

KK
KKA
TKD. 44/11
Soe
P

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN ROYAL JELLY PERORAL
TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOSIT PRIMER,
DAN SEL-SEL SPERMATID PADA
TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus strain Wistar*) JANTAN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

AYLY SOEKANTO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *ROYAL JELLY* PERORAL
TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOSIT PRIMER,
DAN SEL-SEL SPERMATID PADA
TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus strain Wistar*) JANTAN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris

AYLY SOEKANTO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

**PENGARUH PEMBERIAN *ROYAL JELLY* PERORAL
TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOSIT PRIMER,
DAN SEL-SEL SPERMATID PADA
TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus strain Wistar*) JANTAN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**AYLY SOEKANTO
NIM. 090515535 M**


**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
Tanggal 24 Januari 2008**

iii

Lembar Pengesahan

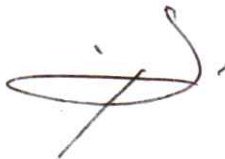
TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL : 24 Januari 2008

Oleh
Pembimbing Ketua



Abd. Kamid Iskandar, dr, MS
NIP. 130 541 811

Pembimbing



Prof. Ari Gunawan, dr, MS, Ph.D
NIP. 130 531 759

Mengetahui :

Plt Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pasca Sarjan Universitas Airlangga



Prof. Retno Handajani, dr, MS, Ph.D
NIP. 130 541 984

Diuji pada

Tanggal 24 Januari 2008

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Moch. Wirono Aman Santoso, dr, MS

Anggota : Abd. Kamid Iskandar, dr, MS

Prof. Ari Gunawan, dr, MS, Ph.D

Subagyo, dr, MS

Chairul Anwar, drh, MS

Iskantjah Budi Rahardjo, dr, MS

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Bapak Abd. Kamid Iskandar, dr, MS selaku pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian memberikan dorongan , bimbingan dan saran.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. Ari Gunawan, dr, MS, Ph.D. selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Airlangga Surabaya, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti program Pasca Sarjana.

Kepada Direktur Program Pasca Sarjana dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Prof. Dr. Muh. Amin, dr, SpP, saya sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan magister.

Kepada Ketua Jurusan Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga Surabaya Prof. Retno Handajani, dr, MS, Ph.D saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya.

Kepada seluruh dosen pengajar Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, khususnya pengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang

dengan tulus telah membimbing dan membagikan ilmu pengetahuan sebagai bekal dalam menyelesaikan program pendidikan ini.

Terima kasih kepada seluruh dosen pengajar di Bagian Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah banyak memberikan bimbingan dan dorongan selama mengikuti pendidikan dan selama proses penelitian.

Kepada staf Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, saya ucapkan terima kasih atas segala bantuannya dalam penelitian ini.

Kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah banyak memberikan bantuan, saya sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya, semoga Tuhan membalas budi baiknya.

Akhirnya dengan segenap kerendahan hati, saya sebagai manusia biasa mohon maaf atas segala kekurangan dan kesalahan saya.

RINGKASAN

**PENGARUH PEMBERIAN *ROYAL JELLY* PERORAL
TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOSIT PRIMER,
DAN SEL-SEL SPERMATID PADA
TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus strain Wistar*) JANTAN**

Ayly Soekanto

Dewasa ini penggunaan *royal jelly* untuk berbagai minuman suplemen energi telah banyak ditemukan. Berbagai produk kecantikan untuk wanita juga banyak mengandung *royal jelly*. Tidak jarang produk-produk suplemen untuk menambah vitalitas pria juga mengandung *royal jelly*. Dimana penggunaan *royal jelly* telah meluas. Pengetahuan masyarakat tentang *royal jelly* masih sangat kurang.

Salah satu efek yang diduga terdapat dalam *royal jelly* adalah dapat meningkatkan vitalitas dan kesuburan pria. Mitos penggunaan *royal jelly* untuk meningkatkan vitalitas dan kesuburan ini didasari oleh adanya perbedaan kemampuan reproduksi lebah ratu dan lebah pekerja yang sangat jauh berbeda karena perbedaan makanannya yaitu *royal jelly*. Penelitian-penelitian pada hewan coba sebelumnya telah membuktikan bahwa pemberian *royal jelly* pada ayam, kelinci dan burung puyuh dapat meningkatkan fertilitas hewan-hewan tersebut. Diduga efek tersebut disebabkan oleh gonadotropin yang terkandung di dalam *royal jelly*. Penelitian sebelumnya, membuktikan bahwa *royal jelly* dapat meningkatkan fertilitas pada mencit betina (Nurmiati,2002) dan dapat meningkatkan ketebalan epitel pada tubulus seminiferus testis tikus putih jantan

(Hardiyono, 2006). Sementara itu penelitian pengaruh *royal jelly* terhadap jumlah sel-sel spermatogenik belum pernah diteliti.

Dengan penelitian ini, penulis ingin mengetahui apakah pemberian *royal jelly* peroral pada tikus putih jantan dapat meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik, dalam hal ini adalah jumlah sel-sel Spermatosit primer dan sel-sel Spermatid sehingga dapat dibuktikan pengaruh *royal jelly* terhadap spermatogenesis.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan penelitian Post Test Only Control Group Design dan data penelitian yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan Anova dengan derajat kemaknaan kurang dari 0,05 ($p < 0,05$).

Sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan dewasa yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan besar sampel masing-masing 8 ekor. K1 : kelompok kontrol yang mendapatkan aquadest 3 ml/hr peroral, P1 : kelompok perlakuan dengan pemberian *royal jelly* 15 mg/kgBB/hr peroral, P2 : kelompok perlakuan dengan pemberian *royal jelly* 30 mg/kgBB/hr peroral dan P3 : kelompok perlakuan dengan pemberian *royal jelly* 45 mg/kgBB/hr peroral. Perlakuan diberikan selama 52 hari.

Setelah 52 hari perlakuan, hewan coba ditimbang berat badannya dan dikorbankan untuk diambil testisnya. Testis kemudian dimasukkan larutan fiksatif untuk selanjutnya dibuat sediaan histologik metode parafin dengan pewarnaan PAS. Hasilnya diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 10 x 40 dan difoto dengan kamera digital untuk kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel-sel

Spermatosit primer dan sel-sel Spermatidnya. menggunakan komputer dengan program Image Tool.

Dari data penelitian rata-rata jumlah sel-sel spermatosi primer dan sel-sel Spermatid pada kelompok perlakuan lebih besar daripada kelompok kontrol. Data penelitian tersebut setelah diuji normalitas datanya kemudian dianalisis secara Anova dan didapatkan bermakna sehingga dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang ada perbedaan bermakna.

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian *royal jelly* peroral terbukti dapat meningkatkan jumlah sel-sel Spermatosit primer dan jumlah sel-sel Spermatid.

Untuk mendukung keakuratan penelitian ini, maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menghitung jumlah sel-sel Sertoli dalam tubulus seminiferus dan sel-sel Leydig pada jaringan interstitial testis tikus putih serta melihat bentuk dan motilitas dari spermatozoa.

SUMMARY

**THE INFLUENCE OF ROYAL JELLY ORAL FEEDING
ON THE AMOUNT OF PRIMARY SPERMATOCIDE CELLS AND
SPERMATID CELLS IN MALE WHITE RATS (*Wistar strain Rattus
norvegicus*) TESTIS**

Ayly Soekanto

These days used of *Royal Jelly* to various beverage of energy supplement have a lot of found. Various beauty products for women also contain *royal jelly*. Many supplement products to add the man vitality also contain *royal jelly*. Though *royal jelly* became widely consumed, the society knowledge about *royal jelly* still very less.

One of the effects of *royal jelly* was considered can improve the vitality and men's fertility. The myth of *royal jelly* to increase fertility and vitality started with an amazing biological phenomenon on the queen bee. It is mainly spectacular fertility and long life-span of the queen, exclusively fed on *royal jelly*, which have suggestively led people to believe that *royal jelly* produces similar effects in humans. Research at animal try previously have proved that the gift of *royal jelly* at chickens, quails and rabbits can improve the animal fertility. It considered that the effect because of gonadotropin which consisted in *royal jelly*. Research previously, proving that *royal jelly* can improve the fertility of female rats (Nurmiati,2002) and the thickness of seminiferous tubules epithelial male rats (Hardiyono, 2006). Meanwhile the influence of *royal jelly* oral feeding to the amount of the spermatogenic cells have never been checked.

With this research, writer wish to know whether *royal jelly* oral feeding at white rats can improve the amount of primary spermatocide cells and spermatid cells at the male white rats that prove the influence of *royal jelly* to spermatogenesis.

This research was a laboratory experimental study using the Post Test Only Control Groups Design dan the datas were analyzed statistically using Anova with significance level of less than 0,05.

This Sample Research were 32 adult male white rats that divided into 4 groups in random, and each group had been provided with one rat as replacement if there was dead rat during the treatment for 52 days. K1 : control group getting aquadest 3 ml / day oral feeding, P1 : treatment group with *royal jelly* oral feeding 15 mg/kgBW/day, P2 : treatment group with *royal jelly* oral feeding 30 mg/kgBW/day and P3 : treatment group with *royal jelly* oral feeding 45 mg/kgBW/day.

After 52 treatment days, the animals were sacrificed to remove the testis, which was subsequently scaled using electronic scale. Afterwards, histological preparations were made using paraffin method with PAS staining. The results were observed using light microscope in 10 x 40 magnification and photographed with the digital camera and then counted the amount of primary spermatocide cells and spermatid cells using personal computer with the program of Image Tool.

Datas showed that the average of the amount of primary spermatocide cells and spermatid cells in the treatment groups were bigger than the control

group. The Research data were analyzed using Anova to indicate significant difference between all treatment and control groups. To identify which group had significant difference in each variable, the analysis was continued with LSD test.

In conclusion, *royal jelly* oral feeding can improve the amount of primary spermatocide cells and spermatid cells in male white rats.

To confirm the accuracy of this study, further research is needed to count the Sertoly cells and Leydig cells in testicular seminiferous tubule in male white rats and the shape and the motility of the sperms.

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF *ROYAL JELLY* ORAL FEEDING ON THE AMOUNT OF PRIMARY SPERMATOCIDE CELLS AND SPERMATID CELLS IN MALE WHITE RATS (*Wistar strain Rattus norvegicus*) TESTIS

Royal jelly was considered can improve men's vitality and fertility. Animal studies have proved that *royal jelly* feeding at chickens, quails and rabbits can improve the fertility. Nurmiati study (2002) proved that *royal jelly* can improve the fertility of female rats. Hardiyono study (2006) also proved that the royal jelly can improve the thickness of seminiferous tubules epithelial in male white rats. The purpose of this study is to prove the influence of *royal jelly* feeding to spermatogenesis with counting the amount of primary spermatocide cells and spermatid cells at the male white rats

This research was a laboratory experimental study using the Post Test Only Control Groups Design and the datas were analyzed statistically using Anova with significance level of less than 0,05. The sampel research were 32 adult male white rats that divided into 4 groups in random, and each group had been provided with one rat as replacement if there was dead rat during the treatment for 52 days. K1 : control group getting aquadest oral feeding 3 ml / day, P1 : treatment group with *royal jelly* oral feeding 15 mg/kgBW/day, P2 : treatment group with *royal jelly* oral feeding 30 mg/kgBW/day and P3 : treatment group with *royal jelly* oral feeding 45 mg/kgBW/day. All datas were analyzed using Anova to indicate significant differences between all treatment and control groups. To identify which group had significant difference in each variable, the analysis was continued with LSD test.

In conclusion, *royal jelly* oral feeding can improve the amount of primary spermatocide cells and spermatid cells in male white rats.

Keywords : royal jelly, spermatocide cells, spermatid cells.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	viii
Summary	xi
Abstrak	xiv
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	x viii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Terapan	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Royal Jelly	5

2.1.1 Tinjauan Umum.....	5
2.1.2 Kandungan Royal jelly	6
2.1.3 Manfaat Royal Jelly	10
2.2 Sistem Reproduksi Pria	11
2.2.1 Testis	12
2.2.2 Spermatogenesis	17
2.2.3 Spermiogenesis	19
2.2.4 Sel-sel Spermatogenik	21
2.2.5 Pengaturann Hormonal Fungsi Testis	23
2.2.6 Saluran Keluar Spermatozoa	25
2.2.7 Kelenjar Kelenjar Tambahan	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	29
3.1 Kerangka Konseptual	29
3.2 Hipotesis Penelitian	31
BAB 4 METODE PENELITIAN	33
4.1 Rancangan Penelitian	33
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	34
4.3 Variabel Penelitian.....	35
4.3.1 Klasifikasi Variabel	35
4.3.2 Definisi Operasional Variabel	35
4.4 Bahan Penelitian	36
4.5 Instrumen Penelitian	38
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	39
4.7 Prosedur Penelitian	39

4.7.1 Pemeliharaan dan pembagian kelompok hewan coba	39
4.7.2 Persyaratan Etik	40
4.7.3 Perlakuan hewan coba	40
4.7.4 Pembiusan	41
4.7.5 Pengambilan jaringan testis	41
4.7.6 Pembuatan sediaan histologis dan pewarnaan	42
4.7.7 Pengumpulan data	42
4.8 Rancangan Analisa Data	42
BAB 5 DATA PENELITIAN DAN ANALISIS DATA PENELITIAN	44
5.1 Data Penelitian	45
5.1.1 Jumlah sel-sel Spermatisit Primer	45
5.1.2 Jumlah sel- sel Spermatid	46
5.2 Analisis Data Penelitian.....	47
5.2.1 Jumlah sel-sel Spermatisit Primer	48
5.2.2 Jumlah sel-sel Spermatid	53
BAB 6 PEMBAHASAN	58
6.1 Jumlah sel-sel Spermatisit Primer	58
6.2 Jumlah sel – sel Spermatid.....	61
BAB 7 PENUTUP	65
7.1 Kesimpulan.....	65
7.2 Saran.....	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	72

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan vitamin dalam royal jelly	9
Tabel 5.1 Rata-rata (mean) dan simpangan baku (standar deviasi) Jumlah sel-sel spermatosit primer tikus putih (<i>Rattus norvegicus strain Wistar</i>) setelah 52 hari perlakuan	45
Tabel 5.2 Rata-rata (mean) dan simpangan baku (standar deviasi) Jumlah sel-sel spermatid tikus putih (<i>Rattus norvegicus strain Wistar</i>) setelah 52 hari perlakuan	47
Tabel 5.3 Rangkuman hasil uji normalitas data, <i>test homogeneity of variance</i> dan analisa varian (Anova) Jumlah sel sel spermatosit primer	49
Tabel 5.4 Rangkuman hasil <i>Least Significant Difference (LSD)</i> Jumlah sel-sel spermatosit primer.	52
Tabel 5.5 Rangkuman hasil uji normalitas data, <i>test homogeneity of variance</i> dan analisa varian (Anova) Jumlah sel – sel spermatid.	54
Tabel 5.6 Rangkuman hasil <i>Least Significant Difference (LSD)</i> Jumlah sel-sel spermatid.	57

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Sistem Reproduksi Pria	12
Gambar 2.2 : Penampang melintang tubulus seminiferus dan jaringan interstitial	15
Gambar 2.3 : Sel Spermatozoa	20
Gambar 2.4 : Diagram struktur komponen tubulus seminiferus dan jaringan interstitial	21
Gambar 3.1 : Diagram alur kerangka konseptual penelitian	31
Gambar 5.1 : Histogram Rata-rata (mean) Jumlah sel-sel Spermatisit Primer tikus putih (<i>Rattus norvegicus strain Wistar</i>) setelah 52 hari perlakuan	46
Gambar 5.2 : Histogram rata-rata (mean) Jumlah sel-sel spermatid tikus putih (<i>Rattus norvegicus strain Wistar</i>) setelah 52 hari perlakuan.	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Penghitungan jumlah sel-sel Spermatisit primer dan Spermatid Kelompok perlakuan 15 mg.KgBB/hari dan 30 mg/KgBB/hari	72
Lampiran 2 Hasil Penghitungan jumlah sel-sel Spermatisit primer dan Spermatid Kelompok perlakuan 45 mg.KgBB/hari dan Kelompok Kontrol	73
Lampiran 3 Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok Kontrol setelah 52 hari perlakuan	74
Lampiran 4 Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan Royal Jelly 15 mg/kgBB/hari peroral setelah 52 hari perlakuan	75
Lampiran 5 Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan Royal Jelly 30 mg/kgBB/hari peroral setelah 52 hari perlakuan	76
Lampiran 6 Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan Royal Jelly 45 mg/kgBB/hari peroral setelah 52 hari perlakuan	77
Lampiran 7 Pembuatan Preparat Histologis Metode Parafin	78
Lampiran 8 Pewarnaan Periodic Acid Schiff (PAS)	79

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Seiring dengan kemajuan zaman saat ini, seseorang dituntut untuk selalu meningkatkan efisiensi dan efektifitas kerjanya. Persaingan kerja yang sangat ketat menyebabkan seseorang sering tidak memperhatikan pola makan yang sehat. Makanan instant sering menjadi pilihan utama untuk konsumsi makan siang di saat kerja. Nutrisi yang tidak seimbang dan radikal bebas yang banyak terdapat dalam bumbu penyedap pada makanan instant dapat menyebabkan timbulnya gangguan kesehatan. Sebenarnya masyarakat sudah mengetahui dampak buruk dari kebiasaan mengkonsumsi makanan instant atau cepat saji tetapi karena alasan waktu, makanan instant tetap menjadi pilihan mereka.

Menyadari bahwa pola makan mereka tidak sehat, masyarakat mencoba menjaga kesehatan mereka dengan mengkonsumsi *food suplemen* untuk melengkapi kebutuhan gizi mereka. Menjawab kebutuhan tersebut, saat ini banyak sekali produk suplemen yang ditawarkan kepada masyarakat untuk menunjang kesehatannya.

Royal jelly merupakan salah satu dari produk yang banyak dipromosikan tersebut. Saat ini penggunaan *royal jelly* untuk berbagai minuman suplemen energi telah banyak ditemukan. Berbagai produk kecantikan untuk wanita juga banyak yang mengandung *royal jelly*. Bahkan produk suplemen untuk menambah vitalitas pria juga tak jarang banyak mengandung *royal jelly*.

Fungsi reproduksi merupakan salah satu fungsi yang paling sering menimbulkan problem dalam kehidupan rumah tangga. Infertilitas sebagai penyebab terjadinya ketidakmampuan untuk mempunyai keturunan merupakan salah satu penyebab paling sering terjadinya keretakan hubungan dalam rumah tangga. Stres, gizi tidak seimbang, polusi dan radiasi sebagai dampak kehidupan modern dapat menyebabkan terjadinya infertilitas. Karena itu perlu diteliti faktor yang dapat mencegah terjadinya infertilitas tersebut. Salah satunya adalah dengan pemberian suplemen vitamin untuk meningkatkan fungsi organ-organ reproduksi tersebut.

Pemberian *royal jelly* pada ayam ternyata dapat menghasilkan telur dua kali lebih banyak dibandingkan dengan ayam yang tidak diberi *royal jelly* (Walji, 2001) Demikian juga pemberian *royal jelly* pada ayam yang telah tua dan telah menurun produksi telurnya, dapat mendorong meningkatnya kembali produksi telurnya (Sihombing 1997).

Dimana penggunaan *royal jelly* saat ini telah meluas, tetapi pengetahuan masyarakat tentang *royal jelly* masih sangat kurang. Seperti halnya pengetahuan masyarakat terhadap akar Pasak Bumi yang sebelumnya tidak diketahui kandungan zat aktif yang ada di dalamnya tetapi masyarakat mempercayai bahwa akar Pasak Bumi dapat digunakan untuk meningkatkan vitalitas pria berdasarkan pengalaman turun-temurun. Hal ini mendorong beberapa peneliti mencoba membuktikan khasiat akar Pasak Bumi, yang ternyata dapat meningkatkan daya vitalitas pria sebagai obat kuat (Arzani, 1990, Adimoeljo, 2000, Taufi Gurrahman & Wibowo, 2000). Dari pengalaman di atas maka perlu dilakukan penelitian terhadap *royal jelly* yang

2. Membuktikan bahwa pada pemberian *royal jelly* peroral dengan dosis yang berbeda (15 mg/kgBB/hr, 30 mg/kgBB/hr, 45 mg/kg BB/ hr) terjadi perbedaan peningkatan jumlah sel-sel spermatosit primer dan sel-sel spermatid pada testis tikus putih jantan.

1.4 Manfaat Penelitian :

1.4.1 Manfaat Akademis

Apabila penelitian ini berhasil membuktikan adanya peningkatan proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus, maka diharapkan hasil tersebut dapat memperjelas mekanisme kerja *royal jelly* dalam meningkatkan spermatogenesis pada pria.

1.4.2 Manfaat Terapan

1. Memberikan informasi yang benar tentang khasiat suatu produk suplemen yang banyak ditawarkan pada masyarakat.
2. Menambah wawasan tentang manfaat *royal jelly* bagi tubuh manusia.
3. Menjadi bahan pertimbangan untuk menjadi salah satu terapi alternatif dalam pengobatan infertilitas akibat gangguan spermatogenesis.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Royal Jelly

2.1.1 Tinjauan Umum

Royal jelly adalah cairan putih seperti susu yang dihasilkan kelenjar hypopharyngeal lebah madu pekerja. *Royal jelly* digunakan untuk makanan larva lebah. *Royal jelly* merupakan makanan yang diberikan pada larva lebah selama lebih kurang tiga hari pertama, kemudian secara bertahap diganti dengan *Bee Pollen* yang dicampur madu. Ratu lebah sejak larva sampai menjadi lebah dewasa sepanjang hidupnya mendapatkan *royal jelly* untuk makanannya. Karena itu ratu lebah mempunyai struktur dan tingkah laku yang sangat berbeda dengan lebah pekerja lainnya yang juga termasuk lebah betina. Lebah pekerja bersifat mandul sedangkan ratu lebah mempunyai kemampuan reproduksi yang luar biasa. Ratu lebah telah bertelur sejak usia 16 hari dan tetap produktif sepanjang hidupnya. Ratu lebah mampu bertelur hingga 2000 butir telur perhari. Ukuran ratu lebah yang mendapat makan *royal jelly* ini juga menjadi lebih besar dua kali ukuran lebah pekerja lainnya. Usia ratu lebah juga menjadi lebih panjang 40 -50 kali usia lebah yang pada umumnya hanya sekitar 80 hari saja. Apa yang membedakan antara ratu lebah dengan lebah pekerja adalah makanannya, yaitu *royal jelly* yang dimakan ratu lebah sepanjang hidupnya.

2.1.2 Kandungan Royal Jelly

Hasil penelitian para ahli, menyatakan bahwa *royal jelly* mengandung senyawa-senyawa alami yang bermanfaat bagi kesehatan manusia.

Dari hasil analisis kimia menunjukkan bahwa *royal jelly* mengandung (Brown, 1993)

- 66,05 % substansi pelembab seperti gelatin.
- 12,34 % protein
- 5,46 % lemak
- 2,49 % substansi tereduksi
- 0,82 % mineral
- 2,84 % senyawa yang belum diketahui

Dari hasil analisis kimia di atas kemudian ditemukan lagi senyawa-senyawa gizi seperti hormon-hormon alami, berbagai vitamin seperti vitamin B kompleks (Thiamin, Piridoksin, Riboflavin, Niasin, Asam Pantotenat, Biotin, Inositol dan Asam Folat), vitamin A, vitamin C dan vitamin E (sebagai antioksidan), 20 macam Asam Amino (14 di antaranya adalah asam amino esensial), Asam Nukleat, Protein dalam bentuk Gelatin-Kolagen, Asam lemak esensial serta berbagai jenis mineral penting bagi tubuh dan *Acetyl Cholin* yang berperan untuk menghantarkan rangsangan saraf atau transmisi impuls saraf dan mengatur sekresi kelenjar-kelenjar tubuh, Gamma globulin serta *Asam Decanoat* yang merupakan senyawa penting untuk meningkatkan sistem imunitas dan menghalau serangan infeksi kuman dan jamur. Selain itu *royal jelly* juga mengandung enzim pencernaan dan hormon

gonadotropin yang sangat membantu fungsi reproduksi baik pada hewan betina maupun hewan jantan (Walji,2001).

Kandungan utama *royal jelly* adalah air, protein, gula, lemak dan garam-garam mineral. Meskipun sering didapatkan variasi prosentasinya, tetapi dari beberapa penelitian didapatkan bahwa komposisi *royal jelly* relatif tetap meskipun dibandingkan antar koloni lebah, antar jenis lebah dan antar waktu. Air dapat mencapai dua pertiga dari berat totalnya, tetapi pada berat keringnya, protein dan gula adalah fraksi terbesar.

Substansi Nitrogen yaitu protein berkisar 73,9% dan asam amino bebas berkisar 2,3% dan peptide 0,165 (Takenaka, 1987 cit Krell, 1996). Semua asam amino sebanyak 29 macam dan derivat – derivatnya dapat diidentifikasi, di antaranya adalah aspartic acid dan glutamic acid (Howe et al., 1985 cit Krell, 1996). Asam amino bebas yang terkandung di dalamnya antara lain adalah proline, arginine, cysteine dan lysine (Takenaka, 1984 dan 1987 cit Krell, 1996). *Royal jelly* juga mengandung intrinsik faktor, suatu co protein yang penting untuk absorpsi vitamin B12 yang dibutuhkan untuk pembentukan sel darah merah dan sistesa DNA dan RNA.

Sejumlah enzim juga di dapatkan, yaitu glucose oxidase (Nye et al., 1973 cit Krell, 1996), phosphatase dan choliesterase (Anmon dan Zoch, 1957 cit Krell, 1996). Sejenis insulin-like-substance (*paroten*) juga dapat diidentifikasi (Mardihusodo,2003).

Kandungan gula di dalamnya terutama tersusun oleh fruktosa dan glukosa dalam proporsi yang relatif konstan dengan komponen fruktosa lebih dominan. Komponen fruktosa dan glucosa mencapai 90 % dari

keseluruhan gula yang terkandung dalam *royal jelly*. Jenis gula yang lain didapatkan dalam kadar yang kecil yaitu maltrosa, trehalosa, melibiosa, ribosa dan erlosa (Lecker et al., 1984, 1986 dan 1992 cit Krell, 1996).

Kandungan lipid dari *royal jelly* disusun oleh asam lemak bebas mencapai 80 – 90 % nya. Kebanyakan jenisnya adalah asam lemak rantai pendek (dengan 8 – 10 rantai carbon). Asam lemak yang terbanyak adalah 10 hydroxy -2 decanoic acid dan 10 hydroxydecanoic acid, yang mempunyai khasiat antibiotik kuat melawan berbagai jenis bakteri dan infeksi jamur. Selain itu juga mengandung lipid lipid netral, sterol (termasuk kolesterol) dan fraksi unsaponifiable dari hydrocarbon (Lecker et al., 1981, 1982, 1984 dan 1992 cit Krell, 1996).

Garam garam mineral yang terkandung dalam *royal jelly* dari kandungan jumlah yang terbanyak adalah K, Ca, Na, Zn, Fe, Cu, Mn. (kalium adalah yang terbanyak) (Benfenati et al., 1986 cit Krell, 1996).

Kandungan vitamin dalam *royal jelly* merupakan yang paling banyak diteliti. Sejak pertama kali diteliti (Aeppler, 1992), telah dinyatakan bahwa kandungan vitamin yang terdapat pada *royal jelly* sangat banyak. Tabel 2.1 menunjukkan daftar kandungan vitamin yang larut dalam air hasil penelitian yang dilakukan oleh Vecchi dan kawan-kawan (1988). Penelitian yang dilakukan Schmidt dan Burchmann (1992) menunjukkan angka yang hampir sama. Dari tabel tersebut terlihat bahwa kandungan *Pantothenic acid* (Vitamin B 5) dalam *royal jelly* sangat tinggi, bahkan mencapai enam kali kandungan yang terdapat pada ragi dan liver. *Panthothenic acid* adalah suatu antioxidant yang dapat mencegah kerusakan sel akibat adanya radikal bebas.

Adanya Panthothenic acid ini juga diperlukan untuk konversi Choline menjadi Acethylcholine suatu neurotransmitter yang berperan dalam fungsi memori, perkembangan mental dan reproduksi. Pantotheic acid juga merupakan katalisator yang mengatur produksi dan perlepasan hormon-hormon adrenal. Dapat dikatakan bahwa *royal jelly* adalah sumber vitamin B kompleks yang sangat lengkap, dimana vitamin B kompleks sangat penting untuk kesehatan persyarafan.

Tabel 2.1 Kandungan vitamin dalam *royal jelly*
(mg/gram berat kering) (Vecchi *et al.*, 1988)

	Thiamine	Riboflavin	Pantothenic Acid	Pyridoxine	Niacin	Folic acid	Inositol	Biotin
Minimum	1.44	5	159	1.0	48	0.130	80	1.1
Maximum	6.70	25	265	48.0	88	0.530	350	19.8

Beberapa jenis hormon juga ditemukan dalam *royal jelly*. Pada penelitian penelitian awal yang mencari adanya aktifitas hormon sex yang dilakukan oleh Melampy dan Styanley (1940) menunjukkan bahwa tidak terkandung hormon gonadotropin dalam *royal jelly*. Demikian juga penelitian yang dilakukan oleh Johanson (1958) juga menyatakan tidak ada efek hormon gonadotropin pada percobaan dengan tikus putih betina. Namun dengan metode radioimunologik yang lebih sensitif, Vittek dan Slomiany pada tahun 1984 dapat mengidentifikasi adanya testosteron dalam kadar yang sangat rendah. Selain itu juga ditemukan adanya Growth Hormon

(Auxin) dan Plant Hormones (Phytosterol) yang berperan penting dalam spermatogenesis (Krell, 1996).

Gelatin, yang merupakan salah satu dari prekursor dari collagen juga ditemukan dalam *royal jelly*. Collagen adalah elemen anti aging yang sangat kuat untuk mempertahankan peremajaan kulit dan juga dibutuhkan untuk fungsional kulit, kelenjar dan otot (Brown, 1993).

Selain itu juga di dapatkan adanya Gamma globulin yang merupakan senyawa penting untuk meningkatkan sistim imunitas dan menghalau serangan infeksi kuman dan jamur.

Kandungan zat –zat lainnya yang dapat di identifikasi dalam kadar yang sangat kecil antara lain juga terdapat beberapa nukleotida dalam bentuk Free Bases (Adenosine, Uridine, Guanosine, Iridin dan Cystidine). Juga terdapat phosphatase AMP,ADP dan ATP (Marko et. al., 1964, cit Krell 1996), Acetylcholine (Henschler, 1954, cit Krell 1996) dan Gluronic acid (Nye et al., 1973. Dimana acetylcholine sangat dibutuhkan dalam transmisi impuls saraf dan fungsional sistem endokrin.

Dalam literatur ilmiah lainnya juga disebutkan adanya fraksi *royal jelly* yang namanya disebut sebagai zat “Rutin” yang masih belum diketahui (Krell,1996).

2.1.3 Manfaat Royal Jelly

Melihat dari analisis kandungan *royal jelly* maka dapat disimpulkan kalau *royal jelly* mempunyai manfaat yang banyak sekali bagi tubuh manusia, terutama untuk meningkatkan daya tahan tubuh serta memelihara

kesehatan, mencegah terjadinya serangan penyakit infeksi. Secara lebih terperinci dapat disebutkan khasiatnya antara lain yaitu (Hamad, S, 2007):

1. dapat digunakan sebagai penguat sistem syaraf, karena *royal jelly* mengandung acethyl cholin yang merupakan neurotransmitter untuk menghantarkan transmisi pada syaraf.
2. dapat mengobati penyakit kurang gizi dan mempercepat pertumbuhan, karena *royal jelly* adalah zat gizi yang sangat baik.
3. dapat digunakan untuk mengobati radang sendi, sakit jantung, radang pada organ pencernaan, dan penyakit yang menyerang pembuluh darah. Karena *royal jelly* dapat mengurangi kandungan kolesterol dalam darah.
4. dapat digunakan untuk mengobati masalah masalah kejiwaan pada orang dewasa
5. baik di konsumsi oleh para perempuan menopause
6. dapat meningkatkan libido dan berhasiat menunda proses penuaan
7. memperbaiki kesehatan secara umum
8. dapat berfungsi sebagai enzim untuk memperbaharui sel sel tubuh dan membuat awet muda

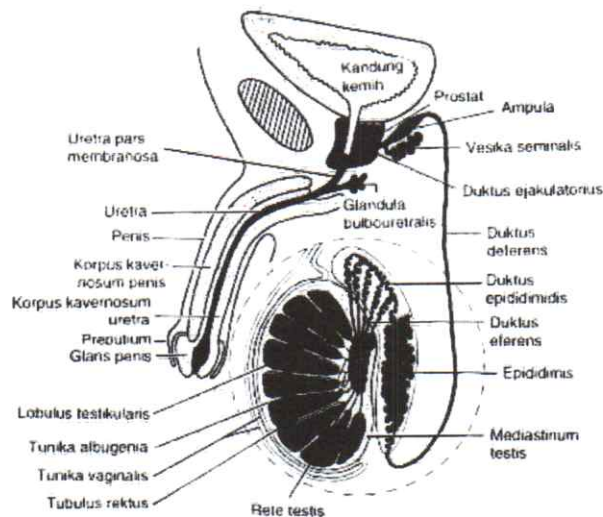
2.2 Sistem Reproduksi pria

Sistem reproduksi pria terdiri atas:

1. Genetalia interna yaitu testis, dengan organ-organ penunjang fungsinya yaitu epididimis, duktus deferens (vas deferens), vesicula seminalis, duktus ejakulatorius, glandula prostata, glandula bulbourethralis.

2.2.1 Testis

Testis merupakan kelenjar eksokrin dan endokrin. Bagian eksokrin terutama menghasilkan sel spermatozoa. Sehingga testis dianggap sebagai kelenjar sitogenik. Sedangkan bagian endokrin menghasilkan sekret internal yang dilepaskan oleh sel Sertoli dan sel interstitial Leydig. (Leeson dan Leeson, 1997).



Gambar 2.1 Sistem reproduksi pria (Junqueira, *et. al.*, 1997)

Secara anatomik, testis tergantung di dalam skrotum dan dibungkus oleh kapsula testis yang terdiri atas 3 lapisan yaitu lapisan terluar (tunika vaginalis), lapisan tengah (tunika albuginea) dan lapisan terdalam (tunika vaskulosa). Tunika vaginalis merupakan lapisan mesotel pipih dan bagian dari sebuah kantong serosa yang tertutup, berasal dari peritoneum yang membungkus permukaan lateral dan anterior testis. Lapisan ini terletak di atas lamina basalis yang memisahkan dari lapisan tengah yang paling jelas yaitu tunika albuginea. Tunika albuginea merupakan lapisan tebal, terdiri atas jaringan ikat padat fibroelastis dan sejumlah sel otot polos. Lapisan terdalam kapsula testis adalah tunika vaskulosa terdiri dari

anyaman kapiler darah yang terbenam di dalam jaringan ikat kendor. (Gray, 2005).

Tunika albuginea menebal pada permukaan posterior dan menjulur masuk ke dalam testis sebagai mediastinum testis. Sekat-sekat fibrosa yang tipis menyebar dari mediastinum testis ke arah kapsula testis dan membagi permukaan dalam testis menjadi kurang lebih ratusan struktur berbentuk pyramid yang disebut lobulus testis dengan bagian puncaknya menghadap mediastinum. Sekat-sekat tersebut memperlihatkan bagian-bagian yang tidak lengkap, sehingga lobulus testis dapat berhubungan satu dengan yang lainnya secara bebas. Pada manusia, tiap lobulus testis terdiri dari 50 – 100 tubulus seminiferus yang berkelok-kelok dengan diameter kurang lebih 0.2 mm, dan panjang kira-kira 1 m bila lobulus testis ini direntangkan dan dibungkus oleh stroma jaringan ikat kendor yang mengandung darah, saraf dan beberapa jenis sel terutama sel interstitial yang spesifik yaitu sel Leydig. Dalam tubulus seminiferus inilah spermatogenesis berlangsung. (Gray, 2005).

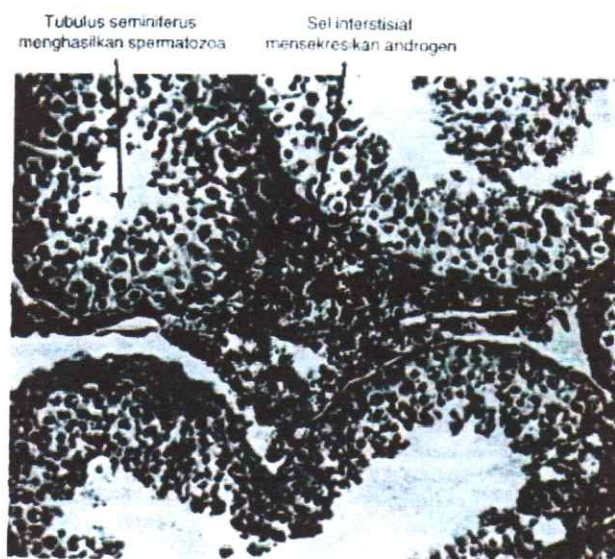
Panjang rata-rata dari satu tubulus seminiferus tikus putih dewasa, dari ujung ke ujung adalah kurang lebih 3,2 cm dan diameternya kurang lebih 2.5 mikron. Pada beberapa keadaan anomali, ditemukan adanya tubulus seminiferus yang tidak bermuara pada rete testis, tetapi bermuara pada tubulus seminiferus yang lain, tampak bercabang atau kadang berakhiran buntu, dimana pada anomali tubulus seminiferus ini maka bentuk sel-sel spermatogeniknya terlihat tipikal dan banyak ditemukan massa memadat yang merupakan sisa-sisa spermatozoa yang mati.

Tubulus seminiferus dibatasi oleh suatu epitel germinal kompleks atau epitel tubulus seminiferus yang merupakan modifikasi epitel berlapis kuboid. Epitel tersebut terletak di atas lamina basalis yang tipis dan diluarnya diliputi oleh daerah khusus terdiri atas jaringan ikat fibrosa yang disebut jaringan pembatas yang terdiri dari banyak serat jaringan ikat. Fibroblast yang pipih dan beberapa sel yang berbeda, yaitu sel untuk penyokong dan nutrisi, serta sel spermatogenik membentuk bagian terbesar dari lapisan epitel dan melalui proliferasi serta differensiasi yang kompleks akan menghasilkan spermatozoa. (Gray, 2005).

Testis juga terdiri dari jaringan interstitial yang terletak di antara tubulus seminiferus, dimana sel interstitial tersebut mengandung banyak pembuluh darah dan limfa, namun tubulus seminiferus sama sekali tidak berpembuluh darah. Ini berarti bahwa seluruh komponen epitel tubulus harus diberi makan dan diperlihara kebutuhannya akan zat-zat esensial yang diberikan oleh sirkulasi secara difusi. Sel interstitial atau Leydig ini juga merupakan sumber hormon testosteron. (Gray 2005).

Sel-sel penyokong atau sel Sertoli, jumlahnya relatif sedikit dan terdapat diantara sel sel spermatogenik. Sel Sertoli berbentuk silindris tinggi dan duduk pada lamina basalis dari tubulus. Disisi sel Sertoli terdapat cekungan cekungan untuk tempat melekatnya sel-sel spermatogenik. Inti sel Sertoli berada agak jauh dari dasar sel, berwarna pucat, berbentuk lonjong atau segitiga dengan sumbu panjang mengarah radial. Sitoplasma tampak fibriler dan kadang terlihat badan kriticalid yang terdiri atas protein disekitar inti. Dua sel Sertoli yang berdekatan mempunyai hubungan occludent/tight junction yang bersama sama dengan jaringan

peritubuler membentuk sawar darah testis (blood testis barrier). Sel-sel Sertoli memberi makan pada sel-sel spermatogenik. (Gunawan A, 2003)



Fotomikrograf testis kera. Sel interstitial di pusat lapangan pandang mengandung vakuol-vakuol yang dihasilkan dari larutnya tetesan lipid selama pembuatan. Pewarnaan H&E 400 x.

Gambar 2.2 Penampang melintang tubulus seminiferus dan jaringan interstitial (Junquiera,*et.al.*,1997)

Sel Sertoli berfungsi sebagai berikut (Junqueira *et.al.*, 1997; Nieschlag dan Behre, 1997; Seeley *et.al.*, 1998; Wuryantari dan Moeloek, 2000);

1. Sebagai penyokong dan penunjang lapisan epitel. Cabang –cabang sitoplasma sel Sertoli menyokong jembatan sitoplasma penghubung sel –sel spermatogenik.
2. Sebagai fagosom. Badan – badan residu akan difagositosis dan diresorpsi oleh lisosom sel Sertoli.
3. Mengkoordinasi proses spermatogenesis melalui produksi dan sekresi protein, sitokin, faktor pertumbuhan, steroid, prostaglandin dan lain lain.
4. Menjaga lumen tubulus dengan menghasilkan cairan tubulus yang mengandung ion potasium dan ion sodium.

5. Menentukan volume akhir testis dan produksi sperma. Penelitian yang dilakukan oleh Bertdson and Thompson (1990) membuktikan bahwa berat testis dan produksi sperma mempunyai korelasi dengan jumlah sel Sertoli pada tikus dewasa.
6. Sebagai salah satu komponen sawar darah testis (blood testis barrier)
7. Memegang peranan penting dalam koordinasi spermatogenesis dan perubahan metabolisme dari sel germinal sebelum di lepaskan ke dalam lumen tubulus seminiferus.

Selain fungsi-fungsi tersebut di atas, sel Sertoli juga berfungsi dalam memproduksi testosteron dibawah pengaruh Luteinizing Hormon (LH) dan membentuk adanya Androgen Biding Protein (ABP) yang berguna untuk mengangkut dan mengkonsentrasikan testosteron untuk proses spermatogenesis maupun untuk proses pematangan spermatozoa, serta dapat membentuk Hormon “inhibin”, yaitu suatu hormon non steroid yang juga mempunyai mekanisme umpan balik untuk menghambat produksi Follicel Stimulating Hormon/ FSH melalui hypofisis anterior dan Gonadotropin Releasing Hormon melalui Hypothalamus (Sloane 2002,).

Sel lain yang tidak terdapat dalam tubulus seminiferus, tetapi terdapat di jaringan intertubuler dan berperan dalam spermatogenesis adalah sel Leydig. Sel Leydig merupakan sel target dari LH, sehingga aktif membentuk hormon androgen dalam hal ini testosteron, yang sangat penting untuk pematangan sel spermatid dan proses maturasi spermatozoa dalam epididimis. (Sloane 2002).

2.2.2 Spermatogenesis

Spermatogenesis ini terdiri dari 2 proses, yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis merupakan proliferasi sel spermatogonium hingga terbentuk spermatid, sedangkan spermiogenesis merupakan transformasi spermatid menjadi spermatozoa (Frandsen, 1992; Ismudiono, 1998).

Pendapat lain mengatakan bahwa spermatogenesis dibagi dalam 3 fase yaitu :

1. Proliferasi mitotik dan diferensial sel gamet diploid atau spermatogonia menjadi spermatosit.
2. Pembelahan meiotik spermatosit menjadi spermatid yang bersifat haploid,
3. Transformasi sel gamet haploid menjadi spermatozoon (Clermont, 1972, Jungueira et. al., 1997; Bloom dan Fahwcett, 2002 ; Wuryantari & Moeloek, 2000).

Spermatogenesis dimulai dengan pembelahan dan diferensiasi spermatogonium A_{gelap} menjadi sepasang spermatogonium A_{gelap} yang baru. Salah satu spermatogonium A_{gelap} akan membelah dan berdiferensiasi menjadi sepasang spermatogonium A_{pucat} . Kemudian spermatogonium A_{pucat} membelah dan berdiferensiasi menjadi sepasang spermatogonium B. Spermatogonium B aktif bermitosis membentuk spermatosit primer. Dengan demikian, jumlah kromosom sampai spermatosit primer adalah diploid. Spermatosit primer mengalami meiosis I menjadi spermatosit sekunder, kemudian pada meiosis II, spermatosit sekunder dibagi menjadi spermatid. Spermatid selanjutnya mengalami spermiogenesis menjadi spermatozoon (Junqueira et.al., 1997; Bloom dan Fawcett, 2002; Guyton 2000).

Pada tahap awal pembagian meiosis I, semua DNA didalam 46 kromosom bereplikasi, kemudian masing –masing 46 kromosom menjadi dua kromatid yang tetap berikatan bersama pada sentromer. Pada waktu ini, dimana spermatid primer terbagi menjadi dua spermatosit sekunder, setiap pasang kromosom berpisah, sehingga masing-masing 23 kromosom (dengan dua kromatid) menuju ke satu spermatosit sekunder. Pada meiosis II, kedua kromatid dari 23 kromosom berpisah pada sentromer sehingga terbentuk dua pasang 23 kromosom, satu pasang dibawa ke satu spermatid dan satu pasang yang lain dibawa ke spermatid kedua (Guyton 2000; Seeley et. al., 1998).

Spermatogenesis pada tikus dijelaskan oleh Oakberg (1956a) dan Oakberg 1956b) sebagai berikut : spermatogonium A membelah secara mitosis menjadi spermatogonium intermediat yang selanjutnya membelah menjadi spermatogonium B. Spermatogonium B akhirnya membelah secara mitosis membentuk spermatosit primer preleptotene. Pada tahap kedua spermatogenesis, spermatosit membelah secara meiosis yang akhirnya terbentuk spermatid. Di akhir proses ini spermatid mengalami spermiogenesis menjadi spermatozoon yang matang.

Lama siklus spermatogenesis dapat diukur mulai dari perubahan spermatogonium sampai menjadi spermatozoa yang matang (Clermont, 1972; Whittingham dan Wood, 1983; Bloom dan Fawcett, 2002; Wuryantari dan Moeloek, 2000). Lama siklus spermatogenesis pada tiap spesies berbeda, pada tikus selama 51 – 53 hari (Leblond and Clermont 1952 cit Oakberg, 1956b; Clermont, 1972), pada mencit 34,5 hari (Oakberg, 1956a; Oakberg, 1956b; Clermont, 1972; Davies et.al., 1974; Whittingham dan Wood, 1983), dan manusia

selama 64 hari (Clermont, 1972; Berndtson, 1977; Bloom dan Fahwcett, 1994; Wuryantari dan Moeloek, 2000).

Jumlah tahapan dalam proses spermatogenesis berbeda pada tiap species, pada tikus meliputi 14 tahapan (Leblond and Clermont cit Oakberg, 1956b; Clermont, 1972; Parvinen, 1982), pada kera dan tikus 12 tahapan (Oakberg, 1956a, Oakberg, 1956b; Clermont 1972), dan pada manusia 6 tahapan (Clermont, 1972; Wuryantari dan Moeloek, 2000).

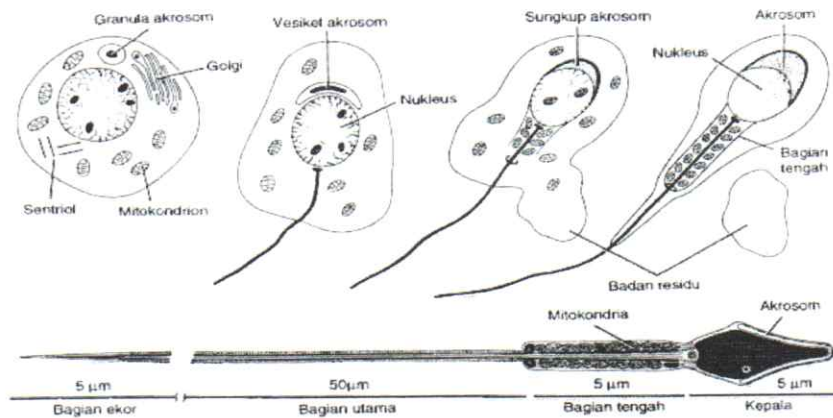
Menurut Oakberg (1956b) penentuan jumlah tahapan siklus spermatogenesis pada tikus didasarkan pada siklus spermatid (spermiogenesis). Dua belas tahapan pertama dari 16 tahapan spermiogenesis digunakan sebagai dasar untuk menentukan 12 tahapan spermatogenesis. Selanjutnya, tahapan sel spermatogonium pada mencit identik dengan tahapan pada tikus seperti yang digambarkan oleh Leblond dan Clermont (1952).

2.2.3. Spermiogenesis

Spermiogenesis adalah serangkaian perubahan yang menimbulkan transformasi spermatid menjadi spermatozoa dikenal sebagai spermiogenesis. Perubahannya adalah pembentukan akrosom yang menutupi lebih dari setengah permukaan inti (kondensasi inti), pembentukan leher, bagian tengah dan ekor serta meluruskan sebagian besar sitoplasma.

Spermiogenesis dibagi menjadi 4 fase yaitu Golgi, cap, akrosom, dan maturasi. Fase Golgi ditandai dengan adanya gelembung akrosom dan kraniokaudal yang simetris. Pada fase cap, spermatid memanjang dan akrosom tampak lebih berkembang menutup setengah bagian kranial sampai dua pertiga spermatid. Fase

akrosom, nukleus sel lebih terkondensasi dan sel lebih memanjang. Maturasi spermatid ditandai dengan estrusi sisa sitoplasma yang disebut sebagai residual body.

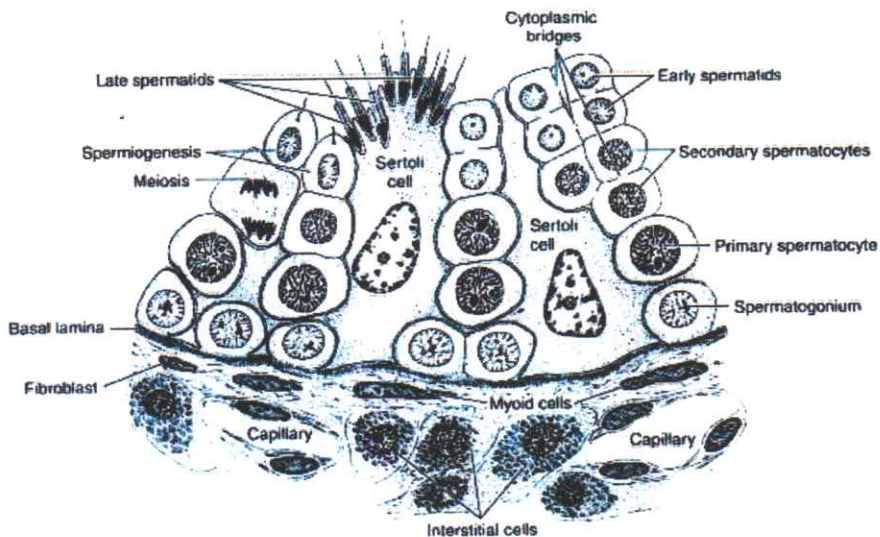


Gambar 2.3 Sel Spermatozoa

Residual body selanjutnya difagositosis oleh sel Sertoli. Setelah melalui keempat fase tersebut, spermatozoa matang siap ditransportasikan ke lumen tubulus (Leeson et. al., 1997; Junqueira et, at., 1997; Guyton 2000; Nieschlag dan Behre, 1997). Pada manusia, waktu yang diperlukan oleh spermatogonium untuk berkembang menjadi spermatozoa matang adalah sekitar 64 hari sedangkan pada tikus sekitar 51 - 53 hari (Sadler 2006).

Setelah terbentuk sempurna, spermatozoa memasuki lumen tubuli seminiferi. Dari sini, spermatozoa di dorong kearah epididimis oleh bagian dinding tubuli seminiferi yang berkontraksi.

Walaupun pada mulanya gerakannya lambat, spermatozoa mendapatkan kemampuan gerak sepenuhnya di dalam epididimis.



Gambar 2.4 Diagram struktur komponen tubulus seminiferus dan jaringan interstitial (Junquiera et.al.,1997)

2.2.4 Sel Spermatogenik

Sel-sel spermatogenik yang terdapat pada tubulus seminiferus adalah (Copenhaver *et.al.*, 1978; Leeson *et.al.*, 1996; Jungueira *et.al.*, 1997; Bloom dan Fahwcett, 2002).

a. Spermatogonia

Spermatogonia merupakan satu-satunya sel gamet yang ada sampai masa pubertas. Sel ini ada di bagian dasar epitel tubulus seminiferus. Menurut gambaran inti selnya, dikenal 2 jenis spermatogonia, yaitu:

1. Spermatogonia tipe A, dengan inti sel lonjong berwarna pucat.

2. Spermatoγονia tipe B, mempunyai inti bulat yang mengandung massa kromatin padat.

b. Spermatisit primer

Sel ini merupakan sel gamet terbesar di dalam tubulus seminiferus. Ketika dibentuk pertama kali, sel-sel ini terletak di bagian basal tubulus. Dengan berdiferensiasinya sel, maka tight junction akan menghilang sehingga memungkinkan berpindahannya spermatisit dari bagian basal ke ruang adluminal. Sel berbentuk bulat atau bulat telur dan inti selnya biasanya berada dalam salah satu tingkat kariokinesis, terlihat besar dan jelas pada tengah sel.

c. Spermatisit sekunder

Ukuran dari spermatisit sekunder kira-kira separuh spermatisit primer dan letaknya lebih ke arah lumen. Sel ini jarang terlihat pada potongan melintang tubulus seminiferus, karena umur selnya pendek dan cepat membelah menjadi spermatid.

d. Spermatid

Ukuran dari spermatid kira-kira separuh volume spermatisit sekunder. Spermatid terletak dekat lumen, mempunyai sebuah inti bulat yang terletak ditengah sel. Segera setelah muncul, spermatid langsung menempel pada permukaan sel Sertoli.

e. Spermatozoa

Spermatozoa merupakan hasil dari transformasi spermatid melalui proses spermiogenesis. Spermatozoa terdiri atas bagian kepala, bagian tengah dan bagian ekor. Spermatozoa terletak bebas dalam lumen tubulus.

2.2.5 Pengaturan Hormonal Fungsi Testis

Ditinjau dari fungsinya, testis mempunyai dua fungsi utama, yaitu fungsi reproduksi dan fungsi endokrinologis (Frandsen, 1992; Hardjopranjoto, 1995; Seeley et.al., 1998). Fungsi reproduksi adalah produksi dan maturasi gamet jantan (spermatogenesis) yang terjadi di tubulus seminiferus, sedangkan fungsi endokrinologis adalah menghasilkan hormon steroid (steroidogenesis), testosteron dan estrogen, serta hormon non steroid (inhibin) yang berlangsung di jaringan interstitial (Frandsen, 1992, Gray 2005).

Perkembangan dan fungsi testis dipelihara oleh hormon gonadotropin (FSH dan LH) yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisis anterior. LH disebut juga Interstitial Cell Stimulating Hormon (ICSH) karena hormon ini bekerja merangsang sel interstitial Leydig. Sintesis dan sekresi hormon gonadotropin dari hipofisis anterior distimulasi oleh Gonadotrophin Releasing Hormon (GnRH) yang dihasilkan oleh hipotalamus (Frandsen, 1992; Guyton 2000; Seeley et.al. 1998).

GnRH adalah suatu peptida dengan 10 asam amino yang disekresikan oleh neuron yang sel induknya terletak dalam nukleus arkuatus hipotalamus. Bagian ujung neuron ini berakhir terutama dalam eminensia mediana hipotalamus. Ditempat ini GnRH dilepaskan ke sistem pembuluh darah portal hipotalamus

hipofisis. GnRH kemudian diangkut ke kelenjar hipofisis anterior dalam darah portal dan merangsang pelepasan LH dan FSH (Guyton 2000; Selley et. al., 1998).

LH dan FSH disekresi oleh sel hipofisis anterior yang sama yaitu gonadotrop (Vander et. al., 1994; Guyton 2000). Pada hipofisis tikus, beberapa gonadotropin terdiri dari FSH dan LH, tetapi gonadotropin yang lain hanya terdiri dari satu jenis hormon, kira-kira 60 % gonadotrop menghasilkan FSH dan LH, 18% hanya LH, dan 23% hanya FSH (Elene, 2007).

FSH bekerja didalam tubulus seminiferus untuk merangsang proses spermatogenesis melalui sel Sertoli (Davies, 1981; Guyton 2000) FSH berikatan dengan reseptor spesifik yang melekat pada sel – sel tubuh dan mensekresi berbagai substansi spermatogenik, serta merangsang fungsi sel Sertoli yang lain. Sementara itu, LH merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron ini kemudian ke tubulus seminiferus (sel Sertoli) dan mempunyai efek tropik yang kuat terhadap spermatogenesis (Guyton 2000, Wilhelm 2008).

Ketika terjadi hambatan spermatogenesis, hipofisis anterior akan menambah sekresi FSH. Sebaliknya bila spermatogenesis berjalan terlalu cepat, maka sel Sertoli akan menghasilkan inhibin untuk mempengaruhi hipofisis dalam menghambat sekresi FSH (Seeley et.al., 1998, Wilhelm 2008).

Testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig akan menghambat sekresi LH dengan dua cara yaitu efek langsung ke hipotalamus untuk menurunkan sekresi GnRH dengan akibat GnRH yang mencapai hipofisis anterior akan berkurang dan efek pada hipofisis anterior untuk mengurangi sekresi LH dan juga mengurangi sekresi FSH. Mekanisme umpan balik negatif oleh testosteron ini bekerja bersama

sama dengan mekanisme umpan balik oleh inhibin dalam mengatur spermatogenesis (Guyton 2000).

2.2.6. Saluran Keluar Spermatozoa

Dari tubulus seminiferus spermatozoa berjalan ke bagian proksimal dari sistem saluran testis yang terletak dalam mediastinum testis tersebut. Spermatozoa melintasi leher tubulus seminiferus yang lurus disebut tubuli recti ke dalam rete testis, yang terdiri dari ruangan-ruangan halus yang menduduki mediastinum testis. Dinding tubulus recti dan rete testis dilapisi dengan epitel kuboid atau pipih. Tubuli recti tersusun sebagai kerucut yang terikat menjadi satu oleh jaringan ikat longgar yang tidak mengandung otot polos (Gray 2005). Di bagian posterior testis terdapat duktus eferens yang berjalan spiral keluar mediastinum testis membentuk duktus epididimis. Duktus efferens di bungkus oleh jaringan ikat dan masing masing di kelilingi oleh selapis tipis otot yang berjalan sirkuler. Bagian luar duktus efferens bentuknya teratur, tetapi bagian dalam lumennya tampak tidak teratur karena diduduki oleh sel-sel epitel yang tidak sama tinggi. Duktus efferens melanjutkan menjadi duktus epididimis. Duktus epididimis merupakan saluran yang panjang dan tempat penimbunan spermatozoa. Dimana pada duktus ini spermatozoa bergerak amat lambat untuk mendapatkan kesempatan mencapai kemampuan dan kesuburan yang optimal.(Janqueira dkk 1997, Wilhelm 2008).

Duktus epididimis menjadi lurus pada ujungnya dan melanjutkan diri menjadi duktus deferens. Saluran ini akan berjalan naik dari skrotum ke daerah inguinal melalui kanalis inguinalis dan selanjutnya berjalan ke bawah di dekat sisi dinding

pelvis secara retroperitoneal menuju urethra. Dindingnya relatif tebal dan lumennya sempit. Pada ujungnya duktus deferens yang melebar lumennya lebih besar dan mukosanya lebih berlipat - lipat bila dibandingkan dengan bagian duktus deferens yang lain disebut ampula, dimana kebanyakan lipatan epitel ini akan bercabang - cabang dan bergabung satu sama lain membentuk bentuk kantung-kantung. Duktus ejakulatorius merupakan bagian pendek ujung dari tiap-tiap saluran yang memasuki sistim sistim saluran kelamin jantan. Duktus ini menembus kelenjar prostat. Dan bermuara ke dalam urethra tepat di sisi utrikulus prostatikus (Junqueira dkk 1997, Wilhelm 2008).

2.2.7. Kelenjar Kelenjar Tambahan

Kelenjar-kelenjar yang berkaitan dengan sistim saluran testis adalah vesikula seminalis, kelenjar prostat dan kelenjar bulbouretralis.

- Vesikula seminalis

adalah organ berbentuk kantong bergelembung gelembung menghasilkan seminal fluid, jumlahnya 2 buah kiri dan kanan, bila vesica urinaria penuh maka posisinya terlihat lebih vertikal dan apabila vesica urinaria kosong maka posisinya horisontal. Terletak sebelah lateral ureter dan ampula dari duktus deferens sebelah medial dari plexus venosus vesicalis. Bersama sama dengan duktus deferens membentuk duktus ejakulatorius menuju basis prostat dan bermuara ke dalam colliculus seminalis pada dinding posterior lumen urethra. (Ni wayan Tirthaningsih, 2002).

Glandula Prostat

Merupakan organ yang terdiri dari kelenjar-kelenjar tubuloalveolar. Kelenjar ini letaknya di dalam cavum plevis subperitonealis, sebelah dorsal dari symphysis pubis dan menghasilkan seminal fluid. Prostat terdiri dari apex yang merupakan bagian caudal kurang lebih 1 cm dorsal symphysis pubis, basis yang merupakan bagian proksimal yang terletak setinggi pertengahan symphysis pubis, fascies infero lateral convex terpisah dari fascia pelvis superior karena ada plexus venosus, fascies anterior berhubungan dengan spatium prevesicale Retzii dan fascies posterior berhadapan dengan vesicula seminalis dan ampula duktus deferens.

Glandula prostat sendiri terbagi dalam lima lobus berdasarkan topografinya terhadap urethra dan duktus ejakulatorius yaitu 2 lobus lateralis, lobus anterior, lobus posterior dan lobus medius. Kedua lobus lateralis tidak jelas batasnya, hanya di hubungkan oleh isthmus ventral dari urethra, yang terdiri dari jaringan ikat otot polos, yang dari luar tidak tampak. Sedangkan lobus anterior terletak ventral dari urethra, sedangkan lobus posterior terletak sebelah dorsal dan caudal dari ductus ejakulatorius dan dorsal dari urethra, bila membesar menimbulkan penonjolan uvula dalam vesica urinaria (Ni Wajan Tirthaningsih, 2002).

- Glandula Paraurethralis

Glandula bulbourethralis (Cowperi), jumlahnya 2 buah berbentuk bulat terletak didalam m. sphinter urethrae externum pada diaphragma urogenitalia dorsal dari urethra pars membranacea. Duktusnya menembus fascia diaphragma

urogenital inferior masuk ke dalam bulbus penis, setelah berjalan 2 -4 cm dan berakhir pada bagian ventral dari pars spongiosa urethra.

Glandula paraurethralis litrie, terletak sekitar orificium urethrae externum. (Ni Wajan Tirthaningsih, 2002).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Royal jelly adalah salah satu produk suplemen yang saat ini sangat banyak dipakai baik untuk minuman suplemen energi, produk-produk kecantikan maupun produk-produk penunjang vitalitas pria.

Royal jelly yang dikonsumsi ratu lebah sepanjang hidupnya terbukti mampu menyebabkan ratu lebah mampu mencapai kedewasaan seksual lebih cepat dan kemampuan reproduksi yang luar biasa, yaitu kemampuan bertelur sepanjang hidupnya dengan jumlah telur mencapai 2000 butir perharinya. Selain itu ratu lebah juga mempunyai usia yang jauh lebih lama daripada lebah betina lainnya. Kenyataan ini juga ditunjang dengan kenyataan bahwa lalat buah dan ayam yang secara eksperimental diberikan *royal jelly*, ternyata juga menjadi lebih besar, hidup lebih lama dan lebih produktif. Dari percobaan tersebut, didapatkan bahwa kapasitas bertelur ayam tersebut menjadi dua kali lipat dibanding jika ayam tersebut tidak diberi makan *royal jelly*.

Henry (1939) yang dikutip oleh Sarwono (2001) menemukan hormon gonadotropin dalam cairan *royal jelly* setelah mengadakan penelitian pada tikus dengan menyuntikan cairan *royal jelly* untuk mengetahui perkembangan ovariumnya. Hormon gonadotropin diketahui dapat mempengaruhi Sel Sertoli dan sel Leydig dalam proses spermatogenesis.

Pemberian *royal jelly* pada ayam yang telah tua dan telah menurun produksi telurnya, dapat mendorong meningkatnya kembali produksi telurnya (Sihombing,1997). Demikian juga pemberian *royal jelly* pada ayam dapat menghasilkan telur dua kali lipat lebih banyak dibandingkan dengan kelompok ayam yang tidak diberi *royal jelly* (Walji,2001).

Menurut Weitgasser (2001), *royal jelly* telah digunakan untuk pengobatan impotensi dan dapat meningkatkan kemampuan libido. Pemberian *royal jelly* 20 mg/kgBB/hr dapat meningkatkan dan menormalkan aktifitas seksual pada pria dan wanita. *Royal jelly* dapat meningkatkan hormon androgen pada pria dan estrogen pada wanita melalui aktifitas gonadotropin yang terkandung didalamnya.

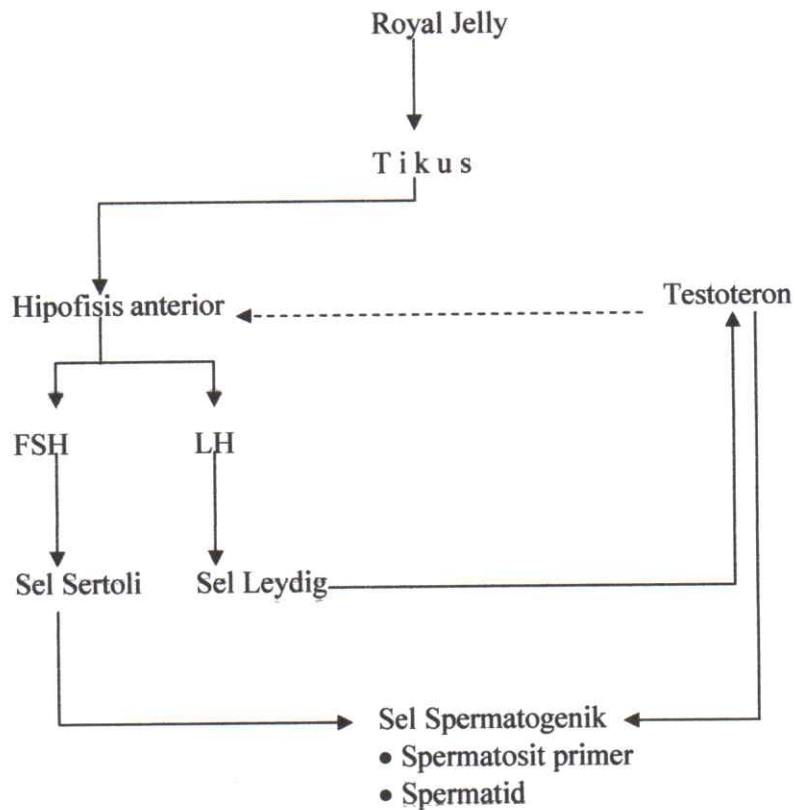
Studi penelitian yang dilakukan Nurmiati (2002) membuktikan bahwa pemberian *royal jelly* dapat meningkatkan fertilitas mencit betina yang ditandai dengan meningkatnya jumlah folikel sekunder, folikel tersier, folikel de Graaf serta peningkatan jumlah fetus. Hal ini disebabkan adanya Gonadotropin yang terkandung dalam *royal jelly* dapat mempengaruhi sekresi hormon FSH dan LH (Nurmiati 2002).

Studi penelitian yang dilakukan Kohguchi (2004) dengan pemberian *royal jelly* yang diberikan selama 12 minggu pada hamster ditemukan adanya peningkatan testosteron dan diikuti dengan peningkatan spermatogenesis secara bermakna.

Dari fenomena di atas, maka perlu dibuktikan apakah pemberian *royal jelly* peroral dapat meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik, dalam hal ini

peneliti mengamatinya dengan menghitung jumlah sel-sel spermatosit primer dan spermatid pada testis tikus jantan.

Kerangka konseptual di atas dapat digambarkan dengan diagram di bawah ini



Gambar 3.1 Diagram alur kerangka konseptual penelitian

3.2 Hipotesis Penelitian

Dari kerangka konseptual di atas, maka ditarik hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Terjadi peningkatan jumlah sel-sel spermatosit primer dan sel-sel spermatid setelah pemberian *royal jelly* peroral pada tikus jantan.

2. Pada dosis 45 mg/kgBB/hr terjadi peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan setelah pemberian *royal jelly* peroral pada tikus jantan pada dosis 30 mg/kgBB/hr dan 15 mg/kgBB/hr.

BAB 4

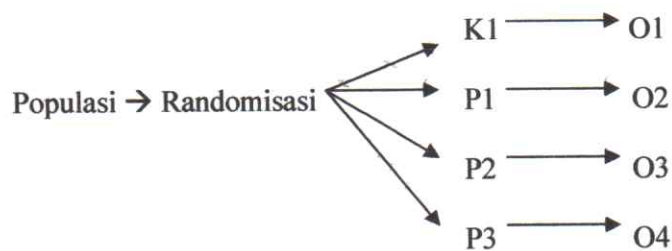
METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian Posttest Only Control Group Design (Zainuddin, 2000).

Rancangan Penelitian ini disusun sebagai langkah untuk melihat gambaran histologis tubulus seminiferus setelah pemberian *royal jelly* peroral dengan dosis yang bervariasi pada kelompok perlakuan dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Secara sistematis, rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut (Zainuddin, 2000) :



K1 : Kelompok kontrol dengan pemberian aquadest 0,5 ml / hr peroral

P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian Royal Jelly 15 mg/kgBB/hr peroral

P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian Royal Jelly 30 mg/kgBB/hr peroral

P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian Royal Jelly 45 mg/kgBB/hr peroral

O1 : Data kelompok kontrol setelah 52 hari perlakuan

O2 : Data kelompok P1 setelah 52 hari perlakuan

O3 : Data kelompok P2 setelah 52 hari perlakuan

O4 : Data kelompok P3 setelah 52 hari perlakuan

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Populasi penelitian adalah seluruh tikus jantan yang ada di tempat penangkarnya. Sedangkan banyaknya sampel penelitian adalah 32 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang berumur $\bar{7} - 8$ minggu (sexually mature) yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Besar sampel ditetapkan menurut rumus sebagai berikut (Kema) :

$$(k - 1)(r - 1) \geq 20, \text{ dimana :}$$

k = jumlah macam perlakuan

r = jumlah replikasi untuk tiap kelompok

$$(4 - 1)(r - 1) \geq 20$$

$$3(r - 1) \geq 20$$

$$r - 1 \geq 20/3$$

$$r - 1 \geq 6 \frac{2}{3} \text{ maka } r \geq 7$$

Dari rumus tersebut diperoleh besar sampel untuk tiap kelompok minimal 7 ekor. Karena selama perlakuan terdapat kemungkinan mati $(f) \pm 10\%$ maka besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 8 ekor per kelompok perlakuan.

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara random. Karena populasi pada penelitian ini dianggap homogen maka cara random yang digunakan adalah

Simple Random Sampling yang dilakukan dengan random numbers (Zainuddin, 2000).

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

A. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah *royal jelly*

B. Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah :

1. Jumlah sel spermatosit primer
2. Jumlah sel spermatid

C. Variabel kendali

1. Umur dan jenis kelamin hewan coba
2. Berat badan hewan coba sebelum perlakuan
3. Jaringan testis yang dijadikan bahan penelitian
4. Waktu perlakuan
5. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

Variabel-variabel yang digunakan pada penelitian ini dapat didefinisikan sebagai berikut :

1. *Royal Jelly* yang digunakan adalah *Royal Jelly Liquid* yang banyak dipasarkan di Indonesia dan telah terdaftar dengan No. Register POM SI. 034.605051

2. Jaringan testis yang digunakan pada penelitian ini adalah testis kiri. Hal ini digunakan untuk mengurangi bias penelitian.
3. Jumlah spermatosit primer adalah jumlah spermatosit primer pada tubulus seminiferus stage VII di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
4. Jumlah spermatid adalah jumlah spermatid pada tubulus seminiferus stage VII di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
5. Umur dan jenis kelamin. Umur tikus adalah umur 7 – 8 minggu / sexually mature (Solleveld et.ai. 1986). Jenis kelamin tikus adalah jantan.
6. Waktu perlakuan dimulai pada waktu yang sama setiap harinya, yaitu pada pukul 08.00 WIB.
7. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di tempat yang sama (Laboratorium Biokimia FK Unair) dan kondisi kandang sama serta makanan standar dan minuman air Aqua.

4.4 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini dapat dikelompokkan menjadi :

a. Bahan perlakuan

Bahan yang digunakan pada perlakuan hewan coba adalah :

- a. Pellet Br 2
- b. Air Aqua
- c. Royal Jelly Liquid

b. Bahan pemeriksaan :

Bahan pemeriksaan pada penelitian ini adalah :

1. Ether untuk pembiusan
2. NaCl Fisiologis untuk mencuci testis
3. Testis kiri tikus jantan strain Wistar
4. Bahan untuk pembuatan preparat histologis metode parafin :
 - Larutan Bouin's untuk fiksasi yang dibuat dari (Gridley, 1960)
 - Asam pikrat 1,2 % 750 cc
 - Formaldehid 39 – 40 % 250 cc
 - Asam asetat glasial 50 cc
 - Alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 95 % dan absolut untuk dehidrasi
 - Larutan xylol untuk clearing
 - Parafin cair untuk blok jaringan
 - Albumin Meyer yang dibuat dari putih telur dan gliserin 1 : 1
(Gridley, 1960)
 - Entelan untuk mounting
 - Kertas tissue
 - Kertas label
5. Bahan untuk pewarnaan Periodic-Acid-Schiff (PAS) :
 - Larutan Xylol
 - Larutan alkohol 95 % dan absolut
 - Larutan Periodic Acid 0,5 %
 - Reagen Schiff
 - Acid alkohol, amoniak water
 - Larutan Hematoksilin

4.5 Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini dapat dikelompokkan menjadi :

- a. Alat untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba :
 - Kandang plastik polypropilen yang ditutup kawat kassa sebanyak 8 buah
 - Botol minum sebanyak 8 buah
 - Sekam
 - Sduit 1 cc yang ujungnya dimodifikasi
- b. Alat untuk pembiusan dan pengambilan jaringan testis :
 - Toples kecil dan penutupnya dari kaca untuk pembiusan.
 - Alas fiksasi dan diseksi hewan coba
 - Instrumen bedah minor
 - Pot kecil dengan tutup plastik untuk fiksasi jaringan
 - Baskom kecil untuk mencuci jaringan sebelum difiksasi
 - Kertas label
- c. Alat untuk pembuatan preparat histologis metode parafin dengan pewarnaannya :
 - Mikrotom putar
 - Pot kecil untuk dehidrasi, clearing dan infiltrasi
 - Blok dari timah berbentuk L untuk embedding
 - Lampu spiritus
 - Water bath
 - Pinset
 - Gelas obyek dan penutupnya

- Staining jar
 - Kran air
- d. Alat untuk pengamatan dan pengambilan data :
- Mikroskop cahaya binokuler
 - Mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan kamera
 - Counter

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di 2 tempat yaitu di Laboratorium Biokimia FK Unair untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba serta pengambilan jaringan, dan Laboratorium Histologi FK Unair untuk preparasi jaringan dan pengambilan data penelitian.

Penelitian dimulai pada bulan Oktober 2007 sampai dengan Januari 2008.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pemeliharaan dan pembagian kelompok hewan coba

Sebelum dapat diberikan perlakuan, hewan coba diadaptasikan selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium di Laboratorium Biokimia FK Unair, tikus dipelihara pada kandang individual dari plastik polypropilen yang ditutup kawat kasa dan dilengkapi dengan tempat minum / makan serta beralaskan sekam. Makanan tikus menggunakan makanan standard dan minum air Aqua dari PDAM. Untuk menjaga kebersihan kandang, sekam diganti tiap 2 hari.

Sampel penelitian dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, yaitu :

1. Kelompok kontrol yang terdiri dari 1 kelompok :

K1 : Kelompok kontrol yang diberi aquadest 0,5 ml/hari per oral selama 52 hari.

2. Kelompok perlakuan yang terdiri dari tiga kelompok :

P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian *royal jelly* 15 mg/kgBB/hr peroral

P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian *royal jelly* 30 mg/kgBB/hr peroral

P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian *royal jelly* 45 mg/kgBB/hr peroral

Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus jantan berumur 7 – 8 minggu.

4.7.2 Persyaratan etik

Implikasi etik pada tikus putih sebagai hewan coba mengikuti animals ethic. Hal yang perlu dilaksanakan sesuai etik antara lain perawatan tikus putih dalam kandang, pemberian makan minum, aliran udara ke dalam ruang kandang, perlakuan saat penelitian, pengambilan unit analisis penelitian dan pemusnahannya.

4.7.3 Perlakuan hewan coba

Royal jelly diberikan peroral dengan dosis pemberian masing-masing 15 mg/kg BB/hari, 30 mg/kg BB/hari dan 45 mg/kg BB/hari yang diberikan

sekali sehari pada waktu yang sama. Cara pemberian peroral ini dilakukan dengan sonde menggunakan spuit 1 ml yang ujung jarumnya dimodifikasi agar tidak tajam. Perlakuan ini dilakukan selama 52 hari.

4.7.4 Pembiusan

Pembiusan dilakukan dengan menggunakan ether. Tikus dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditutup dengan kasa, kemudian larutan ether diteteskan ke dalam toples tersebut. Tikus diangkat dari toples jika sudah tidak bergerak lagi (kira-kira $\frac{1}{2}$ - 1 menit setelah ether diteteskan). Kemudian diletakkan di papan bedah untuk pengambilan jaringan testis.

4.7.5 Pengambilan jaringan testis

Tikus diletakkan di atas meja bedah dalam posisi terlentang dengan keempat anggota gerak difiksasi. Testis diambil dengan cara membuka abdomen. Abdomen bagian bawah dijepit dengan pinset kemudian diangkat sedikit. Kulit abdomen yang terangkat digunting sampai abdomen terbuka. Testis diambil dengan mengangkat funikulus spermaticus sampai testis keluar dari abdomen. Setelah testis dikeluarkan, dengan pelan-pelan testis dibersihkan dari jaringan ikat dan lemak serta pembungkusnya (Oakberg, 1956a; Oakberg, 1965b), kemudian segera dimasukkan seluruhnya ke larutan fiksatif dan diberi label.

4.7.6 Pembuatan sediaan histologis dan pewarnaan

Setelah semua testis terkumpul, bahan ini kemudian dibawa ke laboratorium Histologi FK Unair untuk dibuat sediaan histologis metode parafin dengan pewarnaan PAS karena dengan pewarnaan PAS, gambaran spermiogenesis lebih jelas sehingga lebih mudah menetapkan tahapan siklus tubulus seminiferus karena pada tikus, siklus seminiferus didasarkan pada siklus spermiogenesis (Oakberg, 1956b).

4.7.7 Pengumpulan data

Pengambilan data dilakukan dengan melihat sediaan histologi di bawah mikroskop cahaya. Masing-masing testis diperlukan 10 buah potongan melintang tubulus seminiferus yang berada pada stage VII (Oakberg, 1956a ; Oakberg, 1956b ; Bartke, 1971 ; Davies et.al., 1974) karena pada stage VII ditemukan jumlah yang optimal untuk menghitung perubahan sel yang baru dan spermatosit primer mudah dikenali meskipun tidak terdapat spermatid (Oakberg, 1956a).

Sel spermatogenik yang dihitung adalah spermatosit primer dan spermatid, dihitung dari jumlahnya pada 10 tubulus seminiferus yang terpotong melintang.

4.8 Rancangan Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis dengan uji Anova (Zainuddin, 2000) dengan tujuan untuk membuktikan hipotesis penelitian

yang telah dibuat. Bila diketahui di antara perlakuan terdapat perbedaan yang sangat bermakna, maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Perhitungan statistik dibantu dengan sistem komputer SPSS for Windows.

BAB 5

DATA PENELITIAN DAN ANALISIS DATA PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan memberikan perlakuan terhadap 32 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok secara random dan setiap kelompok sudah terdapat 1 ekor tikus putih cadangan jika ada yang mati selama masa perlakuan. Keempat kelompok dipelihara dalam kondisi kandang yang sama dan pakan yang sama. Karena tiap kelompok ada 8 ekor tikus, maka tiap kelompok dibagi menjadi 2 kandang, masing-masing berisi 4 ekor tikus. Adapun pemberian dosis *royal jelly* perkelompok adalah 15 mg/kgBB peroral, 30 mg/kgBB peroral, 45 mg/kgBB peroral dan 1 kelompok kontrol yang hanya mendapat Aqua saja.

Setelah keempat kelompok tersebut diberi perlakuan selama 52 hari, tikus jantan dibius kemudian dikorbankan dan diambil testisnya untuk dibuat sediaan histologik. Testis tikus dimasukkan ke dalam larutan Bouin untuk difiksasi dan selanjutnya dibuat menjadi sediaan histologik. Dari sediaan histologik testis dilakukan pengamatan terhadap penampang melintang tubulus seminiferus testis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran okuler 10 x dan pembesaran obyektif 40 X. Dipilih penampang yang bulat atau mendekati bulat dan difoto dengan kamera digital. Setiap sediaan diambil 5 gambar penampang melintang tubulus kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel-sel spermatosit primer dan spermatid dengan program Image Tool.

5.1 Data Penelitian

Data dari hasil penelitian ini berupa data jumlah sel-sel spermatosit primer dan data jumlah sel-sel spermatid testis tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan.

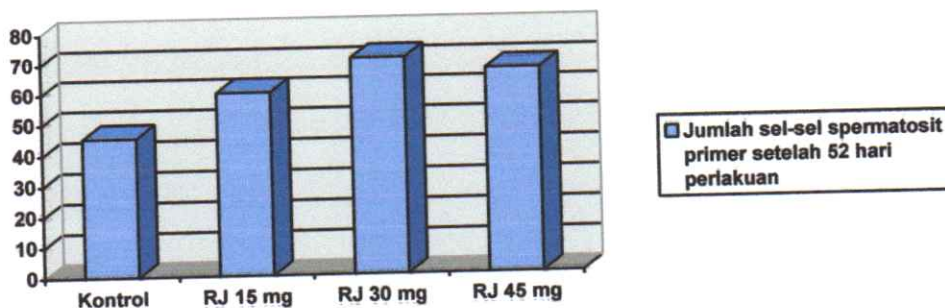
5.1.1 Jumlah sel-sel Spermatosit Primer

Jumlah sel-sel spermatosit primer adalah hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatosit primer setelah 52 hari perlakuan pada penampang melintang testis dengan pembesaran 400 X.

Data lengkap hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatosit primer terdapat pada lampiran 1 dan 2. Adapun rata-rata (mean) dan simpang baku (standar deviasi) data hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatosit primer diperlihatkan pada tabel 5.1 dan gambar 5.1.

Kelompok	Jumlah Pengamatan	Rata-rata (mean) dan Simpangan Baku (SD) Jumlah spermatosit primer
Kelompok I <i>Royal Jelly</i> 15 mg/kgBB/hr peroral	8	60,45 ± 3,49
Kelompok II <i>Royal Jelly</i> 30 mg/kgBB/hr peroral	8	71,47 ± 3,67
Kelompok III <i>Royal Jelly</i> 45 mg/kgBB/hr peroral	8	67,26 ± 4,14
Kelompok IV Kontrol	8	45,35 ± 2,56

Tabel 5.1 Rata-rata (mean) dan simpang baku (standar deviasi) jumlah sel-sel spermatosit primer tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) setelah 52 hari perlakuan.



Gambar 5.1 Histogram Rata-rata (mean) Jumlah sel-sel Spermatisit Primer tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) setelah 52 hari perlakuan.

Dari hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatisit primer setelah 52 hari perlakuan didapatkan peningkatan jumlah sel-sel spermatisit primer pada 15 mg/kgBB/hr peroral dibandingkan kelompok kontrol. Demikian juga pada kelompok 30 mg/kgBB/hr peroral dan kelompok 45 mg/kgBB/hr peroral.

5.1.2 Jumlah sel-sel Spermatisid

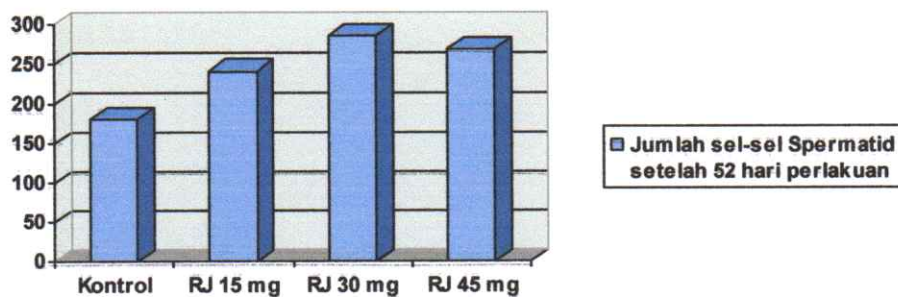
Jumlah sel-sel spermatisid adalah hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatisid setelah 52 hari perlakuan pada penampang melintang testis dengan pembesaran 400X.

Data lengkap hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatisid terdapat pada lampiran 1 dan 2. Adapun rata-rata (mean) dan simpangan baku (standar deviasi) data hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatisid diperlihatkan pada tabel 5.2 dan gambar 5.2.

Dari hasil penghitungan jumlah sel-sel spermatisid setelah 52 hari perlakuan didapatkan peningkatan jumlah sel-sel spermatisid pada 15 mg/kgBB/hr peroral dibandingkan kelompok kontrol. Demikian juga pada kelompok 30 mg/kgBB/hr peroral dan kelompok 45 mg/kgBB/hr peroral.

Kelompok	Jumlah Pengamatan	Rata-rata (mean) dan Simpangan Baku (SD) Jumlah Spermatid
Kelompok I <i>Royal Jelly</i> 15 mg/kgBB/hr peroral	8	240,73 + 10,08
Kelompok II <i>Royal Jelly</i> 30 mg/kgBB/hr peroral	8	285,30 + 10,84
Kelompok III <i>Royal Jelly</i> 45 mg/kgBB/hr peroral	8	268,33 + 9,44
Kelompok IV Kontrol	8	180,83 + 6,69

Tabel 5.2 Rata-rata (mean) dan simpangan baku (standar deviasi) Jumlah sel-sel Spermatid tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) setelah 52 hari perlakuan.



Gambar 5.2 Histogram Rata-rata Jumlah sel-sel Spermatid tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) setelah 52 hari perlakuan.

5.2 Analisis Data Penelitian

Keseluruhan data jumlah sel-sel spermatosit primer dan data jumlah sel-sel spermatid dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisis varian (Anova) satu arah untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pengaruh antara kelompok perlakuan yang diberi *royal jelly* dengan dosis 15 mg/kgBB/hr peroral, 30 mg/kgBB/hr peroral, dan 45 mg/kgBB/hr peroral dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mendapat *royal jelly* (hanya mendapat aquadest saja).

Sebelum dilakukan analisa varian, dilakukan uji normalitas data dan uji homogenitas data menggunakan *test of homogeneity of variances* untuk menentukan apakah kelompok tersebut homogen atau tidak. Jika *test of homogeneity of variances*nya memiliki *significance level* atau derajat kemaknaan $> 0,05$ ($p > 0,05$) maka kelompok tersebut homogen sehingga dapat dilanjutkan dengan analisa varian (Anova). Dari hasil analisa varian (Anova) bila memiliki *significance level* atau derajat kemaknaan $< 0,05$ ($p < 0,05$) dianggap terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

5.2.1 Jumlah sel-sel Spermatisit Primer

Dari tabel 5.1, diketahui rata-rata jumlah sel-sel spermatisit primer pada kelompok pemberian *royal jelly* 15 mg/kgBB/hr peroral lebih tinggi daripada kelompok kontrol yang tidak mendapatkan *royal jelly*. Demikian juga pada kelompok pemberian 30 mg/kgBB/hr peroral dan 45 mg/kgBB/hr peroral.

Data jumlah sel-sel Spermatisit primer secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2. Dari data jumlah sel-sel spermatisit primer tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,160 sehingga dapat dilakukan analisa varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisa varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,000 maka perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna. Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* dan analisa varian (Anova) berat testis diperlihatkan pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* dan analisis varian (Anova) jumlah sel-sel spermatozoid primer**Hasil Uji normalitas data****NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Jumlah Spermatozoid Primer 15 mg Royal Jelly /kgBB/hr	Jumlah Spermatozoid Primer 30 mg Royal Jelly /kgBB/hr	Jumlah Spermatozoid Primer 45 mg Royal Jelly /kgBB/hr	Jumlah Spermatozoid Primer Kontrol
N		40	40	40	40
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	60.45	71.4750	67.2500	45.3500
	Std. Deviation	3.49	3.6654	4.1371	2.5575
Most Extreme Differences	Absolute	.101	.106	.176	.151
	Positive	.101	.106	.128	.151
	Negative	-.099	-.086	-.176	-.149
Kolmogorov-Smirnov Z		.641	.672	1.113	.956
Asymp. Sig. (2-tailed)		.806	.757	.168	.320

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil analisa varian**Oneway****Descriptives****Jumlah Spermatozoid Primer**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	40	60.45	3.49	.55	59.34	61.56	52	67
30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	40	71.47	3.67	.58	70.30	72.65	64	79
45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	40	67.25	4.14	.65	65.93	68.57	56	77
Kontrol (Aqua)	40	45.35	2.56	.40	44.53	46.17	40	52
Total	160	61.13	10.54	.83	59.48	62.78	40	79

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Spermatoosit Primer

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.744	3	156	.160

ANOVA

Jumlah Spermatoosit Primer

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15757.769	3	5252.590	426.667	.000
Within Groups	1920.475	156	12.311		
Total	17678.244	159			

Setelah diketahui bahwa perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antar kelompok perlakuan.

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok kontrol, didapatkan :

- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Rangkuman hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah sel-sel spermatosit primer setelah 52 hari perlakuan diperlihatkan pada tabel 5.4

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Spermatosit Primer

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-11.02*	.78	.000	-12.57	-9.48
	45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-6.80*	.78	.000	-8.35	-5.25
	Kontrol (Aqua)	15.10*	.78	.000	13.55	16.65
30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	11.02*	.78	.000	9.48	12.57
	45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	4.22*	.78	.000	2.68	5.77
	Kontrol (Aqua)	26.12*	.78	.000	24.58	27.67
45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	6.80*	.78	.000	5.25	8.35
	30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-4.22*	.78	.000	-5.77	-2.68
	Kontrol (Aqua)	21.90*	.78	.000	20.35	23.45
Kontrol (Aqua)	15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-15.10*	.78	.000	-16.65	-13.55
	30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-26.12*	.78	.000	-27.67	-24.58
	45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-21.90*	.78	.000	-23.45	-20.35

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 5.4 Rangkuman hasil *Least Significant Difference (LSD)* jumlah sel-sel spermatosit primer

5.2.2 Jumlah sel-sel Spermatid

Dari tabel 5.2, diketahui rata-rata jumlah sel-sel Spermatid tikus kelompok pemberian *royal jelly* 15 mg/kgBB/hr peroral lebih tinggi daripada kelompok kontrol yang tidak mendapatkan *royal jelly*. Demikian juga pada kelompok pemberian 30 mg/kgBB/hr peroral dan 45 mg/kgBB/hr peroral.

Data jumlah sel-sel Spermatid secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2. Dari data jumlah sel-sel Spermatid tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,081 sehingga dapat dilakukan analisa varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisa varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,000 maka perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna.

Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* dan analisa varian (Anova) jumlah sel-sel spermatid diperlihatkan pada tabel 5.5

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah Spermatid 15 mg Royal Jelly /kgBB/hr	Jumlah Spermatid 30 mg Royal Jelly /kgBB/hr	Jumlah Spermatid 45 mg Royal Jelly /kgBB/hr	Jumlah Spermatid Kontrol
N		40	40	40	40
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	240.73	285.3000	268.3250	180.8250
	Std. Deviation	10.08	10.8373	9.4418	6.6906
Most Extreme Differences	Absolute	.143	.076	.136	.141
	Positive	.135	.076	.104	.141
	Negative	-.143	-.054	-.136	-.108
Kolmogorov-Smirnov Z		.907	.484	.862	.893
Asymp. Sig. (2-tailed)		.383	.974	.448	.402

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Jumlah Spermatid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	40	240.73	10.08	1.59	237.50	243.95	209	260
30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	40	285.30	10.84	1.71	281.83	288.77	265	308
45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	40	268.33	9.44	1.49	265.31	271.34	252	288
Kontrol (Aqua)	40	180.83	6.69	1.06	178.69	182.96	162	194
Total	160	243.79	40.88	3.23	237.41	250.18	162	308

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Spermatid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.286	3	156	.081

ANOVA

Jumlah Spermatid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	251961.3	3	83987.090	951.977	.000
Within Groups	13762.925	156	88.224		
Total	265724.2	159			

Tabel 5.5 Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* dan analisa varian (Anova) jumlah sel-sel spermatid tikus

Setelah diketahui perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna , maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antar kelompok perlakuan.

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok kontrol, didapatkan :

- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Rangkuman hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah sel-sel spermatid setelah 52 hari perlakuan diperlihatkan pada tabel 5.6

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Spermatid
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-44.58*	2.10	.000	-48.72	-40.43
	45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-27.60*	2.10	.000	-31.75	-23.45
	Kontrol (Aqua)	59.90*	2.10	.000	55.75	64.05
30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	44.58*	2.10	.000	40.43	48.72
	45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	16.98*	2.10	.000	12.83	21.12
	Kontrol (Aqua)	104.48*	2.10	.000	100.33	108.62
45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	27.60*	2.10	.000	23.45	31.75
	30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-16.98*	2.10	.000	-21.12	-12.83
	Kontrol (Aqua)	87.50*	2.10	.000	83.35	91.65
Kontrol (Aqua)	15 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-59.90*	2.10	.000	-64.05	-55.75
	30 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-104.48*	2.10	.000	-108.62	-100.33
	45 mg Royal Jelly /kg BB / hr	-87.50*	2.10	.000	-91.65	-83.35

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 5.6 Rangkuman hasil *Least Significant Difference (LSD)* jumlah sel-sel spermatid

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Jumlah sel-sel Spermatisit Primer

Dari tabel 5.1, diketahui rata-rata jumlah sel-sel spermatisit primer pada kelompok pemberian *royal jelly* 15 mg/kgBB/hr peroral lebih tinggi daripada kelompok kontrol yang tidak mendapatkan *royal jelly*. Demikian juga pada kelompok pemberian 30 mg/kgBB/hr peroral dan 45 mg/kgBB/hr peroral, tetapi pada dosis 30 mg/kg BB/hr didapatkan hasil yang lebih tinggi daripada dosis 45 mg/kg BB/hr.

Data jumlah sel-sel Spermatisit primer secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2. Dari data jumlah sel-sel spermatisit primer tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,160 sehingga dapat dilakukan analisa varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisa varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,000 maka perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna. Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* dan analisa varian (Anova) jumlah sel sel spermatisit primer diperlihatkan pada tabel 5.3

Setelah diketahui bahwa perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antar kelompok perlakuan.

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok kontrol, didapatkan :

- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Rangkuman hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah sel-sel spermatis primer setelah 52 hari perlakuan diperlihatkan pada tabel 5.4

Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian royal jelly peroral dapat meningkatkan jumlah sel-sel Spermatis primer dan pemberian dosis yang lebih tinggi akan memberikan peningkatan yang lebih tinggi pula, Peningkatan

dosis *royal jelly* yang paling tinggi terjadi pada pemberian dengan dosis 30 mg/kg BB/hr.

6.2 Jumlah sel-sel Spermatid

Dari tabel 5.2, diketahui rata-rata jumlah sel-sel Spermatid tikus kelompok pemberian *royal jelly* 15 mg/kgBB/hr peroral lebih tinggi daripada kelompok kontrol yang tidak mendapatkan *royal jelly*. Demikian juga pada kelompok pemberian 30 mg/kgBB/hr peroral dan 45 mg/kgBB/hr peroral, tetapi kelompok dengan pemberian 30 mg/kg BB/hr lebih tinggi daripada kelompok dengan pemberian 45 mg/kg BB/hr.

Data jumlah sel-sel Spermatid secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2. Dari data jumlah sel-sel Spermatid tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,081 sehingga dapat dilakukan analisis varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisis varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,000 maka perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna. Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* dan analisis varian (Anova) jumlah sel sel spermatid diperlihatkan pada tabel 5.5

Setelah diketahui perbedaan yang ada antar kelompok perlakuan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antar kelompok perlakuan.

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral, didapatkan :

- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Dari hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)* atau Uji Beda Nyata Terkecil kelompok kontrol, didapatkan :

- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 15 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 30 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).
- Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hr peroral terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000).

Rangkuman hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah sel-sel spermatid setelah 52 hari perlakuan diperlihatkan pada tabel 5.6

Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian *royal jelly* peroral dapat meningkatkan jumlah sel-sel Spermatid pada tubulus seminiferus testis tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan. Dari hasil analisa tersebut, juga menunjukkan bahwa pemberian dosis *royal jelly* yang lebih tinggi dapat

memberikan peningkatan yang lebih besar terhadap jumlah sel-sel Spermatid pada epitel tubulus. Peningkatan jumlah sel-sel spermatosit primer dan sel-sel spermatid ini disebabkan adanya *Gonadotropin* yang terkandung dalam *royal jelly* yang dapat mempengaruhi sekresi hormon FSH dan LH (Nurmiati 2002) dan adanya kandungan *Panhotenic acid* yang lebih tinggi dalam *royal jelly* yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis. Karena Panhotenic acid merupakan katalisator yang mengatur produksi dan pelepasan hormon adrenal dan juga diperlukan untuk lonversi Choline menjadi Acethylcholine suatu neurotransmitter yang berperan dalam fungsi memori, perkembangan mental dan reproduksi.

Tentunya hasil penelitian ini masih belum dapat memberikan informasi yang final tentang pengaruh royal jelly terhadap spermatogenesis karena keterbatasan penulis dalam hal jumlah sampel yang digunakan, metode penelitian dan keterbatasan peralatan yang digunakan dalam penelitian ini. Masih perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut, yaitu dengan penelitian bentuk spermatozoa dan gerakan (motilitas) spermatozoa.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan :

Dari hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan , dapat ditarik kesimpulan :

1. Pemberian *royal jelly* peroral dapat meningkatkan jumlah sel-sel Spermatisit primer dan jumlah sel-sel Spermatid pada tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar) jantan.
2. Pada dosis pemberian yang meningkat yaitu dosis 15mg/kgBB/hr dibandingkan dengan 30 mg/kgBB/hr dan dosis 15 mg/kgBB/hr dibandingkan dengan 45 mg/kgBB/hr terjadi kenaikan jumlah sel-sel Spermatisit primer dan jumlah sel-sel Spermatid yang lebih tinggi juga, tetapi peningkatan yang paling tinggi terjadi pada dosis 30 mg/kg BB/hr.

7.2 Saran :

Untuk memberikan informasi tentang pengaruh royal jelly terhadap spermatogenesis yang lebih akurat , maka penelitian ini perlu dilanjutkan dengan penelitian lebih lanjut untuk :

1. Menghitung jumlah sel-sel Sertoli dalam tubulus seminiferus dan sel-sel Leydig pada jaringan interstitial testis tikus putih (*Rattus Norvegicus* strain Wistar) jantan.
2. Melihat bentuk dan motilitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Applegate EJ, 2006. *The Anatomy and Physiology Learning System : Textbook* 1st Ed. Philadelphia : WB Saunders Company, pp 371-377.
- Adimoeljo A, 2000. Phytochemical and the Breakthruh of Tradisional Herbs in the management of Sexsual Dysfunction. *Int J Adrol*, 23 Suppl 2 : 82 -84.
- Arzani MN, 1990. Efek Androgenik Suatu Ramuan Tradisional Kalimantan yang Biasa Digunakan Obat Kuat Lelaki. *Medika* 10 : 818 – 822.
- Bloom dan Fawcett, 2002. *Buku Ajar Histologi*. Edisi ke-12. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 687-730.
- Brown, R , 1993. *Bee Hive Product Bible*. Garden City Park, New York, Avery Publishing Group Inc, pp 103-122.
- Clermont Y, 1972. Kinetics of Spermatogenesis in Mammals : Seminiferous Epithelium Cycle and Spermatogonial Renewal. *Physiol Rev* 52 (1) : 198-236.
- Davies AG, Courot M, Greshman P, 1974. Effecs of Testosterone and Follicle Stimulating Hormone on Spermatogenesis in Adult Mice during Treatment with Oestradiol. *J Endocrinology* 60 : 37-45
- Davies AG, 1981. Role of FSH in the Control of Testicular Function. *Arch Andrology* 7 : 97-108.
- Dellman and Brown, 2000. *Buku Teks Histologi Veteriner*. Jilid II. Jakarta : UI – Press, hlm 446-463, 472-477.
- Elene, M. 2007, *Human Anatomy & Physiology*, seventh Ed, pp 1065 – 1072.

- Frandsen RD, 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press, hlm 752-791.
- Ganong, WF, 2005 *Review of Medical Physiology*. 22 th Ed , United States of America, McGraw-Hill Companies, Inc, pp 424 – 433.
- Gardner E, Gray DJ, O’Rahilly R, 2005. *Anatomy : A Regional Study of Human Structure*. Philadelphia : WB Saunder Company, pp 1305 -1319.
- Goodman, M , 1980. *Reproduction. Medical Physiology*, 14 th Ed. USA, Mosby Company, pp 1602-1637.
- Gridley, MF, 1960. *Manual of Histologic and Special Staining Technics*. 2 nd ed. USA, Mc Graw-Hill Companies, Inc, pp 132-133.
- Gunawan, A, 2003. *Histologi II : Sistem Reproduksi Pria*, Laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Guyton, AC, 2000. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-11. Alih Bahasa : Irawati Setiawan. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 1132-1153.
- Guyton, AC, 2000. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 565-575.
- Halim, A. N, dan Sukarno, 2001. *Teknik Mencangkok Royal Jelly*, Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Hamad, S, 2007. *Terapi Madu*, Penerbit Pustaka IIMaN. Jakarta.

- Hardiyono, 2006. Pengaruh Pemberian Royal Jelly Peroral Terhadap Berat Testis, Proporsi Berat Testis Terhadap Berat Badan Tikus, Diameter Tubulus Seminiferus, Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Dan Proporsi Tebal Epitel Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih (*Rattus norvergicus strain Wistar*) Jantan. Tesis Fakultas Pasca Sarjana Unair Surabaya.
- Hardjopranjoto S, 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Unair.
- Ismudiono, 1998. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Edisi I. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Unair, hlm 9-15, 25-33.
- Jarow JP, 1990. Intratesticular Arterial Anatomy. *J Androl* 11 (3) : 255-259.
- Junqueira, LC, Carneiro J dan Kelley RO, 1997. Histologi Dasar. Edisi ke-8. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 418-433.
- Johnson, J, 2002. Nutritional and Enviromental Approaches to Infertility. Positive Health Publication Ltd.
- Kohguchi, M, 2004, Effect of royal jelly diet on the testicular function of hamster, *Food Science and Technology Research*, 10 (4): 420-423.
- Krell, R, 1996. Vallue-added products From beekeeping, *FAO Agricultural Services Bulletin No. 124*, Food And Agriculture Organization of the United Nations Rome. Chapter 6 ; 1- 32.
- Kusumawati, D, 2004. Bahan Ajar Tentang Hewan Coba, Universitas Airlangga Surabaya.

- Leeson, CR, Leeson TS dan Paparo AA, 1997. Buku Ajar Histologi. Edisi ke-6. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 511-533.
- Liben, P, 1992. Pengetahuan Teknik Laboratorium, Universitas Airlangga.
- Lindsay DT, 1996. Functional Human Anatomy. St Louis : Mosby – Year Book Inc, pp 789-796.
- Mardihusodo, SJ, 2003. Produk-produk Lebah Madu : Khasiat dan Manfaatnya Untuk Kesehatan. Seminar Terapi Lebah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya : 1-6.
- Needes, R, 1994. You Don't Have to Feel Unwell. USA, Atrium Publishers Group.
- Nieschlag E dan Behre h, 1997. Andrology, Male Reproductive Health and Dysfunction. New York ; Heidelberg, pp 26-57.
- Nurmiati, S, 2002. Pengaruh Pemberian *Royal Jelly* terhadap Fertilitas Mencit (*Mus musculus*) Betina. Tesis Fakultas Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Oakberg EF, 1956a. Duration of Spermatogenesis in the Mouse and Timing of Stages of the Cycle of the Seminiferous Epithelium. *Am J Anat* 99 (1) : 57-516.
- Oakberg EF, 1956b. A Descriptions of Spermiogenesis in the Mouse and its Use in Analysis of the Cycle of the Seminiferous Epithelium and Germ Cell Renewal. *Am J Anat* 99 (3) : 391-413.
- Parvinen M, 1982. Regulation of the Seminiferous Epithelium. *Endocrine Review* 3 (4) : 404-417.

- Puspitasari, I, 2007. *Rahasia Sehat Madu*. Penerbit B-First, Yogyakarta.
- Rosida, L, 2003. Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) Per Oral Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik, Sel Sertoli dan Sel Leydig Pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan Strain Swiss. Tesis Fakultas Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Sadler TW. 2006. Gametogenesis. Langmans Medical Embryology 10th Ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins, pp 11-28
- Saenz, A, 1984. *Biology, Biochemistry and Therapeutic Effect of Royal Jelly in Human Patholgy*, Pasteur Institute.
- Sarwono, B, 2001. *Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Lebah Madu*. Penerbit Agro Media Pustaka. Tangerang.
- Seeley RR, Stephens TD, Tale Philips, 1998. *Anatomy and Physiology* 4th Ed. USA : McGraw-Hill Companies, pp 914-921.
- Sihombing, D. T. H, 1997. *Ilmu Ternak LebahMadu*, Yogyakarta. Gajah Mada University Press.
- Sloane E, 2002. *Sistim Endokrin. Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula*. Edisi 1. Jakarta: EGC, hal 200 – 215.
- Smith JB dan Mangkoewidjojo, 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press, hal 37 –57.
- Sudiana IK, *Tehnik Praktis Untuk Jaringan Sel*. Bali : CV Dharma Shandi, hal 44 – 56.

- Taufi Gurrachman dan Wibowo S, 2000. Pengaruh Ekstrak Akar *Eurycoma Longifolia* Jack (Pasak Bumi) terhadap Peningkatan kadar Tetosteron, LH dan FSH pada Tikus Jantan Sprague Dawley. *M Med Indonesiana* 35 (2): 81 – 86.
- Tirthaningsih NW, 2002. *Situs Pelvicus*. Surabaya: Laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Hal 29 – 36.
- Tjay TH dan Rahardja K, 2002. *Obat-obat Penting*. Edisi ke-5. Jakarta : Elex Media Computindo, hal 335 – 356.
- Walji, H, 2001, *Terapi Lebah*, Jakarta, Prestasi Pustaka, hlm 55-61.
- Warsino, 1996. *Budidaya Lebah Madu*, Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Wilhelm, M, 2008, *Human Anatomy*, Pearson International Edition: fifth Ed. Pp 711 – 722.
- Wonodirekso S, 2003. *Penuntun Praktikum Histologi*. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta : Dian Rakyat.
- Whittingham DG, Wood MJ, 1983. *Reproductive Physiology*. In (Foster HL, Small JD, Fox JG, eds) *The Mouse in Biomedical Research* Vol. III. California : Academi Press Inc, pp 139-142.
- Wuryantari dan Moeloek N, 2000. Perkembangan Mutakhir Fisiologi Fungsi Testis : Dari Organ Sampai Gen. *MKI* 50 (8) : 377-384.
- Zainuddin A, 2000. *Metode Penelitian*. Program Pasca Sarjana Unair, Surabaya.

Hasil Penghitungan Jumlah Sel-sel Spermatisit Primer dan Spermatisid
Kelompok perlakuan 15 mg dan 30 mg/kgBB/hari

Klp	No. Preparat	Σ Spermatisit Primer	Σ Spermatisid
I	111	61	248
	112	62	244
	113	60	246
	114	59	238
	115	60	232
	121	61	240
	122	60	242
	123	58	241
	124	59	240
	125	60	234
	131	61	238
	132	62	244
	133	60	244
	134	59	238
	135	60	238
	141	52	210
	142	62	246
	143	67	258
	144	66	238
	145	58	252
II	211	56	234
	212	66	247
	213	64	248
	214	57	238
	215	62	244
	221	58	234
	222	61	243
	223	56	232
	224	65	248
	225	60	246
	231	58	236
	232	60	239
	233	63	245
	234	63	247
	235	64	245
241	52	209	
242	59	235	
243	56	230	
244	66	260	
245	65	258	

Klp	No. Preparat	Σ Spermatisit Primer	Σ Spermatisid
III	311	73	290
	312	77	305
	313	73	291
	314	67	265
	315	70	282
	321	71	280
	322	70	278
	323	74	296
	324	75	300
	325	71	290
	331	73	272
	332	70	282
	333	68	278
	334	73	288
	335	78	308
IV	341	69	284
	342	72	283
	343	72	285
	344	73	289
	345	70	283
	411	79	299
	412	72	289
	413	68	274
	414	65	273
	415	69	281
	421	76	293
	422	74	295
	423	68	286
	424	64	274
	425	69	268
431	77	299	
432	76	298	
433	65	278	
434	68	268	
435	70	277	
441	74	294	
442	68	274	
443	69	273	
444	73	288	
445	76	302	

Keterangan :

Kelompok I dan II adalah Kelompok perlakuan 15 mg Royal Jelly / kgBB / Hari
 Kelompok III dan IV adalah Kelompok perlakuan 30 mg Royal Jelly / kgBB / Hari
 Kelompok V dan VI adalah Kelompok perlakuan 45 mg Royal Jelly / kgBB / Hari
 Kelompok VII dan VIII adalah Kelompok Kontrol

Lampiran 2

**Hasil Penghitungan Jumlah Sel-sel Spermatisit Primer dan Spermatisid
Kelompok perlakuan 45 mg/kgBB/hari dan Kelompok Kontrol**

Klp	No. Preparat	Σ Spermatisit Primer	Σ Spermatisid
V	511	69	276
	512	68	268
	513	68	270
	514	70	283
	515	68	273
	521	70	278
	522	65	268
	523	77	272
	524	72	288
	525	60	252
	531	68	272
	532	60	253
	533	65	255
	534	67	266
	535	69	274
VI	541	69	270
	542	68	268
	543	66	264
	544	63	255
	545	68	272
	611	69	270
	612	66	264
	613	68	268
	614	67	267
	615	65	260
	621	61	254
	622	68	268
	623	73	288
	624	70	280
	625	70	278
631	69	273	
632	60	256	
633	67	265	
634	68	272	
635	67	268	
641	74	268	
642	73	278	
643	67	274	
644	62	253	
645	56	252	

Klp	No. Preparat	Σ Spermatisit Primer	Σ Spermatisid
VII	711	44	177
	712	44	176
	713	48	190
	714	47	188
	715	44	177
	721	46	183
	722	44	176
	723	44	175
	724	43	174
	725	47	184
	731	43	174
	732	47	180
	733	49	190
	734	50	194
	735	45	184
VIII	741	44	176
	742	40	162
	743	48	188
	744	45	180
	745	43	173
	811	47	180
	812	44	176
	813	46	177
	814	40	174
	815	40	170
	821	48	190
	822	46	184
	823	48	188
	824	46	184
	825	44	180
831	52	188	
832	45	188	
833	48	182	
834	44	189	
835	44	176	
841	47	186	
842	44	176	
843	46	184	
844	44	177	
845	46	183	

Keterangan :

Kelompok I dan II adalah Kelompok perlakuan 15 mg Royal Jelly / kgBB / Hari
 Kelompok III dan IV adalah Kelompok perlakuan 30 mg Royal Jelly / kgBB / Hari
 Kelompok V dan VI adalah Kelompok perlakuan 45 mg Royal Jelly / kgBB / Hari
 Kelompok VII dan VIII adalah Kelompok Kontrol

Lampiran 3. Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok Kontrol setelah 52 hari perlakuan (Pewarnaan PAS, pembesaran 400X)



Sel Spermatisit Primer

Sel Spermatid

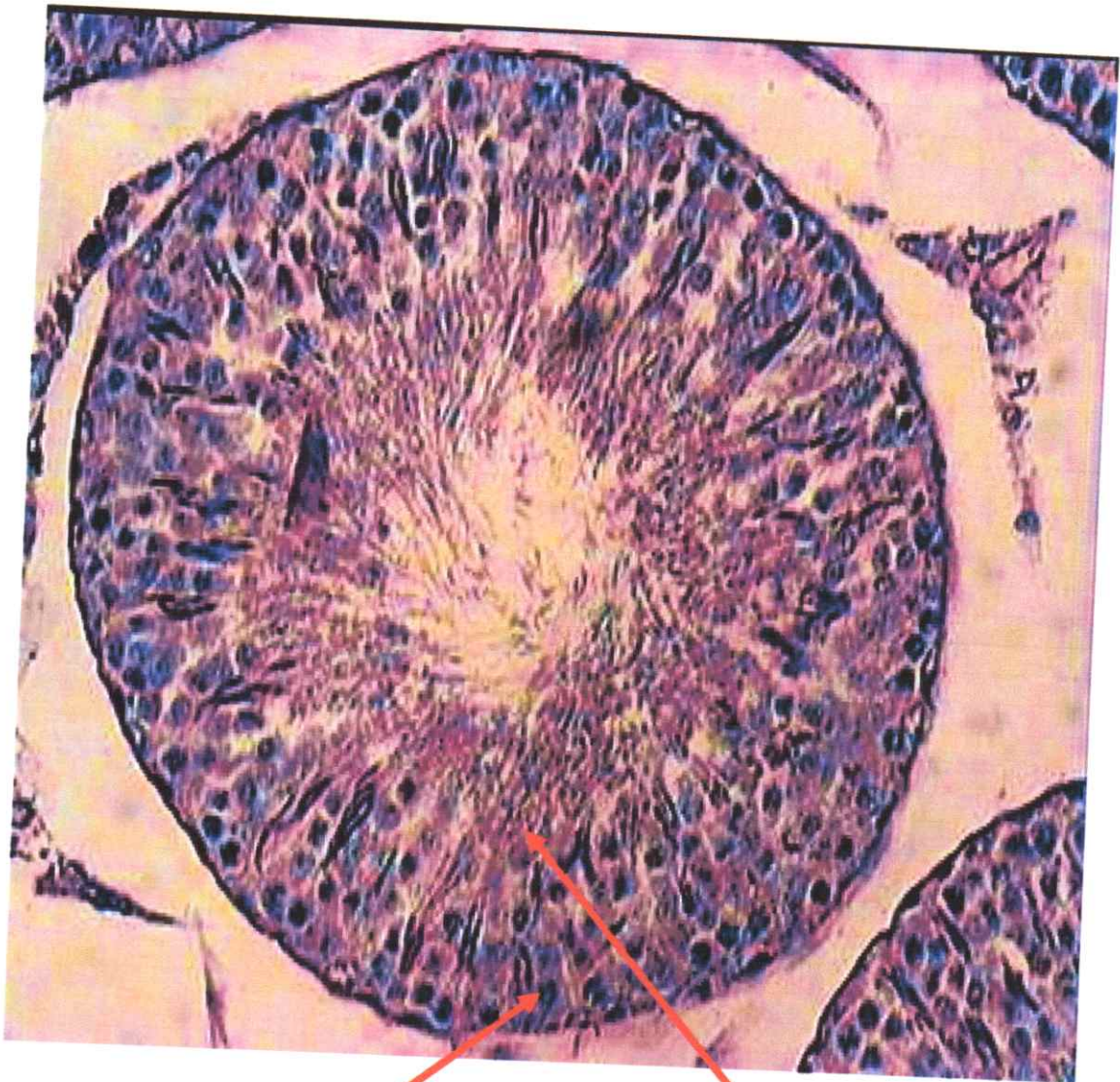
Lampiran 4 Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok Perlakuan dengan pemberian Royal Jelly 15 mg/kgBB/hr peroral (Pewarnaan PAS, pembesaran 400X)



Sel Spermatisit Primer

Sel Spermatid

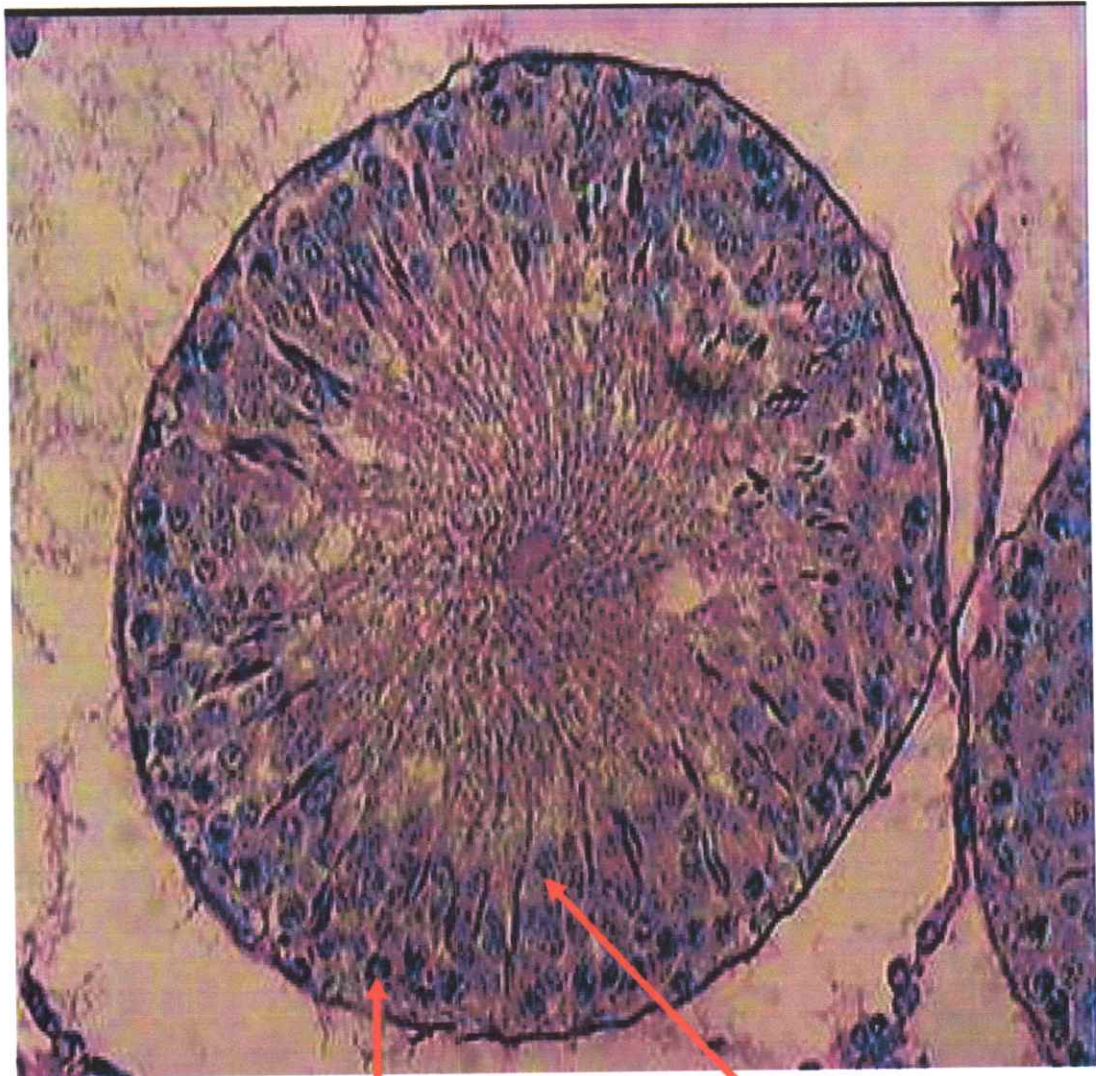
Lampiran 5 Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok perlakuan dengan pemberian Royal Jelly 30 mg/kgBB/hr peroral (Pewarnaan PAS, pembesaran 400X)



Sel Spermatisit Primer

Sel Spermatid

Lampiran 6 Penampang melintang Tubulus Seminiferus Kelompok perlakuan dengan pemberian Royal Jelly 45 mg/kgBB/hr peroral (Pewarnaan PAS, pembesaran 400X)



Sel Spermatisit Primer

Sel Spermatid

Lampiran 7. Pembuatan Preparat Histologis Metode Parafin

Langkah-langkah pembuatan sediaan histologik model parafin adalah sebagai berikut :

1. Fiksasi : dengan larutan Bouin
2. Dehidrasi : dengan larutan alkohol 70% selama 2 jam
dengan larutan alkohol 80% selama 2 jam
dengan larutan alkohol 90% selama 2 jam
dengan larutan alkohol 95% selama 2 jam
dengan larutan alkohol absolut I selama 1 jam
dengan larutan alkohol absolut II selama 1 jam
3. Clearing : dengan larutan Xylol I selama 2 jam
dengan larutan Xylol I selama 2 jam
4. Infiltrasi : parafin cair I selama 3 jam
parafin cair II selama 3 jam
parafin cair III selama 3 jam
5. Embedding : dicetak bentuk blok kemudian didinginkan selama 24 jam
6. Trimming : dipotong menjadi cetakan yang rapi
7. Sectioning : dilakukan pengirisan dengan mikrotom dengan tebal 5-7 mikron
8. Mounting : hasil potongan diletakkan di atas obyek glass yang diberi albumin Meyer, dikeringkan dan sediaan siap diwarnai

Lampiran 8. Pewarnaan Periodic Acid Schiff (PAS)

Langkah-langkah pewarnaan dengan Periodic Acid Schiff (PAS) adalah sebagai berikut :

1. Masukkan obyek glass yang berisi jaringan ke xylene
2. Masukkan ke alkohol absolut kemudian alkohol 90%
3. Cuci dengan air
4. Masukkan ke dalam Periodic Acid 0,5% selama 5 menit
5. Cuci dengan air
6. Masukkan ke dalam Reagen Schiff selama 15 menit
7. Cuci dengan air selama \pm 10 menit sampai warna menjadi merah muda
8. Masukkan ke dalam acid alkohol selama 2 menit
9. Cuci dengan air
10. Masukkan ke amoniak water sampai berwarna biru
11. Cuci dengan air
12. Masukkan ke Hematoksilin selama 5 menit
13. Cuci dengan air
14. Masukkan ke dalam alkohol 95% kemudian alkohol absolut
15. Masukkan ke dalam xylene
16. Mounting : jaringan ditetesi dengan Canada Balsam kemudian ditutup dengan gelas penutup.