandungan NOS jaringan penis dan pemberian androgen akan mengembalikan produksi dan aktivitas NOS (Mills *et al.* dalam Kandeel, *et al.*, 2001).

Stimuli kemosensorik (feromon) dan adanya sistem olfaktori (yang terdiri dari sel-sel olfaktori dan organ vomeronasal) merupakan faktor yang mempengaruhi perilaku seksual mamalia pada umumnya. Mencit jantan mengekskresikan senyawa yang *androgen dependent* pada urinnya, yang dapat antara lain memacu timbulnya pubertas dan mensinkronisasi estrus mencit betina. Demikian pula, betina pada banyak spesies mamalia menghasilkan stimuli yang secara akut mempengaruhi status reproduksi pejantan (Clancy *et al.*, 1984). Penyemprotan urin betina estrus atau adanya hewan betina secara akut dapat meningkatkan kadar LH jantan (Gambar 2.5.) (Coquelin *et al.*, 1984). Mencit, tikus, kelinci, banteng, dan hamster jantan menunjukkan peningkatan LH dan atau testosteron saat distimulasi dengan betina. Kerusakan sistem olfaktori mengakibatkan ketidaksesuaian respons terhadap stimuli kemosensorik (Clancy *et al.*, 1984).



Gambar 2.5. Profil perubahan kadar LH serum mencit jantan sebelum dan setelah distimulasi dengan mencit betina dan urin mencit betina estrus (Coquelin *et al.*, 1984)

U=saat penyemprotan urin mencit betina. ♀=saat dihadapkan pada mencit betina estrus

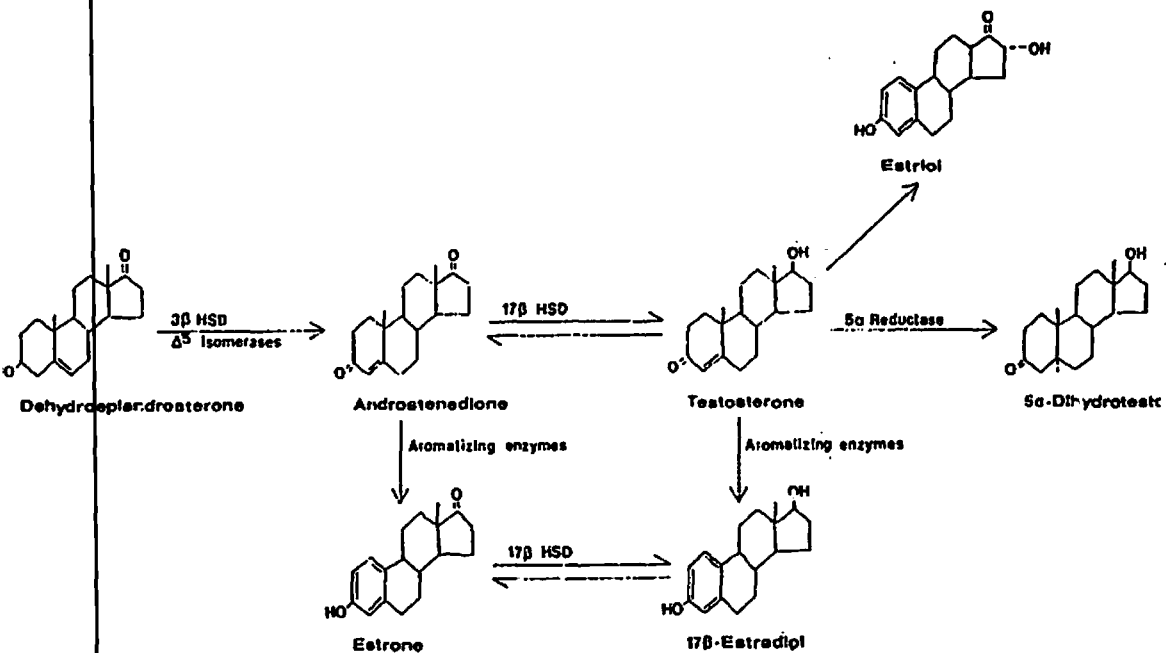
Perilaku seksual pada hewan rodentia jantan, meliputi dua tahap, yaitu tahap appetitif (*appetitive phase*) dan tahap konsumatori (*consumatory phase*). Tahap appetitif ditandai dengan pendekatan dan pengenalan lawan jenis atau bukan, sedangkan tahap konsumatori ditandai dengan serangkaian perilaku kopulatori termasuk *mount* (menaiki betina), intromisi dan ejakulasi. Kedua tahap tersebut memerlukan pemrosesan kemosensorik (Maras, 2006).

Libido dapat diamati pada hewan coba rodentia dengan jalan memasukkan betina estrus ke dalam kandang jantan. Indikator libido antara lain adalah *mount latency/ ML* (waktu yang diperlukan terhitung mulai betina dimasukkan ke dalam kandang jantan hingga percobaan *mounting* pertama kali) (Simpson dan Davis, 2000).

2.4. Tinjauan Tentang Estradiol

Estradiol merupakan kelompok hormon estrogen. Estrogen adalah hormon endogen yang berperan pada banyak fungsi fisiologi. Estrogen alami utama pada

mamalia terutama adalah estradiol (E_2), diikuti oleh estron (E_1), dan estriol (E_3). Ketiganya dihasilkan dari prekursor androgen (testosteron atau androstenedion) melalui aromatisasi cincin A (Coelingh Bennink, 2004)(Gambar 2.6.).



Gambar 2.6. Biosintesis estrogen melalui aromatisasi cincin A androgen oleh enzim aromatase (*aromatizing enzyme*) (van Tienhoven, 1983)

Estradiol pada mamalia betina berperan dalam siklus reproduksi, sedangkan pada masa kebuntingan, ikut berperan dalam pertumbuhan uterus, perkembangan plasenta, partus, dan perkembangan kelenjar mammae (Coelingh Bennink, 2004).

Kadar estradiol dalam darah yang relatif tinggi menghambat spermatogenesis di dalam tubuli seminiferi testis melalui hambatan terhadap sekresi LH dan FSH (Fullerton, 1992; Hadley, 1992).

Pengamatan profil perubahan kadar testosteron serum domba jantan pada musim kawin menunjukkan bahwa estradiol menurunkan rerata kadar testosteron, kadar basal testosteron, dan amplitudo pulsa sekresi testosteron, tetapi tidak mempengaruhi frekuensi pulsa sekresi. Pengamatan profil perubahan kadar testosteron serum domba jantan pada musim kawin menunjukkan bahwa estradiol menurunkan rerata kadar testosteron, kadar basal testosteron, dan amplitudo pulsa sekresi testosteron, tetapi tidak mempengaruhi frekuensi pulsa sekresi (Price *et al.*, 2000).

Pemberian etinilestradiol juga dapat menginduksi terjadinya disfungsi libido (Kandeel *et al.*, 2001). Peningkatan kadar estradiol atau rasio estradiol-testosteron menurunkan libido (Gutierrez dan Stimmel, 1999).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan :

- (1) Mengetahui peran β -sitosterol dalam akar ginseng jawa pada peningkatan libido mencit
- (2) Mengetahui pengaruh lama waktu pemberian akar ginseng jawa terhadap libido mencit

3.2. Manfaat Penelitian

Data hasil penelitian berupa informasi hasil penelitian tentang peran β -sitosterol dalam akar ginseng jawa terhadap libido, diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi ilmiah yang diperlukan bagi peningkatan nilai komersial akar ginseng jawa di masa datang.

BAB IV

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan acak lengkap pola faktorial 3 faktor $2 \times 3 \times 4$ dengan kelompok perlakuan sebanyak 24 kelompok. Ketiga faktor tersebut adalah (1) pemberian estrogen (2) jenis sediaan/kemurnian β -sitosterol, dan (3) lama perlakuan.

4.2. Unit Eksperimen dan Replikasi

Unit eksperimen dalam penelitian ini adalah hewan coba mencit jantan dewasa (*Mus musculus*) strain BALB-C, umur 8-10 minggu, dengan kisaran berat badan 25-30 g dan sudah diberi pra perlakuan dengan etinilestradiol $1,4 \mu\text{g}/20 \text{ g BB/hari}$ selama 9 (sembilan) hari, dengan replikasi 3 ekor per kelompok perlakuan.

4.3. Variabel Penelitian

Variabel penelitian dibedakan menjadi

- (a) variabel bebas (*independent variable*), yang meliputi (1) pemberian estrogen (dengan atau tanpa etinilestradiol) (2) jenis sediaan dengan kadar β -sitosterol sama tetapi kemurnian β -sitosterol berbeda (tanpa akar ginseng, dengan ekstrak akar ginseng, dan dengan isolat dari ekstrak n-heksan akar ginseng mengandung β -sitosterol yang mengandung β -sitosterol, dibanding dengan standar β -sitosterol 97%, dan (3) lama pemberian (9, 18 dan 27 hari)
- (b) variabel tergantung (*dependent variable*) adalah libido dengan indikator *mount latency*

- (c) Variabel kendali atau variabel kontrol, yang meliputi jenis ginseng jawa, jenis kelamin dan strain mencit, umur mencit, kondisi lab dan pakan.

4.4. Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn) yang diperoleh dari Sewon, Bantul, Yogyakarta. Sediaan akar ginseng jawa yang digunakan dalam penelitian ini dalam bentuk ekstrak metanol (selanjutnya disebut ekstrak) dan isolat dari fraksi n-heksan yang secara kualitatif diketahui mengandung β -sitosterol.

Identifikasi botani (Lampiran 1) dilakukan di seksi Taksonomi, Lab. Biologi Lingkungan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Univ. Airlangga). Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) strain BALB-C jantan, sejumlah 80 ekor, umur 8-10 minggu, dengan berat badan berkisar 25-30 g, serta mencit betina (umur, kisaran berat dan jumlah sama).

Bahan lain yang digunakan adalah (1) bahan untuk kontrol perlakuan dan untuk penentuan kadar dalam ekstrak dan isolat yaitu standar β -sitosterol dari Fluka dengan kemurnian 97% (cat.no. 85449), (2) penentuan kadar β -sitosterol dengan metode HPLC (asetonitril dan metanol dengan kualitas HPLC grade), (3) perlakuan hewan coba dan induksi estrus (tablet Lynoral produk Organon, yang mengandung ethynilestradiol /EE₂ 50 μ g/tablet, CMC/ carboxy methyl cellulose, depo progestin yang mengandung medroxyprogesterone acetate 50 mg/ml, dan akuabidestilata steril).

4.5. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat untuk (1) penentuan kadar β -sitosterol (alat-alat gelas, timbangan analitik dengan kepekaan hingga 4 angka

dibelakang koma, *Hamilton syringe*, perangkat HPLC Agilent 1100 series), (2) memelihara hewan coba (bak plastik ukuran 30 x 13 x 19 cm yang dilengkapi dengan kawat kasa penutup, tempat makan dan botol minum), (3) memasukkan bahan perlakuan per oral ke hewan coba (*disposable syringe* 1 ml dengan ujung jarum ukuran 26G diberi logam), (4) pengamatan libido (kamera video yang dilengkapi dengan cahaya *infrared*, *disposable syringe* 1 ml, bak pengamatan, *timer*).

4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Lab. Biologi Reproduksi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Lab Multipurpose Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, dan Lab. Kebidanan dan Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Penelitian dilakukan 2 (dua) tahap, tahap pertama penentuan kadar β -sitosterol dalam isolat dan ekstrak, serta tahap kedua adalah uji pada hewan coba mencit.

4.7. Tahap-tahap Penelitian

4.7.1. Tahap penelitian I : Penentuan kadar β -sitosterol

Penentuan kadar β -sitosterol mengacu pada Fiero *et al.* (2004). Penentuan kadar β -sitosterol dalam akar ginseng jawa dilakukan dengan HPLC Agilent 1100 series dengan detektor DAD (*diode array detector*) pada $\lambda=210$ nm. Kolom yang digunakan adalah Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250 mm, dengan suhu kolom 40°C. Fasa mobil aetonitril : metanol (65:35) secara isokratik pada laju alir 1,2 ml/min dan volume injeksi 50 ul. Standar β -sitosterol yang digunakan adalah produk Fluka (cat.no. 85449) dengan kemurnian 97%. Pelarut untuk standar dan sampel sama dengan yang digunakan

untuk fasa mobil. Dengan kondisi tersebut, β -sitosterol dapat terdeteksi pada waktu retensi (*retention time*) sekitar 21 menit.

Presisi, akurasi, sensitivitas dan limit kuantifikasi ditentukan berdasar hasil pengukuran standar untuk keperluan validasi metode.

4.7.2. Kegiatan tahap penelitian II: Uji pada hewan coba

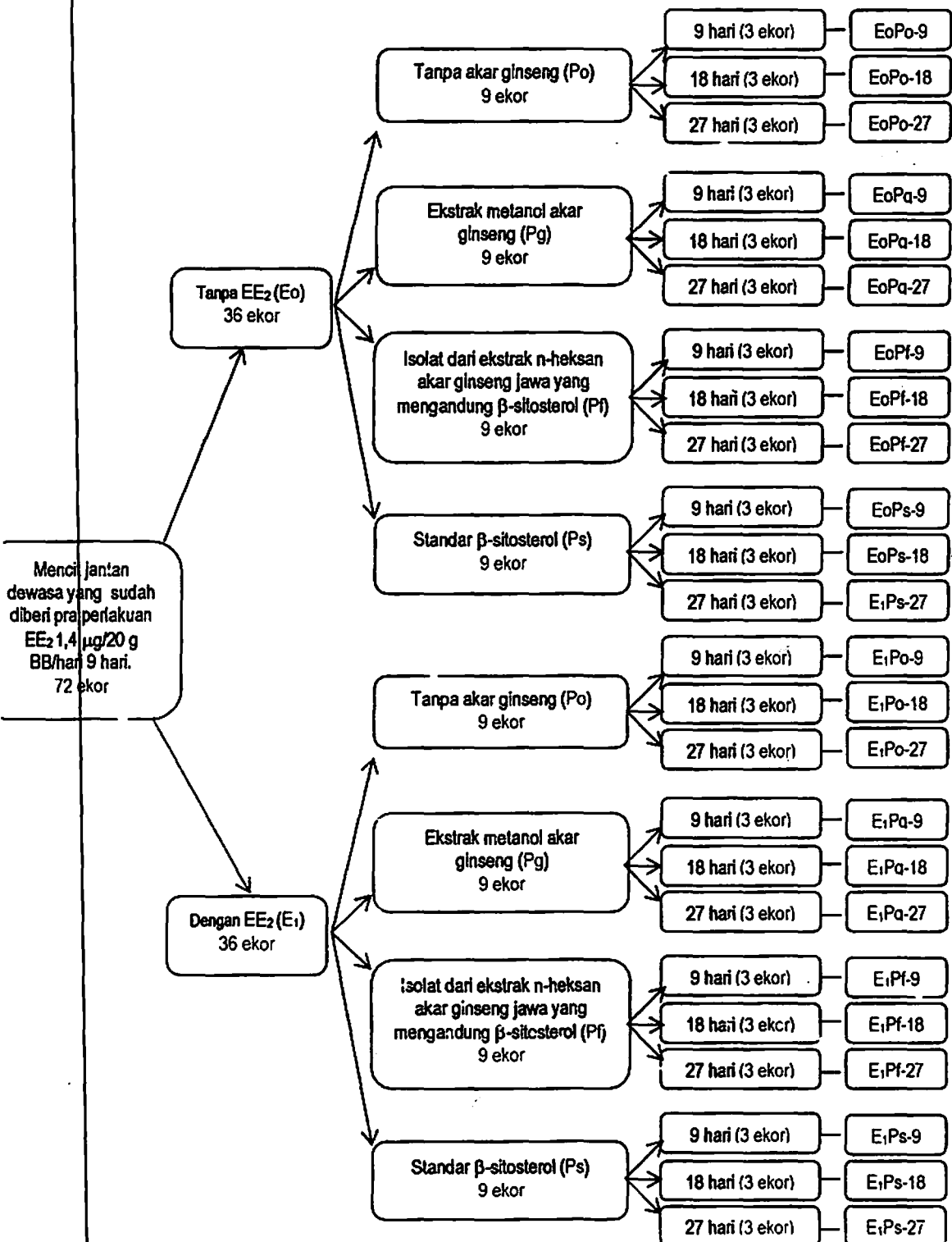
Hewan coba, mencit jantan dewasa (umur 2,5 – 3 bulan dan berat berkisar 25-30 g), dipelihara di ruangan dengan suhu 25^o C. Aklimasi dilakukan selama 2 minggu. Keterangan kelaikan etik (*ethical clearance*) untuk penggunaan, cara perawatan dan perlakuan terhadap hewan coba pada penelitian ini diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga (*Animal Care dan Use Committee/ACUC*).

4.7.2.1. Pemberian pra perlakuan

Sebelum dilakukan perlakuan, hewan coba diberi EE₂ 1,4 μ g/20 g BB/hari sebagai pra perlakuan selama 9 hari. Pra perlakuan dengan EE₂ bertujuan membuat kadar testosteron total serum mencit rendah sebelum perlakuan. Untuk memastikan penurunan kadar testosteron setelah pemberian pra perlakuan dilakukan pengukuran kadar testosteron total serum pada 2 (dua) kelompok dengan dan tanpa pra perlakuan, masing-masing kelompok 4 mencit. Pengukuran kadar testosteron total serum dengan RIA (*radioimmunoassay*) menggunakan kit *Coat A Count* (Diagnostic Product, LA). Sensitivitas untuk pengukuran kadar testosteron total adalah 0,04 ng/ml.

4.7.2.2. Pengelompokan dan Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Setelah pra perlakuan, hewan dikelompokkan menurut matriks/bagan berikut (Gambar 4.1 dan Tabel 4.1.).



Gambar 4.1. Bagan pengelompokan hewan coba. Pemberian EE_2 pada kelompok E_1 adalah $1,4 \mu\text{g}/20 \text{ g BB/hari}$. Ekstrak ginseng, isolat dari ekstrak n-heksan akar ginseng jawa yang mengandung β -sitosterol dan standar β -sitosterol yang diberikan mengandung β -sitosterol setara dengan β -sitosterol dalam $1,96 \text{ mg}$ akar ginseng kering $/20 \text{ g BB/hari}$.

Tabel 4.1. Matriks pengelompokan hewan coba

JENIS PERLAKUAN				
estrogen (EE ₂)	Jenis sediaan dengan kemurnian β -sitosterol berbeda	Lama pemberian (hari)		
		9	18	27
Tanpa EE ₂ (E ₀)	Tanpa ginseng jawa (Po)	EoPo-9	EoPo-18	EoPo-27
	ekstrak akar ginseng jawa (Pg)	EoPg-9	EoPg-18	EoPg-27
	Isolat dari dari ekstrak n-heksan yang mengandung β -sitosterol (Pf)	EoPf-9	EoPf-18	EoPf-27
	β -sitosterol 97% (Ps)	EoPs-9	EoPs-18	EoPs-27
Dengan EE ₂ (E ₁)	Tanpa ginseng jawa (Po)	E ₁ Po-9	E ₁ Po-18	E ₁ Po-27
	ekstrak akar ginseng jawa (Pg)	E ₁ Pg-9	E ₁ Pg-18	E ₁ Pg-27
	Isolat dari dari ekstrak n-heksan yang mengandung β -sitosterol (Pf)	E ₁ Pf-9	E ₁ Pf-18	E ₁ Pf-27
	β -sitosterol 97% (Ps)	E ₁ Ps-9	E ₁ Ps-18	E ₁ Ps-27

Pelarut EE₂, maupun sediaan ginseng dan standar adalah 0.5 % CMC dalam air.

Pemberian perlakuan dilakukan per oral. Volume total per pemberian adalah 0,5 ml.

Pemberian EE₂ selama perlakuan bertujuan membuat kondisi kadar estradiol tinggi dan testosteron rendah.

Penentuan dosis EE₂ dan ginseng jawa berdasar penelitian Winarni (2000).

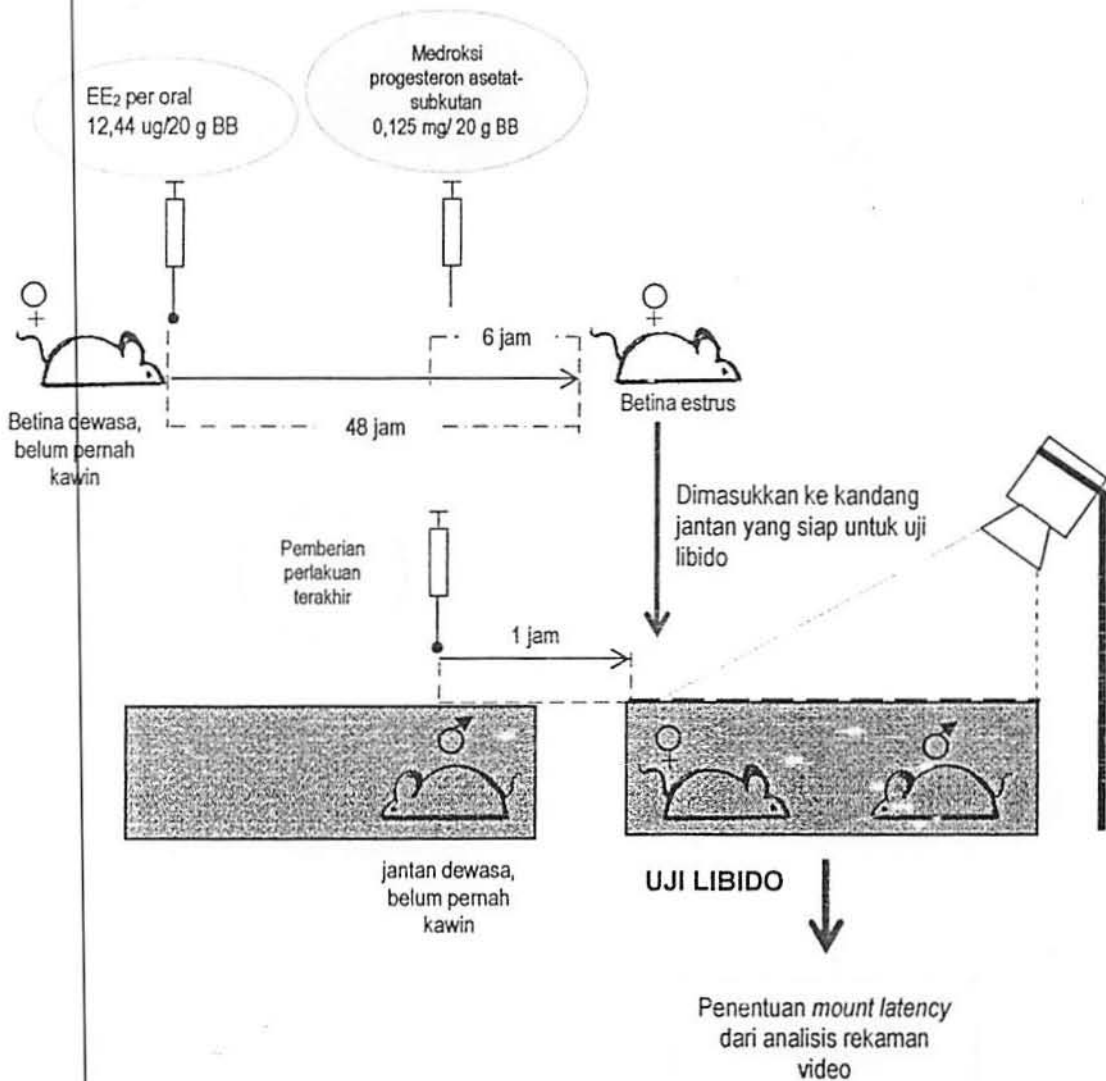
Pemberian EE₂ 1,4 μ g/20 g BB/hari. Ekstrak ginseng, isolat dari ekstrak n-heksan akar ginseng jawa yang mengandung β -sitosterol dan standar β -sitosterol yang diberikan mengandung β -sitosterol setara dengan β -sitosterol dalam 1.96 mg akar ginseng kering 20 g BB/hari. Pemberian perlakuan dilakukan sore hari sekitar pukul 15.00-16.00 wib.

4.7.2.3. Uji Libido

Uji libido dilakukan berdasar Tajuddin *et al.* (2005) dengan modifikasi berdasar uji pendahuluan. (Gambar 4.2.).

Mencit jantan yang sudah diberi perlakuan, dimasukkan dalam kandang, 1 ekor 1 kandang. Satu jam kemudian dimasukkan seekor mencit betina yang sudah dikondisikan estrus. Induksi estrus pada mencit betina dilakukan dengan memberikan EE₂ 12,44 μ g/

20 g BB per oral 48 jam sebelum uji libido dan medroksi progesteron asetat 0,125 mg/20 g BB subkutan 6 jam sebelum uji libido.



Gambar 4.2. Bagan langkah-langkah uji libido. Libido ditentukan berdasar *mount latency*. *Mount latency* merupakan waktu dari dimasukkannya mencit betina ke kandang jantan hingga mencit jantan melakukan *mounting* untuk pertama kalinya

Libido ditentukan berdasar waktu yang diperlukan pejantan merespons adanya betina estrus (dihitung dari saat betina dimasukkan kandang hingga mencit jantan

melakukan *mounting* (menaiki) betina pertama kali = *mount latency*/ ML). Seluruh aktivitas selama uji libido dilakukan dalam ruangan gelap dan direkam dengan kamera yang dilengkapi dengan infra merah. Penentuan ML berdasarkan pengamatan aktivitas nencit hasil rekaman kamera

1.8. Analisis Data

Analisis data menggunakan uji statistik dilakukan pada $\alpha=0,05$. Analisis data dilakukan untuk (1) memastikan pengaruh pra perlakuan terhadap penurunan kadar estosteron, (2) mengetahui beda pengaruh antar perlakuan terhadap libido pada keadaan estosteron rendah karena estradiol dengan pada keadaan tidak ditekan (4) mengetahui beda pengaruh lama waktu perlakuan terhadap libido.

Sebelum dilakukan uji statistik, semua data diuji dulu normalitas distribusi datanya dan homogenitas variansinya. Analisis data menggunakan uji statistik dilakukan pada $\alpha=0,05$. Data berdistribusi normal dan bervariansi homogen diuji dengan analisis varians 2 arah untuk mengetahui pengaruh faktor-faktor yang diuji dan interaksinya, dan dengan analisis varians 1 arah untuk mengetahui pengaruh kelompok-kelompok hasil interaksi faktor. Jika hasil analisis varians bermakna ($p<0,05$), dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui beda antar tiap 2 kelompok perlakuan. Data berdistribusi normal dengan varians tidak homogen diuji dengan uji Brown Forsythe dilanjutkan dengan uji t. Data kadar testosteron dianalisis dengan uji Mann Whitney.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini terdiri dari 2 tahap. Tahap pertama adalah penentuan kadar β -sitosterol sehingga dapat diketahui kadarnya baik di dalam isolat dari ekstrak n-heksan maupun ekstrak metanol. Tahap kedua adalah uji libido hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan.

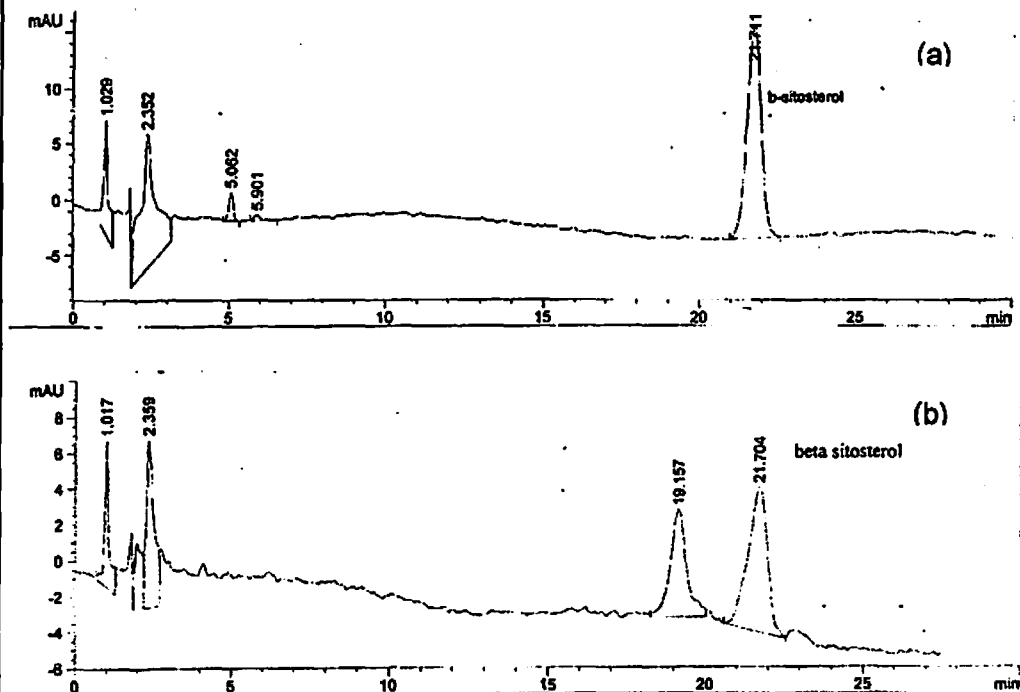
Penggunaan ekstrak (ekstrak methanol), isolat dari ekstrak n-heksan yang mengandung β -sitosterol dan standar β -sitosterol sebagai jenis sediaan dengan tingkat kemurnian β -sitosterol berbeda yang diberikan untuk perlakuan, digunakan untuk membuktikan apakah β -sitosterol merupakan kandungan akar ginseng jawa yang bertanggung jawab terhadap efek meningkatkan libido. Faktor lama pemberian yang digunakan dalam penelitian ini adalah 9, 18 dan 27 hari.

5.1. Kadar β -sitosterol Akar Ginseng Jawa

Penentuan kadar β -sitosterol dilakukan terhadap isolat dari ekstrak n-heksan akar ginseng jawa yang mengandung β -sitosterol (selanjutnya hanya disebut isolat). Dengan mengetahui kadar β -sitosterol dalam isolat tersebut, dapat dihitung kadar β -sitosterol dalam serbuk akar ginseng jawa dan ekstrak metanol (selanjutnya hanya disebut ekstrak), yang digunakan dalam penelitian ini.

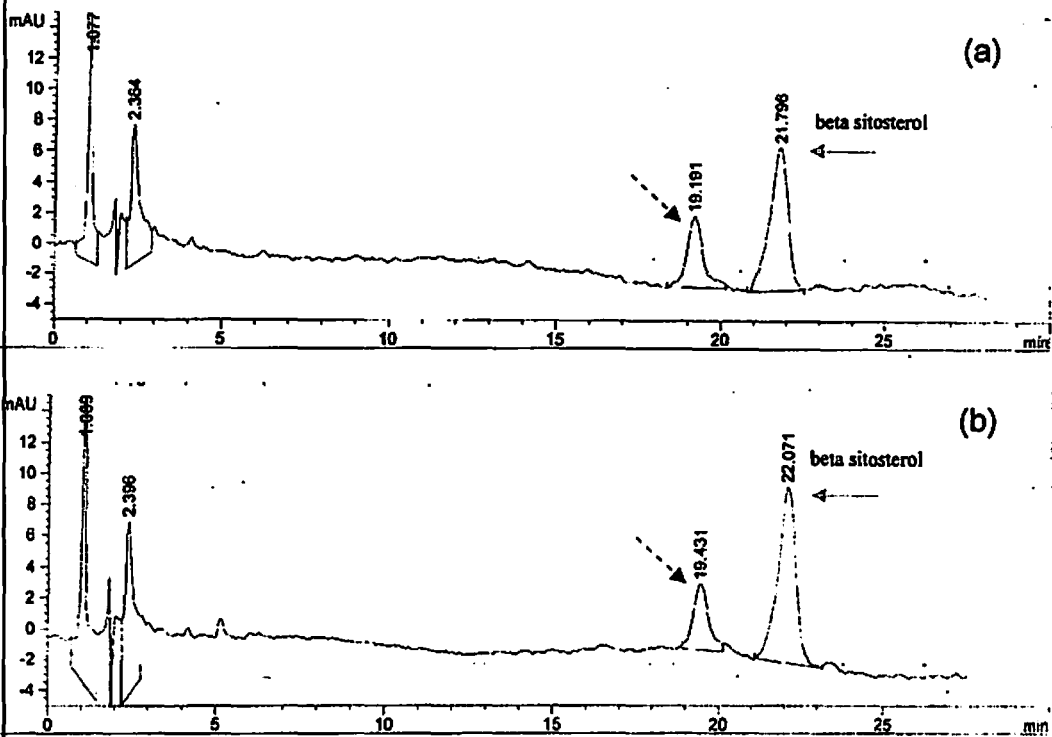
Penentuan kadar β -sitosterol dalam akar ginseng jawa dilakukan dengan HPLC Agilent 1100 series dengan detektor DAD (*diode array*)

detector) pada $\lambda=210$ nm. Kolom yang digunakan adalah Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250 mm, suhu kolom 40°C . Fasa mobil yang digunakan adalah asetonitril:metanol (65:35) pada laju alir 1,2 ml/min secara isokratik dan volume injeksi 50 μl . Beta sitosterol terdeteksi pada waktu retensi sekitar 21,7-22,0 menit (Gambar 5.1)



Gambar 5.1. Kromatogram HPLC isolat dari ekstrak n-heksan yang mengandung β -sitosterol dan standar β -sitosterol. Standart β -sitosterol (a). Isolat dari ekstrak n-heksan akar ginseng jawa (b)

Uji konfirmasi digunakan untuk memastikan bahwa kromatogram yang dimaksud, benar-benar β -sitosterol. Dua kromatogram hasil HPLC campuran larutan sampel dan larutan standar dengan perbandingan berbeda pada Gambar 5.2. menunjukkan adanya peningkatan kadar kromatogram β -sitosterol yang dimaksud untuk campuran dengan standar β -sitosterol lebih banyak.



Gambar 5.2. Kromatogram HPLC pada uji konfirmasi β -sitosterol. Kromatogram sampel isolat dari ekstrak n-heksan: standar β -sitosterol 100 ppm= 5:1(a) dan sampel isolat dari ekstrak n-heksan: standar β -sitosterol 100 ppm= 5:2 (b) yang menunjukkan adanya peningkatan kadar pada kromatogram yang diduga β -sitosterol dilihat dari perbandingan tinggi kromatogram dimaksud (anak panah) dengan kromatogram di sebelahnya (anak panah putus-putus) memastikan bahwa kromatogram tersebut β -sitosterol

Penghitungan kadar menggunakan kurva standar dari berbagai kadar β -sitosterol (Lampiran 3). Nilai R^2 kurva standar adalah = 0,993. Presisi pengukuran = 2.133, akurasi = 103.219, sensitivitas=0,06 ppm dan limit kuantifikasi (LOQ) =2.21 ppm. Diketahui bahwa isolat mengandung 74,0 % β -sitosterol, dengan demikian ekstrak akar ginseng jawa yang digunakan dalam

penelitian ini mengandung 0.179 % β -sitosterol atau 1790 mg β -sitosterol per 1 kg serbuk akar.

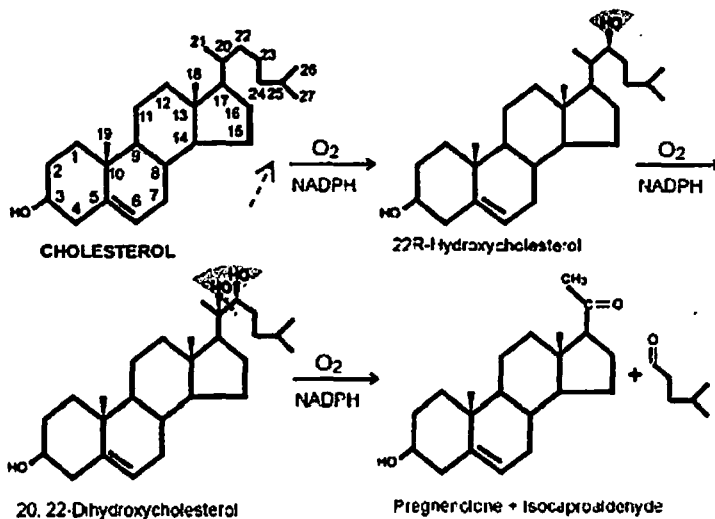
Beta-sitosterol adalah senyawa sterol tumbuhan (fitosterol) yang umum ditemukan selain stigmasterol, dan campesterol (Awad dan Fink, 2000). Beta-sitosterol menyusun 45-95% total kandungan fitosterol tumbuhan (Lutjohann, 2004).

Akar ginseng jawa yang digunakan dalam penelitian ini berupa serbuk akar kering yang mengandung 0,179% β -sitosterol, berarti tiap 100 g akar ginseng kering mengandung 179 mg β -sitosterol. Kandungan tersebut hampir sama dengan kandungan β -sitosterol kedelai (190 mg/100 g) yang dikenal sebagai sumber fitosterol (Gunstone *et al.*, 1994).

Beta-sitosterol, seperti halnya fitosterol umumnya, jika dikonsumsi dan masuk ke dalam darah, akan ditranspor dalam keadaan terikat protein plasma seperti halnya transpor kolesterol. Hepar akan mengeksresikannya secara efektif, tetapi jaringan lain terutama adrenal, ovarium dan testis akan mengakumulasinya (Fernandez *et al.*, 2002).

Struktur β -sitosterol yang mirip dengan kolesterol (prekursor testosteron) dan dapat terakumulasinya β -sitosterol di dalam testis, memungkinkan dikonversinya β -sitosterol menjadi testosteron (Fernandez *et al.*, 2002). Arthur *et al.* (1976) yang melakukan penelitian dengan menambahkan β -sitosterol ke dalam sistem mitokondria testis babi, memberikan hasil bahwa dalam sistem tersebut, β -sitosterol dapat menghasilkan pregnenolon dengan laju relatif 98% terhadap pembentukan pregnenolon dari kolesterol. Pregnenolon merupakan senyawa antara yang

dihasilkan pada tahap awal sintesis testosteron. Dalam sel Leydig testis, pregnenolon akan mengalami konversi bertahap menjadi testosteron. (Payne dan Hales, 2004). Dengan demikian, jalur yang paling mungkin bagi β -sitosterol masuk ke dalam sintesis testosteron adalah sama dengan jalur yang dilalui kolesterol (Gambar 5.3.).



Gambar 5.4. Gambar yang menunjukkan tahap awal sintesis testosteron. Tahap awal sintesis testosteron adalah pembentukan pregnenolon dari kolesterol. Anak panah putus-putus menunjukkan jalur paling mungkin bagi β -sitosterol masuk dalam sintesis (Payne dan Hales, 2004).

Dalam penelitian ini, adanya kontribusi testosteron dari hasil sintesis korteks adrenal tidak diperhitungkan dengan pertimbangan berdasar Ganong (2003) dan Beck dan Handa (2004) yang menyebutkan bahwa testosteron dari korteks adrenal hanya sedikit, demikian pula halnya dengan androstenedion dan DHEA, mempunyai aktivitas meningkatkan kadar T yang lemah.

5.2. Pengaruh pra perlakuan terhadap kadar T

Kadar testosteron total serum (testosteron total serum selanjutnya disebut T) ditentukan dari sampel serum mencit kelompok tambahan tanpa dan dengan pra perlakuan dengan metode RIA (*radioimmunoassay*). Presisi pengukuran=1,2, akurasi = 100,1, sedangkan R^2 yang menunjukkan linieritas pengukuran adalah =0,998, 0,994, dan 0,998 (Lampiran 5).

Kadar T mencit normal, menurut Wagner *et al.* (2005), berkisar antara 1,5 hingga 65 nmol/L atau 43,27 ng/dl hingga 1874,82 ng/dl.

Pra perlakuan dengan memberikan EE_2 1,4 μ g/20 g BB/hari selama 9 hari bertujuan untuk menurunkan kadar T sebelum perlakuan. Tabel 5.1. menunjukkan nilai rerata kadar T kelompok yang diberi praperlakuan dan tanpa pra perlakuan dan hasil uji statistik Mann-Whitney pada $\alpha=0,05$. Nilai Z pada $\alpha=0,05$ adalah 1,960, oleh karena itu hipotesis nol (tidak ada perbedaan bermakna) diterima jika nilai Z di antara -1,960 dan 1,960 dan $p>0,05$.

Tabel 5.1. Hasil uji Mann-Whitney kadar testosteron total serum mencit kelompok yang diberi pra perlakuan EE_2 (etinilestradiol 1,4 ug/20 g BB/hari) dan tanpa pra perlakuan

Kelompok	N	Rerata kadar T (ng/dl)	Mann-Whitney *)	
			Hasil	Kesimpulan
Dengan pra perlakuan	4	36,05 ± 4,60	Z = -2,309 p = 0,021	Beda bermakna
tanpa pra perlakuan	4	530,93 ± 180,091		
Total	8			

Keterangan: N=jumlah sampel; rekapitulasi uji Mann-Whitney di Lampiran 6.3.

Hasil uji Mann-Whitney data kadar T kelompok yang diberi praperlakuan dan tanpa pra perlakuan menunjukkan adanya beda bermakna ($Z=-2,309$, $p<\alpha$) antara kelompok yang diberi pra perlakuan EE_2 dengan

kelompok tanpa praperlakuan (Tabel 5.1.). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian pra perlakuan dengan etinilestradiol 1,4 ug/20 g BB/hari selama 9 (sembilan) hari dapat menurunkan kadar T secara bermakna, hingga kadar T di bawah kisaran kadar T normal.

Testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig yang dihasilkan testis adalah androgen utama yang paling aktif (Ganong, 2003). Testosteron disintesis dari prekursor kolesterol. Sintesis testosteron diawali oleh terjadinya pembentukan pregnenolon dari kolesterol di mitokondria (Champe dan Harvey, 1994; Payne dan Hales, 2004). Mobilisasi kolesterol bebas dari depo sitoplasmik diatur oleh *luteinizing hormone* (LH). Ikatan reseptor LH yang berada di membran sel dengan LH akan mengaktifasi pembentukan cAMP. Peningkatan cAMP menyebabkan fosforilasi protein kinase tertentu. Terfosforilasinya protein kinase tertentu akan menyebabkan terjadinya reaksi kaskade yang berakibat dibebaskannya kolesterol bebas ke sitoplasma dan siap menuju ke mitokondria untuk diubah menjadi pregnenolon. (Litwack, 1991).

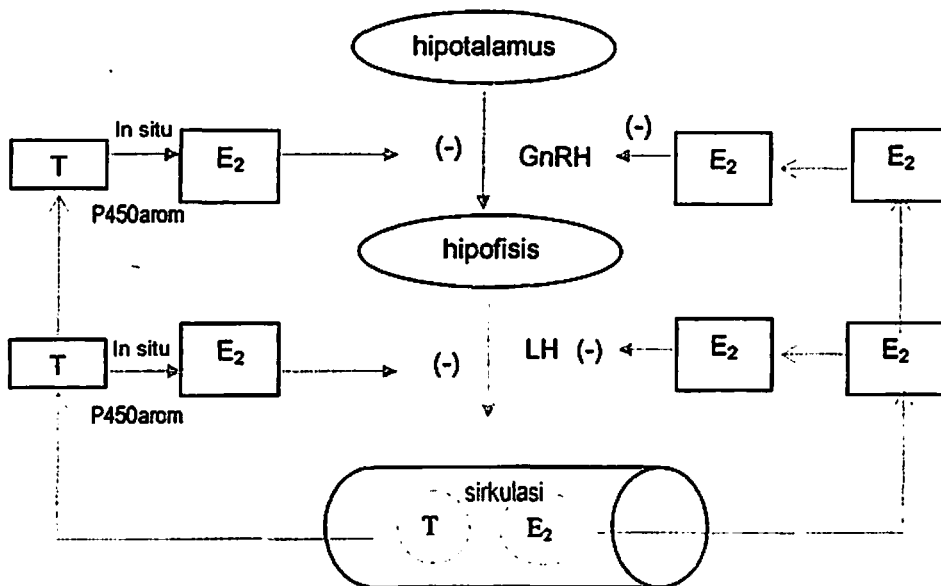
Testosteron yang disintesis testis sebagian besar masuk ke sirkulasi dengan cara difusi, kemudian sebagian kecil masuk ke pembuluh limfe dan cairan tubulus. Testosteron dalam sirkulasi ada dalam bentuk bebas maupun terikat protein plasma. Protein plasma pengikat testosteron adalah SHBG (*sex hormone binding globulin*), albumin, α -1-acid glycoprotein, dan transcortin. Albumin, α -1-acid glycoprotein, dan transcortin mengikat testosteron dengan afinitas rendah, sedangkan SHBG yang identik dengan ABP (*androgen binding protein*) dalam testis mengikat testosteron dengan afinitas tinggi (Handelsman, 2004).

Sebagian testosteron di dalam saluran reproduksi dapat mengalami aromatisasi terutama dalam sel Leydig dan Sertoli testis, sedangkan yang di sirkulasi mengalami aromatisasi di otak dan jaringan perifer. Aromatisasi testosteron akan menghasilkan estradiol. Estradiol hasil aromatisasi berperan dalam pengaturan mekanisme umpan balik (*feedback*) sekresi LH pada tingkat hipotalamus dan hipofisis (Carreau *et al.*, 2003; Handelsman, 2004), demikian pula testosteron (Handelsman, 2004). Aktivitas aromatisasi akan meningkat jika kadar testosteron meningkat (Carreau *et al.*, 2003). Kadar estradiol yang meningkat memberikan umpan balik, memberikan sinyal bahwa kadar testosteron di sirkulasi cukup, dengan menekan sekresi LH, yang berakibat menurunnya laju sintesis testosteron (Rochira *et al.*, 2006). Pengendalian umpan balik negatif (*negative feedback*) menjaga kadar testosteron di sirkulasi pada kisaran normal (Hardy dan Scheigel, 2004)

Estradiol secara normal ada di dalam sirkulasi jantan sebagai akibat aromatisasi testosteron dalam kadar yang sangat rendah. Peningkatan kadar estradiol pada jantan memberikan umpan balik menekan sekresi LH, melalui terikatnya estradiol pada reseptornya di hipotalamus (menekan sekresi *gonadotropin releasing hormone*, *luteinizing hormone-releasing hormone*) maupun di hipofisis, menekan sekresi LH (Gambar 5.5.) (Rochira *et al.*, 2006). Pemberian etinilestradiol pada tikus 1 ug/100 g BB/hari selama 13 hari menurunkan kadar LH secara bermakna (Winarni, 1996). Penurunan sekresi LH menurunkan laju mobilisasi kolesterol bebas, sebagai prekursor testosteron dalam sel Leydig, yang berakibat menurunnya kadar testosteron .

Pemberian EE₂ untuk pra perlakuan 1,4 µg/20 g BB/hari selama 9 hari menurunkan kadar T secara bermakna hingga kadar T di bawah kisaran kadar T

normal. Tingginya kadar EE_2 di sirkulasi memberikan umpan balik negatif di tingkat hipotalamus maupun hipofisis sehingga kadar LH menurun. Penurunan kadar LH mengakibatkan berkurangnya mobilisasi kolesterol bebas di dalam sel Leydig yang dikendalikan LH, berkurangnya kolesterol bebas mengakibatkan penurunan sintesis testosteron.



Gambar 5.5. Bagan yang menunjukkan umpan balik negatif pada tingkat hipotalamus dan hipofisis oleh peningkatan kadar estradiol. Peningkatan kadar estradiol mengakibatkan penurunan sekresi *luteinizing hormone*. (LH). E_2 =estradiol. GnRH=*gonadotrophin releasing hormone*, dihasilkan hipotalamus. $P_{450arom}$ =enzim aromatase.

5.3. Pengaruh Pemberian dan Lama Waktu Pemberian EE_2 terhadap Libido

Libido didefinisikan sebagai keinginan biologis untuk melakukan aktivitas seksual dan umumnya ditunjukkan sebagai perilaku *sex-seeking* (Kandeel *et al.*, 2001). Libido merupakan fase awal respons seksual yang tergantung pada stimuli psikogenik, faktor hormonal (Gutierrez dan Stimmel, 1999), dan faktor

eksternal (adanya stimulasi seksual yang sesuai) (Pfaus dan Scepkowski, 2005). Kandeel *et al.* (2001) menyebutkan bahwa aktivasi reseptor dopaminergik pada otak dan sumsum tulang belakang dan hormon-hormon gonadal merupakan beberapa faktor yang diyakini berperan dalam timbulnya libido.

Libido dapat diamati pada hewan coba rodentia dengan jalan memasukkan betina estrus ke dalam kandang jantan. Mencit jantan mengekskresikan senyawa yang *androgen dependent* pada urinnya, yang dapat menarik mencit betina estrus (Clancy *et al.*, 1984). Urin mencit betina estrus atau adanya hewan betina secara akut dapat meningkatkan kadar LH jantan (Coquelin *et al.*, 1984). Kadar LH atau testosteron mencit jantan akan meningkat saat distimulasi dengan betina. (Clancy *et al.*, 1984). Kenyataan tersebut menjadi kelebihan sekaligus kekurangan bagi uji libido menggunakan rodentia. Kelebihannya adalah bahwa faktor-faktor yang berpengaruh terbatas, dan bisa dikendalikan sehingga perubahan libido yang terjadi terbatas sebagai respons atas perlakuan yang diberikan. Kekurangannya, bahwa hasil uji tidak serta merta dapat disamakan dengan yang akan terjadi pada manusia, karena faktor yang berpengaruh pada libido manusia jauh lebih kompleks dibandingkan pada rodentia.

Indikator libido adalah *mount latencies* yaitu waktu yang diperlukan pejantan merespons adanya betina estrus. *Mount latencies* (ML) dihitung dari saat betina estrus dimasukkan kandang jantan yang sudah diberi perlakuan 1 jam sebelumnya, hingga mencit jantan melakukan *mounting* (menaiki) betina pertama kali. *Mount latencies* dinyatakan dalam satuan waktu (menit). Uji libido dilakukan malam hari, dalam keadaan ruang lab gelap. Pengamatan ML dilakukan pada hasil rekaman kamera.

Pengaruh pemberian EE_2 dan lama waktu pemberian terhadap ML, diamati terhadap kelompok kontrol tanpa ginseng yaitu kelompok EoPo (tanpa EE_2) dan E_1Po (dengan EE_2). Perubahan ML pada kelompok kontrol selama perlakuan ditunjukkan oleh Gambar 5.6

Hasil anava 2 arah dilanjutkan dengan uji Duncan terhadap data ML kelompok kontrol (Tabel 5.2.), menunjukkan bahwa EE_2 dan lama pemberian berpengaruh terhadap ML. Pengaruh pemberian EE_2 yang memperpanjang ML mulai teramati pada hari ke 18 (EoPo-18 berbeda bermakna dengan E_1Po -18).

Tabel 5.2. Hasil analisis varians dua arah data *mount latencies* (ML) kelompok kontrol

Faktor	Kelompok	N	Rerata <i>mount latencies</i> (menit)		Anava *)	
					Hasil	Kesimpulan
EE_2	EE_2 (E1)	9	14,8756	± 4,38741	F = 157,464 p = 0,000	Beda bermakna
	Tanpa EE_2 (Eo)	9	8,7100	± 2,86917		
	Total	18				
Lama pemberian	9 hari	6	10,8033	± 1,39127 ^u	F = 14,499 p = 0,001	Beda bermakna
	18 hari	6	8,6417	± 4,68322 ^u		
	27 hari	6	12,9333	± 8,31021 ^c		
	Total	18				
Interaksi	EoPo-9	3	10,1500	± 1,50163 ^u	F = 37,190 p = 0,000	Beda bermakna
	EoPo-18	3	4,5733	± 1,06049 ^u		
	EoPo-27	3	5,4067	± 1,55004 ^u		
	E_1Po -9	3	11,4567	± 1,14177 ^a		
	E_1Po -18	3	12,7100	± 2,01313 ^a		
	E_1Po -27	3	20,4600	± 0,54249 ^c		
Total	18					

Keterangan : * Anava dua arah di Lampiran 7. *superscript* yang sama untuk faktor yang sama menunjukkan hasil uji Duncan dengan $p > 0,05$

Pemberian EE_2 menurunkan libido (indikator libido adalah ML, ML lebih singkat berarti libido meningkat), terbukti dari terjadinya peningkatan bermakna ML pada kelompok kontrol EE_2 , mulai perlakuan hari ke-18. Peningkatan bermakna ML karena EE_2 sesuai dengan pendapat Gutierrez dan

Stimmel (1999), yang menyebutkan bahwa peningkatan kadar estradiol atau rasio estradiol-testosteron menurunkan libido.

Testosteron berperan mengatur perilaku seksual-dalam hal ini libido, terutama melalui peningkatan pemrosesan stimuli yang sesuai, dan pengaruhnya terhadap perubahan sintesis enzim, reseptor dan atau protein yang mempengaruhi fungsi neurotransmiter. Neurotransmiter yang diketahui berperan dalam peningkatan motivasi seksual adalah dopamin terutama yang dihasilkan di MPOA (*medial pre optic area*) (Gutierrez dan Stimmel, 1999; Hull *et al.*, 2004). Testosteron meningkatkan aktivitas NOS (*nitric oxide synthase*) di dalam MPOA Peningkatan kadar NO karena peningkatan aktivitas NOS mengakibatkan peningkatan dopamin saat jantan dihadapkan pada betina. Peningkatan kadar dopamin di beberapa area integratif menyebabkan timbulnya libido, kinerja motorik dan refleks genital yang mengawali terjadinya kopulasi (Kandeel *et al.*, 2001 dan Hull *et al.*, 2004). Penurunan kadar T oleh EE₂ pada penelitian ini, menurunkan kemampuan memproses stimuli, yaitu adanya betina estrus, sehingga tanggapan tidak sesuai, tidak merespons adanya betina estrus atau respons adanya betina estrus lebih lama (ML lebih lama).

5.4. Pengaruh Perlakuan Terhadap Libido

Perubahan ML sebagai indikator libido, selama perlakuan, ditunjukkan oleh diagram pada Gambar 5.6. Hasil anava searah terhadap data ML (Tabel 5.3.) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak, isolat dan standar mempersingkat ML, hingga berbeda bermakna dengan kelompok tanpa ginseng. Hasil uji t terhadap kelompok-kelompok interaksi, menunjukkan bahwa perbedaan

tersebut disebabkan terutama disebabkan oleh perbedaan antara kelompok kontrol EE₂ dengan kelompok perlakuan.

Ekstrak akar ginseng jawa dapat menekan pengaruh EE₂ terhadap ML. Peningkatan ML pada kelompok kontrol EE₂ dibanding kontrol tanpa EE₂ yang terjadi pada hari ke-18 dan ke-27, tidak terjadi sehingga ML kelompok E₁Pg-18 dan E₁Pg-27 berbeda tidak bermakna dengan kelompok kontrol tanpa EE₂ (EoPo-18 dan EoPo-27).

Tabel 5.3. Hasil uji beda pengaruh jenis sediaan terhadap *mount latencies* (ML)

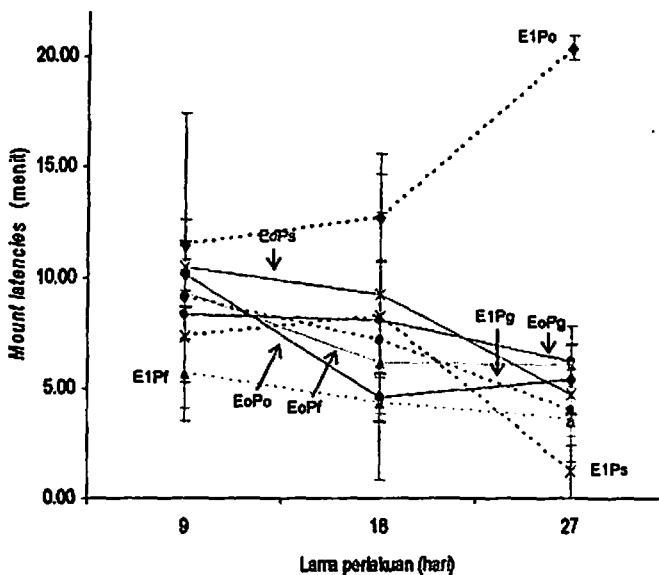
Jenis perlakuan	N	Rerata <i>mount latencies</i> (menit)		Anava *	
				Hasil	Kesimpulan
Tanpa ginseng (Po)	18	10,7928	± 5,53011 ^a	F=4,970 p=0,004	Beda bermakna
Ekstrak (Pg)	18	7,1117	± 3,12198 ^b		
isolat (Pf)	18	5,5844	± 2,62385 ^b		
standart (Ps)	18	6,9256	± 4,99802 ^b		
Total	72				

Keterangan : * Anava searah dilanjutkan dengan uji Duncan. *superscript* yang sama menunjukkan p>0,05 (Lampiran 7.)

Efek penekanan pengaruh EE₂ terhadap ML oleh akar ginseng jawa efektif pada hari ke-27, dimana ML E₁Pg-27 berbeda bermakna dengan E₁Po-27 dan tidak berbeda bermakna dengan EoPo-27. Efek penekanan yang terjadi pada hari ke-18, meskipun mengakibatkan ML lebih singkat dan tidak berbeda bermakna terhadap EoPo-18, tetapi masih juga tidak berbeda bermakna dengan E₁Po-18.

Pemberian isolat pada kelompok EE₂ juga menekan pengaruh EE₂. Tidak seperti pada kelompok ekstrak yang pengaruhnya efektif baru pada hari ke-27, pemberian isolat dapat mempersingkat ML secara bermakna (berbeda bermakna dengan kelompok kontrol EE₂ dan berbeda tidak bermakna dengan kelompok kontrol tanpa EE₂ dan kelompok isolat tanpa EE₂) mulai hari ke-9

(E₁Pf-9, E₁Pf-18 dan E₁Pf-27 masing-masing berbeda bermakna dengan E₁Po9, 18 dan 27 dan berbeda tidak bermakna dengan EoPo 9, 18 dan 27 serta EoPf 9, 18 dan 27).



Gambar 5.6. Diagram yang menunjukkan perubahan *mount latencies* pada kelompok-kelompok perlakuan.

Pemberian standar β -sitosterol juga mampu menekan pengaruh EE₂ mulai hari ke-9, bahkan pada hari ke-27 (E₁Ps-27), mempersingkat ML sedemikian hingga lebih singkat dibandingkan kelompok kontrol EE₂ maupun kontrol tanpa EE₂. Meskipun demikian, jika dibandingkan dengan dengan kelompok ekstrak dan isolat, tidak ada beda bermakna pada ML, demikian pula halnya dengan perlakuan standar hari ke-9 dan ke-18.

Akar ginseng jawa baik dalam bentuk ekstrak dan isolat pada kelompok EE₂ mampu menekan pengaruh EE₂, demikian juga standar β -sitosterol. Sediaan dengan tingkat kemurnian berbeda tersebut, mampu mengembalikan libido

kelompok yang diberi EE_2 pada libido normal. Lama waktu perlakuan tidak memberikan pengaruh bermakna pada ML.

5.5. Pengaruh lama pemberian terhadap ML

Lama pemberian, yang pada kelompok kontrol berpengaruh pada ML (Tabel 5.17), tidak berlaku untuk kelompok perlakuan secara umum (Tabel 5.4.).

Tabel 5.4. Hasil uji beda data *mount latencies* (ML) untuk mengetahui pengaruh lama pemberian

Jenis perlakuan	N	Rerata <i>mount latencies</i> (menit)		Anava *	
				Hasil uji	Kesimpulan
9 hari	24	8,9529	± 3,26122	F=1,806 p=0,172	Beda tidak bermakna
18 hari	24	7,3592	± 4,05325		
27 hari	24	6,4988	± 5,89575		
Total	72				

Keterangan : * Anava searah pada Lampiran 7

Dari hasil uji t terhadap data ML kelompok-kelompok interaksi (rekapitulasi hasil uji t di Lampiran 7), diketahui bahwa pengaruh lama pemberian hanya terjadi pada kelompok ekstrak dan standar pada kelompok EE_2 . Perbedaan tersebut antara ML kelompok E_1Pg-9 dengan E_1Pg-27 dimana ML E_1Pg-27 lebih singkat (E_1Pg-27 berbeda tidak bermakna dengan E_1Pg-18) dan antara E_1Ps-18 dengan E_1Ps-27 , dimana ML E_1Ps-27 lebih singkat dan berbeda tidak bermakna dengan E_1Ps-9 . Baik E_1Pg-9 , E_1Pg-18 , E_1Ps-18 dan E_1Ps-27 tidak berbeda bermakna dengan kontrol tanpa EE_2 .

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa β -sitosterol dalam akar ginseng jawa setara dengan 1.96 mg akar ginseng kering /20 g BB/hari selama 9 hingga 27 hari pada hewan coba mencit,

1. berperan dalam meningkatkan libido .
2. tidak memberikan peningkatan lebih lanjut pada libido pada waktu pemberian lebih lama.

6.2 Saran

Dari hasil penelitian ini, disarankan untuk (1) mempertimbangkan penggunaan akar ginseng jawa untuk mengatasi terjadinya penurunan libido karena kadar testosteron rendah dan kadar estradiol tinggi, (2) melakukan pengujian terhadap perubahan kadar β -sitosterol dan kadar testosteron total dalam sirkulasi dan testis menurut fungsi waktu setelah pemberian akar ginseng jawa, dan perubahan faktor-faktor penting yang berperan dalam sintesis testosteron setelah pemberian akar ginseng jawa, untuk memastikan mekanisme kerjanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimoelja, Arief, F.X. 1996. Pemantapan Penanganan Impotensi Dalam Menyongsong Keluarga Sejahtera. *Makalah Seminar Penanganan Andrologik Pada Infertilitas dan Impotensi*. Surabaya
- Arthur, J.R., H.A.F. Blair, G.S. Boyd, J.I. Mason, and K.E. Suckling. Oxidation of Cholesterol Analogues by Mitochondrial Preparation of Steroid-Hormone-Producing Tissue. *Biochemistry Journal*. 158 : 47-51.
- Awad, Atif B. and C. Fink. 2000. Phytosterol as Anticancer Dietary Component: Evidence and Mechanism of Action. *Journal of Nutrition*. 130 :2127-2130
- Beck, S.G. and R.J. Handa. 2004. Dehydroepiandrosterone (DHEA) : A Misused Adrenal Hormone and Spine-Tingling Neurosteroid ?. *Endocrinology*. 145 :1039-1041.
- Berg, J.M., J.L. Tymoczko, L. Stryer. 2002. *Biochemistry*. 4th. ed. New York: Freeman & Co.
- Benveniste, P. 2004. *The Arabidopsis Book*. St. Louis, MO: American Society of Plant Physiologists
- Carreau, S., S. Lambard, C. Delalaude, I. Denis-Garelaud, B. Bilinska and S. Bourguiba. 2003. Aromatase Expression and Role of Estrogens in Male Gonad: A Review. *Reproductive Biology & Endocrinology*. 1: 35
- Champe, P.C. and R.A. Harvey. 1994. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. 2nd.ed. Philadelphia: JB. Lippincott Company.
- Clancy, A.N., A.G. Singer, F. Macrides, F.H. Bronson, and W.C. Augusta. 1988. Experimental and Endocrine Dependence of Gonadotropin Responses in male Mice to Conspecific Urine. *Biology of Reproduction*. 38: 183-191.
- Coquelin A. and C. Desjardin, 1982. Luteinizing Hormone and Testosterone Secretion in Young and Adult Mice. *American Journal of Physiology, Endocrinology, and Metabolism*. 243:E 257-E 263.
- Coelingh Bennink, H.J.T. 2004. Are All Estrogens the Same. *Maturitas* 47:267-275.
- Deocaris, C.C., N. Widodo, R. Wadhwa, and S.C. Kaul. 2008. Merger of Ayurveda and Tissue Culture-Based Functional Genomics: Inspirations from Systems Biology. *Journal of Translational Medicine*. 6:14
- Dominguez, J., J.V. Riolo, Z. Xu, and E.M. Hull. 2001. Regulation by the Medial Amygdala of Copulation and Medial Preoptic Dopamine Release. *The Journal of Neuroscience*. 21:349-355.
- Faridah, G.E., dan A.F. Isfaryanti, 1996. Skrining Fitokimia Akar Som Jawa. *Prosiding Seminar Nasional Pokjanas Tanaman Obat Indonesia XI*. Surabaya.
- Fernandez, C.Y. A.J. Suare, D. Ferruelo, D. Gomez-Coronado and M.A. Lasuncion. 2002. Inhibition of Cholesterol Biosynthesis by β 22-Unsaturated Phytosterol via Competitive Inhibition of Sterol Δ 24-reductase in Mammalia Cells. *Biochemistry Journal*. 366 : 109-119

- Fierro, A., Y. Vasquez, M. Reyes-parada, and S. Sepulveda-Boza. 2004. Quantitative Determination of β -sitosterol in Dietary Vegetables. Possible Implications for Its Preventive Use in Susceptible Populations. *Clinica y Ciencia*. 2: 43-48
- Fullerton, D.S. 1998. Steroids and Therapeutically Related Compounds in *Wilson's and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. (editor: WA. Remers and JN. Delgado). 8th.ed. Lippincot Raven
- Ganong, W.F. 2003. *Review of Medical Physiology*. 21th ed. Mc. Graw Hill Co.
- Gutierrez, M.A. and G.L. Stimmel, 1999. Management of and Counseling for Psychotropic Drug-Induced Sexual Dysfunction. *Pharmacotherapy*. 19: 823-831.
- Gunstone, F.D., L. Harwood, and F.B. Padley. 1994. *Lipid Handbook*. 2n. London: Chapman & Hall
- Hadley, E.M. 1992. *Endocrinology*. New Delhi: Willey Eastern Private Ltd.
- Hanafiah, K.A. 2003. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Edisi ke-3. Jakarta: Divisi Buku Perguruan Tinggi, PT Raja Grafindo Persada.
- Handelsman, D.J. 2004. Androgen. in *Endocrinology of The Male Reproductive System*. www.endotext.com. Agust.2004. 1-21. downloaded Nov 2005
- Hardy, M.P., and P.N. Schlegel. 2004. Testosterone Production in The Aging Male: Where does the Siowdown occur?. *Endocrinology*. 145:4439-4440
- Hull, E.M., J.W. Muschamp, and S. Sato. 2004. Dopamine and Serotonin : Influences on Male Sexual Behavior. *Physiology and Behavior*. 83:291-307.
- Kandeel, F.R., V.K.T. Kousa., and R.S. Swerdloff. 2001. Male Sexual Function and Its Disorder : Physiology, Pathophysiology, Clinical Investigation and Treatment. *Endocrine Reviews*. 22:342-348.
- Litwack, G. 1992. Biochemistry of Hormones II: Steroids Hormones dalam *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. 3rd. ed. New York: Willey Liss. Inc.
- Lutjohann, D. 2004. Invited Commentary: Sterol Autooxidation: From Phytosterols to Oxyphytosterols. *British Journal of Nutrition*. 91: 3-4
- Lwanga, S.K. and S. Lemeshow. 1990. *Sample Size Determination in Health Studies : A Practical Manual*. Chichester: John Wiley
- Maras, P.M. 2006. Chemosensory And Steroid-Responsive Regions of The Medial Amigdala Regulate Distinct Aspects of Opposite-Sex Odor Preference in Male Syrian Harmster (Mesocricetus auratus). *Thesis*. College of Art and Sciences. Georgia State University.
- MHII (*Medicinal Herb Index in Indonesia*). 1994. Jakarta: PT Eisai Indonesia.
- Mc. Murry, J. 1984. *Organic Chemistry*. California: Brooks/Cole Publishing Company.
- Ostatnikova, C.P. 2003. Testosterone: An Overview; Insight into Its Physiological and Clinical Implications. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2: 84-96.
- Payne, A.H and D.B. Hales. 2004. Overview of Steroidogenic Enzymes in The Pathway : Cholesterol to Active Steroid Hormones. *Endocrine Reviews*. 25(6):947-970.
- Pfaus, J.G. and L.A. Scepkowski. 2001. The Biologic Basic for Libido. *Current Sexual Health Report*. 2: 95-100.

- Pegel, K.H. 1997. The Importance of Sitosterol and Sitosterolin in Human and Animal Nutrition. *South African Journal of Science*. 93: 263-268.
- Pramono, S, Sudarsono, dan A. Pudjoarinto. 1993. Studi Kelayakan Pengembangan Ginseng Jawa dalam Industri Obat Tradisional Di daerah Istimewa Yogyakarta. *Laporan Penelitian*.
- Robinson ,T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Edisi 6. Bandung: Penerbit ITB.
- Rochira, V., L. Zirilli, A.D.Genazzani, A. Balestrieri, S. Aranda, B. Fabre, P. Antunez, C. Diazzi, C. Caranni, and L. Maffei. 2006. Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Two Men with Aromatase Deficiency: Evidence that Circulating Estrogens are Required at the Hypothalamic Level for The Integrity of Gonadotrophin Negative Feedback. *European Journal of Endocrinology*. 155. 513-522.
- Sanford, L.M. 1985. Evidence that Estrogen Regulation of Testosterone Secretion in Adult Rams is Mediated by Both Indirect and Direct Means. *Journal Andrology*. 6:306-314.
- Santa I.G.P. dan Prayogo, B. 1996. Studi Taksonomi Talinum paniculatum Gaertn. dan Talinum triangulare Willd. *Prosiding Seminar Nasional Pokjanas Tanaman Obat Indonesia XI*. Surabaya.
- Sa'roni, Y. Astuti, dan N. Adjirmi. 1999. Pengaruh Infus Akar Talinum paniculatum Gaertn. Terhadap Jumlah dan Motilitas Spermatozoa pada Mencit. *Prosiding Seminar Nasional Pokjanas Tanaman Obat Indonesia XI*. Surabaya.
- Simpson and Davis. 2000. Another Role Highlighted for Estrogens in The Male Sexual Behavior, *PNAS*. Dec. 19. 97 : 14038-14040.
- Soegijono dan Handajani. 1999. Pemanfaatan Daun Som Jawa dalam Masakan. *Prosiding Seminar Nasional Pokjanas Tanaman Obat Indonesia XI*. Surabaya
- Sugiastuti, S., L.G. Ratna., dan D. Serlahwati. 1996. Beberapa Parameter Farmakognosi Akar Som Jawa. *Prosiding Seminar Nasional Pokjanas Tanaman Obat Indonesia XI*. Surabaya.
- Tajuddin S.A, A. Latif, I.A. Qasmi, and K.M. Yusuf Amin. 2005. An Experimental Study of Sexual Improving Effecting of Myristica fragrans Houtt (Nutmeg). *BMT Complementary and Alternative Medicine*. 5(16): 1-7.
- Taylor, L.2005. *The Healing Power of Rainforest Herbs*. New York: Square One Publisher.
- Timberlake, K.C. 2003. *Chemistry: An Introduction to General, Organic and Biological Chemistry*. San Fransisco: Pearson Education Inc.
- van Steenis, C.G.G.J. 2002. *Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Alih Bahasa Moeso Surjowinoto dkk. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- van Tienhoven, A. 1983. *Reproductive Physiology of Vertebrates*. 2nd. Ed. Itaca and London: Cornell University Press.
- Wagner, A.M., K. Beier, E. Christen, G.A. Hollander, and W. Krenger. 2005. Leydig Cell Injury as a Consequence of an Acute Graft versus Host Reaction. *Blood*.105: 201-205

- Wahyuni, S dan E. Hadipoelyanti. 1996. Karakteristik Tanaman Talinum paniculatum. *Prosiding Seminar Nasional Pokjanas Tanaman Obat Indonesia XI*. Surabaya.
- Winarni, D, S.A. Husen dan Salamun. 1998. Pengaruh Ekstrak Akar Ginseng Jawa dan Ginseng Korea Terhadap Sintesis Protein Serum. *Jurnal MIPA*. 3 (2)
- Winarni, D. 1999. Pengaruh Ekstrak Akar Ginseng Korea dan Akar Ginseng Jawa Terhadap Sintesis Protein Yang Berperan Dalam Spermatogenesis. *Berkala Penelitian Hayati (Journal of Biological Researchers)*. 5(1): 11-21.
- Winarni, D. dan S.A. Husen. 2005. Sintesis Protein Testikular dan Kadar Testosteron Total Setelah Pemberian Ekstrak Akar Ginseng Jawa dan Fraksi Polarnya. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. Surabaya. Juli 2005.
- Winarni, Dwi. 2006. The Effect of Java Ginseng (Talinum paniculatum Gaertn.) Root Extract on Testosterone Level Associated With Testicular and Hepatic Protein. *Proceeding of Asean Biochemistry Seminar*. Surabaya. February 6th 2006

LAMPIRAN

Lampiran 1. KETERANGAN HASIL IDENTIFIKASI GINSENG JAWA



UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN BIOLOGI

Kampus C Unair. Jl. Mulyorejo Surabaya, 60115.
Telp./Fax 031-5926804. E-mail: biologi_fmipa@unair.ac.id

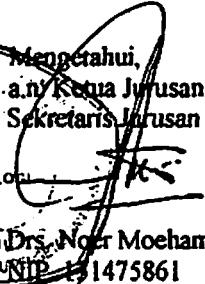
SURAT KETERANGAN

Berdasarkan pemeriksaan, spesimen tanaman (lengkap) teridentifikasi sebagai *Talinum paniculatum* Gaertn. dengan deskripsi : Habitus herba, batang bulat dengan permukaan gundul. Duduk daun tersebar atau bersilang berhadapan, bentuk daun bulat telur terbalik, permukaan atas daun berbulu halus, bagian bawah licin. Daun bertangkai dengan pangkal daun runcing dengan ujung daun tumpul, tulang daun menyirip, ibu tulang daun jelas terlihat, sedangkan anak tulang daun tidak. Bunga majemuk tersusun malai bercabang menggarpu, warna bunga ungu, jumlah taju bunga 5. Buah berbentuk bola warna kuning coklat, berkatup 3. Biji kecil dan berjumlah banyak dengan diameter ± 0.5 mm, bentuk bulat pipih, berwarna coklat kehitaman.

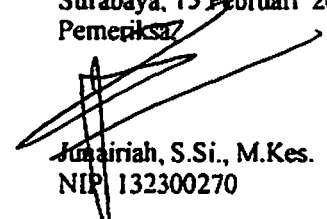
Adapun klasifikasi spesimen tersebut adalah sebagai berikut :

Regnum : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Sub Kelas : Apetalae
Ordo : Caryophyllales/Centrospermae
Famili : Portulacaceae
Genus : *Talinum*
Spesies : *Talinum paniculatum* Gaertn.

Demikian identifikasi ini dilakukan dengan sebetulnya untuk dapat digurakan seperlunya.

Mengetahui,
Kepala Jurusan Biologi
Sekretaris Jurusan

Drs. Noor Moehammadi, M.Kes.
NIP. 141475861

Surabaya, 15 Februari 2007
Pemeriksa


Juairiah, S.Si., M.Kes.
NIP. 132300270

Lampiran 2. KETERANGAN KELAIKAN ETIK



**KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Animal Care and Use Committee (ACUC)**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No :020-KE

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

PENELITIAN BERJUDUL : Potensi Androgenik Akar Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum Gaertn.*) Pada Prakondisi Testosteron Rendah

PENELITI UTAMA : Dwi Winarni, dra., M.Si.

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : S3 PROGRAM STUDI MIPA
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 28 Agustus 2007

Mengetahui,
Dekan FKH-Unair,

Ketua,

Rozmiah Sidik, Ph.D.,drh.
NIP. 150 687 305

Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh.
NIP. 131 653 434



Lampiran 3 : PENENTUAN KADAR β -SITOSTEROL DALAM SAMPEL HASIL FRAKSINASI EKSTRAK AKAR GINSENG JAWA DENGAN METODE HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Jenis HPLC : HPLC Agilent 1100 series
 Kolom : Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250 mm
 Mobile phase : ACN : MeOH (65:35)
 Flow rate : 1,2 ml/min
 Detektor : DAD
 λ : 210 nm

Replikasi	Luas area pada kadar standar			
	40 ppm	60 ppm	80 ppm	100 ppm
1	177,2387	253,4418	361,3554	450,1975
2	144,8891	263,2252	357,3822	466,4194

Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	ppmff ^a	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: areaff

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.996 ^a	.993	.992	10.91944

a. Predictors: (Constant), ppmff

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	98559.061	1	98559.061	826.600	.000 ^a
	Residual	715.405	6	119.234		
	Total	99274.467	7			

a. Predictors: (Constant), ppmff

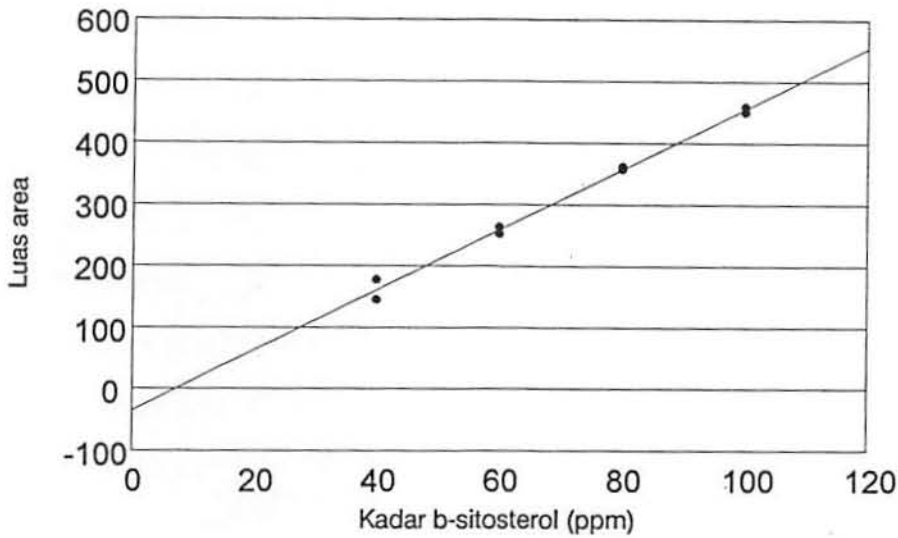
b. Dependent Variable: areaff

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-38.201	12.687		-3.011	.024
	ppmff	4.964	.173	.996	28.751	.000

a. Dependent Variable: areaff

Persamaan regresi \rightarrow luas area = 4,964 conc- 38,201



Presisi dan Akurasi

Larutan standar β -sitosterol 100 ppm

replikas:	Luas area	kadar (ppm)
1	450.1975	98.3881
2	466.4194	101.6560
3	471.0017	102.5791
4	489.5275	106.3111
5	493.7555	107.1629
\bar{x}	474.1803	103.2194
	SD	2.2021
	%KV	2.1334

Presisi (%KV) = 2.133

Akurasi (%R) = 103.219

Sensitivitas/ Limit deteksi (LOD)

Persamaan regresi kurva baku : $y = 4,964 x - 38,201$

Kadar standar	Y	\hat{Y}	Y- \hat{Y}	$(Y-\hat{Y})^2$
40	161.06	160.36	0.70	0.50
60	258.33	259.64	-1.31	1.70
80	359.37	358.92	0.45	0.20
100	458.31	458.20	0.11	0.01
Total jumlah				2.42

$$S_{y/x} = S_{bl} = \sqrt{VS(Y-\hat{Y})^2/(n-2)} = 1.10$$

$$Y_{LOD} = a + 3 S_{bl} = -34.90$$

$$x = 0.66 \text{ ppm}$$

Limit Kuantifikasi (LOQ)

Kadar terkecil yang bisa diterima

antara LOD dan LOQ merupakan daerah ketidakpastian (dinyatakan sebagai *non detected*)

$$LOQ = 10/3 LOD = 2.21 \text{ ppm}$$

Kadar β -sitosterol dalam sampel

Rep sampel	Luas area	Konsentrasi (ppm)
1	340.49844	76.28917
2	332.19965	74.61738
3	351.18436	78.44185
4	330.59952	74.29503
5	349.15457	78.03295
Rerata	340.72731	76.33528

Perhitungan kadar β -sitosterol dalam isolat

Isolat 1 mg diencerkan hingga 10 ml dalam metanol \rightarrow larutan 100 ppm isolat

Hasil hplc menunjukkan kadar 76,33528 ppm

Jadi kadar β -sitosterol 97% dalam 1 g isolat 0.763 g β -sitosterol

Jadi kadar β -sitosterol dalam 1 g isolat 0.740 g β -sitosterol

Jika 1 kg serbuk menghasilkan 0,112 g isolat
maka 1 kg serbuk akar ginseng mengandung 0.083 g β -sitosterol

Jika 1 kg serbuk menghasilkan 46,3158 g ekstrak,
maka 1 kg ekstrak mengandung 1.79 g β -sitosterol
0.179% β -sitosterol

Jika dosis yang diberikan setara dengan 1,96 mg serbuk akar/20 g/hari, maka
tiap harinya 20 g mencit memerlukan

ekstrak = 0.090779 mg, atau
isolat = 0.000220 mg, atau
standar = 0.000162 mg

Printout hasil analisis HPLC

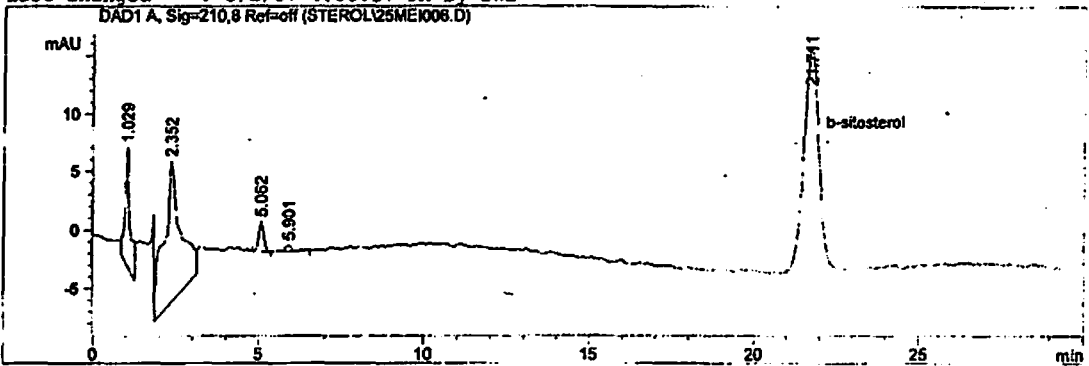
Standar β -sitosterol

Data File D:\DATA\STEROL\25MEI006.D

Sample Name: stdr100 ppm

kolom = Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250mm 5um
mobile phase = ACN:MeOH (65:35)
flow = 1.2 ml/min
Suhu = 40 C
Det = 210 nm

Injection Date : 5/25/07 2:11:13 PM
Sample Name : stdr100 ppm Location : -
Acq. Operator : Dwi Winarni
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\STEROL.M
Last changed : 5/25/07 2:06:48 PM by Dwi Winarni
(modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\STEROL.M
Last changed : 5/2/07 4:00:37 PM by Dwi



External Standard Report

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Area Percent Report

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.029	BB	0.1327	101.93529	10.19142	8.8074
2	2.352	VB	0.4409	416.12122	12.16954	35.9536
3	5.062	VP	0.1599	26.62040	2.58954	2.3000
4	5.901	BP	0.1858	7.90711	5.43296e-1	0.6832
5	21.711	BP	0.4778	604.80042	19.07948	52.2558

Totals : 1157.38443 44.57328

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

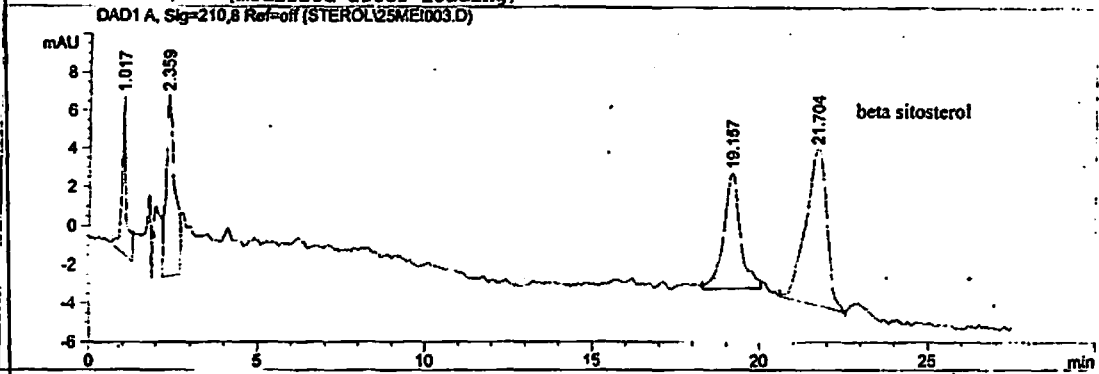
Sampel isolat hasil fraksinasi ekstrak n-heksan akar ginseng Jawa

Data File D:\DATA\STEROL\25MEI003.D

Sample Name: sampel-4

kolum = Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250mm 5um
 mobile phase = ACN:MeOH (65:35)
 flow = 1.2 ml/min
 Suhu = 40 C
 Det = 210 nm

=====
 Injection Date : 5/25/07 12:33:57 PM
 Sample Name : sampel-4 Location : -
 Acq. Operator : Dwi Winarni
 Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\STEROL.M
 Last changed : 5/25/07 10:08:14 AM by sonya metanol
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\CUCI_MET.M
 Last changed : 8/24/07 10:11:56 AM by mia
 (modified after loading)
 =====



External Standard Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.017	BB	0.1248	76.35575	8.19064	9.4447
2	2.359	VV	0.2481	164.28055	9.39174	20.3205
3	19.157	VB	0.4726	218.65768	5.95156	27.0466
4	21.704	VV	0.5205	349.15457	8.13870	43.1882

Totals : 808.44855 31.67265

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Uji konfirmasi

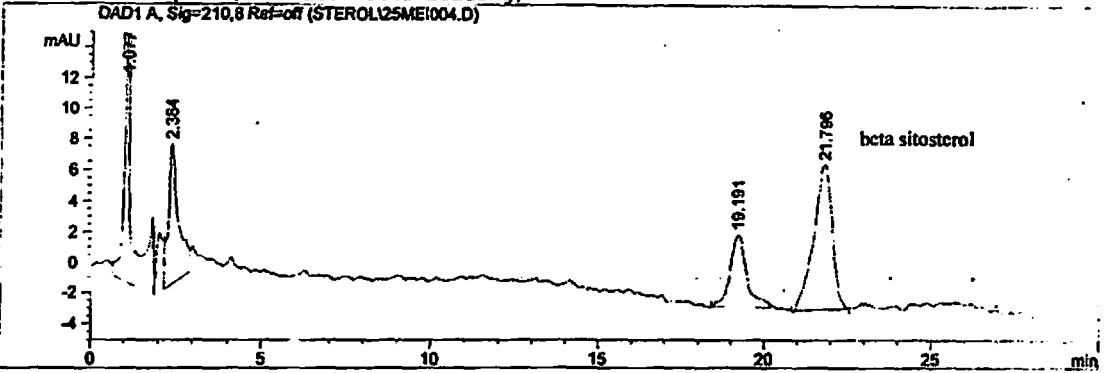
Data File D:\DATA\STEROL\25MEI004.D

Sample Name: smpl-stdr100 5:1

Kolom = Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250mm 5um
 mobile phase = ACN:MeOH (65:35)
 flow = 1.2 ml/min
 Suhu = 40 C
 Det = 210 nm

```

=====
Injection Date : 5/25/07 1:03:21 PM
Sample Name    : smpl-stdr100 5:1          Location : -
Acq. Operator  : Dwi Winarni
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\STEROL.M
Last changed   : 5/25/07 10:08:14 AM by sonya metanol
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\CUCI MET.M
Last changed   : 8/24/07 10:14:06 AM by mia
                (modified after loading)
=====
  
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.077	VV	0.1053	223.02171	29.14252	23.4708
2	2.364	VB	0.2856	189.49908	9.15147	19.9429
3	19.191	PB	0.4192	166.99471	4.78402	17.5745
4	21.796	PV	0.4721	370.69327	9.44021	39.0118

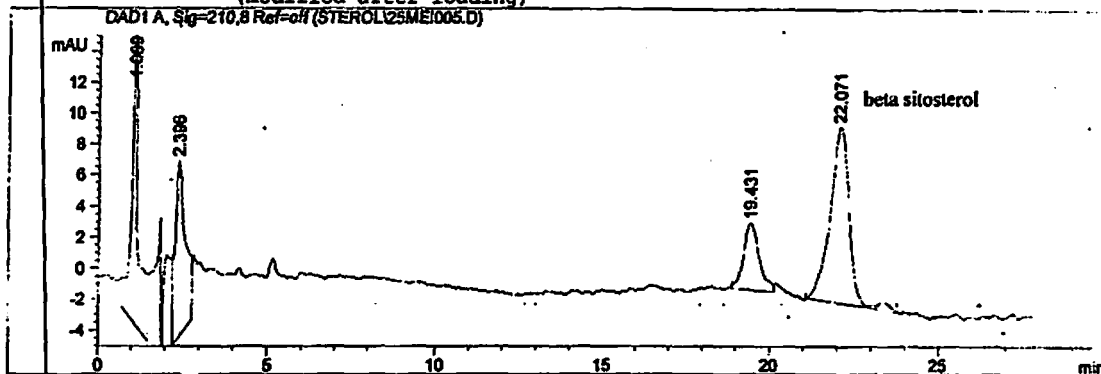
Totals : 950.20877 52.51822

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

kclom = Merck Lichrospher 100 RP-18 5x250mm 5um
 mobile phase = ACN:MeOH (65:35)
 flow = 1.2 ml/min
 Suhu = 40 C
 Det = 210 nm

Injection Date : 5/25/07 1:33:23 PM
 Sample Name : smpl-stdr100 5:2 Location : -
 Acq. Operator : Dwi Winarni
 Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\STEROL.M
 Last changed : 5/25/07 10:08:14 AM by sonya metanol
 (modified after loading)
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\CUCI MET.M
 Last changed : 8/24/07 10:14:06 AM by mia
 (modified after loading)



External Standard Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: DAD1 A, Sig=210,8 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.089	BB	0.1391	304.94598	28.89607	27.2054
2	2.396	VV	0.2886	238.92226	11.39591	21.3152
3	19.431	BV	0.4222	141.60449	4.32283	12.6331
4	22.071	PB	0.4943	435.42969	11.43352	38.8464

Totals : 1120.90242 56.04833

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Lampiran 4. DATA MOUNT LATENCY

No	Kelompok	Start	Mounting I	Mount Latency			
		jam:menit:detik	jam:menit:detik	jam:menit:detik	menit	Rerata menit	SD
1	EoPo-9	0:00:20	0:08:46	0:08:26	8.43	10.15	1.50
2	EoPo-9	0:33:19	0:44:31	0:11:12	11.20		
3	EoPo-9	0:33:26	0:44:15	0:10:49	10.82		
4	EoPo-18	0:01:04	0:06:50	0:05:46	5.77	4.57	1.06
5	EoPo-18	0:00:58	0:05:10	0:04:12	4.20		
6	EoPo-18	0:25:13	0:28:58	0:03:45	3.75		
7	EoPo-27	0:00:33	0:04:13	0:03:40	3.67	5.41	1.55
8	EoPo-27	0:00:35	0:07:14	0:06:39	6.65		
9	EoPo-27	0:26:30	0:32:24	0:05:54	5.90		
10	E1Po-9	0:01:22	0:11:37	0:10:15	10.25	11.46	1.14
11	E1Po-9	0:33:46	0:46:17	0:12:31	12.52		
12	E1Po-9	0:29:21	0:40:57	0:11:36	11.60		
13	E1Po-18	0:29:42	0:41:29	0:11:47	11.78	12.71	2.01
14	E1Po-18	0:29:52	0:41:12	0:11:20	11.33		
15	E1Po-18	0:00:00	0:15:01	0:15:01	15.02		
16	E1Po-27	0:00:32	0:21:34	0:21:02	21.03	20.46	0.54
17	E1Po-27	0:30:42	0:50:39	0:19:57	19.95		
18	E1Po-27	0:00:31	0:20:55	0:20:24	20.40		
19	E1Pg-9	0:00:01	0:10:24	0:10:23	10.38	9.03	1.80
20	E1Pg-9	0:00:00	0:09:43	0:09:43	9.72		
21	E1Pg-9	0:29:24	0:36:23	0:06:59	6.98		
22	E1Pg-18	0:00:19	0:04:31	0:04:12	4.20	7.12	3.70
23	E1Pg-18	0:27:35	0:38:52	0:11:17	11.28		
24	E1Pg-16	0:27:07	0:32:59	0:05:52	5.87		
25	E1Pg-27	0:01:07	0:03:50	0:02:43	2.72	3.97	1.11
26	E1Pg-27	0:01:07	0:05:57	0:04:50	4.83		
27	E1Pg-27	0:00:33	0:04:55	0:04:22	4.37		
28	EoPg-9	0:00:32	0:11:49	0:11:17	11.28	8.27	3.33
29	EoPg-9	0:00:31	0:05:13	0:04:42	4.70		
30	EoPg-9	0:00:33	0:09:23	0:08:50	8.83		
31	EoPg-18	0:24:52	0:36:49	0:11:57	11.95	8.04	3.59
32	EoPg-18	0:24:52	0:32:09	0:07:17	7.28		
33	EoPg-18	0:00:33	0:05:26	0:04:53	4.88		
34	EoPg-27	0:00:32	0:07:17	0:06:45	6.75	6.24	4.00
35	EoPg-27	0:00:32	0:10:30	0:09:58	9.97		
36	EoPg-27	0:26:33	0:28:34	0:02:01	2.02		
37	EoPf-9	0:01:31	0:14:52	0:13:21	13.35	9.26	3.56
38	EoPf-9	0:01:31	0:09:07	0:07:36	7.60		
39	EoPf-9	0:00:32	0:07:22	0:06:50	6.83		
40	EoPf-18	0:00:31	0:06:41	0:06:10	6.17	6.17	1.43
41	EoPf-18	0:26:39	0:29:58	0:03:19	3.32		
42	EoPf-18	0:26:39	0:31:21	0:04:42	4.70		

No	Kelompok	Start	Mounting I	Mount Latency			
		jam:menit:detik	jam:menit:detik	jam:menit:detik	menit	Rerata menit	SD
43	EoPf-27	0:29:05	0:37:55	0:08:50	8.83	6.04	3.29
44	EoPf-27	0:29:05	0:31:30	0:02:25	2.42		
45	EoPf-27	0:01:07	0:08:00	0:06:53	6.88		
46	E1Pf-9	0:01:22	0:08:20	0:06:58	6.97	5.63	1.53
47	E1Pf-9	0:25:13	0:31:10	0:05:57	5.95		
48	E1Pf-9	0:25:13	0:29:11	0:03:58	3.97		
49	E1Pf-18	0:05:05	0:09:30	0:04:25	4.42	4.28	0.45
50	E1Pf-18	0:30:57	0:35:36	0:04:39	4.65		
51	E1Pf-18	0:30:57	0:34:44	0:03:47	3.78		
52	E1Pf-27	0:30:42	0:33:54	0:03:12	3.20	3.56	0.32
53	E1Pf-27	0:03:59	0:07:40	0:03:41	3.68		
54	E1Pf-27	0:01:27	0:05:15	0:03:48	3.80		
55	EoPs-9	0:28:37	0:38:17	0:09:40	9.67	10.49	6.98
56	EoPs-9	0:01:31	0:05:29	0:03:58	3.97		
57	EoPs-9	0:02:55	0:20:46	0:17:51	17.85		
58	EoPs-18	0:29:15	0:42:44	0:13:29	13.48	9.21	3.71
59	EoPs-18	0:29:15	0:36:34	0:07:19	7.32		
60	EoPs-18	0:02:22	0:09:11	0:06:49	6.82		
61	EoPs-27	0:02:32	0:03:45	0:01:13	1.22	4.70	3.08
62	EoPs-27	0:01:47	0:07:36	0:05:49	5.82		
63	EoPs-27	0:29:10	0:36:14	0:07:04	7.07		
64	E1Ps-9	0:01:22	0:08:53	0:07:31	7.52	7.33	2.06
65	E1Ps-9	0:29:21	0:38:39	0:09:18	9.30		
66	E1Ps-9	0:28:37	0:33:48	0:05:11	5.18		
67	E1Ps-18	0:30:57	0:39:16	0:08:19	8.32	8.22	7.42
68	E1Ps-18	0:37:57	0:38:42	0:00:45	0.75		
69	E1Ps-18	0:05:06	0:20:41	0:15:35	15.58		
70	E1Ps-27	0:03:58	0:04:40	0:00:42	0.70	1.59	1.21
71	E1Ps-27	0:28:43	0:31:41	0:02:58	2.97		
72	E1Ps-27	0:03:58	0:05:05	0:01:07	1.12		

Lampiran 5. DATA KADAR TESTOSTERON TOTAL SERUM MENCIT YANG DITENTUKAN DENGAN RADIOIMMUNOASSAY (RIA)

Assay Identification

ANALYTE		: Mice blood serum				
KIT		: RIA coat-A-count® Total Testosterone DPC-USA				
CALIBRATION, UNITS		: 0-1600 ng/dl				
TECHNICIAN		:				
DATE		: April 18 th 2007				
IDENTIFICATION		: Total testosterone				
Tube		Duplicate CPM	Average CPM	Net CPM	% bound	Concentration
1	TC	32,128	32,004.5	30,939.5		
2		31,881				
3	NSB	1,090	1,065.0	0.0		
4		1,040				
5	A (0)=MB	10,184	10,141.0	9,076.0	100.0	0.0
6		10,098				
7	B(20)	9,071	8,951.0	7,886.0	86.9	20.0
8		8,831				
9	C(100)	6,213	6,188.0	5,123.0	56.4	100.0
10		6,163				
11	D(400)	3,741	3,738.0	2,673.0	29.5	400.0
12		3,735				
13	E(800)	2,769	2,884.5	1,819.5	20.0	800.0
14		3,000				
15	F(1600)	1,837	1,812.0	747.0	8.2	1,600.0
16		1,787				
17	BO	10,207	10,173.5	9,108.5	100.4	9.0
18		10,140				
41	BO	10,197	10,186.0	9,121.0	100.5	8.9
42		10,175				
54	withPre	2,404	7,780.5	6,715.5	74.0	38.8
55		7,739				
56	withPre	7,822	7,961.5	6,896.5	76.0	34.7
57		7,929				
58	withPre	7,994	8,189.5	7,124.5	78.5	30.2
59		8,174				
60	withPre	8,205	7,707.0	6,642.0	73.2	40.5
61		7,716				
62	withoutPre	7,698	3,190.0	2,125.0	23.4	640.1
63		3,158				
64	withoutPre	3,222	3,532.5	2,467.5	27.2	519.3
65		3,524				
66	withoutPre	3,541	2,877.5	1,812.5	20.0	774.7
67		2,897				
68		2,858				

69	withoutPre	3,611	3,633.0	2,568.0	28.3	488.3
70	BO	3,655	10,164.5	9,099.5	100.3	9.0
71		10,201				

Quality Control Parameters			
TOTAL COUNTS (cpm)	30,939.5	20% INTERCEPT (ng/dl)	773.5
% MB	29.3	50% INTERCEPT (ng/dl)	146.6
% NSB	3.4	80% INTERCEPT (ng/dl)	27.8

Precision

Replication	Concentration
1	9.0
2	8.9
3	9.0
4	9.2
Mean	9.0
SD	0.1
Precision	1.2

Accuracy

Observed concentration	Expected concentration
19.0	20.0
102.5	100.0
458.0	400.0
771.4	800.0
1,485.4	1,600.0
Accuracy	100.2

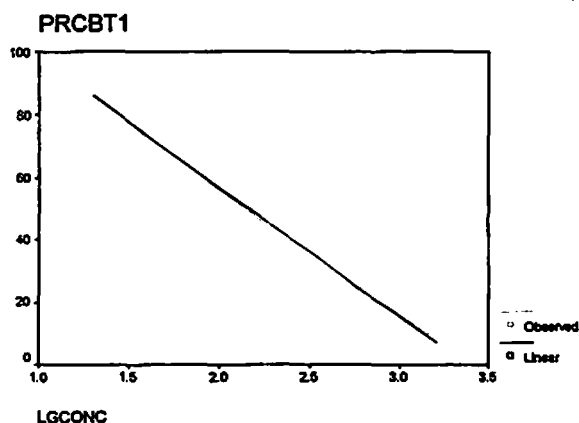
Linearitas

Curve Fit

MODEL: MOD_2.

Independent: LGCONC

Dependent	Mth	Rsq	d.f.	F	Sigf	b0	b1
PRCET1	LIN	.998	3	1325.15	.000	139.954	-41.529



Lampiran 6. HASIL UJI STATISTIK DATA KADAR TESTOSTERON KELOMPOK TANPA DAN DENGAN PRA PERLAKUAN

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks

	pra_perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kadarT_pra	pra perlakuan	4	2,50	10,00
	tanpa pra perlakuan	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^b

	kadarT_pra
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: pra_perlakuan

Lampiran 7: HASIL UJI STATISTIK DATA MOUNT LATENCY

L.7.1. Uji distribusi data *mount latency*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Mount Lt	MountLt_k
N		72	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	7.6036	10.7928
	Std. Deviation	4.59084	5.53011
Most Extreme Differences	Absolute	.125	.155
	Positive	.125	.155
	Negative	-.066	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		1.063	.658
Asymp. Sig. (2-tailed)		.208	.779

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

L.7.2. Analisis data *mount latency*

L.7.2.1. Uji beda untuk mengetahui pengaruh EE2 dan lama waktu pada kelompok kontrol

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
EE_part	1.00 tanpa EE2 (Eo)	9
	2.00 EE2 (E1)	9
lamawaktu_part	1.00 9 hari	6
	2.00 18 hari	6
	3.00 27 hari	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable: MountLt_k

EE_part	lamawaktu_part	Mean	Std. Deviation	N
tanpa EE2 (Eo)	9 hari	10.1500	1.50163	3
	18 hari	4.5733	1.06049	3
	27 hari	5.4067	1.55004	3
	Total	6.7100	2.86917	9
EE2 (E1)	9 hari	11.4567	1.14177	3
	18 hari	12.7100	2.01313	3
	27 hari	20.4600	.54249	3
	Total	14.8756	4.38741	9
Total	9 hari	10.8033	1.39127	6
	18 hari	8.6417	4.68322	6
	27 hari	12.9333	8.31021	6
	Total	10.7928	5.53011	18

Levene's Test of Equality of Error Variances

Dependent Variable: MountLt_k

F	df1	df2	Sig.
1.638	5	12	.224

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+EE_part+lama waktu_part+EE_part * lama waktu_part

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MountLt_k

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	497.030 ^a	5	99.406	52.169	.000
Intercept	2098.713	1	2098.713	1100.367	.000
EE_part	300.043	1	300.043	157.464	.000
lama waktu_part	55.256	2	27.628	14.499	.001
EE_part * lama waktu_part	141.730	2	70.865	37.190	.000
Error	22.866	12	1.905		
Total	2616.608	18			
Corrected Total	519.895	17			

a. R Squared = .956 (Adjusted R Squared = .938)

Post Hoc Tests

lama waktu_part

Homogeneous Subsets

MountLt_k

Duncan ^{a,b}

lama waktu_part	N	Subset		
		1	2	3
8 hari	6	6.6417		
17 hari	6		10.8033	
27 hari	6			12.9333
Sig.		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) = 1.905.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Oneway

Descriptives

MountLt_k

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
EoPo-9	3	10.1500	1.50163	.86697	6.4197	13.8803	8.43	11.20
EoPo-18	3	4.5733	1.06049	.61227	1.9389	7.2077	3.75	5.77
EoPo-27	3	5.4067	1.55004	.89492	1.5561	9.2572	3.67	6.65
E1Po-9	3	11.4567	1.14177	.65920	8.6204	14.2930	10.25	12.52
E1Po-18	3	12.7100	2.01313	1.16228	7.7091	17.7109	11.33	15.02
E1Po-27	3	20.4600	.54249	.31321	19.1124	21.8076	19.95	21.03
Total	18	10.7928	5.53011	1.30346	8.0427	13.5428	3.67	21.03

Test of Homogeneity of Variances

ANOVA

MountLt_k

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.638	5	12	.224

MountLt_k

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	497.030	5	99.406	52.169	.000
Within Groups	22.866	12	1.905		
Total	519.895	17			

**Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets**

MountL_t_k

kelompok	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Duncan ^a EoPo-18	3	4.5733		
EoPo-27	3	5.4087		
EoPo-9	3		10.1500	
E1Po-9	3		11.4587	
E1Po-18	3		12.7100	
E1Po-27	3			20.4600
Sig.		.474	.051	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

L.7.2.1. Uji beda kelompok perlakuan

Oneway

Descriptives

Mount Lt

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
EE2 (E1)	36	7.8469	5.44707	.90784	6.1039	9.7900	.70	21.03
tanpaEE2 (Eo)	36	7.2603	3.58340	.58723	6.0478	8.4727	1.22	17.85
Total	72	7.6036	4.59084	.54104	6.5248	8.6824	.70	21.03

Test of Homogeneity of Variances

Mount Lt

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.818	1	70	.011

Robust Tests of Equality of Means

Mount Lt

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	.399	1	60.516	.530

a. Asymptotically F distributed.

Oneway

Descriptives

Mount Lt

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
9 hr	24	8.9529	3.26122	.66569	7.5758	10.3300	3.97	17.85
18 hr	24	7.3592	4.05325	.82737	5.6476	9.0707	.75	15.58
27 hr	24	6.4988	5.89575	1.20346	4.0092	8.9883	.70	21.03
Total	72	7.6036	4.59084	.54104	6.5248	8.6824	.70	21.03

Test of Homogeneity of Variances

Mount Lt

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.643	2	69	.201

ANOVA

Mount_Lt

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	74.428	2	37.213	1.806	.172
Within Groups	1421.957	69	20.608		
Total	1496.383	71			

Oneway

Descriptives

Mount_Lt

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
tanpa ginseng (Po)	18	10.7928	5.53011	1.30348	8.0427	13.5428	3.67	21.03
ekstrak (Pg)	18	7.1117	3.12198	.73586	5.5591	8.6642	2.02	11.95
Isolat (Pf)	18	5.5844	2.62385	.61845	4.2796	6.8893	2.42	13.35
standart (Ps)	18	6.9256	4.99802	1.17804	4.4401	9.4110	.70	17.85
Total	72	7.6036	4.59084	.54104	6.5248	8.6824	.70	21.03

Test of Homogeneity of Variances

Mount_Lt

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.704	3	68	.052

ANOVA

Mount_Lt

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	269.093	3	89.698	4.970	.004
Within Groups	1227.291	68	18.048		
Total	1496.383	71			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Mount_Lt

Duncan^a

sediaan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
isolat (Pf)	18	5.5844	
standart (Ps)	18	6.9256	
ekstrak (Pg)	18	7.1117	
tanpa ginseng (Po)	18		10.7928
Sig.		.315	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.000.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Mount_Lt

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.225	23	48	.010

Robust Tests of Equality of Means

Mount_Lt

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	4.691	23	15.714	.001

a. Asymptotically F distributed.

Rekapitulasi uji t pasangan kelompok di halaman berikutnya

Rekapitulasi hasil uji t data *mount latencies* kelompok-kelompok interaksi

kelompok	EoPo-18	EoPo-27	EIPo-9	EIPo-18	EIPo-27	EIPo-9	EIPo-18	EIPo-27	EoPg-9	EoPg-18	EoPg-27	EoPf-9	EoPf-18	EoPf-27	EIPf-9	EIPf-18	EIPf-27	EoPs-9	EoPs-18	EoPs-27	EIPs-9	EIPs-18	EIPs-27		
EoPo-9	5,254 0,006	3,807 0,019	X	X	X	X	X	0,005 5,730	X	X	X	X	X	X	4,534 0,011	X	3,658 0,022	6,481 0,003	7,437 0,014	X	X	X	X	X	7,688 0,002
EoPo-18		X	-7,651 0,002	-6,194 0,003	X	-3,688 0,021	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	3,208 0,033
EoPo-27			-5,443 0,006	-4,878 0,006	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	3,358 0,028
EIPo-9				X	X	X	X	8,141 0,001	X	X	X	X	X	X	6,380 0,003	X	5,297 0,006	10,121 0,001	11,541 0,000	X	X	3,580 0,024	3,025 0,039	X	10,276 0,001
EIPo-18					X	X	X	6,583 0,003	X	X	X	X	X	X	5,604 0,005	2,996 0,040	4,855 0,008	7,075 0,002	7,776 0,001	X	X	3,768 0,020	3,228 0,032	X	8,199 0,001
EIPo-27						10,518 0,000	6,179 0,003	23,121 0,000	6,266 0,003	5,918 0,004	6,100 0,004	5,383 0,006	17,866 0,000	7,498 0,002	15,866 0,000	39,723 0,000	48,569 0,000	X	5,199 0,007	8,725 0,001	10,642 0,000	2,852 0,048	2,652 0,048	24,677 0,000	
EIPg-9							X	4,135 0,014	X	X	X	X	X	X	3,238 0,032	X	X	4,421 0,012	5,172 0,007	X	X	X	X	X	5,930 0,004
EIPg-18								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
EIPg-27									X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
EoPg-9										X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	3,267 0,031
EoPg-18											X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	2,941 0,042
EoPg-27												X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
EoPf-9													X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	3,528 0,024
EoPf-18														X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	2,905 0,044
EoPf-27															X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
EIPf-9																	X	X	X	X	X	X	X	X	3,581 0,023
EIPf-18																		X	X	X	X	X	X	X	3,610 0,023
EIPf-27																		X	X	X	-3,128 0,035	X	X	X	X
EoPs-9																			X	X	X	X	X	X	X
EoPs-18																					X	X	X	X	3,378 0,028
EoPs-27																						X	X	X	X
EIPs-9																							X	X	X
EIPs-18																									4,151 0,014

Keterangan : x = beda tidak bermakna, Tabel berisi angka merupakan hasil uji t yang berbeda bermakna antara kelompok baris dan kolom, Angka yang terletak di atas adalah nilai t, dan di bawah nilai probabilitas (p)

