

# TESIS

EFEK FRAKSI KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*)  
TERHADAP KADAR TESTOSTERON DAN MOTILITAS  
SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus Balb/c*) YANG TERPAPAR  
*2-METHOXYETHANOL*



DC 41  
10c  
TKR. 09/15  
Ern  
e.

M I L E  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
S U R A B A Y A

**ERNAWATI**  
**( 011214653006 )**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI**  
**JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**SURABAYA**  
**2015**

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala limpahan berkat, rahmat, dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya saya haturkan kepada Dr. Rina Yudiwati, dr,MS dan Dr. Alfiah Hayati, Dra., M.Kes selaku pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, pikiran, dan memberikan motivasi untuk menyelesaikan tesis ini.

1. Rektor Universitas Airlangga Surabaya, Prof. Dr. Fasich, Apt., yang telah menyediakan kesempatan dan fasilitas sehingga saya dapat menjalankan kuliah di Jenjang Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
2. Prof. Dr. Hj. Sri Hajati, SH., M.S., selaku Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan bagi saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan di Jenjang Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
3. Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Sc., SpPD, K-Emd, Finasim, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah memfasilitasi saya sejak awal perkuliahan hingga selesaiannya perkuliahan saya di Jenjang Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi.
4. Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Airlangga Surabaya, Prof. Dr. Budi Santoso,dr,Sp.OG(K),yang telah

berkenan meluangkan waktu untuk memotivasi dan mendorong saya sehingga dapat menyelesaikan pendidikan saya ini.

5. Ketua Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya, Dr. Alfiah Hayati, Dra., M.Kes, yang berkenan mengijinkan dan memfasilitasi saya untuk melaksanakan penelitian sejak awal hingga selesaiya tesis ini.
6. Seluruh Dosen Fakultas Kedokteran Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi yang telah memberikan ilmu, motivasi dan pencerahan bagi saya selama mengikuti pendidikan.
7. Orang tua, Suami, dan anak terkasih yang telah mendoakan dan sabar menanti hingga saya menyelesaikan pendidikan saya.

Saya sadar tesis ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saya sangat mengharapkan saran dari pembaca agar tesis ini menjadi lebih sempurna. Akhirnya dalam kesempatan ini saya mohon maaf sedalam – dalamnya kepada semua pihak bila dalam proses penelitian dan penulisan tesis ini terdapat banyak kesalahan. Semoga rahmat,berkat dan lindungan-Nya tercurah kepada kita semua.

## ABSTRACT

### **Effect of Mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) Pericarp Fraction on Testosterone Level and Sperm Motility in Mice (*Mus musculus Balb/c*) Exposed to 2-Methoxyethanol (2-ME)**

**Ernawati**

This study aimed to determine the effects of mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) pericarp fraction in varied doses on testosterone levels and sperm motility of mice (*Mus muculus Balb/c*) exposed to 2-methoxyethanol (2-ME).

This study used 48 male mice that were divided into eight groups: control (-), control (+) and six treatment groups with varying levels of polarity and dose. Control (-) was given with 0.05% CMC for 40 days, control (+) received 2-ME 200 mg/kg.bw/day for 5 days, followed with CMC of 0.05% for 35 days. The first treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days, and then continued with the provision of low dose non-polar fraction of 0.6 mg/kg.bw/day. The second treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and then continued with the provision of high dose non-polar fraction of 3 mg/kg.bw/day. The third treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and then continued with the provision of low dose semi-polar fraction of 4 mg/kg.bw/day. The fourth treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days, and then continued with the provision of high dose semi-polar fraction of 20 mg/kg.bw/day. The fifth treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and continued with the provision of low-dose polar fraction of 0.4 mg/kg.bw/day. The sixth treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and continued with the administration of high dose polar fraction of 2 mg/kg bw/day.bw/day.

The mangosteen pericarp fractions were given sub-cutaneously in all treatments. Testosterone level examination was done through mice blood serum and motility examination was done by taking sperm through the epididymis and placed in phosphate buffered saline solution.

In conclusion, the administration of all fractions (non-polar, semi-polar, polar) of mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) pericarp in low doses increases testosterone levels in mice exposed to 2-ME and the administration of all fractions (non-polar, semi-polar, polar) and doses (low and high) of mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) pericarp increases the percentage of sperm motility in category A and D, except the motility category B and C, which were exposed to 2-ME, and only found in semi-polar fraction of low and high-low doses.

**Keywords:** mangosteen pericarp extract, testosterone level, motility, 2-Methoxyethanol

## RINGKASAN

### Efek Fraksi Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Kadar Testosteron Dan Motilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus Balb/c*) Yang Terpapar 2-Methoxyethanol (2-ME)

Kulit buah manggis mengandung senyawa *Xanthone* yang meliputi  $\alpha$ -mangostin,  $\gamma$ -mangostin, dan garsinon-E.  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin memiliki efek antioksidan. Asosiasi sel spermatogenik tersusun berlapis sesuai dengan tingkatan perkembangannya dari membran basalis menuju ke arah lumen tubulus yakni spermatogonia, spermatosit, dan spermatid. Lumen tampak terisi penuh oleh spermatozoa, tetapi dalam keadaan tertentu misalnya dengan pemberian obat yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis maka akan terjadi gangguan pada saat pembelahan atau perkembangan dari sel epitel germinalis sampai menjadi sel sperma.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental murni (*true experiment*) laboratorik dan penelitian ini menggunakan 48 ekor mencit jantan, yang dibagi dalam delapan kelompok ( kontrol (-), kontrol (+) dan enam kelompok perlakuan dengan variasi fraksi tingkat kepolaran dan dosis ). Kontrol (-) diberikan CMC 0,05% selama 40 hari, kontrol (+) menggunakan 2-ME 200 mg/kg.bb/hari selama 5 hari dan dilanjutkan dengan CMC 0,05% selama 35 hari. Perlakuan pertama dilakukan pemberian 2-methoxyethanol (2-ME) selama 5 hari dan dilanjutkan pemberian fraksi non polar dosis rendah 0,6 mg/kg.bb/hr, Perlakuan kedua dilakukan pemberian 2-methoxyethanol (2-ME) selama 5 hari dan dilanjutkan pemberian fraksi non polar dosis tinggi 3 mg/kg.bb/hr, Perlakuan ketiga dilakukan pemberian 2-methoxyethanol (2-ME) selama 5 hari dan dilanjutkan pemberian fraksi semi polar dosis rendah 4 mg/kg.bb/hr, Perlakuan keempat dilakukan pemberian 2-methoxyethanol (2-ME) selama 5 hari dan dilanjutkan pemberian fraksi semi polar dosis tinggi 20 mg/kg bb/hr.bb/hr, Perlakuan kelima dilakukan pemberian 2-methoxyethanol (2-ME) selama 5 hari dan dilanjutkan pemberian fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg.bb/hr, Perlakuan keenam dilakukan pemberian 2-methoxyethanol (2-ME) selama 5 hari dan dilanjutkan pemberian fraksi polar dosis tinggi 2 mg/kg bb/hr.bb/hr, fraksi kulit buah manggis diberikan secara sub kutan pada semua perlakuan.

*Xanthone* sebagai antioksidan bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Selain itu untuk menangkal terjadinya oksidasi, ada proses reduksi yang melibatkan hidrogen. Terjadinya reduksi yang melibatkan hidrogen dapat menghambat reaksi oksidasi antara radikal bebas dengan oksigen (oksidasi) sehingga dalam tubuh terjadi keseimbangan. Sedangkan *Xanthone* sebagai oksidan bekerja dengan cara senyawa  $\gamma$ -mangostin menghambat fungsi aromatase. Aromatase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalis testosteron menjadi estrogen. Dengan demikian semakin rendah dosis variasi fraksi tingkat kepolaran kulit buah manggis dapat meningkatkan kadar testosteron. Kadar testosteron yang terlalu tinggi, tanpa diimbangi oleh *negative feed back* ke hipofisis dan hipotalamus akan mengganggu fungsi testis sebagai organ primer reproduksi jantan. Menurunnya motilitas spermatozoa disebabkan

karena pemberian 2-Methoxyethanol (2-ME) dan semua variasi fraksi tingkat kepolaran kulit buah manggis kecuali kategori motilitas A dan D. Penurunan motilitas tersebut disebabkan karena adanya bahan oksidan dalam proses spermatogenesis maka akan berpengaruh pada jumlah sel spermatogenik. Kelompok perlakuan dengan dosis tinggi dalam penelitian ini, didapatkan adanya penurunan motilitas spermatozoa. Hal ini bisa diakibatkan karena fraksi kulit buah manggis yang diberikan dalam dosis tinggi dan dalam waktu yang lama, maka bersifat oksidan yang dapat merusak sel-sel dalam tubuh. Hasil penelitian ( $P<0.05$ ).

Pemberian fraksi kulit buah manggis selama 35 hari dalam penelitian ini berpengaruh terhadap peningkatan kadar testosterone dan motilitas spermatozoa mencit jantan yang telah dipapari 2-Methoxyethanol (2-ME). Peningkatan kadar testosterone dan motilitas spermatozoa dikarenakan fraksi kulit buah manggis mengandung senyawa *xanthone* yang berfungsi sebagai antioksidan, pemberian fraksi kulit buah manggis terhadap berbagai variasi dosis rendah (0,6 mg/kg.bb/hari, 4 mg/kg.bb/hari, 0,4 mg/kg.bb/hari) berpotensi sebagai antioksidan yang dapat meningkatkan kadar testosterone dan motilitas spermatozoa (fraksi semi polar dosis 4 mg/kg.bb/hari dengan kadar testosterone  $0,88 \pm 0,482$ ) dan persentase motilitas spermatozoa (fraksi semi polar dosis 4 mg/kg.bb/hari dengan persentase motilitas spermatozoa kategori A  $73,28 \pm 1,92$ ), namun ketika dosis fraksi variasi tingkat kepolaran ditingkatkan (3 mg/kg.bb/hari, 20 mg/kg.bb/hari, 2 mg/kg.bb/hari), pemberian fraksi kulit buah manggis tersebut berpotensi sebagai oksidan. Hal ini tampak dengan menurunnya nilai kadar testosterone (fraksi non polar dosis 3 mg/kg.bb/hari dengan kadar testosterone  $0,24 \pm 0,130$ ) dan persentase motilitas spermatozoa (fraksi semi polar dosis 4 mg/kg.bb/hari dengan persentase motilitas spermatozoa kategori C  $6,98 \pm 1,54$ ).

Berdasarkan data-data penelitian yang telah dikumpulkan dapat diketahui bahwa pemberian variasi fraksi kulit buah manggis dengan dosis dan waktu tertentu dapat meningkatkan kadar testosterone dan motilitas spermatozoa, sehingga keberhasilan proses fertilisasi juga meningkat. Namun sebaliknya, pemberian dosis yang semakin besar menurunkan kadar testosterone dan motilitas spermatozoa hingga dapat mencapai keadaan oligospermia atau bahkan azoospermia. Apabila keadaan azoospermia ini tercapai, maka dapat dikatakan bahwa pemberian fraksi kulit buah manggis pada dosis dan waktu tertentu dapat mengakibatkan terjadinya infertilitas.

## SUMMARY

### **Effect of Mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) Pericarp Fraction on Testosterone Level and Sperm Motility in Mice (*Mus musculus Balb/c*) Exposed to 2-Methoxyethanol (2-ME)**

The pericarp of mangosteen fruit contains *xanthones*, a compound that includes  $\alpha$ -mangostin,  $\gamma$ -mangostin, and garcinone-E.  $\alpha$ -mangostin and  $\gamma$ -mangostin have antioxidant effects. Association of spermatogenic cells is arranged in layers according to the level of development from basal membrane to tubular lumen, ie spermatogonia, spermatocytes, and spermatids. The lumen looks filled fully with spermatozoa. However, in certain circumstances, for example, in the administration of drugs that can affect spermatogenetic process, the interference may occur at the time of division or the development of epithelial germ cells to become sperm.

This study was a true experimental laboratory study, involving 48 male mice that were divided into eight groups: control (-), control (+) and six treatment groups with a variety of polar fractions and dose rates. Control (-) was given with 0.05% CMC for 40 days, control (+) received 2-ME 200 mg/kg bw/day for 5 days, followed with CMC of 0.05% for 35 days. The first treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days, and then continued with the provision of low dose non-polar fraction of 0.6 mg/kg.bw/day. The second treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and then continued with the provision of high dose non-polar fraction of 3 mg/kg.bw/day. The third treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and then continued with the provision of low dose semi-polar fraction of 4 mg/kg.bw/day. The fourth treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days, and then continued with the provision of high dose semi-polar fraction of 20 mg/kg.bw/day. The fifth treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and continued with the provision of low-dose polar fraction of 0.4 mg/kg.bw/day. The sixth treatment was the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) for 5 days and continued with the administration of high dose polar fraction of 2 mg/kg bw/day. The mangosteen pericarp fractions were given sub-cutaneously in all treatments.

As an antioxidant, *xanthone* works by cutting oxidative chain reaction of free radical. In addition, to prevent the occurrence of oxidation, there is a reduction process that involves hydrogen. This hydrogen-involving reduction can inhibit oxidative reactions between free radicals with oxygen (oxidation), so it creates a balance in the body. Whereas, *xanthone*, as oxidant, acts in a mechanism where the compound  $\gamma$ -mangostin inhibits aromatase function. Aromatase is an enzyme that plays a role in catalyzing testosterone into estrogen. Thus, the lower the dose variation of mangosteen pericarp polarity fraction, the higher the testosterone level. However, too high testosterone level, without offset by negative feedback to the pituitary and hypothalamus, would interfere testicular function as the primary male reproductive organs. Decreased sperm motility is caused by the administration of 2-methoxyethanol (2-ME) and all variations of

mangosteen pericarp polarity fractions, except motility category A and D. The decreased motility was due to the presence of oxidant in spermatogenetic process, so it has effect on the number of spermatogenic cells. In this study, treatment group with high dose showed a decrease in sperm motility. This could be due to the fraction of mangosteen pericarp that was given in high doses and for a longer time, so it became oxidative that could damage the cells in the body. The results showed  $p < 0.05$ .

In this study, the administration of mangosteen pericarp fractions for 35 days had effect on the increase of testosterone levels and sperm motility in male mice exposed to 2-methoxyethanol (2-ME). Testosterone levels and sperm motility increased since the fraction of mangosteen pericarp contained *xanthone* that acted as antioxidants. Mangosteen pericarp fractions in low dose varieties (0.6 mg/kg.bw/day, 4 mg/kg.bw/day, 0.4 mg/kg.bw/day) had potential as an antioxidant that could increase testosterone levels and sperm motility (semi-polar fraction dose of 4 mg/kg.bw/day with testosterone levels of  $0.88 \pm 0.482$ ) and the percentage of sperm motility (semi-polar fraction dose of 4 mg/kg.bw/day with the percentage of sperm motility category A  $73.28 \pm 1.92$ ). However, when the dose of polarity variations fraction was increased (3 mg/kg.bw/day, 20 mg/kg.bw/day, 2 mg/kg.bw/day), the fraction of the mangosteen pericarp became potential as an oxidant, which was apparent in the decline of testosterone level (non-polar fraction of a dose of 3 mg/kg.bw/day to testosterone level of  $0.24 \pm 0.130$ ) and the percentage of sperm motility (semi-polar fraction dose of 4 mg/kg.bw/day with the percentage of sperm motility category C  $6.98 \pm 1.54$ ).

It was found that the administration of mangosteen pericarp fractions in varied doses and time can increase testosterone level and sperm motility, so the success of fertilization process also increases. However, on the contrary, the higher the doses, the lower the testosterone levels and sperm motility until it reaches the state of oligospermia or even azoospermia. If the state of azoospermia is reached, it can be said that the administration of mangosteen pericarp fraction in certain doses and time can result in infertility.

DAFTAR ISI

Halaman Cover Depan	i
Halaman Judul	ii
Lembar Untuk Memperoleh Prasyarat Gelar	iii
Lembar Pengesahan	iv
Ucapan Terima Kasih	vi
<i>Abstract</i>	viii
Ringkasan	ix
Summary	xi
Daftar Isi	xiii
Daftar Tabel	xvi
Daftar Gambar	xvii
Daftar Lampiran	xviii
Daftar Singkatan	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Praktis	6
1.4.2 Manfaat Teoritis	6
1.5 Risiko Penelitian	6
1.5.1 Risiko Penelitian Bagi Subjek	6
1.5.2 Risiko Penelitian Bagi Lingkungan	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Manggis	8
2.1.1 Tanaman Manggis	8
2.1.2 Habitus dan Morfologi Tumbuhan Manggis	8
2.1.3 Sistematika Tumbuhan	10
2.1.4 Khasiat Kulit Manggis	10
2.2 Organ Reproduksi Jantan	11
2.2.1 Tinjauan Umum Testis	11
2.2.2 Histologi Testis	12
2.2.3 Pengaturan Fungsi Testis	14
2.2.4 Epididimis	17
2.2.5 Spermatogenesis	18
2.2.6 Spermatozoa	25
2.2.7 Motilitas Spermatozoa	27
2.3 Reactive Oxygen Species (ROS)	29
2.4 Hormon Testosteron	30
2.5 Tinjauan Tentang <i>radioimmunoassay</i> (RIA)	34

2.6 Senyawa 2-Methoxyethanol (2-ME)	36
2.7 Fraksinasi	38
2.7.1 Pelarut Non Polar	38
2.7.2 Pelarut Semi Polar	40
2.7.3 Pelarut Polar	44
2.8 Mencit ( <i>Mus musculus</i> )	46
2.9 Percobaan Mencit Jantan	47
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	<b>49</b>
3.1 Kerangka Konseptual	49
3.2 Hipotesis Penelitian	51
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	<b>52</b>
4.1 Rancangan Penelitian	52
4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi	54
4.2.1 Unit Eksperimen	54
4.2.2 Replikasi	54
4.3 Variabel Penelitian	55
4.4 Definisi Operasional	56
4.5 Bahan dan Alat Penelitian	58
4.5.1 Bahan Penelitian	58
4.5.2 Alat Penelitian	58
4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian	58
4.7 Prosedur Penelitian	59
4.7.1 Pembuatan Larutan 2-Methoxyethanol	59
4.7.2 Pembuatan Fraksi Kulit Manggis	59
4.7.3 Penghitungan Dosis Konversi Ekstrak Kulit Buah Manggis	60
4.7.4 Penentuan Lama Perlakuan dan Dosis 2-ME	60
4.7.5 Penentuan Lama Perlakuan dan Dosis Fraksi Kulit Buah Manggis	61
4.7.6 Tahap Persiapan Hewan Coba	61
4.8 Alur Penelitian	64
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN</b>	<b>67</b>
5.1 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Kadar Testosteron Mencit yang Terpapar 2-ME	67
5.2 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa Mencit yang terpapar 2-ME	69
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>	<b>76</b>
6.1 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Kadar Testosteron Mencit yang Terpapar 2-ME	76
6.2 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa yang Terpapar 2-ME	78
<b>BAB 7 PENUTUP</b>	<b>81</b>
7.1 Kesimpulan	81
7.2 Saran	81



## **DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Ciri-ciri Asosiasi Sel Pada Tahapan Siklus Spermatogenesis Mencit	23
Tabel 5.1 Pengaruh Variasi Fraksi kulit buah manggis terhadap kadar Testosteron mencit yang terpapar 2-ME	67
Tabel 5.2 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah manggis terhadap persentase motilitas spermatozoa	70

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Buah Manggis	9
Gambar 2.2 Struktur Kimia Senyawa Xanton Beserta Turunannya	11
Gambar 2.3 Proses Hipotalamus-Hipofisis-Testis	15
Gambar 2.4 Tahap Perkembangan Sel Spermatogenik	20
Gambar 2.5 Penampang Testis	21
Gambar 2.6 Asosiasi Sel Pada Tahapan Siklus Spermatogenesis Tikus (14 tahap dengan asosiasi sel spermatid (19 tahap)	22
Gambar 2.7 Struktur 2 – Methoxyethanol	37
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	51
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	53
Gambar 4.2 Alur Penelitian	64
Gambar 5.1 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Kadar Testosteron Mencit Yang Terpapar 2-ME	69
Gambar 5.2 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME kategori A	72
Gambar 5.3 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME kategori B	73
Gambar 5.3 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME kategori C	74
Gambar 5.4 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME kategori D	75

## **DAFTAR LAMPIRAN**

- Lampiran 1 Ijin Etika Penelitian.....
- Lampiran 2 Pembuatan Larutan *2-Methoxyethanol*.....
- Lampiran 3 Tabel Konversi dari Ghosh.....
- Lampiran 4 Tahap Pemeriksaan Kadar Testosteron Darah .....
- Lampiran 5 Tabel Pengaruh Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Kadar Testosteron Mencit yang Terpapar 2-ME
- Lampiran 6 Tabel Pengaruh Fraksi Kulit Buah Manggis terhadap persentase motilitas Spermatozoa Mencit yang terpapar
- Lampiran 7 Uji Normalitas Kadar Testosteron.....
- Lampiran 8 Uji Normalitas Persentase Motilitas Spermatozoa .....

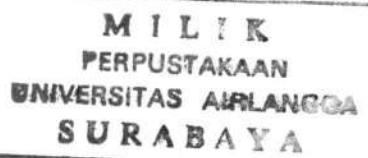
## DAFTAR SINGKATAN

ABP	= Androgen Binding Protein
AD	= <i>Aldehid Dehidrogenase</i>
ANOVA	= <i>Analisis Of Varians</i>
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	= Karbon Tetraklorida Benzena
CCl <sub>4</sub>	= Karbon Tetraklorida
CMC	= <i>Carboxy Methil Cellulosa</i>
CPM	= <i>Count Per-Minute</i>
DHT	= <i>Dehydrotestosterone</i>
DMEP	= <i>Dimethylphthalate</i>
DOPAC	= <i>Dihydroxy Phenyl Lacetic Acid</i>
DPPH	= <i>Difenilpikril Hidrazil</i>
FSH	= <i>Follikul Stimulating Hormone</i>
GnRH	= <i>Gonadotropin Releasingharmone</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	= Hidrogen Peroksida
ICSH	= <i>Interstitial Cell Stimulating Hormone</i>
IUPAC	= <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
KBM	= Kulit Buah Manggis
LH	= <i>Luteining Hormone</i>
MAA	= <i>Methoxycetic Acid</i>
MALD	= <i>Methoxy Acetal Dehyde</i>
MAO	= <i>Monoamine Oxydases</i>
ME	= <i>Methoxyethanol</i>

mRNA	=	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
NE	=	<i>Norepinephrine</i>
O <sub>2</sub> <sup>.</sup>	=	Radikal Superoksida
OH <sup>.</sup>	=	<i>Hydroxyl Radicals</i>
PAE	=	<i>Phthalic Acid Ester</i>
PEI	=	Pasangan Elektron Ikatan
Pmods	=	Petribuler Modifikasi
RAL	=	Rancangan Acak Lengkap
RB	=	Radikal Bebas
RIA	=	<i>Radioimmunoassay</i>
RO <sub>2</sub>	=	<i>Peroxyl Radicals</i>
ROS	=	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SPSS	=	<i>Statistics Package For Social Sciences</i>
VOC	=	<i>Organic Volatile</i>
WHO	=	<i>World Health Organization</i>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### L1 Latar Belakang

Fertilisasi adalah proses peleburan dua gamet (spermatozoa dan ovum) untuk membentuk zigot. Namun tidak semua spermatozoa berhasil membuat ovum. Hal ini dipengaruhi oleh kualitas spermatozoa. Kualitas spermatozoa yang rendah dapat mengganggu proses fertilisasi. Infertilitas pria merupakan masalah yang makin meningkat dalam dekade terakhir ini. Berdasarkan penelitian, di Indonesia sekitar 12% mengalami infertilitas hingga tahun kedua usia pernikahan (Anonim, 2012). Penyebab infertilitas sebanyak 40% berasal dari pria, 40% dari wanita, 10% dari pria dan wanita, dan 10% tidak diketahui (Speroff, 2011). Faktor yang menyebabkan terjadinya infertilitas tersebut antara lain gangguan hormon, infeksi, radiasi, obat atau bahan kimia. Salah satu bahan toksik yang sering digunakan dan diketahui mempengaruhi fertilitas adalah *2-methoxyethanol* (2-ME). Bahan ini sering dijumpai di industri kimia sebagai pelarut cat, tinta, dan vernis, perekat lem, parfum, kosmetik, pelapis porselin, dan bahan pembersih. Selain itu juga digunakan dalam industri kecil, industri kulit, dan industri plastik pembungkus makanan. ( Wang dan Chapin, 2000). Toksisitas *2-methoxyethanol* pada pekerja di industri kimia yang menggunakan *2-methoxyethanol* mempunyai resiko infertilitas 1,73 kali dari pada pekerja lain (shih *et al*, 2003). Pada hewan coba, *2-methoxyethanol* (2-ME) bisa menyebabkan kerusakan sel, abnormal morfologi spermatozoa, atrofi testis, *temporary infertile*, infertil permanen pada hewan coba ( Millar, 1983).

*2-Methoxyethanol* (2-ME) merupakan salah satu hasil metabolit dari *dimethoxyethylphthalate* (DMEP). DMEP ini merupakan salah satu kelompok dari *phthalic acid ester* (PAEs) yang banyak digunakan sebagai *plasticizer* dalam pembuatan plastik. Dalam kehidupan sehari-hari plastik sangat banyak digunakan untuk kepentingan manusia, misalnya untuk peralatan rumah tangga, bahan pengemas, pipa air, barang mainan anak-anak, dan berbagai peralatan kedokteran atau kesehatan. Selain bermanfaat bagi kepentingan manusia, plastik juga dapat menimbulkan dampak negatif. Dampak negatif tersebut selain mencemari lingkungan air, udara, tanah dan lambat terdegradasinya, juga dapat membahayakan kesehatan manusia. Hal ini dapat terjadi karena ikatan PAEs dengan matriks polimer plastik tidak stabil sehingga dapat luruh oleh pelarut organik, dan dapat masuk ke dalam tubuh hewan dan manusia lalu menyebar ke dalam berbagai organ tubuh. Senyawa ini masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman yang dikonsumsi dan telah terkontaminasi atau terserap oleh kulit saat terjadi kontak langsung. Di antara berbagai PAEs, senyawa yang paling toksik adalah DMEP. Selain bersifat teratogenik DMEP dan turunannya, juga merupakan toksikan pada organ reproduksi terutama pada hewan jantan, dengan testis sebagai sasaran utamanya (Butterworth *et al.*, 1995; Berndtson dan Foote, 1997). Di dalam tubuh, DMEP akan dimetabolisme menjadi 2-ME (Moslen *et al.*, 1995).

Kulit buah manggis yang dahulu hanya dibuang saja ternyata menyimpan sebuah harapan untuk dikembangkan sebagai kandidat obat. Kulit buah manggis setelah diteliti ternyata mengandung beberapa senyawa dengan aktivitas farmakologi misalnya antiinflamasi, antihistamin, pengobatan penyakit jantung,

antibakteri, antijamur bahkan untuk pengobatan atau terapi penyakit HIV. Beberapa senyawa utama kandungan kulit buah manggis yang mempunyai aktivitas farmakologi adalah golongan *xanthone*. Zat aktif *xanthone* merangsang regenerasi sel rusak secara cepat sehingga membuat awet muda dan berperan menangkal radikal bebas. Bukan hanya itu, *xanthone* juga bersifat antiproliferasi untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. Karena *xanthone* bersifat apoptosis penghancur sel kanker. *Xanthone* dalam kulit buah manggis juga ampuh mengatasi penyakit *tuberculosis* (TBC), asma, leukemia, antiinflamasi dan anti diare (Sugito, 2003).

Untuk mencegah efek 2-methoxyethanol (2-ME) terhadap kadar testosterone yaitu reaksi oksidasi oleh 2-ME yaitu antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dan diharapkan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa (Showell, *et al.*,2012). Antioksidan merupakan *scavenger* dan menekan efek dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan peroksidasi lipid. Sumber antiokidan antara lain berasal dari tumbuh-tumbuhan ( Marulyananda, 2012 ). Salah satunya adalah menggunakan kulit buah manggis. Kulit buah manggis yang biasanya dibuang ternyata dapat dikembangkan menjadi obat (Nugroho, 2012). Kelompok senyawa *xanthone* yang terkandung dalam kulit buah manggis berfungsi sebagai antioksidan, (Moongkardi *et al.*,2004) yang melaporkan bahwa ekstrak kulit buah manggis berpotensi sebagai antioksidan. *Xanthone* adalah senyawa keton siklik polipenol ( $C_{13} H_{18} O_2$ ). Struktur dasar *Xanthone* terdiri dari tiga benzena dengan satu benzena di tengahnya yang merupakan keton. Hampir semua molekul turunan *xanthone* mempunyai gugus penol, sehingga *xanthone* sering juga disebut polipenol (Peres dan Nagem 2000). Antioksidan ini bekerja

dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Selain itu untuk menangkal terjadinya oksidasi, harus ada proses reduksi yang melibatkan hidrogen. Untuk memastikan terjadinya reduksi, diperlukan senyawa yang berperan sebagai donor hidrogen. Senyawa dengan hidrogen terikat dalam rantai karbon tidak bisa menjadi donor hidrogen, sementara senyawa polifenol seperti *xanthone* bisa menjadi pendonor hidrogen. Terjadinya reduksi yang melibatkan hidrogen akan menghambat terjadinya reaksi oksidasi antara radikal bebas dengan oksigen (oksidasi) sehingga dalam tubuh terjadi keseimbangan.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti akan menganalisis efek fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) berdasarkan tingkat kepolaran baik non polar, semi polar dan polar dapat meningkatkan kadar testosterone dan motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus Balb/c*) yang terpapar 2-*methoxyethanol* (2-ME).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi tingkat kepolaran dan dosis meningkatkan kadar testosterone mencit (*Mus musculus Balb/c*) yang terpapar 2-*methoxyethanol* (2-ME)?
2. Apakah pemberian fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi tingkat kepolaran dan dosis meningkatkan motilitas

spermatozoa mencit (*Mus musculus Balb/c*) yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME)?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan umum dalam penelitian ini adalah ingin mengetahui efek fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi tingkat kepolaran dan dosis terhadap kadar testosterone dan motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus Balb/c*) yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Tujuan khusus pada penelitian ini adalah :

1.3.2.1. Menganalisis pemberian fraksi non polar kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi dosis terhadap kadar testosterone pada mencit yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).

1.3.2.2. Menganalisis pemberian fraksi semi polar kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi dosis terhadap kadar testosterone pada mencit yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).

1.3.2.3. Menganalisis pemberian fraksi polar kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi dosis terhadap kadar testosterone pada mencit yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).

1.3.2.4. Menganalisis pemberian fraksi non polar kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi dosis terhadap motilitas spermatozoa pada mencit yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).

1.3.2.5. Menganalisis pemberian fraksi semi polar kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi dosis terhadap motilitas spermatozoa pada mencit yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).

1.3.2.6. Menganalisis pemberian fraksi polar kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi dosis terhadap motilitas spermatozoa pada mencit yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi tentang efek fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap kadar testosterone dan motilitas spermatozoa, sehingga bisa digunakan sebagai bahan untuk meningkatkan fertilitas.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang manfaat fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) yang sangat besar bagi kesehatan, antara lain dalam penanganan infertilitas.

## 1.5 Risiko Penelitian

### 1.5.1 Risiko Penelitian Bagi Subyek

Pemaparan 2-methoxyethanol (2-ME) yang disengaja pada mencit (*Mus musculus Balb/c*) akan menyebabkan penurunan kadar testosterone dan motilitas spermatozoa hingga dapat menimbulkan gangguan reproduksi pada hewan coba bahkan menimbulkan stres yang berujung pada kematian hewan coba.

### 1.5.2. Risiko Penelitian Bagi Lingkungan

Lingkungan akan tercemar oleh limbah hewan coba apabila limbah tersebut tidak dikelola dengan baik. Limbah sebaiknya di musnahkan dengan cara dibakar, sisa pembakaran dikubur dalam tanah sehingga tidak mencemari lingkungan.

## **BAB II**

## **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tanaman Manggis

##### 2.1.1. Tanaman Manggis

Tanaman manggis merupakan tanaman asli daerah tropis dari Asia Tenggara. Tanaman manggis tumbuh liar di kawasan kepulauan Sunda Besar dan Semenanjung Malaya (Cahyono, 2000)

Tanaman manggis dapat tumbuh pada ketinggian antara 0 – 600 m dpl dengan suhu udara  $25^{\circ}$ - $32^{\circ}$  C, curah hujan antara 1270-2500 mm/tahun, kelembaban sekitar 80% dan intensitas cahaya 40%-70%. Manggis menghendaki tanah berstruktur gembur yang kaya kandungan bahan organik dengan pH tanah 5-7 (Cahyono, 2000)

##### 2.1.2 Habitus dan morfologi tumbuhan manggis

Tanaman manggis merupakan pohon besar dengan tinggi mencapai 25 dan berumur puluhan tahun. Percabangan tanaman simetris membentuk tajuk yang rimbun. Bentuk tajuk pohon bervariasi dari bulat silindris hingga kerucut dengan penyebaran simetris ke semua arah. Diameter tajuk merentang hingga 12 m dan diameter batang pokok mencapai 60 cm (Reza *et al.*, 1994).

Daun tanaman manggis termasuk daun tunggal dan tumbuh berpasangan di sisi ranting. Bentuk daun bulat telur sampai bulat panjang dengan ukuran panjang 13-26 cm dan lebar 6-12 cm. Helai daun kaku, tebal, dan tulang daun menyirip. Permukaan daun bagian atas licin, berlilin,

mengkilat, dan berwarna hijau tua. Permukaan daun bagian bawah berwarna hijau muda pupus. Daun muda yang baru tumbuh berwarna coklat kemerahan (Reza *et al.*, 1994)

Buah manggis berbentuk bulat dan bercupat. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau sedangkan kulit buah yang telah matang berwarna ungu kemerahan. Cupat terdapat di bagian ujung buah yang menunjukkan jumlah segmen buah. Daging buah manggis bersegmen dengan 5-8 segmen, berwarna putih, dan bertekstur halus (Cahyono, 2000).

perkembangbiakan biji manggis melalui penyerbukan yang bersifat vegetatif dan mempunyai sifat serupa dengan induknya. Biji apomiksis merupakan proses reproduksi tanaman dimana pembentukan embrio tidak didahului dengan proses pembuahan (Reza *et al.*, 1994). Gambar manggis dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1. Buah Manggis ( Agoes, 2010 )

### 2.1.3 Sistematika tumbuhan

Menurut Agoes (2010) tanaman manggis mempunyai susunan taksonomi sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta

Sub-divisio : Angiospermae

Class : Dicotyledoneae

Ordo : Guttiferales

Familia : Guttiferae (Clusiaceae)

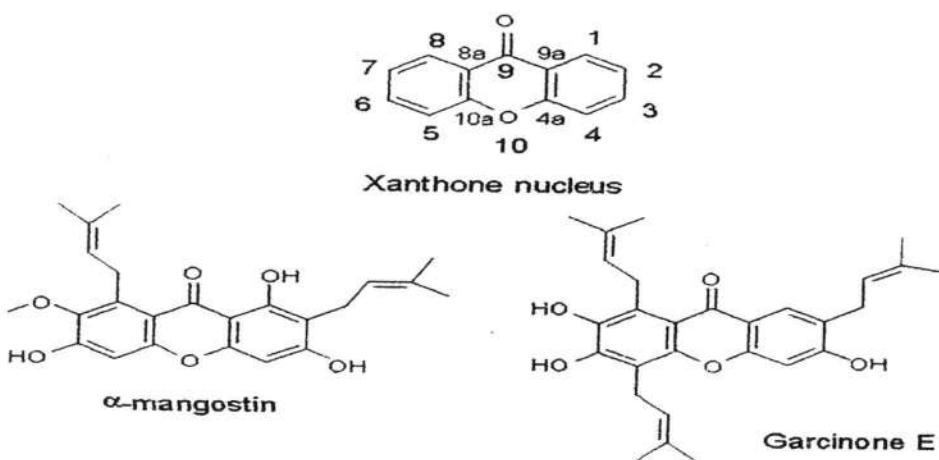
Genus : Garcinia

Spesies : *Garcinia mangostana* L.

### 2.1.4 Khasiat kulit manggis

Digunakan pada berbagai pengobatan di negara India, Myanmar Sri langka, dan Thailand. Secara luas, masyarakat Thailand memanfaatkan kulit buah manggis untuk pengobatan penyakit sariawan, disentri, *cystitis*, diare, *gonorea*, dan eksim (ICUC, 2003).

Banyak penelitian telah membuktikan khasiat kulit buah manggis, diantaranya bahkan menemukan senyawa yang bertanggung jawab terhadap khasiat tersebut. Wong (2013) menyatakan bahwa kandungan senyawa utama manggis adalah senyawa xanton dan turunannya yang mempunyai aktivitas biologi sebagai antibakteri, antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, antiviral, dan dapat menghambat pertumbuhan sel-sel kanker.



Gambar 2.2. Struktur kimia senyawa xanton beserta turunannya (Chaverri *et al.*, 2008).

## 2.2. Organ Reproduksi Jantan

### 2.2.1 Tinjauan umum testis

Alat dan organ kelamin jantan terdiri dari alat kelamin primer berupa sepasang testis dan alat kelamin sekunder berupa kelenjar asesoris yaitu kelenjar bulbourethralis, kelenjar vesikula seminalis, dan kelenjar prostat, serta alat kelamin kopulasi yang disebut penis (Poernomo dkk, 1998).

Testis berkembang dalam rongga abdomen dan dalam keadaan normal berimigrasi ke skrotum selama perkembangan fetus dan agak bervariasi dari spesies mamalia satu ke spesies mamalia yang lain dalam hal bentuk, ukuran, dan lokasi tetapi struktur penyusunan utamanya sama (Frandsen, 1992). Testis terletak pada rongga skrotum dan terbungkus oleh kantung skrotum yang berfungsi menjaga kestabilan suhu testis dan melindungi testis dari trauma benda keras. Pada golongan rodensia (kelinci, tikus, mencit) testis dapat dengan mudah berpindah-pindah dari skrotum ke dalam rongga perut. (Hardjopranto, 1995).

### 2.2.2 Histologi testis

Testis terdiri dari tubulus seminiferus dan sel-sel intestisial/ sel Leydig yang ada di dalam ruang-ruang berbentuk segitiga diantara buli. Interstisium mengandung banyak pembuluh darah dan limfa, namun tubuli sama sekali tidak berpembuluh. Ini berarti bahwa seluruh komponen epitel tubuli harus diberi makan dan dipelihara kebutuhannya akan zat-zat esensial yang diberikan oleh sirkulasi secara difusi. Sel-sel germinal yang paling muda (spermatogonium) terdapat pada permukaan dalam membran basalis dan ditutupi oleh dasar elemen-elemen somatik yang sangat besar yang disebut sel Sertoli. Tunika propria atau dinding tubuli juga mengandung sel-sel seperti otot polos (mioid), berkas-berkas serabut seperti kolagen, dan suatu lapisan luar sel-sel endotel yang melapisi ruang-ruang limfa secara ekstensif yang ada di dalam intersisium. Lumen tubuli mengandung cairan yang mensuspensikan secara khas spermatozoa. Cairan ini secara aktif disekresikan oleh tubuli seminiferi dan rete testis serta dicurahkan oleh duktus deferen ke dalam epididimis. Sekresi dapat dikumpulkan dengan memasukkan kanula ke dalam tubuli atau rete testis. Analisis kimia menunjukkan bahwa komposisinya tidak seperti komposisi plasma darah maupun limfe dari testis (Turner dan Bagnara, 1988).

Sel-sel Sertoli bersama dengan sel-sel mioid peritubuler, menyusun sawar darah testis kira-kira sebanding dengan sawar darah otak. Spermatogonium menduduki kompartemen basal dan dapat terkena paparan hormon-hormon esensial apabila sambungan-sambungan mioid terbuka. Sel-sel germinal lain bergerak ke arah lumen diantara sel-sel sertoli yang

sambung-menyambung. Kompleks sambungan khusus terdapat diantara membran sel-sel sertoli yang berdekatan. Sambungan ini menandai awal kompartemen ada luminal, mengandung spermatosit dan spermatid, serta mengatur komposisi cairan tubuli (Turner dan Bagnara, 1988).

Permukaan luar testis dilapisi tunika vaginalis propria yang merupakan modifikasi dari lapisan peritoneal. Di bagian dalamnya dilapisi tunika albugenia, yang merupakan lapisan tebal yang terdiri dari jaringan ikat fibrosa, yang membungkus jaringan fungsional testis. Lapisan ini membentuk sekat-sekat ke arah dalam yang disebut dengan septula testis. Pada masing-masing lobuli terdapat suatu bentukan yang disebut dengan tubulus seminiferus. Di dalam tubulus seminiferus inilah proses spermatogenesis terbentuk (Poernomo dkk, 1998).

Pada potongan melintang dari testis akan nampak bentukan tubulus yang banyak sekali. Dinding yang ada pada tubulus seminiferus ini terdiri dari tiga lapisan, yaitu dari luar ke dalam adalah tunika propria yang terdiri dari jaringan fibroblastik, lamina basalis, dan lamina epithelium. Lapisan tunika propria ini pada hewan berfungsi sebagai alat transport sel spermatozoa dari tubulus seminiferus ke epididimis dengan berkontraksi, sehingga spermatozoa bisa keluar. Pada lapisan epithelium terdiri dari dua jenis sel yaitu sel Sertoli dan sel germinatif (Frandsen, 1992).

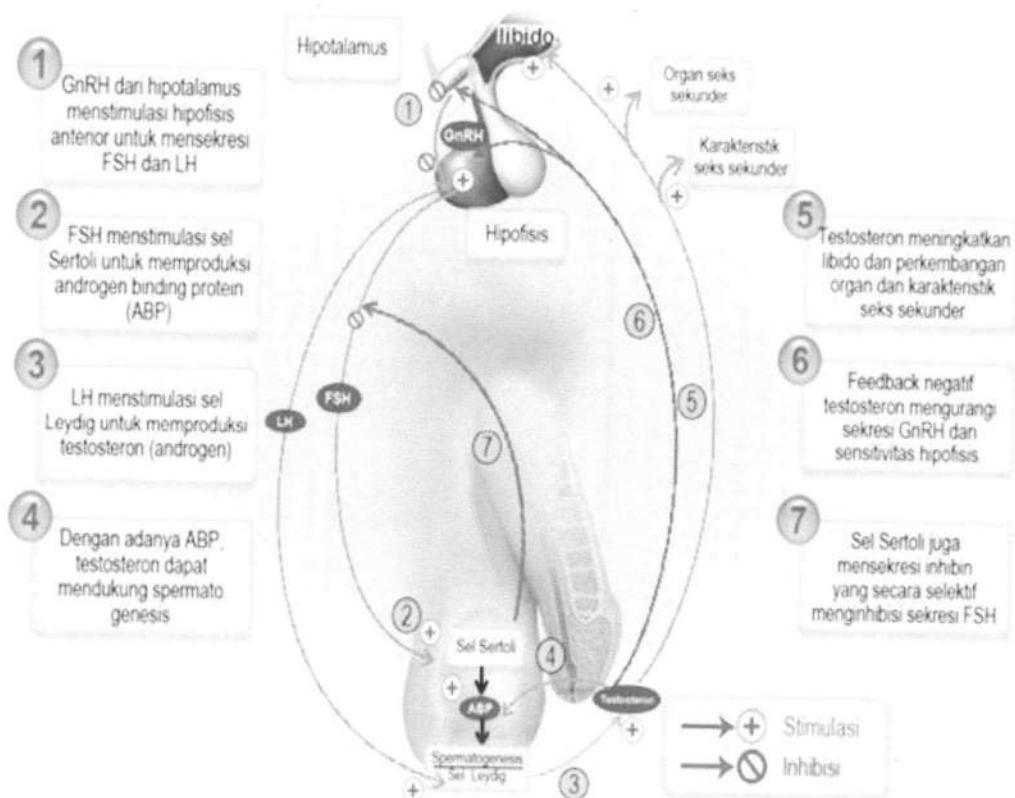
Sel-sel germinal atau sel-sel spermatogenik menyusun suatu lapisan epithelium berlapis pipih empat sampai delapan lapis sel yang meliputi bagian dalam Tubulus Seminiferus. Sel-sel ini mengalami perubahan yang

progresif mulai dari daerah yang meningkat maka sel-sel ini di desak ke arah lumen (Frandsen, 1992).

Sel sertoli mempunyai bentukan yang panjang dan kadang seperti piramid, terletak dekat atau diantara sel-sel germinal. Ada sel lain yang mempunyai peran penting dalam spermatogenesis yaitu sel Leydig yang terdapat di luar tubulus seminiferus (Hadjopranjoto, 1995). Di luar tubulus seminiferus terdapat tenunan peningkat yang disebut dengan sel stoma yang kaya akan pembuluh darah, limfe, sel syaraf, dan sel makrofag.

### 2.2.3 Pengaturan fungsi testis

Testis mempunyai dua fungsi utama yaitu fungsi endokrinologi dan fungsi reproduksi. Fungsi endokrin dari testis yaitu menghasilkan hormon steroid (androgen dan estrogen) dan hormon non steroid (inhibin). Sebagai organ reproduksi, fungsi testis adalah menghasilkan sel kelamin jantan di dalam tubulus seminiferus. Perkembangan dan fungsi testis dipelihara oleh gonadotropin dari kelenjar hipofisis anterior (Hafez, 1993). Hipotalamus dalam sistem reproduksi mamalia berfungsi menghubungkan susunan syaraf pusat dan proses reproduksi dengan jalan mengirimkan sinyal neurohormonal (GnRH) ke hipofisis anterior. Rata-rata frekuensi GnRH adalah satu kali per 90 menit. GnRH meningkatkan pelepasan hormon FSH dan LH dimana LH lebih sensitif terhadap perubahan kadar GnRH. Apabila dosis GnRH dinaikkan akan menyebabkan penurunan sekresi gonadotropin (FSH dan LH). Dapat dilihat pada gambar 2.3 poros hipotalamus-hipofisis-testis.



**Gambar 2.3 Poros Hipotalamus-Hipofisis-Testis (Speroff dan Fritz, 2005).**

Testis dikontrol oleh dua hormon gonad yang disekresi oleh hipofisa anterior yaitu ICSH (*interstitial cell stimulating hormone*) atau LH dan FSH. FSH menstimulir pertumbuhan sel-sel germinatif dari tubulus seminiferus dan mendorong terjadinya proses dan pertumbuhan sel-sel Leydig dalam jaringan interstitial untuk menghasilkan hormon testosteron, yang penting untuk spermatogenesis terutama pada proses pematangan spermatozoa di dalam epididimis, testosteron juga mengontrol sekresi hormon GnRH dan LH melalui mekanisme umpan balik negatif pada hipotalamus dari hipofisis interior (Sherwood dan Lauralee, 2004).

Sel Sertoli merupakan sel target dari FSH dan berfungsi untuk memicu proses spermatogenesis serta memberi makan spermatozoa dan

mempunyai kemampuan memakan spermatozoa yang telah mati atau mengalami degenerasi. Sel Sertoli juga berperan dalam menyediakan lingkungan yang perlu untuk berdiferensiasi dan pematangan sel kelamin, termasuk sekresi ABP sebagai respon terhadap FSH. ABP berfungsi untuk mengangkut dan mengkonsentrasi testosteron ke dalam sel germinal. Sel Sertoli mempunyai dua mekanisme umpan balik negatif. Pertama, dengan membentuk inhibin yang bekerja pada hipofisis anterior. Kedua melalui umpan balik dari testosteron pada hipotalamus (Sherwood dan Laurale, 2004).

Penyuntikan testosteron yang berlebih pada binatang jantan atau betina menghambat sekresi gonadotropin. Penghambatan ini tergantung pada fungsi normal hipotalamus. Oleh karena itu diduga bahwa testosteron yang berlebih akan menghambat perangsangan hipotalamus terhadap kelenjar hipofisis anterior untuk menghasilkan gonadotropin. Efek penghambatan ini jauh lebih nyata pada pembentukan LH dibandingkan FSH, oleh karena itu dapat dengan mudah dilihat bahwa efek penghambatan testosteron ini memberikan sistem pengaturan umpan balik untuk mempertahankan sekresi testosteron pada tingkat yang konstan. Dengan kelebihan testosteron akan menghambat sekresi LH, yang selanjutnya mengurangi sekresi testosteron sehingga kembali ke tingkat normal. Sebaliknya mekanisme juga bekerja berlawanan untuk melindungi terhadap pembentukan testosteron yang terlalu sedikit (Granner, 1985).

Keadaan normal pada poros hipotalamus-hipofisis-testis berpengaruh pada proses spermatogenesis dan steroidogenesis. Berbagai hal

yang dapat mempengaruhi fisiologis poros hipotalamus-hipofisis-testis, akan berpengaruh pada proses spermatogenesis dan steroidogenesis. Oleh karena steroidogenesis dapat mempengaruhi potensi seks pria, maka perubahan fisiologis poros tersebut akan berpengaruh pada potensi seks.

#### 2.2.4 Epididimis

Spermatozoa bergerak dari tubulus seminiferus lewat duktus eferens menuju kepala epididimis. Epididimis merupakan pipa panjang dan berkelok-kelok yang menghubungkan vas eferens pada testis dengan duktus deferens (vas deferens) (Frandsen, 1992).

Kepala epididimis melekat pada bagian ujung dari testis dimana pembuluh-pembuluh darah dan syaraf masuk. Badan epididimis sejajar dengan aksis longitudinal dari testis dan ekor epididimis selanjutnya menjadi duktus deferens yang rangkap dan kembali ke arah kepala, sampai korda spermatic. Epididimis sebagai tempat untuk pematangan spermatozoa sampai pada saat spermatozoa dikeluarkan dengan ejakulasi. Spermatozoa belum masak ketika meninggalkan testikel dan harus mengalami periode pematangan di dalam epididimis sebelum mampu membuahi ovum (Frandsen, 1992).

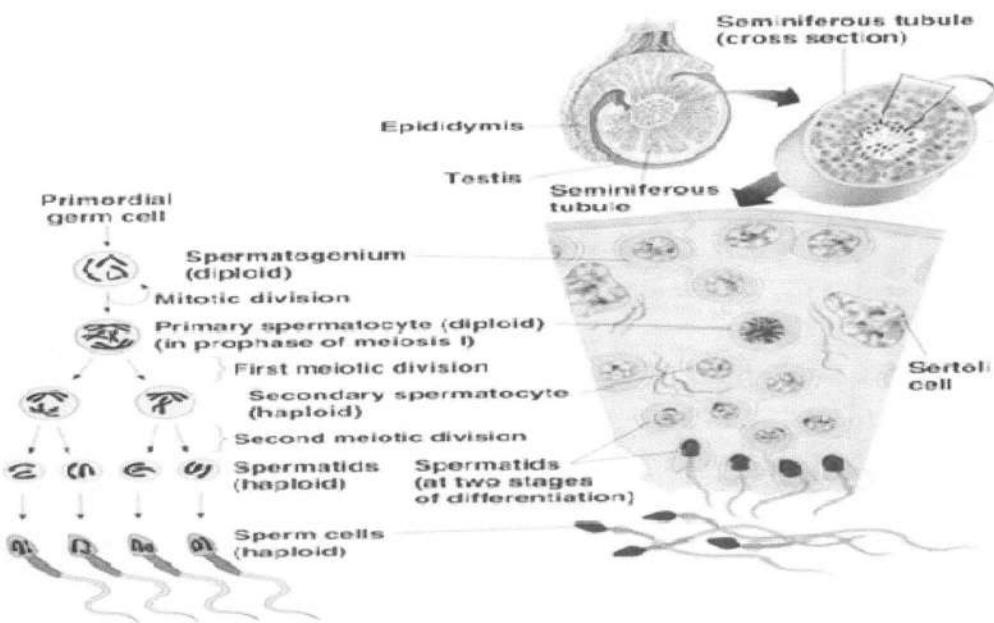
Spermatozoa sangat tergantung pada aktifitas epididimis untuk pergerakannya. Selain itu epididimis mensekresi akrinitin, *glycerophosphorylcholine*, fruktosa, dan glikoprotein yang akhirnya menutupi permukaan spermatozoa. Waktu yang dibutuhkan untuk melewati vas efferen dan epididimis kurang lebih 6-12 hari pada kebanyakan spesies dan sangat dipengaruhi gerakan spermatozoa (Johnson *et al.*, 2000). Jadi

waktu yang diperlukan mencit dari mulai proses perkembangan dan diferensiasi spermatogonium sampai menjadi spermatozoa matang = 34 hari + (6 sampai dengan 12) hari = 40 – 46 hari.

#### 2.2.5 Spermatogenesis

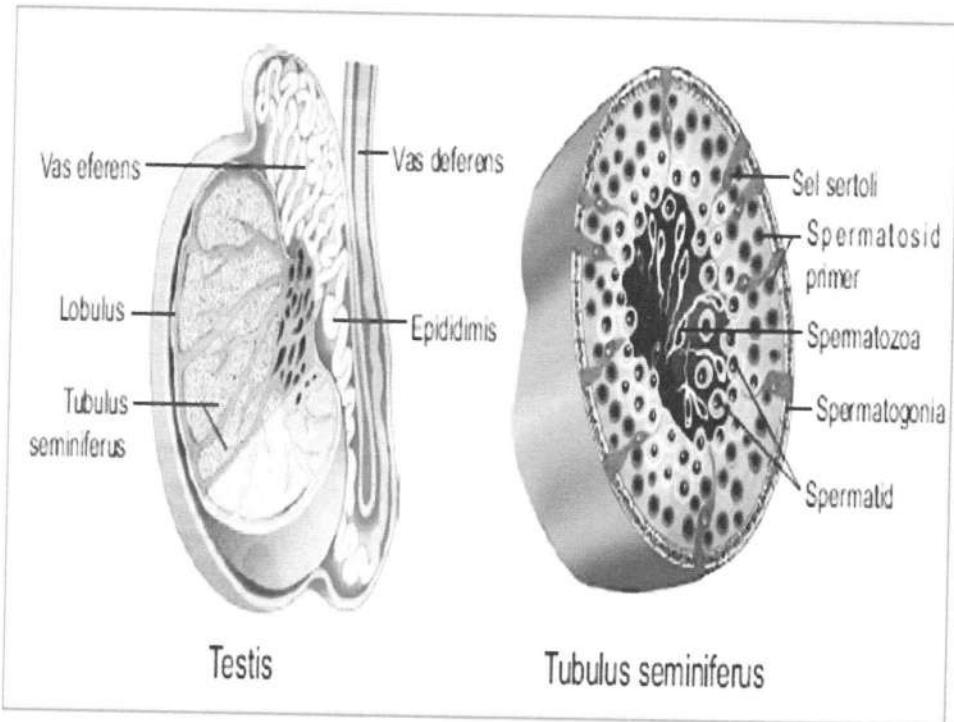
Spermatogenesis adalah proses pembelahan dan perkembangan spermatogenis (*germ cell*) membentuk spermatozoa yang terjadi di dalam testis. Spermatogenesis adalah proses produksi dan maturasi gamet jantan yang berkembang secara progresif dari daerah basal tubulus seminiferus ke arah lumen. Tubulus seminiferus berperan sebagai unit fungsional untuk proses spermatogenesis. Bagian dalam tubulus seminiferus tersusun oleh jaringan ikat, sel somatik, dan sel germinal yang berkembang dengan susunan yang teratur. Sel germinal dalam tahap awal proses spermatogenesis dinamakan spermatogonia yang terletak pada bagian perifer, sedangkan tahap selanjutnya mengarah ke bagian interior hingga ke lumen (Alberts *et al*, 1994). Proses spermatogenesis dibagi menjadi 2 yaitu spermatositogenesis dan spertiogenesis. Proses spermatositogenesis merupakan rangkaian perubahan spermatogonia sampai menjadi spermatid. Spermatogonia merupakan sel bakal spermatozoa. Terletak pada membran basal epithelium tubulus seminiferus, dengan ciri-ciri inti vesikular dengan membran inti yang jelas. Spermatogonia memperbanyak diri (proliferasi) secara kontinyu melalui proses mitosis menghasilkan spermatogonia dalam jumlah besar. Dapat dilihat pada gambar 2.4. tahap perkembangan sel spermatogenik.

Spermatogenesis pada mencit adalah sebagai berikut : Spermatogonium dibedakan 2 tipe yaitu: sel “*dusty*” (spermatogonia tipe A) dan sel “*crusty*” (spermatogonia tipe B). Diantara kedua tipe tersebut terdapat spermatogonis intermedia. **Spermatozogonium A** (sel germinal) mengalami proses pembelahan menjadi spermatogonis A-1 dan spermatogonis A-0 merupakan cadangan dan tidak berkembang sampai terbentuknya spermatosit primer. Selanjutnya spermatogonis A-1 masuk dalam siklus spermatogenesis dan mengalami pembelahan menjadi spermatogonia intermedia. Spermatogonis intermedia akan membelah dan kemudian menjadi lebih besar yang besar yang disebut dengan spermatogonia B. Morfologi Spermatogonia tipe A yaitu inti selnya lonjong, berwarna gelap dan pucat, anak inti letaknya eksentrik dan melekat pada permukaan dalam membran inti. Sedangkan inti spermatogonia tipe B bulat, butir-butir kromatin ada yang berhubungan dengan membran inti, dan anak inti di pusat (Bajpai, 1989). Dibawah ini ada gambaran sel secara histologis tentang perkembangan sel-sel spermatogenik mulai dari spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid.



**Gambar 2.4 Tahap perkembangan sel spermatogenik (Johnson dan Everitt, 2000)**

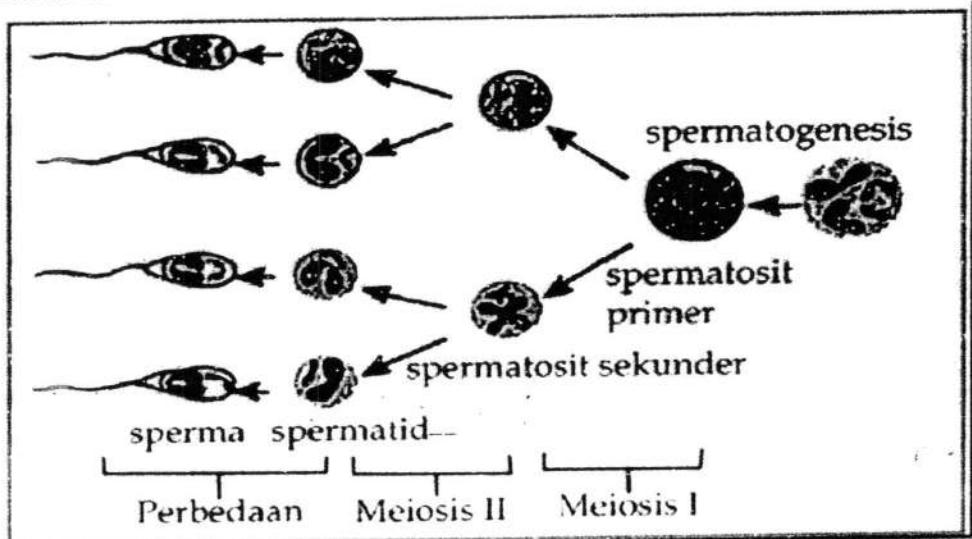
Spermatogonium B akhirnya membelah secara mitosis membentuk spermatosit primer. **Spermatosit primer** merupakan sel benih terbesar, letaknya agak ke tengah lumen tubulus seminiferus dibandingkan dengan spermatogonia. Selnya berbentuk bulat atau bulat telur, dan inti selnya biasanya ada dalam salah satu tingkat profase, terlihat besar dan jelas pada tengah sel. Spermatosit sekunder bentuk selnya lebih kecil dibanding spermatosit primer, inti berbentuk bulat, biasanya sukar ditemukan dalam potongan testis karena dalam tahap interfase yang sangat singkat dan cepat. Spermatosit primer mengalami pembelahan meiosis yang mengakibatkan terjadinya reduksi jumlah kromosom dari diploid menjadi haploid. Jumlah kromosom hanya setengah dari jumlah kromosom spermatosit primer (Junguiera dan Carneiro, 2005). Gambar penampang testis dapat dilihat pada gambar 2.5



Gambar 2.5 Penampang testis (Carneiro, 2005)

Pembelahan meiosis pertama tersebut diawali dengan stadium pra leptoten (spermatozit primer istirahat/tidak aktif), leptoten, zygoten, pakhiten, dan stadium diploten yang akhirnya akan menghasilkan **spermatozit sekunder**. Kemudian memasuki pembelahan meiosis kedua yang menghasilkan spermatid yang haploid. **Spermatid** mempunyai ukuran yang kecil, inti bulat dengan daerah kromatin yang padat, letak dekat dengan bagian tengah tubulus seminiferus (Hafez, 1993). Inti spermatid berada di bagian anterior sel, benda-benda Golgi berkumpul di kutub inti bagian anterior lalu memipih dan membentuk mantel di bagian kutub. Vakuola-vakuola antara mantel dan kutub inilah yang akhirnya membentuk akrosom (Salisbury, 1985) segera setelah spermatid terbentuk akan langsung menempel pada permukaan sel Sertoli. Asosiasi sel pada tahapan siklus

spermatogenesis tikus dengan asosiasi sel spermatid dapat dilihat pada gambar 2.6



**Gambar 2.6 Asosiasi sel pada tahapan siklus spermatogenesis tikus (14 tahap) dengan asosiasi sel spermatid (19 tahap). (Tienhoven, 1983)**

Pada gambar diatas, dapat dijelaskan bahwa akrosom juga memiliki sejumlah enzim yang serupa dengan enzim yang ditemukan pada lisosom diantaranya adalah hialuronidase sebagai enzim proteolitik yang mencerna protein (spermatid tahap 1-8) atau spermatid oval. Inti spermatid berubah bentuk menjadi memanjang dan terletak eksentrik mengarah ke perifer (spermatid tahap 9-13). Sedangkan tahap 9-19 adalah sentriol bergerak ke kutub posterior membentuk flagel/ekor sehingga bentuknya memanjang. (spermatid tahap 14-19). Dari tahap 9-19 adalah spermatid yang memanjang. Jadi spermatid mengalami perubahan menjadi **spermatozoa** melalui proses diferensiasi yang kompleks yang disebut sebagai proses spertiogenesis (Tienhoven, 1983). Speriogenesis merupakan proses metamorfosis dari bentuk spermatid yang bulat menjadi spermatozoa yang berekor. Spermatid berdiferensiasi menjadi spermatozoa meliputi sejumlah transformasi inti dan sitoplasma. Perubahan morfologi yang paling penting

selama proses spermiogenesis adalah pembentukan akrosom, kondensasi, transformasi, dan pergeseran inti ke posisi eksentrik dalam sel, serta terbentuknya ekor yang mampu bergetar.

Tahap siklus spermatogenesis seperti pada gambar 2.6 berada pada masing-masing spesies, pada manusia ada 6 tahap, tikus 14 tahap, dan mencit 12 tahap (Oakberg, 1956; de Kretser, 2002). Asosiasi pada mencit bisa dilihat pada tabel 2.1 dibawah ini.

Tabel 2.1 Ciri-ciri asosiasi sel pada tahapan siklus spermatogenesis mencit (Oakberg, 1956)

Stage		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Spermatogonia	Type A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	Intermediete	In	In	In									
	Type B				B	B	B						
Spermatozit I	First Layer						R	R	R	L	L	Z	P
	Second Layer	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	Dip	Dia M-I
Spermatozit II													S M-II
Spermatid	First Layer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Second Layer	13	14	14	15	15	15	16	16				

Keterangan :

A = spermatogonia type A                    R = restin                    M-II = meiosis kedua

In = intermediate type spermatogonia L = leptotene, Dia = Diakinesis

B = spermatogonia type B                    Z = zygotene

M-I = meiosis pertama                        P = pachytene

S = spermatosit sekunder                      Dip = diploten

Pengulangan tahapan tersebut terjadi pada tempat yang sama dalam tubulus seminiferus dengan interval waktu 8,6 hari pada mencit dan 12,9 hari pada tikus (Franca *et al.*, 1998). Sedangkan proses perubahan sitologik ditunjukkan dengan tahapan perkembangan spermatid menuju dewasa, setiap spesies juga mempunyai tahapan yang berbeda, manusia mempunyai 12 tahap, tikus 19 tahap, dan mencit 16 tahap (De Kretser, 2002).

Menurut Oakberg (1956) sesuai pada tabel 2.5., mengatakan bahwa penentuan jumlah tahapan siklus spermatogenesis pada mencit berdasarkan pada siklus spermatid (spermiogenesis). Dua belas tahapan pertama dari 16 tahapan spermiogenesis digunakan sebagai dasar untuk menentukan 12 tahapan spermatogenesis.

Spermiogenesis dibagi menjadi 4 fase, yaitu **Fase Golgi** ditandai dengan adanya gelembung akrosom dan kraniokaudal yang simetris. Pada **fase cap**, spermatid memanjang dan kromosom tampak lebih berkembang menutup setengah bagian cranial sampai dua pertiga spermatid. **Fase akrosom**, nucleus sel lebih terkondensasi dan sel lebih memanjang. **Fase maturasi spermatid** ditandai dengan estrusi sisa sitoplasma yang disebut sebagai *residual body*. *Residual body* selanjutnya difagositosis oleh sel Sertoli. Setelah melalui keempat fase tersebut, spermatozoa matang siap ditransportasikan ke lumen tubulus sebagai suatu spermiasi (Johnson dan Everitt , 2000).

Proses ini dimulai dengan pembagian sel muda (stem cell) dan diakhiri dengan pembentukan spermatozoa. Waktu yang diperlukan untuk satu siklus spermatogenesis pada setiap spesies berbeda. Menurut

Tienhoven (1968), siklus spermatogenesis mencit (*Mus musculus Balb/c*) adalah 34 hari. Ada teori lain yang mengatakan waktu yang dibutuhkan mencit adalah sekitar 34,5 hari (Weinbauer dan Niesclag, 1999; Oakberg, 1956).

Jadi apabila disimpulkan ada tiga tahap utama yang terjadi dalam spermatogenesis yaitu :

1. Perbanyak spermatogonia melalui mitosis (spermatogenesis).
2. Reduksi jumlah kromosom melalui meiosis.
3. Transformasi sel yang berstruktur kompleks melalui serangkaian perubahan tanpa disertai pembelahan sel (spermiogenesis) (Hafez, 1993).

Spermatozoa tersusun atas tiga bagian pokok. Yaitu kepala yang mengandung kromosom, leher banyak mengandung mitokondria penghasil energi untuk metabolisme dan motilitas spermatozoa, ekor yang berguna dalam pergerakan. Sebagian besar kepala berisi inti. Dua pertiga bagian inti diselaputi tutup akrosom. Jika terjadi pembuahan maka tutup akrosom pecah, dari akrosom keluar enzim-enzim yang terpenting diantaranya hialuronidase dan protease (Yatim, 1994).

#### 2.2.6 Spermatozoa

Spermatozoa normal memiliki kepala, leher, badan, dan ekor. Bagian depan kepala tampak sekitar 2/3 bagian tertutup oleh akrosom. Tempat sambungan dasar akrosom dan kepala disebut cincin nukleus. Antara kepala dan badan terdapat sambungan pendek yaitu leher yang berisi sentriol proksimal, kadang dinyatakan sebagai pusat kinetik aktifitas spermatozoa. Bagian badan dimulai dari leher dan berlanjut ke cincin sentriol. Bagian

badan dan ekor mampu bergerak bebas meskipun tanpa kepala. Ekor membantu mendorong spermatozoa untuk bergerak maju (Johnson dan Everitt, 2000).

Kepala terdapat inti dan akrosom yang dilindungi oleh membran sel, sedangkan bagian ekor dibedakan bagian utama (*middle piece*) yang di dalamnya terdapat mitokondria sebagai organel sel yang menghasilkan energi untuk motilitas, bagian tengah (*principle piece*), dan bagian pangkal (*end piece*) (Hayati, 2011).

Morfologi atau bentuk sel spermatozoa sebagai salah satu parameter mikroskopik kualitas sperma ditentukan selama proses spermatogenesis di tubulus seminiferus dan proses pendewasaan di epididimis. Pada proses spermatogenesis khususnya tahap spermiogenesis merupakan tahap yang menentukan bentuk spermatozoa (Hayati, 2006).

Morfologi spermatozoa yang normal menentukan keberhasilan dalam fertilisasi. Pemeriksaan terhadap morfologi spermatozoa sangat sukar dan tidak konsisten karena parameter ini bersifat subyektif. Menurut Hayati (2006), morfologi spermatozoa dapat mengalami kelainan, yang dibedakan

menjadi kelainan pada bagian kepala meliputi ukuran kepala lebih besar atau lebih kecil, bentuk tidak seperti sabit dan mempunyai dua kepala satu ekor. Selain itu, kelainan pada leher meliputi leher lebih tebal atau bengkok dan kelainan pada ekor meliputi ekor ganda, melingkar dan patah serta adanya *cytoplasmic droplet* (sisa sitoplasma yang melekat) baik pada kepala, leher atau ekor. Penyebab terjadinya kelainan morfologi salah satunya karena adanya penghambatan proses spermiogenesis.

Penghambatan ini terjadi karena kerusakan pada sel spermatogenik dan tidak berfungsi sel Sertoli dalam steroidogenesis (Tirado *et al.*, 2003).

#### 2.2.7 Motilitas spermatozoa

Motilitas adalah unsur yang sangat penting dalam fertilisasi, karena motilitas merupakan salah satu faktor yang menentukan gambaran spermatozoa yang sehat. Motilitas membantu transport spermatozoa untuk mencapai terjadinya fertilisasi. Sifat motilitas spermatozoa akan tampak setelah bercampur dengan sekresi dari kelenjar kelamin aksesoris pada saat ejakulasi. Bagian spermatozoa tikus yang berperan dalam motilitas adalah bagian ekor, karena di dalam ekor ini terdapat banyak mitokondria yang merupakan organel penghasil energi untuk pergerakan berupa ATP. Ekor spermatozoa tersusun atas aksonema yang terdiri atas mikrotubulus dan serabut tebal memanjang yang saling berhubungan, bagian ini menghasilkan gerakan gelombang yang bisa mendorong kepala spermatozoa maju ke depan (Hayati, 2011). Menurut Hayati (2006), kecepatan motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya adalah faktor umur dan obat atau bahan kimia. Motilitas merupakan salah satu faktor yang mengindikasikan spermatozoa yang sehat karena motilitas mendukung transpor spermatozoa untuk mencapai target fertilisasi.

Motilitas spermatozoa dalam saluran reproduksi jantan terjadi secara pasif. Sifat motilitasnya akan tampak setelah bercampur dengan sekresi dari kelenjar aksesoris pada saat ejakulasi. Pendewasaan spermatozoa terjadi pada kauda epididimis (dapat bergerak atau motilitasnya aktif dan tidak ada sisa

sitoplasma yang menempel pada kepala atau leher spermatozoa) serta puncak aktivitasnya tampak pada ejakulat (Syntin dan Robaire, 2001). Faktor-faktor yang mendasari aktivitas ini adalah pergerakan ion-ion, perubahan viskositas medium spermatozoa, alkalinasi sitoplasma, dan peningkatan cAMP intraseluler. Aktifitas motilitas spermatozoa tergantung pada kompleksitas biokimia dalam larutan selama proses ini terjadi. Mengalirnya cairan dari dalam tubulus seminiferus membantu pergerakan spermatozoa dari tubulus menuju vas deferen dan kemudian ke epididimis.

Sekresi sel Sertoli dan kontraksi otot polos peristaltik dalam epididimis juga membantu pergerakannya. Sebagian besar spermatozoa disimpan dalam kauda epididimis dan mampu hidup sampai beberapa bulan dalam keadaan tidak bergerak. Spermatozoa yang tidak mengalami ejakulasi, akhirnya akan mengalami fagositosis dalam epididimis (Aitken, 2000).

Bagian spermatozoa yang berperan dalam motilitas adalah ekor. Ekor spermatozoa terbentuk dari suatu aksonema yang terdiri dari mikrotubulus dan serabut tebal memanjang yang saling berhubungan. Mikrotubulus ini tersusun dengan pola dasar 9+2, yaitu 2 mikrotubulus berada di tengah (*central microtubulus*) dan dikelilingi oleh 9 mikrotubulus ganda yang terdiri dari 2 *sub-fiber* A dan *sub-fiber* B. *Sub-fiber* A merupakan suatu mikrotubulus yang lengkap dengan 13 mikrofilamen. *Sub-fiber* B lebih pendek terdiri dari 10 dan 11 mikrofilamen. Diantara mikrotubulus ganda dan mikrotubulus bagian tengah terdapat *radial spoke*. Keadaan ini yang menyebabkan ekor spermatozoa dapat bergerak membekok, lurus, menyamping, dan menimbulkan gerakan gelombang

sehingga menghasilkan gerakan yang bisa mendorong kepala maju ke depan (Cancel *et al.*, 2000).

Arah pergerakan spermatozoa tikus dibedakan menjadi gerakan progresif (30Hz), hiperaktif (60Hz) dan diantaranya adalah intermediet. Setiap spermatozoa mempunyai kategori motilitas (Cancel *et al.*, 2000).

Berdasarkan WHO (1992), kategori motilitas spermatozoa manusia dibagi menjadi 4 yaitu:

Kategori A : spermatozoa bergerak cepat ke depan

Kategori B : spermatozoa bergerak cepat/lambat dan tidak beraturan  
(tidak ke depan)

Kategori C : spermatozoa bergerak ditempat

Kategori D : spermatozoa tidak bergerak

Dari keempat kategori tersebut, spermatozoa dikatakan normal bila kategori A  $\geq 25\%$  dan  $(A+B) \geq 50\%$  dalam 60 menit setelah dikoleksi.

Gerakan spermatozoa yang dewasa umumnya progresif, tetapi setelah spermatozoa keluar dari *oviduct* gerakannya menjadi cepat atau hiperaktif untuk fungsi penetrasi di kumulus oosit (Cancel *et al.*, 2000).

### 2.3 *Reactive Oxygen Species (ROS)*

Penyebab terjadinya infertilitas selain mutasi gen, abnormalitas kromosom, infeksi, radiasi dan kemoterapi adalah *reactive oxygen species* (ROS). Kualitas biokomia spermatozoa dapat diketahui dengan cara mengukur kadar radikal bebas dan aktivitas peroksidasi lipid. ROS adalah molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya. Senyawa ROS juga dideskripsikan sebagai oksidan, yaitu

molekul yang bersifat labil dan sangat reaktif. Senyawa tersebut sangat reaktif karena mempunyai kecenderungan untuk menarik elektron di lingkungannya serta dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas yang baru. ROS terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion* ( $O_2^-$ ), *hydroxyl radicals* ( $OH^-$ ), dan *peroxyl radicals* ( $RO_2^-$ ), yang non radikal misalnya *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ), dan *organicperoxides* ( $ROOH$ ) (Tremallen, 2008). Senyawa oksigen reaktif ini dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh misalnya pada proses oksidasi makanan menjadi energi. ROS yang paling penting secara biologis dan paling banyak berpengaruh pada sistem reproduksi antara lain *superoxide anion* ( $O_2^-$ ), *hydroxyl radicals* ( $OH^-$ ), *peroxyl radicals* ( $RO_2^-$ ) dan *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ) (Tremallen, 2008).

Sumber ROS atau radikal bebas berasal dari faktor enzimatis (internal) dan faktor non enzimatis (eksternal). Faktor internal meliputi oksidasi enzimatis pada mitokondria, sel fagosit, reaksi dengan logam (Fe), peroksisom, peradangan dan iskemia. Faktor eksternal berasal dari radiasi sinar X, ozon, rokok, polusi udara, obat, pestisida dan bahan kimia atau pelarut yang digunakan di industri. Radikal bebas ini dapat bereaksi dengan komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan di antaranya adalah molekul penyusun membran sel, enzim dan DNA (Hayati, 2011).

## 2.4 Hormon Testosteron

Testosteron berpengaruh terhadap sifat jantan dan untuk mengontrol sifat kelamin sekunder, tingkah laku seksual serta kemampuan fungsional

saluran-saluran reproduksi dan kelenjar assesoris (Turner dan Bagnara, 1988). Testis mensekresi beberapa hormon kelamin pria, yang secara bersama disebut androgen, termasuk testosteron, dehidrotestosteron, dan androstenedion.

Fungsi lain dari testosteron adalah fungsi fisiologisnya dalam testis. Testosteron primata non manusia merupakan penyebab terbentuknya aktin otot halus dalam sel peritubular selama pematangan testikular prapubertas. Efek testosteron dikuatkan secara signifikan oleh FSH, sehingga hormon tersebut dapat dikatakan sebagai salah satu faktor yang terkait secara fisiologis dan bekerja secara lokal dalam testis.

Testosteron menstimulasi produksi faktor-faktor lain dalam sel peritubuler, yaitu senyawa peritubuler modifikasi (PmodS), yang mempengaruhi sekresi produk sel sertoli. Meski PmodS telah terbukti sebagai mediator umum interaksi stroma epitel dan salah satu faktor yang mempengaruhi kerja prostat, namun dampak fisiologisnya bagi sel Sertoli belum banyak data yang mengungkapnya.

Testosteron merupakan androgen paling penting dan paling banyak terdistribusi dalam darah. Pada hewan jantan androgen diproduksi oleh sel interstitial atau sel Leydig dari testis (lebih dari 95%), dan juga korteks adrenal. Selain itu juga dihasilkan oleh sel-sel theka dari folikel de Graaf. Pada kuda juga diproduksi di tubulus seminiferus dan epididimis dalam konsentrasi tinggi (Ismudiono, 1999).

Sintesis androgen bermula dari kolesterol. Kolesterol diubah oleh enzim 17 $\alpha$ -hydroxylase menjadi pregnenolon. Dengan bantuan 3 $\beta$ -HSD,

progesteron disintesis dari pregnenolon. Progesteron dengan dikatalisis oleh enzim-enzim hidroksilase akan diubah menjadi testosterone. Estradiol akan terbentuk setelah testosterone mengalami aromatase dan dengan bantuan 5 $\alpha$ -reduktase, testosterone diubah menjadi dihidrotestosteron (Hayati, 2011). Testosteron jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan lainnya sehingga dapat dianggap sebagai hormon testikular terpenting. Sebagian besar testosterone akan diubah menjadi hormon dehidrotestosteron (Guyton dan Hall, 1996).

Di dalam sel Sertoli, testosterone diikat oleh reseptor sitoplasma membentuk reseptör-T-kompleks, kemudian ditransportasikan ke dalam inti sel dan terikat pada *acceptor site* di kromatin, yang mengakibatkan terjadinya transkripsi *messenger ribonucleatic acid* (mRNA), dan akhirnya dengan proses translasi membentuk protein khusus yang spesifik. Bahan baku untuk protein spesifik berasal dari protein yang diproduksi dari proses pengaruh FSH terhadap sel. Protein spesifik yang dibentuk oleh sel sertoli karena pengaruh testosterone itu adalah ABP. Dengan demikian pembentukan ABP adalah untuk pengendalian androgen. ABP yang diproduksi oleh sel Sertoli mampu mengkonsentrasiakan testosterone yang telah diikat oleh ABP diangkut ke tempat lain, misalnya untuk proses perubahan spermatid menjadi spermatozoa muda. Selain itu juga diangkut ke lain-lain organ, misalnya liver, otak, kulit, dan jaringan lainnya. Peranan testosterone terdapat pada beberapa tahapan spermatogenesis, misalnya meiosis dan aktifitas spermatogonia. Hal ini sesuai dengan pendapat Wodzicka-Tomaszewska, dkk (1991) yang menyatakan bahwa hormon-

hormon yang penting untuk spermatogenesis adalah FSH, LH, dan testosteron.

Telah lama diduga, bahwa kadar testosteron mengikuti siklus diurnal. Selain itu hormon lain juga mengalami perubahan diurnal yang berbeda-beda. Pada manusia konsentrasi testosteron dalam darah menurut circadian rhythm paling tinggi pada pagi hari dan 25% lebih rendah pada sore hari. Konsentrasi testosteron normal pada serum darah perifer manusia antara 12-30 nmol/l (Weinbauer *et al.*, 1996). Ada pendapat lain mengatakan bahwa kadar normal testosteron manusia, laki-laki sekitar 0,5 ng/100 ml. Sedangkan wanita sekitar 0,1 ng/100 ml (Turner dan Bagnara, 1988). Menurut beberapa peneliti terdapat perubahan testosteron dalam 24 jam, yaitu rendah pada sore dan malam hari (16.00 – 01.00), kemudian meningkat perlahan-lahan mencapai puncaknya pada jam (04.00 – 09.00), kemudian berkurang pada sore dan malam hari. Pada penelitian hewan coba tikus, puncak tertinggi kadar testosteron adalah pada jam 03.00 dan 06.00 (Kinson dan Liu, 1973).

Pada penelitian sekresi testosteron bersifat pulsatif dengan amplitudo yang tidak sama antar individu dengan waktu kurang lebih setiap 4 jam. Pola episodik ini disebabkan pengaruh LH yang disekresi secara periodik pula (Nieschlag, 1996). Pada penelitian Nugroho (2004) menyatakan bahwa kadar testosteron mencit pada kondisi normal (kelompok kontrol) 2,38 – 2,45 ng/ml.

## 2.5 Tinjauan tentang *radioimmunoassay* (RIA)

Penggunaan RIA untuk mengukur kadar hormon reproduksi telah banyak dilakukan. Cara uji hormon dengan menerapkan teknik RIA ini merupakan salah satu cara identifikasi hormon secara kuantitatif dengan sensitivitas yang cukup tinggi (nanogram dan picogram) (Mahaputra, 1990). Prinsip dasar teknik RIA fase padat meliputi : penambahan reagen, inkubasi 3-4 jam pada temperatur kamar, dan pembuangan zat-zat yang tidak terikat.

Pemeriksaan kadar testosteron bisa menggunakan teknik RIA. RIA adalah uji penentuan ligand yang menggunakan radioaktif/radionukleotida. Prinsip uji ini berorientasi atas reaksi ikatan Ag+Ab, ditambah persaingan ikatan Ag\* (berlabel) dengan Ab (reseptor). Terjadi persaingan antara ligand (Ag) dengan radioligand (Ag\*) untuk mengikatkan diri pada Ab dengan excess berupa Ag dan Ag\*.



binding complex                    excess

Keterangan : Ag = antigen sampel

Ag\* = antigen berlabel

Ab = antibodi spesifik

Makin banyak kadar hormon dalam sampel semakin sedikit kesempatan radioligand menempatkan diri pada *receptor sir Ab*, sehingga pembacaan dalam penerannya di dalam gamma counter sedikit. Jika kadar hormon sedikit, maka radioligand yang berkaitan dengan antibodi semakin banyak, sehingga pembacaan dalam bentuk *count per minute* (cpm) semakin tinggi. Dibutuhkan binder untuk mengikat free ligand atau binder untuk

mengikat binding complex, sehingga betul-betul dapat dipisahkan dan dibaca dengan gamma counter atau beta counter, sedangkan free ligand/excess dibuang lewat ikatan binder atau cairan pembawa.

RIA ada dua yaitu :

1. RIA fase cair

- a. Menggunakan Tritium ( $^3\text{H}$ ) sebagai tracer/label.
- b. Harus tersedia beta counter karena  $^3\text{H}$  memancarkan sinar  $\beta$
- c. Sifat sinar  $\beta$  adalah gelombang lebih pendek, tidak menembus jaringan (hanya di permukaan kulit saja), tetapi half-life nya panjang hingga lima tahun, sehingga tetap terkontaminasi radioaktif tersebut harus segera di flush dengan air agar tidak menempel di kulit.
- d. Efektifitas pembacaan sinar  $\beta$  pada beta counter hanya berkisar 60-78%, sehingga diperlukan mediator untuk meningkatkan sinar  $\beta$  melalui *scintillation fluid*.
- e. Oleh karena sampel harus diekstraksi terlebih dahulu, maka waktu immunoassay lebih lama (28 jam).
- f. RIA fase cair menimbulkan masalah untuk penyimpanan *waste product* cair yang banyak, waktu proses yang lama, dan sifat yang *inflammable* dan *irritable*.
- g. Harga penera beta counter jauh lebih mahal daripada gamma counter.

2. RIA fase padat

- a. Efektifitasnya pembacaan sinar gamma oleh gamma counter sampai 90% dan tidak memerlukan mediator seperti RIA fase cair.

- b. Radioaktivitasnya hanya bertahan 80 hari sehingga dengan cepat dapat dibuang ke saluran pembuangan tanpa ada efek radioaktifitasnya.
- c. Limbah radioaktif pada RIA fase padat tidak banyak sehingga tidak memakan tempat.
- d. Waktu yang dibutuhkan lebih singkat hanya 3,5 jam sudah selesai 1 batch essay.
- e. Harga gamma counter lebih murah daripada beta counter (Zinaman MJ and Albertson BD, 1996; Handoyo, 2003).

## 2.6 Senyawa 2-Methoxyethanol (2-ME)

Senyawa 2-ME merupakan suatu senyawa kelompok *glycol ether* yang memiliki ikatan *organic volatile* (VOC). 2-ME bersifat mudah terbakar, tidak berwarna, mudah menguap dan memiliki sifat kelarutan yang sangat baik (Johanson, 2000). Senyawa ini adalah hasil hidrolisis metabolit dari *dimethoxy ethilphthalate* (DMEP), DMEP merupakan salah satu turunan dari *phthalic acid ester* (PAEs) yang banyak digunakan sebagai bahan pelentur (*plasticizer*) dalam pembuatan plastik. Jika senyawa DMEP masuk kedalam tubuh manusia akan dihidrolisis menjadi 2-ME yang selanjutnya dioksidasi oleh alkohol dehidrogenase menjadi *2-methoxyacetaldehid* (MALD), kemudian diubah menjadi *methoxyacetic acid* (MAA) oleh aldehid dehidrogenase. Senyawa MAA merupakan bahan toksik dan teratogenik (Moslen *et al.*, 1995).

Senyawa turunan *glycol ether* ini banyak digunakan sebagai pelentur dalam pembuatan plastik (Moslen *et al.*, 1995), dan merupakan bahan

penting dan banyak digunakan sebagai pelarut, biasanya digunakan pada cat, tinta, tiner, smear, pelapis permukaan, percetakan sablon, *photo lithographic processes* dan foto.

Senyawa 2-ME masuk ke dalam tubuh melalui sistem pernafasan, kulit dan sistem pencernaan (Dhalluin *et al.*, 1999). Studi epidemiologi menunjukkan bahwa terhadap manusia, senyawa 2-ME dapat meningkatkan oligospermia sampai azoospermia. Selain itu, dapat mengakibatkan penurunan berat testis dan epididimis, tetapi tidak ada penurunan berat vesikula seminalis. Jumlah dan motilitas spermatozoa menjadi lebih rendah, sedangkan jumlah spermatozoa abnormal meningkat. Diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus menurun, demikian pula persentase tubulus seminiferus normal, sedangkan persentase tubulus seminiferus abnormal meningkat (Moslen *et al.*, 1995). Struktur 2-ME dapat dilihat pada gambar 2.7.



**Gambar 2.7** Struktur 2-Methoxyethanol

Sumber : Dhalluin *et al*, 1999

## 2.7 Fraksinasi

### 2.7.1 Pelarut Non Polar

Pelarut non polar yaitu aksi pelarut dari cairan non polar, seperti hidrokarbon, berbeda dengan zat polar. Pelarut non polar tidak dapat mengurangi gaya tarik-menarik antara ion-ion elektrolit kuat dan lemah, karena tetapan dielektrik pelarut yang rendah (Martin dan Swarbrick, 1990).

Pelarut non polar merupakan senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang rendah dan tidak larut dalam air. Contoh pelarut dari kategori ini adalah benzena ( $C_6H_6$ ), karbon tetraklorida ( $CCl_4$ ) dan dietil eter ( $CH_3CH_2OCH_2CH_3$ ), (Martin dan Swarbrick, 1990).

Pelarut non polar, hampir sama sekali tidak polar. Pelarut ini baik untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar. Senyawa ini baik untuk mengekstrak berbagai jenis minyak.

Polaritas suatu bahan ditentukan dari strukturnya, berdasarkan polaritas ini maka pelarut-pelarut yang ada di alam juga dapat digolongkan. Hal ini dapat membantu pemilihan jenis pelarut yang akan digunakan saat akan melarutkan bahan (Martin dan Swarbrick, 1990).

Terdapat tiga ukuran yang dapat menunjukkan kepolaran dari suatu pelarut yaitu :

- a. Momen dipol
- b. Konstanta dielektrik
- c. Kelarutannya dengan air

Molekul dari pelarut dengan momen dipol yang besar dan konstanta dielektrik yang tinggi termasuk polar. Sedangkan molekul dari pelarut yang memiliki momen dipol yang kecil dan konstanta dielektrik rendah diklasifikasikan sebagai non polar. Sedangkan secara operasional, pelarut yang larut dengan air termasuk polar, sedangkan pelarut yang tidak larut dalam air termasuk non polar (Martin dan Swarbrick, 1990).

Senyawa non polar adalah senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsur yang membentuknya. Hal ini terjadi karena unsur yang berikatan mempunyai nilai elektronegatifitas yang sama atau hampir sama (Martin dan Swarbrick, 1990).

### Ciri-ciri senyawa non polar

- Tidak larut dalam air dan pelarut polar lain
- Tidak memiliki kutub (+) dan kutub (-), akibat meratanya distribusi elektron
- Tidak memiliki pasangan elektron bebas

Senyawa non polar memiliki perbedaan keselektronegatifan yang kecil, bahkan untuk senyawa biner dwiatom (seperti O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>) perbedaan keselektronegatifannya = 0

Bila terdapat senyawa non polar terjadi gaya tarik dipol sesaat (gaya disperse atau gaya london) gaya ini terjadi akibat muatan + inti atom salah satu atom menginduksi elektron atom lain sehingga terjadilah kutub kutub yang sifatnya sesaat (Martin dan Swarbrick, 1990).

### 2.7.2 Pelarut semi polar

Untuk melakukan uji aktivitas antioksidan, dikenal metode DPPH (difenilpikril hidrazil). Zat ini berperan sebagai *electron scavenger* (penangkap elektron) atau *hydrogen radical scavenger* (penangkap radikal hidrogen bebas). Jika suatu senyawa antioksidan direaksikan dengan pelarut semi polar maka senyawa antioksidan tersebut akan menetralkan radikal bebas dari difenilpikril hidrazil. Etil-asetat (pelarut semi polar) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut n-heksan (pelarut non polar), pelarut air dan metanol (pelarut polar), (Martin dan Swarbrick, 1990).

Pelarut semi polar yaitu pelarut semi polar seperti keton dan alcohol dapat menginduksi suatu derajat polaritas tertentu dalam molekul pelarut non polar, sehingga menjadi dapat larut dalam alkohol (Astuti, 2008). Pelarut semi polar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik untuk mendapatkan senyawa-senyawa semi polar dari tumbuhan. Contoh pelarut ini adalah: aseton, etil asetat, kloroform.

Senyawa Semi Polar berupa Senyawa yang terbentuk dengan cara penggunaan bersama pasangan elektron yang berasal dari salah 1 atom yang berikatan (Pasangan Elektron Bebas), sedangkan atom yang lain hanya menerima pasangan elektron yang digunakan bersama (Swarbrick, 1994).

Pasangan elektron ikatan (PEI) yang menyatakan ikatan dativ digambarkan dengan tanda anak panah kecil yang arahnya dari atom donor menuju akseptor pasangan elektron.

Dalam Bidang farmasi, pengetahuan mengenai kecepatan disolusi atau kelarutan sangat diperlukan untuk membantunya memilih medium pelarut yang paling baik untuk obat atau kombinasi obat, membantu mengatasi kesulitan-kesulitan tertentu yang timbul pada waktu pembuatan larutan farmasetis (di bidang farmasi), dan lebih jauh lagi, dapat bertindak sebagai standar atau uji kemurnian (Astuti dkk., 2008). Kelarutan obat dapat dinyatakan dalam beberapa cara. Menurut U. S. Pharmacopeia dan National Formulary, definisi kelarutan obat adalah jumlah ml pelarut dimana akan larut 1 gram zat terlarut (Martin dan Swarbrick, 1990). Sediaan obat yang diberikan secara oral di dalam saluran cerna harus mengalami proses pelepasan dari sediaannya kemudian zat aktif akan melarut dan selanjutnya diabsorpsi. Proses pelepasan zat aktif dari sediaannya dan proses pelarutannya sangat dipengaruhi oleh sifat-sifat kimia dan fisika zat tersebut serta formulasi sediaannya. Salah satu sifat zat aktif yang penting untuk diperhatikan adalah kelarutan karena pada umumnya zat baru diabsorpsi setelah terlarut dalam cairan saluraan cerna. Oleh karena itu salah satu usaha untuk meningkatkan ketersediaan hayati suatu sediaan adalah dengan menaikkan kelarutan zat aktifnya (Astuti, dkk., 2007).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan disolusi suatu zat antara lain adalah : suhu, viskositas, pH, pengadukan, ukuran partikel, polimorfisme dan sifat permukaan zat (Astuti, dkk., 2007).

Dengan semakin meningginya suhu maka akan memperbesar kelarutan suatu zat yang bersifat endotermik serta akan memperbesar harga koefisien zat tersebut. Turunnya viskositas suatu pelarut, juga akan memperbesar kelarutan suatu zat namun pH sangat mempengaruhi kelarutan zat-zat yang bersifat asam maupun basa lemah. Zat yang bersifat basa lemah akan lebih mudah larut jika berada pada suasana asam sedangkan asam lemah akan lebih mudah larut jika berada pada suasana basa. Semakin kecil ukuran partikel, maka luas permukaan zat tersebut akan semakin meningkat sehingga akan mempercepat kelarutan suatu zat. Polimorfisme dan sifat permukaan zat akan sangat mempengaruhi kelarutan suatu zat, adanya polimorfisme seperti struktur internal zat yang berlainan, akan mempengaruhi kelarutan zat tersebut dimana kristal metastabil akan lebih mudah larut daripada bentuk stabilnya. Dengan adanya surfaktan dan sifat permukaan zat yang hidrofob, akan menyebabkan tegangan permukaan antar partikel menurun sehingga zat mudah terbasahi dan lebih mudah larut. Pengaruh pengadukan terhadap kecepatan disolusi atau kelarutan. Dimana secara umum, pengadukan akan menyebabkan tebal lapisan difusi semakin tipis dimana semakin tipis lapisan difusi maka akan mempercepat kelarutan suatu zat (Martin, 1990). Laju disolusi obat secara *in vitro* dipengaruhi beberapa faktor, antara lain: Sifat fisika kimia obat yaitu sifat fisika kimia obat berpengaruh besar terhadap kinetika disolusi. Luas permukaan efektif dapat diperbesar dengan memperkecil ukuran partikel. Laju disolusi akan diperbesar karena kelarutan terjadi pada permukaan solut. Kelarutan obat dalam air juga mempengaruhi laju disolusi. Obat berbentuk garam, pada

umumnya lebih mudah larut dari pada obat berbentuk asam maupun basa bebas. Obat dapat membentuk suatu polimorfi yaitu terdapatnya beberapa kinetika pelarutan yang berbeda meskipun memiliki struktur kimia yang identik. Obat bentuk kristal secara umum lebih keras, kaku dan secara termodinamik lebih stabil daripada bentuk amorf, kondisi ini menyebabkan obat bentuk amorf lebih mudah terdisolusi daripada bentuk kristal (Shargel dan Yu, 1999). Faktor formulasi adalah berbagai macam bahan tambahan yang digunakan pada sediaan obat dapat mempengaruhi kinetika pelarutan obat dengan mempengaruhi tegangan muka antara medium tempat obat melarut dengan bahan obat, ataupun bereaksi secara langsung dengan bahan obat. Penggunaan bahan tambahan yang bersifat hidrofob seperti magnesium stearat, dapat menaikkan tegangan antar muka obat dengan medium disolusi. Beberapa bahan tambahan lain dapat membentuk kompleks dengan bahan obat, misalnya kalsium karbonat dan kalsium sulfat yang membentuk kompleks tidak larut dengan tetrasiklin. Hal ini menyebabkan jumlah obat terdisolusi menjadi lebih sedikit dan berpengaruh pula terhadap jumlah obat yang diabsorpsi (Shargel dan Yu, 1999). Faktor alat dan kondisi lingkungan yaitu adanya perbedaan alat yang digunakan dalam uji disolusi akan menyebabkan perbedaan kecepatan pelarutan obat. Kecepatan pengadukan akan mempengaruhi kecepatan pelarutan obat, semakin cepat pengadukan maka gerakan medium akan semakin cepat sehingga dapat menaikkan kecepatan pelarutan (Swarbrick,1994). Pada Farmakope Indonesia IV dijelaskan bahwa asam salisilat merupakan serbuk hablur halus putih, biasanya berbentuk jarum halus, rasa agak manis,

tajam dan stabil di udara. Bentuk sintetis warna putih dan tidak berbau. Asam salisilat sukar larut dalam air dan dalam benzena, mudah larut dalam etanol dan dalam eter, larut dalam air mendidih dan agak sukar larut dalam kloroform. Penetapan kadar asam salisilat dapat dilakukan dengan titrasi asam basa dengan menggunakan natrium hidroksida dan indikator fenolftalein. asam salisilat larut pada sebagian pelarut polar dan sebagian pada pelarut non polar, tetapi sukar larut dengan sempurna pada pelarut polar saja atau pelarut nonpolar saja karena memiliki gugus polar dan nonpolar sekaligus dalam satu gugus. Sehingga otomatis mudah larut pada pelarut semipolar alkohol dan eter (Shargel dan Yu, 1999).

### 2.7.3 Pelarut polar

Pelarut polar yaitu kelarutan obat sebagian besar disebabkan oleh polaritas dari pelarut, yaitu oleh dipole momennya. Pelarut polar melarutkan zat terlarut ionic dan zat polar lain. Sesuai dengan itu, air bercampur dengan alkohol dalam segala perbandingan dan melarutkan gula dan senyawa polihidroksi yang lain (Astuti,dkk, 2007).

Singkatnya, pelarut polar sebagai air bertindak sebagai pelarut menurut mekanisme berikut ini :

- Disebabkan karena tingginya tetapan dielektrik yaitu sekitar 80 untuk air, pelarut polar mengurangi gaya tarik menarik antara ion dalam Kristal yang bermuatan berlawanan seperti natrium klorida. Kloroform mempunyai tetapan dielektrik 5 dan benzene sekitar 1 atau 2, oleh karena itu senyawa ionic praktis tidak larut dalam pelarut ini. Pelarut polar memecahkan ikatan

kovalen dari elektrolit kuat dengan reaksi asam basa karena pelarut ini amfiprotik. Akhirnya pelarut polar mampu mengolviasi molekul dan ion adanya gaya interaksi dipole, terutama pembentukan ikatan hydrogen, yang menyebabkan kelarutan dari senyawa tersebut. Pelarut polar Memiliki tingkat kepolaran yang tinggi, cocok untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang polar dari tanaman. Pelarut polar cenderung universal digunakan karena biasanya walaupun polar, tetapi dapat menyerap senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah. Salah satu contoh pelarut polar adalah: air, metanol, etanol, asam asetat (Astuti, dkk, 2007)

Senyawa polar adalah senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsurnya. Hal ini terjadi karena unsur yang berikanan tersebut mempunyai nilai keelektronegatifitas yang berbeda (Astuti, dkk, 2007).

### **Ciri-ciri senyawa polar**

1. Dapat larut dalam air dan pelarut polar lain
2. Memiliki kutub (+) dan kutub (-)
3. Memiliki pasangan elektron bebas (bila bentuk molekul diketahui) atau memiliki perbedaan keelektronegatifan.

Senyawa polar memiliki perbedaan keelektronegatifan yang besar, perbedaan harga ini mendorong timbulnya kutub kutub listrik yang permanen (dipol permanent). Jadi antar molekul polar terjadi gaya tarik dipol permanent.

Polaritas pelarut sangat mempengaruhi kelarutan suatu zat. Pelarut polar akan melarutkan zat-zat polar dan ionik, hal ini disebabkan tetapan dielektrik pelarut polar yang tinggi sehingga dapat dengan mudah melarutkan zat-zat yang memiliki tetapan dielektrik yang hampir sama/mendekati. Sedangkan zat yang bersifat non polar sukar larut didalamnya.

Metanol, juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH<sub>3</sub>OH. Metanol (pelarut polar) merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada "keadaan atmosfer" berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan dapat digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan additif bagi etanol industri. Metanol (pelarut polar) memiliki titik beku -97 °C, titik didih 64.7 °C, serta memiliki kekentalan pada suhu 20°C sebesar 0.59 mPa·s. Alkohol juga dapat terbakar pada titik nyala 11 °C (Shargel dan Yu, 1999).

## 2.8 Mencit (*Mus musculus Balb/c*)

Mencit merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80%. Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Armitage, 2004).

Mencit (*Mus muculus Balb/c*) dan tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan omnivora alami, sehat, dan kuat, profilik, kecil, dan jinak. Selain

itu, hewan ini juga mudah didapat dengan harga yang relatif murah dan biaya ransum yang rendah (Armitage, 2004).

Mencit memiliki taksonomi sebagai berikut (Armitage, 2004):

Kingdom	:	Animalia
Filum	:	Chordata
Klas	:	Mamalia
Ordo	:	Rodentia
Famili	:	Muridae
Genus	:	Mus
Spesies	:	<i>Mus musculus</i>

*Mus musculus Balb/c* jantan dan betina muda sukar untuk dibedakan.

*Mus musculus Balb/c* betina dapat dikenali karena jarak yang berdekatan antara lubang anus dan lubang genitalnya. Testis pada *Mus musculus Balb/c* jantan pada saat matang seksual terlihat sangat jelas, berukuran relatif besar dan biasanya tidak tertutup oleh rambut (Armitage, 2004).

## 2.9 Percobaan mencit jantan

Beberapa hewan coba yang digunakan dalam penelitian sebagai model eksperimen antara lain tikus putih, mencit, marmot, kelinci, dan monyet. Selain tikus putih, mencit sering dipakai sebagai hewan coba dalam penelitian. Mencit (*Mus musculus Balb/c*) berukuran kecil, termasuk ukuran organ reproduksinya. Mencit mudah diberi perlakuan, pemeliharaanya, serta siklus reproduksinya singkat, dan susunan organ reproduksi mencit jantan sama dengan manusia.

Mencit memiliki panjang badan (hidung sampai ujung ekor) 7,5-10 cm. Memiliki warna putih hingga coklat, dengan rambut pendek. Pada telinga dan ekornya tidak memiliki rambut. Ukuran ekor kurang lebih hampir sama dengan panjang tubuhnya. Berat badan mencit lahir sekitar 0,5-1 gram. Sedangkan berat badan mencit jantan dewasa 20-40 gram dan mencit betina dewasa 18-35 gram. Waktu dewasa seksual mencit kurang lebih 60 hari, dan usia maksimum mencit adalah 1-2 tahun. Masa kebuntingan mencit 19-21 hari dan jumlah anak yang dilahirkan berkisar antara 6-15 ekor (Armitage, 2004).

Mencit jantan dan betina dapat dibedakan dengan mudah, yaitu dengan mengamati alat kelaminnya. Betina memiliki jarak yang pendek antara anus dan lubang genital eksternanya. Selain itu betina memiliki 5 puting susu yang terlihat jelas (Armitage, 2004).

menangkal terjadinya oksidasi, ada proses reduksi yang melibatkan hidrogen. cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Selain itu untuk efek antiosidan (Chayono, 2000). *Xanthone* sebagai antiosidan bekerja dengan mangostin,  $\gamma$ -mangostin, dan garsinon-E.  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin memiliki mangostin,  $\gamma$ -mangostin, dan garsinon-E.  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin memiliki

Kulit buah manggis mengandung senyawa *Xanthone* yang meliputi  $\alpha$ -

yang sekarang banyak dikembangkan saat ini adalah kulit buah manggis. menurun akibat paparan 2-ME dipertukar anti oksidan. Salah satu antiosidan untuk memperbaiki kadar testosteron dan motilitas spermatozoa yang penurunan).

dan integritas) sehingga memengaruhi motilitas spermatozoa (menyebabkan antiosidan tersebut dieliminasi oleh antiosidan (reaksi kulit buah manggis) akan meningkatkan testosteron dan memengaruhi proses spermatogenesis. 2-ME yang berakibat menurunnya proses spermatogenesis. Sebaliknya jika paparan Apabila terjadi paparan 2-ME menyebabkan kadar testosteron menurun spermatogenesis.

Testosteron diikat oleh ABP masuk ke tubulus semimiferus untuk proses sedangkan sel Sertoli menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*). tesis terdapat sel Sertoli dan sel Leydig. Sel Leydig menghasilkan testosteron 2-ME merupakan senyawa oksidan yang dapat merusak tesis. Di dalam

### 3.1. KERANGKA KONSEPTUAL

#### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

##### BAR 3

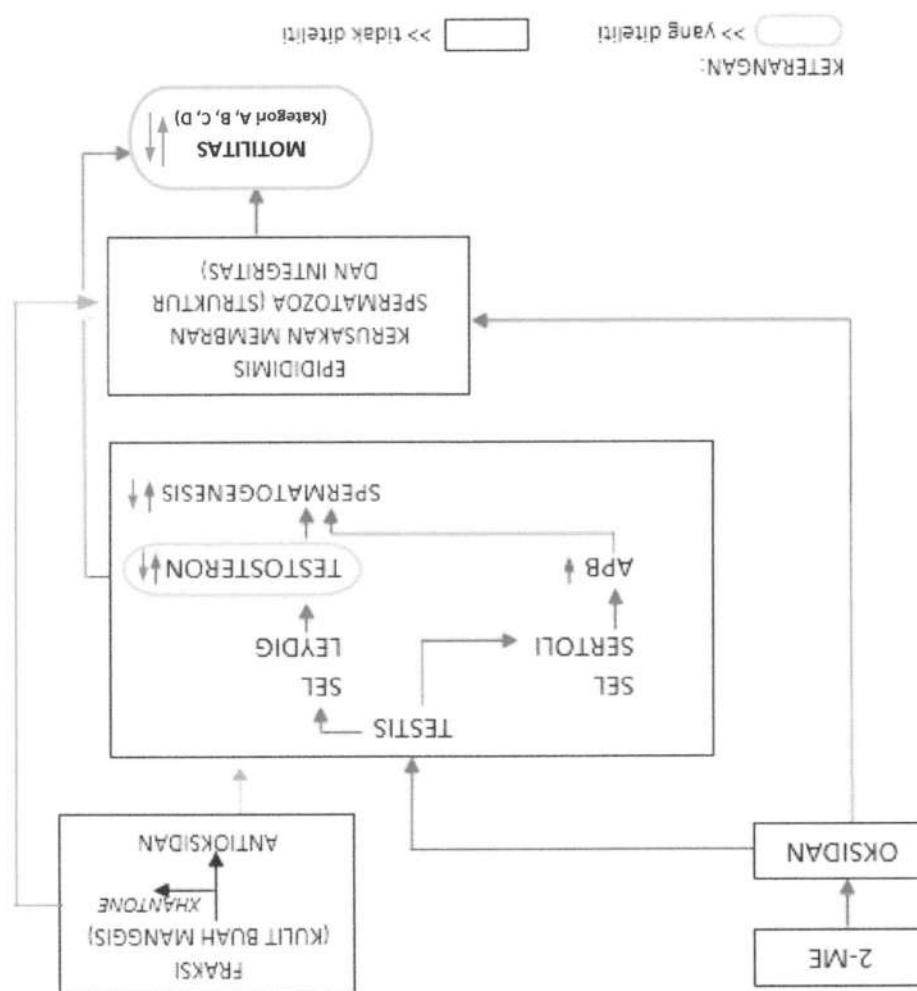


Terjadiinya radikal bebas dengan oksigen (oksidasi) sehingga dalam tubuh terjadi antara radikal bebas dengan oksigen (oksidasi) akan mempengaruhi kesembangan. *Xanthone* yang mengandung antioksidan akan mempengaruhi fungsi testis, dimana sintesis testosteron oleh sel Leydig menjadikan meningkat. Penyekatan testosteron memicu terjadinya spermatogenesis. Pada sel Sertoli, sintesis protein pengikat hormon androgen (ABP) juga meningkat, sehingga terjadi penyekatan testosteron oleh ABP dan selanjutnya disekresikan ke lumen tubulus semimiferus. Keberadaan testosteron ini dapat mempengaruhi maturation pada peningkatan testosteron oleh ABP dan selanjutnya disekresikan ke lumen menyerapkan kader testosteron dan motilitas spermatozoa. Untuk lebih jelas adapata dilihat pada Gambar 3.1. kerangka konseptual penelitian.

- menict (*Mus musculus Balb/c*) yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).
- variasi tingkat kepolaran dan dosis mempengaruhi motilitas spermatozoa
2. Pemberian fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan menict (*Mus musculus Balb/c*) yang terpapar 2-methoxyethanol (2-ME).
  1. Pemberian fraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan variasi tingkat kepolaran dan dosis mempengaruhi kadar testosteron

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Gambar 3.1. Kerangka konseptual penelitian



## **METODE PENELITIAN**

### **BAB IV**

bauh manggisi. Rancangan penelitian diperlukan pada Gambar 4.1.

Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dalam penelitian ini menggunakan enam kelompok perlakuan dengan variasi tingkat kepopuleran dan dosis fraksi kulit kelayakan etik penelitian (*ethical clearance*).

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan nomeraya dengan randomisasi. Sebelum penelitian akan dilakukan uji kontrol, kontrol (-) dan kontrol (+) dan enam kelompok perlakuan. Pemilihan Lengkap (RAL) yang terdiri dari delapan kelompok yaitu dua kelompok Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak kelompok kontrol, yang sebenarnya dipaparkan dalam 2-ME selama 5 hari.

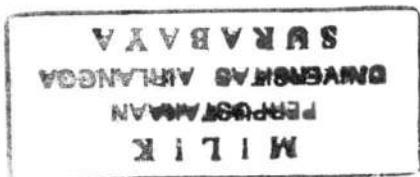
Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak kelompok kontrol, yang sebenarnya dipaparkan dalam 2-ME selama 5 hari.

Manggisi selama 35 hari pada mencit jantan dan dibandingkan dengan Penelitian ini dilakukan dengan memberikan perlakuan fraksi kulit bauh kelompok eksperimen dan kelompok kontrol yang dilakukan di laboratorium.

Jenis penelitian ini adalah true eksperimental laboratory dengan

#### 4.1 Rancangan Penelitian

### METODE PENELITIAN



P2 = Perlakuan dengan 2-ME injeksi 200 mg/kg.bb/hari selama 5 hari

P1 = Perlakuan dengan 2-ME injeksi 200 mg/kg.bb/hari selama 5 hari

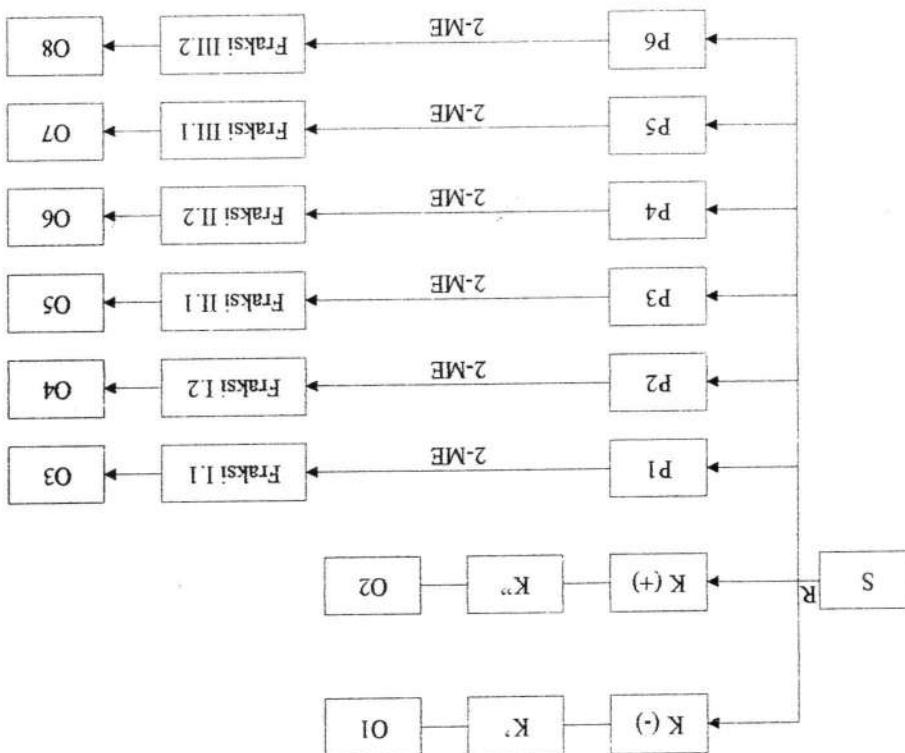
K (+) = Kelompok kontrol positif lama 35 hari kemudian mencit selama 5 hari, dan pembeiran CMC 0,05% sebanyak 0,05 ml

K (-) : perlakuan dengan 2-ME injeksi 200 mg/kg.bb/hari dikorbankan

S = Sampel, R = Random Allocation

Keterangan :

Gambar 4.1. Rancangan Penelitian



$$r \geq 3,143$$

$$r-l \geq 2,143$$

$$7(r-l) \geq 15$$

$$(8-l)(r-l) \geq 15$$

ini ditentukan dengan rumus Kemas (1991) sebagai berikut:

Banyaknya replikasi minimal masing-masing kelompok adalah 4 ekor. Hal

## 4.2.2 Replikasi

Balib/c) dewasa, umur 6-8 minggu, berat badan 25-30 gram.

Untuk eksperimen pada penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*

### 4.2.1. Untuk eksperimen

## 4.2 Untuk Eksperimen dan Replikasi

O1-O8 = Pengamatan kadar tesosteron dan motilitas spermatozoa

P6 = Perlakuan dengan 2-ME injeksi 200 mg/kg.bb/hari selama 5 hari  
dan dilanjutkan dengan traksi polar menggunkakan pelarut metanol kuntil buah manggis secara injeksi sub kutan dengan dosis 2 mg/kg.bb/hari selama 35 hari. Hewan coba pada akhir perlakuan dikorbanakan.

P5 = Perlakuan dengan 2-ME injeksi 200 mg/kg.bb/hari selama 5 hari  
dan dilanjutkan dengan traksi polar menggunkakan pelarut metanol kuntil buah manggis secara injeksi sub kutan dengan dosis 0,4 mg/kg.bb/hari selama 35 hari. Hewan coba pada akhir perlakuan dikorbanakan.

P4 = Perlakuan dengan 2-ME injeksi 200 mg/kg.bb/hari selama 5 hari  
dan dilanjutkan dengan traksi semi polar menggunkakan pelarut etil asetat kuntil buah manggis secara injeksi sub kutan dengan dosis 20 mg/kg.bb/hari selama 35 hari. Hewan coba pada akhir perlakuan dikorbanakan.

P3 = Perlakuan dengan 2-ME injeksi 200 mg/kg.bb/hari selama 5 hari  
dan dilanjutkan dengan traksi semi polar menggunkakan pelarut etil asetat kuntil buah manggis secara injeksi sub kutan dengan dosis 4 mg/kg.bb/hari selama 35 hari. Hewan coba pada akhir perlakuan dikorbanakan.

## Analisis Regresi Linier Sederhana

- a. Variabel tergantung penelitian ini adalah presentase motilitas spermatozoa dan kadar testosteron darah.
- b. Variabel tergantung / dependen  
kultur buah manggis.
- Variabel bebas penelitian ini adalah tingkat kepolaran dan dosis fraksi.
- a. Variabel bebas (variabel independen)
- Variabel dalam penelitian ini adalah :

### 4.3. Variabel Penelitian

adalah 48 ekor mencit.  
kelompok, sehingga jumlah hewan coba yang diperlukan secara keseluruhan

Dari perhitungan dipercaya besar replikasi sebanyak 6 ekor mencit tiap

$r = \text{ujanggan}$

$t = \text{perlakuan}$

Keterangannya :

$$r \geq 5$$

$$r \geq \frac{1-0,2}{1} \times 4$$

drop out, maka jumlah replikasiya :

Kemungkinan hewan coba mati 20% sehingga untuk menjaga kemungkinan

$$\frac{1-f}{f} = 0,2$$

Faktor koreksi (bila ada mencit eksperiment yang luka, sakit, dan mati)

$$r \geq 4 \text{ (pembulatan)}$$

ditandai gerakan aktif, bulu tidak kusam, berat badan tidak turun lebih  
 f. Kesehatan fisik (sehat) adalah kondisi mencit yang sehat dengan  
 diberikan secara injeksi sub kutan selama 35 hari.  
 untuk dosis tinggi 3 mg/kg/hari, 20 mg/kg/hari, 2 mg/kg/hari  
 mg/kg/hari, 4 mg/kg/hari, 0,4 mg/kg/hari dosis rendah sedangkan  
 e. Dosis, cara, dan lama pemberian fraksi kulit manggis adalah 0,6  
 sub kutan di bagian dorsal leher mencit selama 5 hari.  
 2-ME dengan dosis 200 mg/kg.bb/hari yang diberikan secara injeksi  
 d. Dosis, cara dan lama pemberian dan dosis 2-ME adalah bahan toksik  
 nominal

polar yang terbagi menjadi 2 dosis rendah dan tinggi. Skala data :  
 c. Fraksi kulit buah manggis adalah fraksi non polar, semi polar, dan  
 kulit buah manggis adalah fraksi non polar, semi polar, dan  
 kulit buah manggis yang diberikan selama 35 hari secara injeksi sub kutan.  
 b. Jenis dan cara pemberian CMC 0,05% adalah bisa dinyeksi lewat sub  
 buah manggis yang diberikan selama 35 hari secara injeksi sub kutan.  
 a. Lama dan cara pemberian fraksi kulit buah manggis adalah fraksi kulit  
 Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

#### 4.4. Definisi Operasional

mencit, lingkungan kandang dan ukuran kandang.  
 lama pemberian dan dosis 2-ME, kesehatan fisik (sehat), pemberian  
 fraksi kulit buah manggis, jenis dan cara pemberian CMC 0,05%,  
 Variabel kendali penelitian ini meliputi lama dan cara pemberian  
 c. Variabel kendali

- Kemudian disertifuge selama 10 menit  
jantung dengan menggunakan *dissosible syringe* sebanyak 0,1 ml.  
melalui pengambilan darah mencit yang diamobil dari ventikel kiri  
k. Kadar tesstosteron adalah kadar hormon tesstosteron yang dipersiksa  
Skala data : rasio  
B (bergerak lambat), C (gerak di tempat) dan D (tidak bergerak).  
spermatozoa type A (bergerak lurus ke depan/ straight line velocity),  
j. Presentase motilitas spermatozoa adalah presentase jumlah  
kandang, dimana satu kandang berisikan 6 mencit.  
botol tempat air minum dan selangnya dan sekam sebagai alas  
terdiri dari kandang bak plastik, kawat kasar sebagai penutup kandang,  
berukuran 30 cm x 40 cm sebagai tempat pemeliharaan mencit yang  
i. Ukuran kandang mencit adalah ukuran kandang mencit yang  
petang.  
kandang 27-27,5°C dengan simpatik kandang 12 jam terang dan 12 jam  
h. Lingkungan kandang mencit adalah kandang mencit dengan suhu  
yang bersumber dari PDAM Surabaya setiap hari.  
Hi-Pro-Vite 524-2 (PT. Charoen Pokphand, Indonesia) dan minum  
kebutuhan makan dan minumannya, yaitu diberi pakan berupa pellet  
g. Pemeliharaan mencit adalah mencit yang selalu dipersiksa  
rangsangan disekelingnya.  
dari 10% atau naik 10% selama aklimatisasi dan berespon terhadap

Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, untuk pemerkasaan proses fraksinasi kult manggisi dilakukan di Laboratorium layanan terpadu, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. terdiri dari motifas dilakukan di Laboratorium Genetika Molekul, terhadap hewan coba . Lokasi Pengamatan kualitas spermatozoa mencit yang berempat di rumah hewan percobaan untuk pemeliharaan dan perlakuan Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Mei sampai Oktober 2014 yang

#### 4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

cawan petri, mikro tube ukuran 3 ml.

testosteron kit, satu set alat bedah : piset dan gunting steril, papan seksi, mikropipet 100  $\mu$ l dan 1000  $\mu$ l, pengaduk (vortex), tabungreaksi dan rak, timbangan analitik, perangkat perlengkapan pengujian kadar testosteron : cahaya bermikrometer (Nikon), dan stop watch, sput disponibel 1 ml, Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : Mikroskop

#### 4.5.2 Alat penelitian

gram.

dewasa belum pernah kawin, umur 6-8 minggu dan berat badan 25-30 . 0,05%, senyawa 2-ME, garam fisiotogi, mencit (*Mus musculus Balb/c*) Perikrap kult buah manggisi , n-heksan, etil asetat, metanol, CMC

#### 4.5.1 Bahan penelitian

#### 4.5. Bahan dan Alat

mg/ml. Skala data : interval.

pada suhu -20°C sebelum dinatalis kadar testeronnya dalam satuan pada 3000 rpm untuk dipertika serum yang diproleh disimpan

dilarutkan dengan larutan Carboxy Methyl Cellulose (CMC 0,05%).  
 dapat memberikan perlakuan kepada hewan coba, fraksi tersebut  
 memiliki sifat dan selanjutnya di gunakan polar methanol, Kemudian untuk  
 40° Kemudian serbuk di gunakan mendam mengunakannya larutan semipolar  
 selanjutnya dikeringkan dengan mengunakannya freeze dryer pada suhu -  
 proses evaporaasi dengan Rotatory Vacuum Evaporator pada suhu 40°C,  
 caran fraksi kult buah manggis. Caran yang telah dihasilkan dilakukan  
 disaring dengan menggunakan ketas saring, sehingga diproleh berupa  
 dimaserasi dengan larutan n-heksana selama 48 jam. Larutan kemudian  
 dijemur hingga kering ditumbuk hingga serbuk halus. Kemudian serbuk  
 perikarp yang berwarna ungu. Kemudian proses pengisian tips dan  
 pertama memisahkan isi buah manggis dengan kulitnya disebut

#### 4.7.2 Pembuatan fraksi kult manggis

$$\frac{200}{1000} \times 1,04 \text{ cc} = 0,208 \text{ cc 2-ME}$$

Berat jenis aquabidestila : Berat jenis 2-ME = 1,04 : 1  
 Berat jenis aquabidestila : Berat jenis 2-ME = 1 : 0,96  
 Berat jenis 2-ME = 0,96  
 Berat jenis aquabidestila = 1

#### 4.7.1 Pembuatan larutan 2-Methoxyethanol

#### 4.7 Prosedur Penelitian

hewan Universitas Airlangga Surabaya.

kadar testosteron dilakukan di laboratorium kebidanan reproduksi kedokteran

sebelumnya oleh Supadmi (2009), bahwa dengan memberikan dosis 100 mg/kg/bb/hari selama 5 hari. Penentuan ini didasarkan pada penelitian perlakuan dalam penelitian ini adalah setiap hari mencit di injeksi 2-ME Lama perlakuan yang digunakan untuk kelompok kontrol dan

#### 4.7.4 Penentuan lama perlakuan dan dosis 2-ME

mg/kg/bb (dosis rendah) dan 2 mg/kg/bb (dosis tinggi). rendah) dan 20 mg/kg/bb (dosis tinggi), dan dosis fraksi polar adalah 0,4 (dosis tinggi); besar dosis fraksi semi polar adalah 4 mg/kg/bb (dosis dosis fraksi non polar adalah 0,6 mg/kg/bb (dosis rendah) dan 3 mg/kg/bb kulit buah manggis. Berdasarkan perhitungan tersebut dipercaya besar mengeunkan dosis 250 mg/kg sebagai penetrator dengan dosis fraksi sebagaimana penetrator dosis fraksinasi. Pada penelitian ini kulit buah manggis dosis lebih tinggi dari 100 mg/kg dapat digunakan penentuan dosis fraksinasi kulit buah manggis. Sedangkan dosis ekstrak besar dari 100 mg/kg dapat menurunkan kualitas spermatozoa (Hayati, 2014). Dengan demikian dosis 50 mg/kg/bb digunakan sebagaimana penentuan dosis fraksinasi kulit buah manggis. Sedangkan dosis 50 mg/kg dapat meningkatkan kualitas spermatozoa dan dosis yang lebih sebelumnya ditemukan bahwa ekstrak kulit buah manggis dengan dosis polar 67,9 gram dan fraksi polar 7,7 gram. 2928,5. Dari penelitian ekstraknya 2928,5 gram untuk fraksi non polar 10,2 gram, fraksi semi perhitungannya 1 kg sebuk perkarap kulit buah manggis dan didapat berbeda-beda disebabkan karena hasil fraksi yang berbeda-beda dengan Dosis fraksi kulit buah manggis yang didapatkan masin-masin

#### 4.7.3 Penghitungan dosis konversi ekstrak kulit buah manggis

Hewan coba sebelum dilakukan penelitian diaklimasi selama satu minggu. Tempat aklimasi adalah di laboratorium Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya. Tahap awal selama aklimasi hewan coba ditimbang berat badannya. Hewan coba yang mengalami perubahan berat badan kurang lebih 10% tidak sehat diketukuan dari penelitian. Setelah perlakuan terhadap hewan coba berakhir, pembedahan diawalil dengan mengeborgankannya hewan coba dengan cara distokasi os atlas. Desinfeksi dengan alkohol 70% kemudian dibedah dengan cepat untuk diambil testisnya. Pengumpulan spermatozoa dilakukan dengan cara epididimis dan vas deferen dari masing-masing kelompok dipisahkan secara perlahan dari lemak dan testis. Untuk mengeurnagi terjadinya

4.7.6 Tahap persiapan hewan coba

kult buah manggis adalah 35 hari.

Lama pemparan berdasarkan lama siklus spermatogenesis mencapai 34 hari (Tienhoven, 1983) dan ditambah dengan waktu lamanya melewati vas efferen dan epididimis kurang lebih 6-12 hari. Jadi waktu dipertukarannya sel dalam proses perkembangannya dan differensiasi yang sampai menjadi spermatogonium matang =  $34 \text{ hari} + 6$  spermatogonium sampai menjadi spermatogonium matang = 34 hari + 6 hari = 40 hari. Ada teori yang lain yang mengatakan sekitar 51-53 hari (Weinbauer dan Nieschlag, 1999). Waktu tersebut (40 hari) dikurangi dengan lama waktu pemparan 2-ME (5 hari). Jadi lama pemparan fraksi

4.7.5 Penentuan lama perlakuan dan dosis traksi kulit buah manggis

spermatosit primer, spermatid oval, dan kadar testosteron.

mg/kg bb/hari selama 12 hari dapat menurunkan spermatozoidium,

normal bila kategori A  $\geq 25\%$  dan (A+B)  $\geq 50\%$  dalam 60 menit setelah tidak bergerak. Dari keempat kategori tersebut, spermatozoa dikatakan kategori C: spermatozoa bergerak di tempat, kategori D: spermatozoa spermatozoa bergerak cepat/lambat dan tidak beraturan (tidak ke depan), kategori A: spermatozoa bergerak cepat ke depan, kategori B: (1992), kategori motilitas spermatozoa manusia dibagi menjadi 4: persentase motilitas spermatozoa dibedakan 4 kategori berdasarkan WHO Penghitungan persentase motilitas spermatozoa, untuk menghitung

Airlangga.

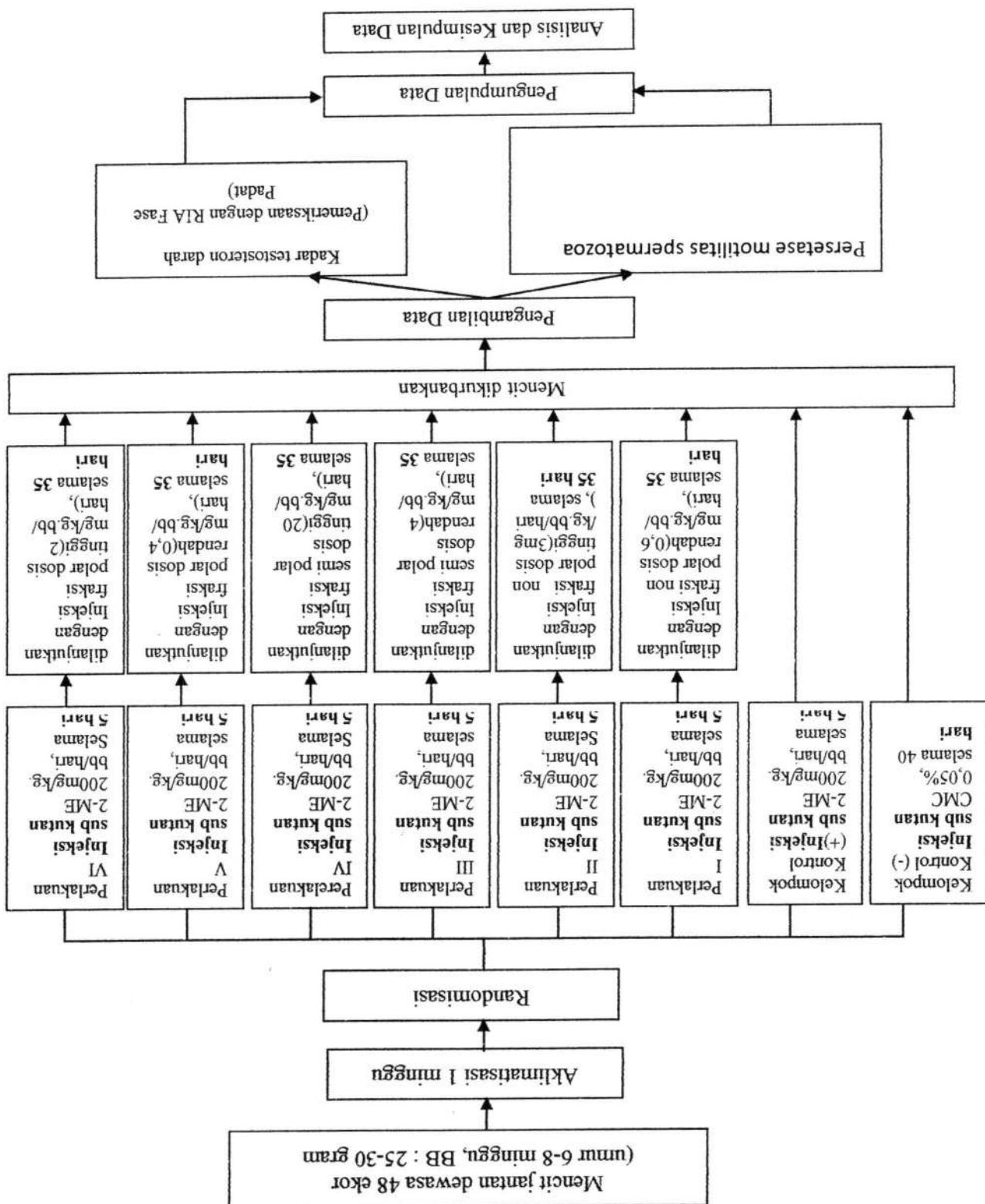
dilakukan di laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Mengunkan teknik RIA fase padat. Pengukuran kadar tesosteron testoseroninya. Secara kuantitatif kadar tesosteron dapat diukur dengan Serum yang dipotong disimpan pada suhu -20°C sebelum dianalisis kadar selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk dipisahkan serumnya. mengunkan *sputum* sebanyak 0,1 ml. Kemudian di sejajarkan serum darah mencit. Darah yang diamplifikasi dari vena kelenjar jantrung dengan tesosteron adalah kadar tesosteron yang diukur melalui pengambilan Pengambilan darah dimulai pukul 06.00 – 09.00 WIB, kadar terbentuk suspensi spermatozoa.

dengan pH 7,2 - 7,4 dengan cara *diffusing* atau di potong kecil sampai di cawan petri yang bersisi 1 ml larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) kauda dari bagian lainnya (kapsul dan korpus) secara pelan, lalu dilebakkan epidiidimis dibersihkan dengan kertas saring. Kemudian dipisahkan bagian kontaminasi dengan cairan darah dan jarinya lainnya, dengan hati-hati

dikoleksi. Penghitungan dilakukan sebanyak 10 kali ulangan setiap mencit. Alur penelitian pengaruh fraksi kultt buah manggis terhadap kadar tesosteron dan motilitas tesosteron dan motilitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-methoxyethanol. Methoxyethanol. Dapat dilihat pada Gambar 4.2 Alur penelitian pengaruh fraksi kultt buah manggis terhadap kadar tesosteron dan motilitas spermatozoa pada mencit yang terpapar 2-methoxyethanol.

#### *Methoxyethanol*

Gambar 4.2 Alur penelitian pengaruh faktor kultus bauh manggisi terhadap kadar tesosteron dan motilitas spermatozoa pada mencit yang terpapar Z-



4.8 Alur Penelitian

4. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara kesamaan matrik varians Kovarians atau tidak. (Sugiono, 2007)

3. Uji homogenitas untuk mengetahui apakah data penelitian ini mempunyai

2. Uji normalitas semua variabel dalam setiap kelompok pada semua

1. Membut tabulasi dengan uji statistik deskriptif untuk mengetahui karakteristik (gambaran rerata, standar deviasi dari hasil pengukuran dari

Dari data yang telah terkumpul diuji dengan menggunakan program SPSS for Windows yang meliputi:

4.8. Cara Pengolahan dan Analisis Data

dilanjutkan dengan LSD untuk mengetahui bermaikan tidaknya beda antara

pasangan perlakuan (Steel dan Torrie, 1991)

**HASIL PENELITIAN**

**BAB V**

terdapat perbedaan dengaan taraf signifikansi  $P < 0,05$ .  
 kelompok kontrol (-) dan kelompok kontrol (+) 2-ME dengaan paparan 2-ME  
 dosis 200 mg/kg memiliki nilai rerata  $0,19 \pm 0,083$  mg/ml, sehingga antara  
 kontrol (-) dengaan rerata  $0,52 \pm 0,147$  mg/ml, kelompok kontrol (+) 2-ME dengaan  
 terhadap kadar tesosteron pada mencit yang terpapar 2-ME pada kelompok  
 Data diatas menunjukkan bahwa pengaruh variasi fraksi kult buah manggis

Keterangan : superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

PERLAKUAN	DOSIS (mg/kg)	Rephiisi (mg/ml)	Kadar Tesosteron (mg/ml)
Kontrol (-)	0	6	$0,52 \pm 0,147^a$
Kontrol (+) (2-ME)	200	6	$0,19 \pm 0,083^b$
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Non Polar	0,6	6	$0,55 \pm 0,395^a$
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Semi Polar	3	6	$0,24 \pm 0,130^b$
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Polar	4	6	$0,88 \pm 0,482^a$
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Semi Polar	20	6	$0,31 \pm 0,108^b$
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Polar	0,4	6	$0,65 \pm 0,243^a$
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Polar	2	6	$0,25 \pm 0,192^b$

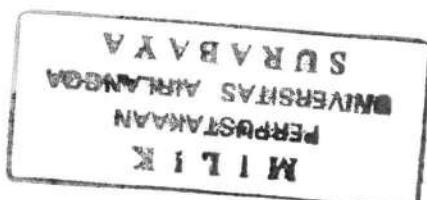
Table 5.1 Pengaruh variasi fraksi kult buah manggis terhadap kadar tesosteron mencit yang terpapar 2-ME

Hasil pengukuran terhadap kadar tesosteron dapat dilihat pada tabel 5.1 :

5.1 Pengaruh Variasi Fraksi Kult Buah Manggis Terhadap Kadar Tesosteron  
 Mencit Yang Terpapar 2-ME

## HASIL PENELITIAN

### BAB V



Pengaruh variasi fraksi kulit buah manggis pada kontrol (+) 2-ME dengan polar dosis rendah tetapi tidak berbeda bermakna dengan fraksi semi polar dosis antara kelompok kontrol (+) 2-ME terdapat perbedaan dengan fraksi polar yang terpapar 2-ME adalah  $0,88 \pm 0,482$  mg/ml, dan  $0,31 \pm 0,108$  mg/ml sehingga fraksi semi polar dosis (rendah dan tinggi) terhadap kadar tesosteron pada mencit yang Pengaruh variasi fraksi kulit buah manggis pada kontrol (+) 2-ME dengan tinggi.

Dari data diatas menunjukkan kadar tesosteron tertinggi terdapat pada berarti terdapat perbedaan yang bermakna kadar tesosteron diantara ke-8 kelompok berbeda dat ke-7 kelompok lainnya. Kelompok kontrol (+) 2-ME berbeda dengan kontrol (+) 2-ME . Kelompok fraksi semi polar dosis rendah paling berbeda dengan kontrol (-) 2-ME . Hasil uji lanjut analisis varians menunjukkan bahwa kelompok kontrol (-) berakuan. Hasil uji lanjut analisis varians menunjukkan bahwa kelompok kontrol (-) polar dosis tinggi (3 mg). Hasil analisis varians dipercaya nilai signifikansi  $p < 0,05$ , fraksi semi polar dosis rendah (4 mg), sedangkan kadar terendah adalah fraksi non fraksi semi polar dosis rendah (0,25 mg/ml) dan  $0,25 \pm 0,192$  mg/ml sehingga terpapar 2-ME adalah  $0,65 \pm 0,243$  mg/ml, dan  $0,25 \pm 0,192$  mg/ml sehingga antara kelompok kontrol (+) 2-ME terdapat perbedaan dengan fraksi polar dosis antara kadar tesosteron pada mencit yang

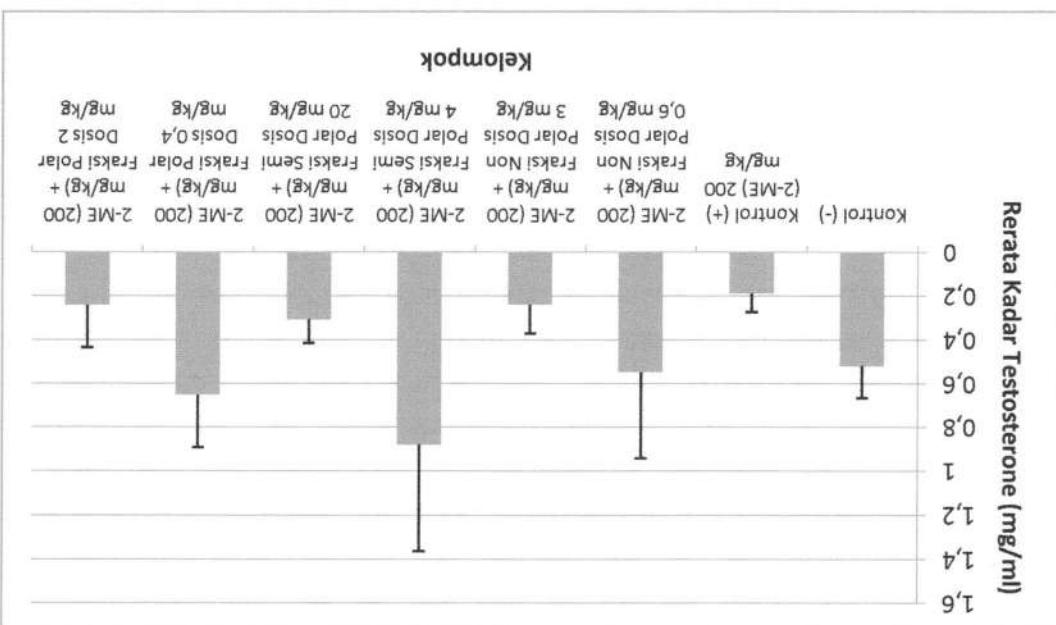
Pengaruh variasi fraksi kulit buah manggis pada kontrol (+) 2-ME dengan polar dosis rendah tetapi tidak berbeda bermakna dengan fraksi semi polar dosis antara kelompok kontrol (+) 2-ME terdapat perbedaan dengan fraksi non polar yang terpapar 2-ME adalah  $0,55 \pm 0,395$  mg/ml, dan  $0,24 \pm 0,130$  mg/ml sehingga fraksi non polar dosis (rendah dan tinggi) terhadap kadar tesosteron pada mencit Pengaruh variasi fraksi kulit buah manggis pada kontrol (+) 2-ME dengan dosis rendah tetapi tidak berbeda bermakna dengan fraksi non polar dosis tinggi.

Antara kelompok kontrol (+) 2-ME terdapat perbedaan dengan fraksi non polar yang terpapar 2-ME adalah  $0,55 \pm 0,395$  mg/ml, dan  $0,24 \pm 0,130$  mg/ml sehingga fraksi non polar dosis (rendah dan tinggi) terhadap kadar tesosteron pada mencit

Hasil pengukuran persentase motilitas spermatozoa dapat dilihat pada tabel

5.2 Pengaruh Variasi Kultur Bahan Manggisi Terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa Mengikti Yang Terpapar 2-ME

Gambar 3.1 Pengaruh variasi fraksi kulin buah manggis terhadap kadar testosteron mengikuti yang terpapar 2-ME



semua fraksi dosis tinggi. Dianalisa fraksi dosis tinggi tidak ada perbedaan yang bermakna. Tabel diatas dapat diliaskan pada gambar 5.1. Pengaruh variasi fraksi kult buah manggis terhadap kadar testosteron mencit yang terpapar 2-ME.

Dari data diatas menunjukkan bahwa pengaruh variasi fraksi kultivasi buah manggis terhadap persentase motilitas spermatozoa yang terpapar 2-ME adalah pada kelompok kontrol (+) 2-ME  $16,48 \pm 1,16\%$ , C  $13,82 \pm 1,92\%$ , D  $12,98 \pm 1,90\%$ , kelompok kontrol (-) 2-ME memiliki nilai rerata kategori A  $33,92 \pm 11,16\%$ , B  $17,87 \pm 3,77\%$ , C  $21,15 \pm 6,51\%$ , D  $27,07 \pm 8,33\%$ , sehingga antara kelompok kontrol (-) dan kelompok kontrol (+) 2-ME terdapat perbedaan pada motilitas A, C, dan D kecuali motilitas B dengan katan taraf signifikansi  $p < 0,05$ , secara statistik memperngaruhi variabel peningkatan persentase motilitas spermatozoa.

PERLAKUAN	DOSIS (mg/kg)	KATEGORI MOTILITAS SPERMATOZOA (a)				motilitas spermatozoa	Keterangan
		A	B	C	D		
Kontrol (-)	0	56,72±3,01 <sup>a</sup>	16,48±1,16 <sup>a</sup>	13,82±1,92 <sup>a</sup>	12,98±1	27,07±4	Penegaruh variasi fraksi kulit buah manggis terhadap persentase
Kontrol (+) (2- ME)	200	33,92±11,16 <sup>b</sup>	17,87±3,77 <sup>a</sup>	21,15±6,51 <sup>b</sup>	12,15±3,47 <sup>a</sup>	14,73±5	+ Fraksi Non Polar + Fraksi Semi Polar + Fraksi Polar
2-ME (200mg/kg)	0,6	57,00±6,91 <sup>a</sup>	16,12±5,75 <sup>ab</sup>	12,15±3,47 <sup>a</sup>	12,50±4	14,02±5	
2-ME (200mg/kg)	4	73,28±1,92 <sup>a</sup>	12,80±1,64 <sup>bc</sup>	6,98±1,54 <sup>b</sup>	6,93±1	13,27±5	
2-ME (200mg/kg)	20	57,77±13,98 <sup>a</sup>	13,55±4,67 <sup>a</sup>	14,67±7,36 <sup>a</sup>	14,02±5	13,27±5	
2-ME (200mg/kg)	0,4	58,07±7,19 <sup>a</sup>	15,92±4,18 <sup>a</sup>	12,75±2,35 <sup>ab</sup>	20,83±4,93 <sup>b</sup>	16,15±5	+ Fraksi Polar

PERLAKUAN	DOSIS (mg/kg)	KATEGORI MOTTILITAS SPERMATOZOA (%)	A	B	C	D
Kontrol (-)	0	56,72±3,01 <sup>a</sup>	16,48±1,16 <sup>a</sup>	13,82±1,92 <sup>a</sup>	12,98±1,90 <sup>a</sup>	
	200	33,92±11,16 <sup>b</sup>	17,87±3,77 <sup>a</sup>	21,15±6,51 <sup>b</sup>	27,07±8,33 <sup>b</sup>	
Kontrol (+) (2-ME)	0,6	57,00±6,91 <sup>a</sup>	16,12±5,75 <sup>ac</sup>	12,15±3,47 <sup>a</sup>	14,73±2,41 <sup>a</sup>	
	3	53,13±4,32 <sup>a</sup>	17,28±3,81 <sup>a</sup>	17,08±4,40 <sup>a</sup>	12,50±4,40 <sup>a</sup>	
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Non Polar	4	73,28±1,92 <sup>a</sup>	12,80±1,64 <sup>bc</sup>	6,98±1,54 <sup>c</sup>	6,93±1,59 <sup>c</sup>	
	20	57,77±13,98 <sup>a</sup>	13,55±4,67 <sup>a</sup>	14,67±7,36 <sup>a</sup>	14,02±5,72 <sup>a</sup>	
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Semi Polar	0,4	58,07±7,19 <sup>a</sup>	15,92±4,18 <sup>a</sup>	12,75±2,35 <sup>ab</sup>	13,27±3,25 <sup>a</sup>	
	2	47,12±8,92 <sup>d</sup>	15,90±2,99 <sup>a</sup>	20,83±4,93 <sup>b</sup>	16,15±3,15 <sup>a</sup>	
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Polar						

Table 5.2 Pengaruh variasi fraksi kultivasi manggis terhadap persentase motilitas spermatozoa

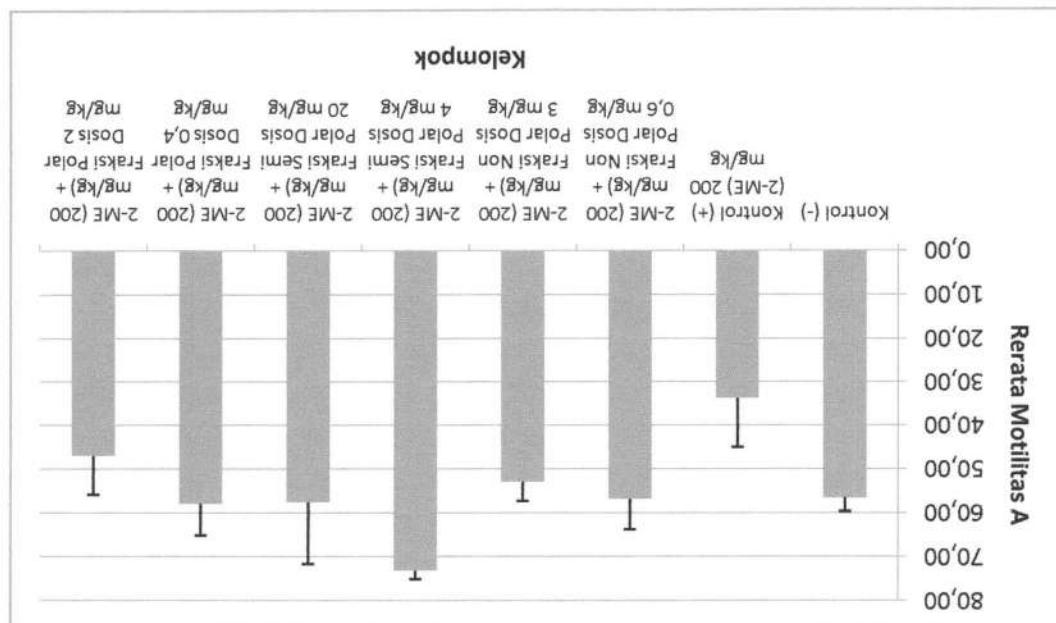
Penegaruh variasi fraksi kultit buah manggis terhadap persentase motilitas  
spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME adalah pada kelompok kontrol (+) 2-ME  
denggan kelompok fraksi polar dosis rendah memilki nilai rerata kategori A 58,07  
± 7,19 %, B 15,92 ± 4,18 %, C 12,75 ± 2,35 %, D 13,27 ± 3,25 %, dan kelompok  
fraksi polar dosis tinggi memilki nilai rerata kategori A 47,12 ± 8,92 %, B 15,90 ±  
2,99 %, C 20,83 ± 4,93 %, D 16,15 ± 3,15 %. Sehingga dapat disimpulkan antara  
kelompok kontrol (+) 2-ME denggan kelompok fraksi polar dosis rendah  
penegaruh variasi fraksi kultit buah manggis terhadap persentase motilitas

tinggi tidak mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas B.  
rendah mengalami perbedaan yang bermakna tetapi pada fraksi semi polar dosis  
antara kelompok kontrol (+) 2-ME denggan kelompok fraksi semi polar dosis  
57,77 ± 13,98 %, C 14,67 ± 7,36 %, D 14,02 ± 5,72 %. Sehingga dapat disimpulkan  
fraksi semi polar dosis tinggi memilki nilai rerata kategori A 57,77 ± 13,98 %, B  
73,28 ± 1,92 %, B 12,80 ± 1,64 %, C 6,98 ± 1,54 %, D 6,93 ± 1,59 %, dan kelompok  
denggan kelompok fraksi semi polar dosis rendah memilki nilai rerata kategori A  
spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME adalah pada kelompok kontrol (+) 2-ME  
Penegaruh variasi fraksi kultit buah manggis terhadap persentase motilitas

mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas B.  
mengalami perbedaan yang bermakna pada motilitas A,C, dan D tetapi tidak  
mengalami perbedaan yang bermakna tetapi pada fraksi non polar dosis tinggi  
kelompok kontrol (+) 2-ME denggan kelompok fraksi non polar dosis rendah  
± 3,81 %, C 17,08 ± 4,40 %, D 12,50 ± 4,40 %. Sehingga dapat disimpulkan antara  
fraksi non polar dosis tinggi memilki nilai rerata kategori A 53,13 ± 4,32 %, B 17,28  
57,00 ± 6,91 %, B 16,12 ± 5,75 %, C 12,15 ± 3,47 %, D 14,73±2,41 %, dan kelompok  
denggan kelompok fraksi non polar dosis rendah memilki nilai rerata kategori A

kelompok fraksi polar dosis tinggi (47,12%). Hasil uji lanjut analisis variian untuk tertinggi pada semi polar dosis rendah (73,28%), sedangkan nilai terendah pada Hasil pengamatan motilitas spermatozoa kategori A didapatkan nilai

Gambar 5.2 Pengaruh variasi fraksi kulit buah manggis terhadap motilitas spermatozoa menurut yang terpapar 2-ME kategori A



kategori A Dapat dilihat pada Gambar 5.2

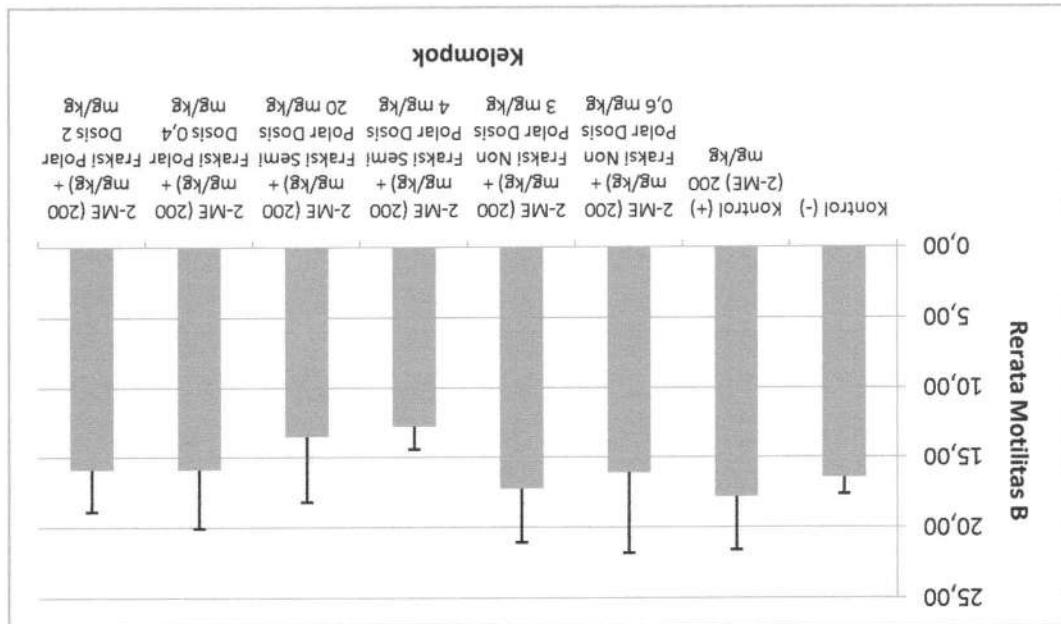
bah manggis terhadap motilitas spermatozoa menurut yang terpapar 2-ME yang bermakna diantara ke-8 kelompok tersebut. Pengaruh variasi fraksi kuilt mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas B dan C. Dapat dilihat pada hasil analisis variian pada tabel 5.2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan spermatozoa.

tabel 5.2 Pengaruh variasi fraksi kuilt buah manggis terhadap persentase motilitas mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas B dan C. Dapat dilihat pada tinggi mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas A dan D tetapi tidak mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas B. Pada fraksi polar dosis tinggi mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas A,C, dan D tetapi tidak mengalami perbedaan yang bermakna pada motilitas A,C, dan D tetapi tidak mengalami perbedaan yang signifikan pada motilitas B.

## Analisis Variasi Fraksi Kultuh Bahan Manggis terhadap Motilitas Spermatozoa

Hasil pengamatan motilitas spermatozoa pada kategori B didapatkan nilai yang hampir sama di antara ke-8 kelompok perlakuan. Nilai tertinggi terdapat pada kelompok fraksi non polar dosis rendah (17,28 %), sedangkan nilai terendah pada kelompok semi polar dosis tinggi (12,80 %). Hasil analisis varians menunjukkan terdapat perbedaan bermakna diantara ke-8 kelompok tersebut. Pengaruh variasi fraksi kultuh buah manggis terhadap motilitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME kategori B dapat dilihat pada Gambar 5.3.

Gambar 5.3 Pengaruh variasi fraksi kultuh buah manggis terhadap motilitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME kategori B

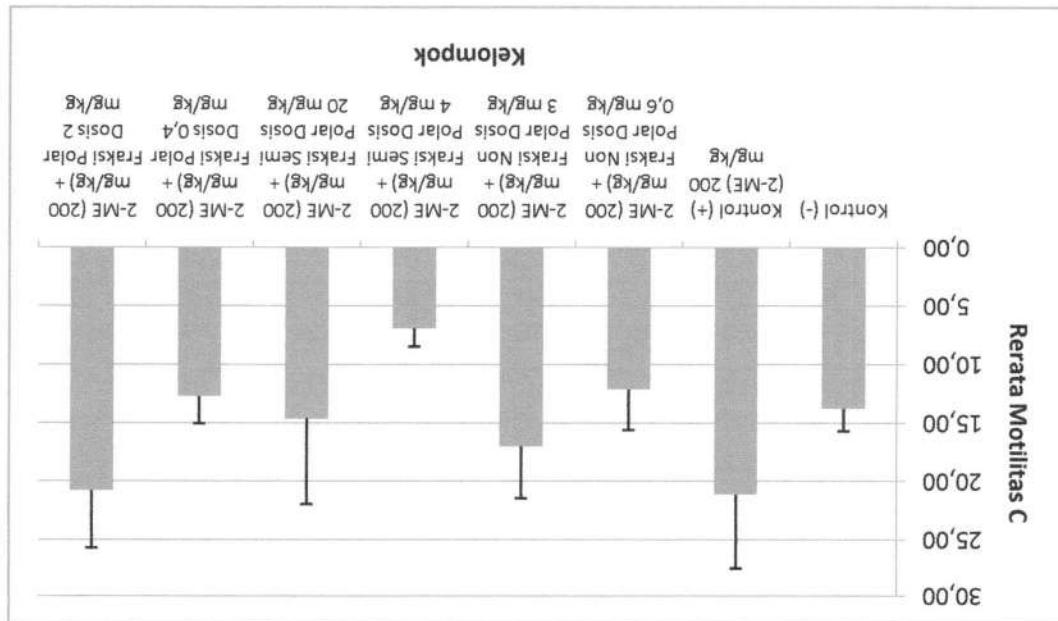


Kategori A didapatkan kelompok kontrol (-) berbeda bermakna dengan kontrol (+) 2-ME, semi polar dosis rendah dan polar dosis tinggi. Kelompok kontrol (+) 2-ME berbeda bermakna dengan ke-7 kelompok lainnya. berbeda bermakna dengan kelompok polar dosis tinggi.

5.4.

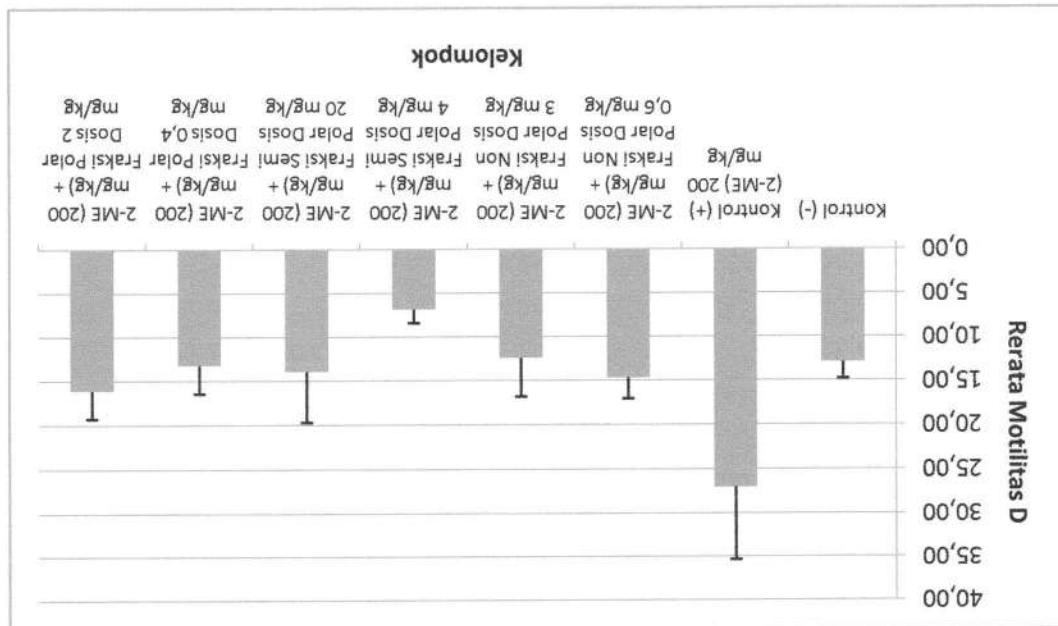
Hasil Pengamatan motilitas spermatozoa pada kategori C didapati nilai tertinggi pada kelompok fraksi polar dosis tinggi (20,83%), sedangkan nilai terendah pada kelompok semi polar dosis rendah (6,98%). Hasil uji Lanjut analisis variian untuk kategori C didapatiakan kelompok kontrol (-) berbeda bermakna denganan kontrol (+) 2-ME, semi polar dosis rendah dan polar dosis tinggi. Kelompok kontrol (+) 2-ME tidak berbeda bermakna denganan kelompok polar dosis tinggi. Pengaruh variasi fraksi kult buah manggis terhadap motilitas spermatozoa menicht yang terpapar 2-ME kategori C dapat dilihat pada Gambar

Gambar 5.4 Pengaruh variasi traksi kulin bahan manggis terhadap mortalitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME katgeori C



Hasil pengamatan motilitas spermatozoa pada kategori D didapati nilai tertinggi pada kelompok fraksi polar dosis tinggi (16,15 %), sedangkan nilai variian untuk kategori D didapatikan kelompok kontrol (-) berbeda bermakna dengan kontrol (+) 2-ME dan kelompok semi polar dosis rendah. Kelompok denغان kontrol (+) 2-ME berbeda bermakna dengan ke-7 kelompok lainnya. Pengaruh kontrol (+) 2-ME variasi kulit buah manggis terhadap motilitas spermatozoa menict yang variasi fraksi kuilt buah manggis terhadap motilitas spermatozoa menict yang

Gambar 5.5. Pengaruh variasi fraksi kuilt buah manggis terhadap motilitas spermatozoa menict yang terpapar 2-ME kategori D



**PEMBAHASAN**

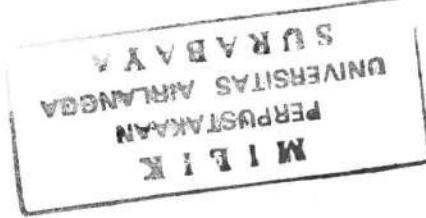
**BAB VI**

ini menimatkakan peroksidasi lipid membran sel. Lenzi *et al* (2000) menyatakan tersebut menyebabkan stress oksidasi pada membran spermatozoa. Stress oksidasi spermatozoa yang abnormal (Yoon *et al*, 2001; Lenzi *et al* (2000). Senyawa 2-ME jantannya menyebabkan kerusakan struktur membran spermatozoa (morfologi bergerak aktif) di epididimis. Tiraodo *et al*, 2003) memparan MAA pada hewan imotil (gerakan yang tidak aktif) dari testis menjadikan spermatozoa motil (*Testosteron* dalam bentuk DHT di perlukan untuk mengubah spermatozoa sekresi ABP dan menurunkan kadar dehydrotestosterone (DHT) di epididimis. bahwasan MAA dapat menyebabkan apoptosis sel Sertoli sehingga menghambat penurunan pada kadar testosteron apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol (-). (Tabel 5.1). Hal ini sesuai dengan penelitian Tiraodo (2003) yang menyatakan spermatogonium, spermatozit primer, dan kadar testosteron mengeunakkan 2-ME dosis 100 mg/kg.bb/hari selama 12 hari dapat menurunkan penelitian (Supadmi, 2009) yang menyatakan kualitas spermatozoa mencit testosteron dan motilitas spermatozoa. Hasil penelitian ini sesuai dengan adanya paparan 2-ME. Hal ini membuktikan bahwa ada penurunan kadar kelompok kontrol (+) 2-ME mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena kadar testosteron pada kelompok kontrol (-) dibandingkan dengan

#### 6.1 Pengaruh Variasi Fraksi Kulit Buah Manggis Terhadap Kadar Testosteron Mengkit (*Mus musculus Balb/c*) Yang Terpapar 2-ME.

## PEMBAHASAN

### BAB VI



bahwa peroksidasi lipid dapat merubah struktur membran sel, menghilangkan integritas membran, dan meningkatkan permeabilitas membran. Kerusakan struktur membran menengaruh fungsi membran spermatozoa. Padahal dalam eksperimen ini ada pengaruh pembenaran bahan toksik 2-ME yang dilanjutkan dengan ekstrak kulit buah manggis dalam dosis kecil (25 dan 50 mg/kg) berpotensi sebagai antioksidan yang dapat memulihkan kerusakan jaringan, namun ketika dosis ekstrak ditingkatkan (100 mg/kg), pembenaran ekstrak jaringan, namun reduksi kadar tesosteron (Hayati, 2014). Hal ini tampak dengan tersebut berpotensi sebagai oksidan (Hayati, 2014). Selain itu untuk menangkal terjadinya reduksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Selain itu senyawa  $\gamma$ -mangostin menghambat fungsi aromatase. Aromatase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis tesosteron menjadi estrogen. Dengan demikian semakin besar dosis ekstrak kulit buah manggis dapat menurunkan hidrogen. Terjadinya reduksi yang melibatkan hidrogen dapat menghambat reaksi hidrogen. Terjadinya reduksi yang melibatkan hidrogen dapat menghambat reaksi hidrogen. Terjadinya reduksi yang melibatkan hidrogen dapat menghambat reaksi hidrogen. Untuk menangkal terjadinya reduksi oksidasi, ada proses reduksi yang melibatkan tindakan caranya memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Selain itu dengan tindakan caranya memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Selain itu dengan tindakan caranya memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Selain itu dengan tindakan caranya memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Selain itu dengan tindakan caranya memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas.

mempunyai rekasi yang sama.

Hal ini dimungkinkan fraksi semi polar dan polar baik dosis rendah maupun tinggi tingkat kepolaran dosis tinggi memiliki kadar tesosteron yang tidak signifikan. dan polar dosis rendah memiliki kadar tesosteron yang signifikan sedangkan pada dilanjutkan dengan ekstrak kulit buah manggis baik fraksi non polar, semi polar pada penelitian ini ada pengaruh pembenaran bahan toksik 2-ME yang

mengarah pada gagalnya fungsi membran spermatozoa.

aktifitas berbagai enzim di membran, sitoplasma dan organel sel sehingga dapat struktur membran menengaruh fungsi permukaan membran dan menghambat bahwa peroksidasi lipid dapat merubah struktur membran sel, menghilangkan integritas membran, dan meningkatkan permeabilitas membran. Kerusakan struktur membran menengaruh fungsi membran spermatozoa.

akar berpengaruh pada jumlah sel spermatogenik. Kelompok perlakuan dengan namun jika adanya bahan oksidan dalam proses spermatogenesis maka sitoplasmata tumbuh menjadil sel terbesar diantara lapisan sel spermatogenik, padah silang antara kromosom yang homolog. Pada tahap ini, inti serta mengalami kerusakan setelah proses meiosis pertama yaitu pada saat terjadinya bahwa sel spermatogenik sangat sensitif terhadap pengaruh luar dan cenderung jumlah spermatosit didukung juga oleh pemiyataan Everett dan Johnson (1990) 2-Methoxyethanol dan fraksi kult buah manggis dengan dosis tinggi. Penurunan Mengurunya jumlah sel spermatogenik yang disebabkan karena pemerkian tidak signifikan pada kategori B dan C.

polar dosis tinggi di adaptakan nilai yang signifikan tetapi didapatkan nilai yang pada kategori B didapatkan nilai yang tidak signifikan, begitu juga pada fraksi signifikan sedangkan dosis tinggi tidak didapatkan nilai signifikan tetapi pada kategori B. Pada fraksi polar dosis rendah didapatkan nilai yang signifikan tetapi signifikan sedangkan dosis tinggi tidak didapatkan nilai signifikan tetram pada nilai yang signifikan, pada fraksi semi polar dosis rendah didapatkan nilai yang dosis rendah didapatkan nilai signifikan sedangkan dosis tinggi tidak didapatkan sedangkan pada kelompok kontrol (+) dibandingkan dengan fraksi non polar spermatozoa mengalami perbedaan yang signifikan kecuali pada kategori B. Padakelompok kontrol (-) dibandingkan (+) pada persentase motilitas sebagai organ primer reproduksi jantan.

## 6.2 Pengaruh Variasi Fraksi Kult Buah Manggis Terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus Balb/c*) Yang Terpapar 2-ME.

Kadar tesosteron. Kadar tesosteron yang terlalu tinggi, tanpa dimbangi oleh negatifive feed back ke hipofisis dan hipotalamus akan mengganggu fungsi testis sebagai organ primer reproduksi jantan.

dosis tinggi dalam penelitian ini, didapati kandungan penutran efek (Pasaribu, et al., 2012). Spermatogenik yang bisa diakibatkan karena ekstrak kulit buah manggis merupakan yang adaptif sel-sel dalam waktu yang lama, maka bersifat oksidan dibentuk dalam dosis tinggi dan dalam kandungan yang adaptif menurunkan kadar merusak sel-sel dalam tubuh. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa yang adaptif merusak sel-sel dalam tubuh. Dosis ekstrak 25 mg/kg meningkatkan kecapatan motilitas, persentase morfologi, dan viabilitas spermatozoa yang menunjukkan adanya peningkatan ini disebabkan oleh kandungan, xanthone di dalam ekstrak kulit buah manggis merupakan antiosidan yang dapat menetralkan radikal bebas (Pasaribu, et al., 2012) namun antiosidan tersebut tampaknya tidak bergerak secara segera efektif pada dosis 50 dan 100 mg/kg karena kemungkinan bersifat toksik dan meningkatkan kadar reaktif oksigen species (ROS) yang tidak dapat dinetralkan oleh antiosidan spermatozoa. Untuk menjaga kualitas sperma tetap baik maka diperlukan adanya kesimbangan antara antiosidan enzimatis dengan antiosidan non enzimatis (Kefter, 2009). Pembenaran fraksi kulit buah manggis dengan dosis ber tingkat penelitian diharapkan dapat meningkatkan persentase motilitas dalam spermatozoa yang disebabkan oleh paparan senyawa 2-ME. Penutran dosis tersebut berlindaskan pada hasil penelitian toksisitas akut maupun sub kronis ekstrak etanol kulit buah manggis selama 28 hari tidak menunjukkan efek toksik yang berarti (Nugroho, 2012). Hal ini sering terjadi pada obat bahan alam, karena komponen senyawa yang dikandungnya tidak tunganjal melainkan terdiri dari berbagai macam senyawa kimia, dimana komponen-komponen tersebut saling bekerjasama untuk menimbulkan efek. Namun dengan peningkatan dosis, jumlah senyawa kimia yang dikandung semakin banyak, sehingga terjadi interaksi berantakan yang menyebabkan penurunan efek (Pasaribu, et al., 2012).

Pembenaran semua fraksi (non polar, semi polar, polar) kultt buah manggis (*Garcinia Mangostana,L*) pada dosis rendah meningkatkan kadar testosteron mencret yang terpapar 2-ME. Pembenaran semua fraksi (non polar, semi polar, polar) kultt buah manggis (*Garcinia Mangostana,L*) pada dosis rendah meningkatkan kadar testosteron mencret yang terpapar 2-ME. Pembenaran semua fraksi (non polar, semi polar, polar) kultt buah manggis (*Garcinia Mangostana,L*) kultt buah manggis (rendah) meningkatkan kadar testosteron mencret yang terpapar 2-ME.

**PENUTUP**

**BAB VII**

- fraksi kulit buah manggis yang berpotensi sebagai antioksidan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bahan aktif dari meningkatkan kadar testosteron
  1. Pemberian fraksi kulit buah manggis dosis rendah selama waktu tertentu dapat meningkatkan kadar testosteron
- Bebberapa saran yang diajukan untuk perbaikan penelitian serupa yang akan datang:

## 7.2 Saran

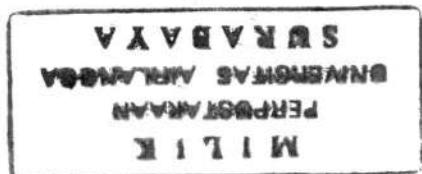
- kategori motilitas B dan C pada mencit yang terpapar 2-ME.
- persentase motilitas spermatozoa kategori motilitas A dan D kecuali dan tinggi) kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana*, L) meningkatkan
2. Pemberian semua fraksi (non polar, semi polar, polar) dan dosis (rendah kadar testosteron mencit yang terpapar 2-ME.
  1. Pemberian semua fraksi (non polar, semi polar, polar) kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana*, L) pada dosis rendah meningkatkan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah:

## 7.1 Kesimpulan

### PENUTUP

### BAB VII



- Cancel AM, D. Labdel, P. Mendol, and SD. Perreault, 2000. Objective evaluation of hyperactivated motility in rat spermatozoa using computer assisted sperm analysis, *Human Reproduction*, 15(6): 1322-1328.
- Chayono, 2000. *Tanaman Menggisi*. Buku 1. Salemba Medika. Jakarta. 59-80.
- Butterworth M, Creasy D, and Timbrell JA, 1995. The detection of subchronic testicular damage using urinary creatinine: studies with 2-methoxyethanol. *Toxicology* 69: 209-11.
- Barone, F., S. Agusanno and A. D'Agostino, 2005. Modulation of MAO-induced Apoptosis in Male Germ Cells : Role of Sertoli Cells P/Q-type Calcium Channel. *Reprod Biol Endocrinol*. Vol. 3, 13.
- Basjapai, 1989. *Histologi Dasar*. Alih bahasa Jan Tambajong, edisi 4. Jakarta. Bimbinga Akhsara, hlm 193-200.
- Astuti, 2008. *Friksimasi Non Polar-Semi Polar dan Polar*, Salemba Medika. Jakarta: pp 230-250.
- Astuti, 2007. *Iktian Kovalen-Non Polar-Semi Polar dan Polar*, Salemba Medika. Jakarta: pp 150-160.
- Armitage, D. 2004. *Mus musculus*. Animal Diversity Web.
- Art YS, 2006. Pengaruh pembenaran epinefrin terhadap proses spermatogenesis dalam kadar tetosisteron menekti (*Mus musculus*). Tesis. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayah.
- Anonim, 2008. Mucuna pruriens information from NPGS/GRIN. Diakses pada tanggal 8 Oktober 2009.
- Anonim, 2012. Infertility. Pp.35-45.
- Anonim, 2014. ChemSpider. Pp.150-155.
- Albererts B, Bray, Lewis, Raff, Roberts, and Watson, 1994. *Molecular Biology of the Cell*, third edition, New York : Garland Publishing Inc, pp 507-521.
- Aitkenen RJ, 2000. Possible redox regulation of sperm motility activation, *Journal of Andrology*, 21(4): 491-496.
- Agus, Ahmad. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Buku 3. Salemba Medika. Jakarta.: 491-496.
- Agoes, Ahmad. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Buku 3. Salemba Medika.

- Chavermi J.P., Rodriguez N.C., Ibarra M.O., dan Rojas J.M.P. 2008. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Journal of Food and Chemistry Toxicology* 46: 3227-3239.
- Costanzo L.S., 2006. *Physiology*. in *Reproductive Physiology*, 3rd edition. Saunders. pp 441-449.
- Cunningham G, 2002. *Textbook of veterinary physiology*, 3<sup>rd</sup> edition. WB. Soinindars Company. Philadelphia pp: 356-357.
- Darjanto dan S. Sastriah. 1990. *Pengantar Biologi Bunya dan Teknik Pengembukan Silang Buatan*. Gramedia. Jakarta. 156 hlm.
- De Kretser DM, 2002. The Tests in Reproduction in mammals. *Hormonal control of reproduction*. CR Austin and RV Short. Cambridge University Press, pp 81-82.
- Dhalium, S., Elias, Z., Diorot, O., Gate, L., Pages, N., Tapiero, H., Vassur, P., dan Nguyem-Ba, G., 1999. Apoptosis inhibition and ornithine decarboxylase superinduction as early epigenetic event in morphological transformation of Syrian hamster embryo cells exposed to 2-methoxyacetaldehyde a metabolite of 2-methoxyethanol. *Toxicology Letters*, 105 (2) :163-175
- Franca LR, T. Ogawa, MR Avarbocck, RL Brinster, and LD. Russell, 1998. Germ Darfman P and de Landomi JH, 1999. *Leyodopa*. Pp 137-140.
- Frandson RD, 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*, terjemahan oleh Singandono, Edisi 4, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hm 774-779.
- Granner DK, 1985. *Hormon kelenan*. Biokimia Harper. Edisi 20. Jakarta, Penerbit buku kedokteran EGC. Hlm.633-650.
- Guyton and Hall, 1996. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Buku Kedokteran. Hlm.1265-1270.
- Hafez E S and Gammie, 1993. *Spermatozoa and seminal plasma in Hafez E.S.E.* Alianaga University Press, Hlm 62-72.
- Handoyo I, 2003. *Pengantar Immunasi dasar*. Cetakan Pertama, Surabaya: Alianaga University Press.
- Hasanah, I.W. 2009. *Pengaruh Elstrak Daun Pegagan (Centella asiatica Terhadap Spermogenesis Menict (Mus musculus)*. Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim : Malang.

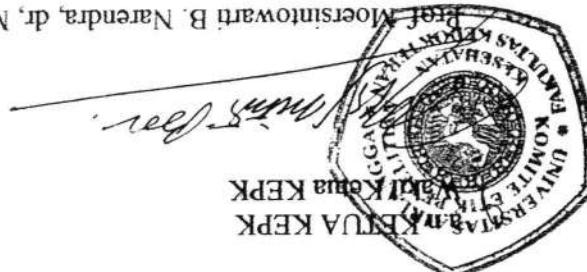
- Hayati, A., 2006, Kajian Kualitas dan Protein Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) Akibat Pemparan 2-Methoxyethanol, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hayati, A., 2007, Kajian Kualitas dan Protein Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) Akibat Pemparan 2-Methoxyethanol. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hayati, A., 2011, Spermatoologi, LPP Umar : Surabaya.
- ICUC, 2003, Fruit to the Future Mangosteen, Factsheet, No 8, International Centre for Underutilized Crops.
- Ismudiono, 1999. *Fisiologi reproduksi pada ternak*. Edisi 2, Surabaya, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Johnson, M.H & B.J. Everett, 2000. *Testicular function in the adult*. Dalam Essential Reproduction, Fifth Ed, pp 53-67.
- Johnson, M.H & B.J. Everett, 1995. *Essential Reproduction*. 3rd ed. Blackwell Johnson, M.H & B.J. Everett, 2005. Basic histology, a text and atlas, pp. 433, Figure 22-24.
- Kinson GA, Liu CC, 1973. Horm. And metab. Re. 5,pp 233.
- Lenzzi A, L Gandini, V Marasca, R Rago, P Sgro, F Dondero and M Picardo, 2000. Fatty acid composition of spermatozoa and immature germ cells, Molecular Human Reproduction, 6(3), pp 226-231.
- Mahaputra L, 1990. Pengukuran progeseronne air susu dan LH serum untuk menentukan status reproduksi dalam upaya penanggulangan infertilitas pada sapi perah pasca lahir. Disserta Universitas Airlangga.
- Martin dan Swarbrick, 1990. *Ikatan Kovalen-Non Polar-Semi Polar dan Polar*, pp 150-160.
- Marulyananda, C., Hayati, A., Rai Pidada, I.B. 2012. Pengaruh Efekstak Etanolik Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) Terhadap Jumlah dan Morfologi Spermatozoa Menurut Tingkat Terpapar 2-Methoxyethanol.
- Miller JD, 1983. Glycol ether, 2-methoxyethanol and 2-ethoxyethanol in current literature. Skripsi. Umar : Surabaya.
- Intelligence Bulletin 39. DHS (NIOSH) Publication. No.83-112.

- Millar JD, 1983. Glycol ether, 2-methoxyethanol and 2-ethoxyethanol in current intelligent Bulletin 39. DHS (NOOSH) Publication. No.83-112.
- Moongkamdi, P., Kosema, N., Kaslungeka, S., Luamrata, O., Pongpan, N., dan Neungtong, N., 2004. Antiproliferation, antioxidant and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (Mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. J. of Ethnopharmacol. 90, 161-166
- Moritwaki, K. (1994). Genetic in Wild Mice. Its Application to Biomedical Research. Tokyo: Karger.
- Moslen, M.T., L. Kapahala, H.Balasubramanian, Y.M. Yin, and W.W. Au, 1995. Species differences in testicular and hepatic biotransformation of 2-methoxyethanol. Toxicology. 96: 217-224.
- Nieschlag HMB, 1996. Andrology : Male reproductive health and dysfunction. Second Edition. Springer. Germany, pp 43-54.
- Nugroho, A.E. 2012. Manggis (*Garcinia mangostana* l.) : Daun kult buah yang Terbanyak Hingga Mengandikat Suntut Obat. UGM : Yogyakarta.
- Nugroho, CA, 2004. Pengaruh Cahanaya Terhadap Kadar Testosteron, Berat Testis, dan jumlah Lapisan Sel Spermatogenik Melnik (*Mus musculus*). Biomed, 6(2): 88-90.
- Oarkberg EF, 1956. A descriptions of spermogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the she seminiferous epithelium and germ cell renewal. Am J Anat, 99(3): 391-413.
- Pasaribu, F., Sitorus, P., Bahri, S. 2012. Uji Eksaksi Etanol Kult Buah Manggis (Garcinia mangostana l.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. Dikta Embriologi. Laboratorium Ilmu Mudigah. Fakultas Kedokteran Poeromo BS, Widjati, EM, Ludemman M, Mafuchati dan DM Endang, 1998. Reza, M., Wijaya dan E. Thohir. 1994. Pembibian dan Pembudidayaan Manggis. Penelitian Swadaya. Jakarta. 58 hlm.
- Hewani. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Dikta Embriologi. Laboratorium Ilmu Mudigah. Fakultas Kedokteran Salisbury GW, 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada sapi. Terjemahan Prof. Drh. R. Januar, Yogyakarta: Gajah Mada University Press, hlm 218-237.
- Sherwood, Lauralee, 2004. *Human physiology*, 5 th Edition. International Student Edition, United States of America: THOMSON Brooks/Cole.
- Shargel dan Yu, 1999. *Ikatan Kovalen*, pp 125-140.

- Shih TS, AT Hsieh, YH Chen, GD Liao, CY Chen, JS Chou, and SH Liou, 2003. Follow up study of hematological effects in workers exposed to 2-methoxyethanol. *Occupational and Environmental Medicine*, Vol 60, pp 130-135.
- Speroff L, & Fritz, MA, 2011. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Eighth Edition, Vol.2. Lippincott Williams & Wilkins : Philadelphia.
- Steel RDD, J. Torrie, 1991. *Prinsip dan prosedur statistika suatu penelitian* Sudjana, 1984. *Metoda statistika*. Edisi ketiga, Bandung : Penerbit Tarsito, hm 157-170, 213-261.
- Sugiono, 2007. *Statistika untuk penelitian*. Bandung: Alfabeta, jlm 24-120.
- Sugito, J. 2003. *Kamus Permainan Umum*. Jakarta: Penerbit Swadaya
- Supadmi, 2009. *Efek 2-Methoxyethanol terhadap kadar testosteron dan histologi testis mewati (*Mus musculus L.*)*. Thesis. Universitas Airlangga Surabaya.
- Syuhdin P, and B. Robarie, 2001. Sperm structural and motility change during aging in the brown norway rat, *Journal of Andrology*, 22(2): 235-244.
- Tijenhooven VA, 1983. *Physiology of vertebrates*. Comell University Press. London.
- Tirado OM, ED. Martinez, OC. Rodriguez, M. Damilesen, DM. Selva, J. Revemtos, F. Munell and CA. Suarez-Quijan, 2003. Methoxyacetic acid disregulation of androgen receptor and androgen-binding protein expression in adult rat testis, *Biology of Reproduction*, 68: 1437-1446.
- Tremallien, K. 2008. Oxidative stress and male infertility - A Clinical Perspective. *Human Reproduction Update*, 1 - 16.
- Tumer, RM. 2003. Tales from the tail : What do we really know about sperm motility? *J. Androl.* Vol. 24,6.
- Wang, W. And R.E. Chapman, 2000. Differential Gene Expression Detected by Suppression Subtractive Hybridization in the Ethylene Glycol Monomethyl Ether-Induced Testicular Lesion. *Toxicol. Sci.* 56: 165-174
- Weinbauer GF and Nieschlag E, 1999. *Testicular physiology of primates*. In Reproduction in nonhuman primates. Waxman, Munster, pp 13-26.
- WHO, 1999. *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*, 4<sup>th</sup> ed, USA Cambridge University Press, 68-78.

- Wodzicka - Tomaszewska M, IK Sutama, IG Putu dan TD Chamaago, 1991.
- Reproduksi tingkah laku dan produksi ternak di Indonesia. jakarta, Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama. Hlm 8-94.
- http://alimedicine.about.com/od/herbsupplementguide/a/What-is-Mangosteen.htm. diakses 28 Februari 2014.
- Yatim, W. 1994. *Reproduksi dan Embriologi*. Bandung : Tarsito.
- Yoon, C.Y., C.M. Hong, J.Y. Song, Y.Y. Cho, K.S. Choi, B.M. Lee, and C.K. Kim. 2001. Effect of Ethylene Glycol Monooethyl Ether on the Sematogenesis in Pubertal and Adult Rats. *Vet. Sci. Vol. 2, 1: 47-51.*

Pd. Moeisintowati B. Narendra, dr, MSC, Sp.A(K)



Surabaya, 01 September 2014

## DINYATAKAN LAIK ETK.

Airlangga Surabaya

Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

Ermawati (011214653006)

PENELITI UTAMA :

EFEK FRAKSI KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) TERHADAP  
KADAR TESTOSTERON DAN MOTTILITAS SPERMATOZOA MENCIK (*Mus  
muscculus*) YANG TERPAPAR 2-METHOXYETHANOL

KOMITE ETIK PENELITIAN KESЕHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS  
AIRLANGGA SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANGCANGAN  
PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKА DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA  
PENELITIAN BERJUDUL :

No. 318/EC/KEPK/FKU/2014

**KETERANGAN KELAKIAN ETK  
("ETHICAL CLEARANCE")**

KOMITE ETIK PENELITIAN KESЕHATAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA



## Lampran 2

### PEMBUATAN LARUTAN 2-METHOXYETHANOL

Untuk membuat larutan 2-ME dengan dosis 200 mg/kgBB adalah mencampurkan 2-ME murah dengan aquades steril. Cara pembuatannya adalah sebagaiman berikut:

$$\text{Berat jenis air} = 1 \text{ g/ml}$$

$$\frac{1000 \text{ gr}}{200 \text{ mg}} \times 1,04 = 0,208 \text{ mg/kgBB}$$

Untuk per kgBB dibutuhkan 2-ME sebesar :

$$\text{Berat jenis air : berat jenis 2-ME} = 1 : 0,96 = 1,04$$

Untuk mencit dengan BB rata - rata 25 mg dibutuhkan sebanyak :

$$\frac{1000 \text{ gr}}{25 \text{ mg}} \times 0,208 \text{ mg/kgBB} = 0,0052 \text{ mg per mencit.}$$

Pengenceran dilakukan sebanyak 10x dari dosis sehingga didapatkan dosis setelah pengenceran, yaitu :  $0,0052 \times 10 = 0,052$ . Jumlah aquades yang dibutuhkan sebanyak  $0,052 - 0,0052 = 0,047 \text{ ml} \approx 0,05 \text{ ml}$ .

	Mencit	Tikus	Marm	Kelinci	Kucim	Kera	Anjing	Manusi	
20 gr	1,0	7,0	12,25	27,80	29,70	64,10	124,20	387,90	20 gr
200 gr									200 gr
400 gr	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5	Marmot
400 gr									400 gr
Kelembut	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2	Kelembut
1,5 kg									1,5 kg
2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0	Kucim
4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1	Kera
12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1	Anjing
70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0	Manusia

dan manusia (Kusumawati, 2004)

Konversi dari Ghosh (1971) untuk perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan

Table konversi dari Ghosh

Lampiran 3.

Table Antibodi Antitestosteron dalam Kalibrator (Standart)

Kalibrator	Ng/dl	Nmol/L
A (MB)	0	
B	20	
C	100	3,5
D	400	14
E	800	28
F	1600	55

dibawah ini.

- Sampl serum darah yang akan dipertiksa kadar testosteron diadaptasikan RIA fase padat. Teknik ini dilakukan dengan melalui tahap – tahap sebagai berikut:
  - Sampl serum darah yang akan dipertiksa kadar testosteron diadaptasikan kembali pada suhu kamari setelah disimpan dalam kulkas.
  - Homogeniasi sampel dengan alat pengocok listrik selama 30 detik.
  - Empat tabung polypropylene yang tidak berlapis antibodi (uncoated tube) dibentuk dengan total count (TC) dan NSB (nonspecific binding).
  - Melabel ke-12 tabung polypropylene  $75 \times 12$  mm yang sudah berlapis antibodi anti testosteron (*testosteron Ab coated-tubes*) untuk standart A (*maximal binding = MB*) sampai F yang menandung 0, 20, 100, 400, 800, 1600 ng/dl sintetis testosteron sebagai standar. Seperti data tabel dibawah ini.

20. International Atomic Agency, 1984)
- tabung assay selama 1 menit ke dalam gamma counter (*mini-assay type 6-*
15. Menera konsentrasি tesstosteron dengan cara memasukkan masinig – masinig assay.
- menit untuk memberikan kesempatan tracer bebas keluar dari tabung
14. Tabung – tabung assay dibiarakan terbalik diatas kereta hisap selama 2-3 radiotif.
- caranya membalikkan tabung dalam rak ke dalam penampungan sampah
13. Kemudian semua carian dalam tabung assay (kecuali TC) dibuang dengan
12. Mengikubasi pada suhu kamar ( $37^{\circ}\text{C}$ ) selama 3 jam.
11. Mengocoknya dengan vortexer selama 5 – 10 detik.
- eppendorf berskala 10-1000  $\mu\text{l}$ .
- dalam seluruh tabung assay tanpa terkecuali dengan menggunakan pipet
10. Kemudian ditambahkan 1 ml atau 1000  $\mu\text{l}$  larutan tracer  $^{125}\text{I}$ -tesstosteron ke
9. Mengocoknya dengan vortexer selama 5-10 menit.
- dilapisi Ab.
8. Memasukkan 50  $\mu\text{l}$  tap kontrol dan sampel ke dalam tabung yang sudah
- yang dilapisi Ab anti tesstosteron yang sudah berlabel.
7. Menambahkan 50  $\mu\text{l}$  tap kalibrator B sampai dengan F ke dalam tabung A.
6. Menambahkan 50  $\mu\text{l}$  zero kalibrator A ke dalam tabung NSB dan tabung dilakukan duplikasi.
- (tesstosteron Ab coated-tubes) untuk kontrol dan sampel yang semuanya
5. Melabel tabung – tabung yang lain yang sudah terlapisi antibodi

samplel dapat diestimasi dengan melakukan interpolasi pada garis tersebut. Kemudian telah didapatkan suatu kurva standar. Konsentrasi testosterone suatu digambarakan garis lurus yang dapat mewakili lima titik yang ada. Dengan sisil horizontal untuk setiap hasil dari kalibrator B, C, D, E, dan F. Kemudian kalibrator ditarik diloktan pada sisil vertikal terhadap konsentrasi testosterone pada Dengan menggunakan ketiga grafik logaritma, persentase-persentase ikatan tiap sebagai nilai 100%-nya.

A. Yaitu dengan menentukan bahwa nilai cpm NSB pada tabung A tersebut (percent count) dari jumlah ikatan maksimum (MB) pada tabung yang beranda kemudian mendekan besar ikatan setiap pasang tabung sebagai nilai persentase

$$\begin{aligned} \text{BO} &= \text{Ikatani yang dianggap } 100\% \text{ atau bindig pada } 0 \text{ ng/ml.} \\ \text{NSB} &= \text{Non specific binding (tidak ada Ab)} \\ \text{Cpm} &= \text{Count per minute} \\ \text{Rerata cpm TC} & \\ \% \text{ NSB} &= \frac{\text{rerata cpm NSB}}{\text{mean cpm TC} - \text{mean cpm NSB}} \times 100\% \\ \% \text{ MB/BO} &= \frac{\text{rerata cpm MB} - \text{mean cpm NSB}}{\text{rerata cpm BO} - \text{rerata cpm NSB}} \times 100\% \\ \% \text{ Binding} &= \frac{\text{rerata cpm sample} - \text{rerata cpm NSB}}{\text{rerata cpm NSB}} \times 100\% \end{aligned}$$

terlebih dahulu rata-rata jumlah count per minute (cpm) tabung yang berstandar tesosteron total dari setiap tabung kalibrator, dan juga dengan mengelabui untuk mendapatkan kurva standar, mulai-mula dihitung konsentrasi

#### 16. Kemudian dilakukan hasil pencacahan

LAMPIRAN 5

Tabel penanggulhan variasi fraksi kultit buah manggis terhadap kadar testosteron mencit yang terpapar 2-

Kontrol (-)	Dosis (mg/kg)	Replikasi	Kadar Testosteron (mg/ml)	Rerata ± SD
0,44	0,80	0	0,52 ± 0,15	0,52 ± 0,15
0,42	0,42	1	0,32	0,32 ± 0,03
0,41	0,41	2	0,25	0,25 ± 0,02
0,41	0,41	3	0,20	0,20 ± 0,01
0,41	0,41	4	0,09	0,09 ± 0,01
0,41	0,41	5	0,14	0,14 ± 0,01
0,41	0,41	6	0,15	0,15 ± 0,01
0,70	0,70	1	0,34	0,34 ± 0,03
0,70	0,70	2	0,24	0,24 ± 0,02
0,70	0,70	3	0,10	0,10 ± 0,01
0,70	0,70	4	0,07	0,07 ± 0,01
0,70	0,70	5	0,55 ± 0,03	0,55 ± 0,03
1,04	1,04	6	0,6	0,6 ± 0,04
1,04	1,04	1	0,21	0,21 ± 0,02
1,04	1,04	2	0,08	0,08 ± 0,01
1,04	1,04	3	0,08	0,08 ± 0,01
1,04	1,04	4	0,10	0,10 ± 0,01
1,04	1,04	5	0,36	0,36 ± 0,04
1,04	1,04	6	0,34	0,34 ± 0,03
1,49	1,49	1	0,81	0,81 ± 0,13
1,49	1,49	2	0,71	0,71 ± 0,11
1,49	1,49	3	0,40	0,40 ± 0,08
1,49	1,49	4	0,34	0,34 ± 0,04
1,49	1,49	5	0,20	0,20 ± 0,04
1,49	1,49	6	0,15	0,15 ± 0,03
1,49	1,49	1	0,38	0,38 ± 0,11
1,49	1,49	2	0,39	0,39 ± 0,11
1,49	1,49	3	0,40	0,40 ± 0,04
1,49	1,49	4	0,86	0,86 ± 0,06
1,49	1,49	5	0,40	0,40 ± 0,03
1,49	1,49	6	0,83	0,83 ± 0,04
1,49	1,49	1	0,89	0,89 ± 0,04
1,49	1,49	2	0,60	0,60 ± 0,04
1,49	1,49	3	0,86	0,86 ± 0,04
1,49	1,49	4	0,40	0,40 ± 0,03
1,49	1,49	5	0,34	0,34 ± 0,03
1,49	1,49	6	0,60	0,60 ± 0,04
20	20	1	0,31 ± 0,11	0,31 ± 0,11
20	20	2	0,4	0,4 ± 0,24
20	20	3	1	0,65 ± 0,24
20	20	4	2	0,14 ± 0,19
20	20	5	3	0,14 ± 0,19
20	20	6	4	0,14 ± 0,19

PERLAKUAN DOSIS	KATEGORI MOTILITAS SPERMATOZOA (%)			
	REPUKASI	SAMPLE	A	B
1	48	9	28	15
2	52	15	13	20
3	63	9	10	18
4	45	24	15	16
5	56	19	15	10
6	49	26	13	12
7	54	21	15	10
8	58	12	18	12
9	47	14	17	22
10	46	14	15	25
1	51,8	16,3	15,9	16
2	63	7	8	21
3	60	17	13	10
4	60	15	12	13
5	60	15	15	10
6	59	20	15	6
7	59	15	16	10
8	58	20	16	11
9	59	15	11	11
10	51	22	17	10
1	58,9	17,1	12,1	11,1
2	63	12	10	15
3	62	20	15	3
4	61	15	8	16
5	60	15	15	10
6	60	15	16	9
7	60	10	20	10
8	59	15	15	10
9	57	14	10	19
10	56	25	10	9
1	60,4	14,5	12,4	12,7
2	61	20	10	10
3	60	10	10	10
4	60	10	5	25
5	58	21	14	7
6	56	21	10	13
7	55	30	10	5
8	55	10	20	15
9	54	19	17	10
10	50	25	15	10
1	57,4	17	11,7	13,9
2	55	15	15	15
3	58	16	14	17
4	53	16	14	17
5	50	25	15	10
6	55	15	15	15
7	55	10	20	15
8	54	19	17	10
9	50	10	10	10
10	53	16	14	17
1	57,4	17	11,7	13,9
2	55	15	15	15
3	58	16	14	17
4	53	16	14	17
5	50	25	15	10
6	55	15	15	15
7	55	10	20	15
8	54	19	17	10
9	50	10	10	10
10	53	16	14	17

Kontrol (-)

				Rerata ± SD
				56,72%
				16,48%
				13,82%
				12,98%
4	61	15	16	8
5	60	15	15	10
6	60	16	9	15
7	50	20	20	10
8	59	11	15	15
9	57	14	19	10
10	56	10	25	9
11	52	13	27	8
12	55	30	5	10
13	60	10	10	20
14	50	20	15	15
15	58	14	7	21
16	55	21	13	11
17	55	20	20	5
18	60	15	15	10
19	54	19	10	17
20	53	17	14	16
21	55,2	17,9	13,6	13,3

5

6

PERLAKUAN DOSIS	REPLIKASI	SAMPEL	KATEGORI MOTILITAS SPERMATOZOA (%)			
			A	B	C	D
Kontrol (+) (2-ME)	Rata-rata	48,3	17,6	17,9	16,2	17,9
		10	35	25	25	15
		9	39	17	24	20
		8	40	30	20	10
		7	43	13	28	16
		6	48	18	15	19
		5	50	30	10	10
		4	51	15	15	19
		3	51	13	31	5
		2	60	2	2	30
4	Rata-rata	45,1	14,2	17,9	22,8	22,8
		10	35	17	25	23
		9	38	10	35	17
		8	39	15	15	31
		7	40	21	19	20
		6	44	17	19	20
		5	45	15	20	20
		4	47	17	16	20
		3	50	10	10	30
		2	55	15	15	15
3	Rata-rata	53	4	8	35	35
		1	53	4	8	30
		2	50	10	10	30
		3	45	15	15	25
		4	42	20	20	18
		5	41	17	30	12
		6	30	25	32	13
		7	25	25	35	15
		8	25	15	34	26
		9	22	12	46	20
2	Rata-rata	20	25	25	30	30
		10	20	20	25	25
		9	13	27	18	42
		8	14	24	35	27
		7	16	9	51	24
		6	19	13	38	30
		5	20	10	35	35
		4	22	5	37	36
		3	25	20	40	15
		2	27	18	25	30
1	Rata-rata	54	5	4	37	37
		1	54	5	4	22,4
		2	27	18	25	30
		3	25	20	40	15
		4	22	5	37	36
		5	20	10	35	35
		6	19	13	38	30
		7	16	9	51	24
		8	14	24	35	27
		9	13	27	18	42

6

PERLAKUAN DOSIS	REPULKASI	SAMPEL	KATEGORI MOLILITAS SPERMATOZOA (%)			
			A	B	C	D
1	61	7	9	23		
	2	55	15	10	20	
	3	55	15	10	20	
	4	53	17	10	20	
	5	51	15	9	20	
	6	50	27	8	15	
	7	49	30	16	5	
	8	48	20	12	20	
	9	40	40	5	15	
	10	45	40	12	3	
Rata-rata	50,7	22,6	10,1	16,6		
	1	64	9	10	17	
	2	60	14	6	20	
	3	55	15	15	15	
	4	55	20	10	15	
	5	58	12	2	28	
	6	56	28	8	8	
	7	52	27	3	18	
	8	50	20	20	10	
	9	42	25	5	28	
Rata-rata	53,1	20,1	9,9	16,9		
	1	69	5	6	20	
	2	65	10	10	15	
	3	65	10	10	15	
	4	64	6	5	25	
	5	60	10	10	20	
	6	61	14	4	21	
	7	60	15	10	15	
	8	56	30	3	11	
	9	51	20	12	17	
Rata-rata	59,3	16,2	8,3	16,2		
	1	61	10	15	14	
	2	55	8	7	30	
	3	60	12	13	15	
	4	60	15	15	10	
	5	55	20	15	10	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	29	16	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29	20	10	
	7	40	15	15	10	
	8	37	32	17	14	
	9	47	26	15	12	
Rata-rata	49,4	19,4	16,4	14,8		
	1	75	9	6	10	
	2	65	6	10	15	
	3	38	27	18	17	
	4	47	32	17	14	
	5	40	15	29	16	
	6	41	29</			

	3	65	65	10	10	15	Rata-rata
6	6	64	11	4	4	21	65,2
7	7	65	10	10	10	15	11,8
8	8	50	6	33	33	11	9,8
9	9	60	11	17	17	12	11,2
10	10	62	12	12	12	13	13,2
11	11	61	10	10	10	15	11,8
12	12	75	8	8	7	7	10
13	13	75	7	7	7	13	5
14	14	70	5	5	15	15	10
15	15	65	10	10	15	15	10
16	16	61	10	10	20	9	65
17	17	55	10	10	29	6	55
18	18	12	12	17	17	14	57
19	19	67	6	15	15	12	67
20	20	57	8	8	18	17	64,3
21	21	10	8,6	8,6	16,4	10,7	57,00%
22	22	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata
23	23	10	10	10	10	10	10,7
24	24	12	12	12	12	12	12,15%
25	25	15	15	15	15	15	14,73%

PERLAKUAN DOSIS	REPLIKASI	KATEGORI MOTTILITAS SPERMATOZOA (%)			
		A	B	C	D
1	62	10	18	10	D
2	60	10	20	10	
3	55	20	10	15	
4	52	20	18	10	
5	50	10	20	10	
6	53	18	21	8	
7	49	23	15	13	
8	38	27	13	22	
9	26	26	23	25	
10	19	25	33	23	
Rata-rata	46,4	18,9	19,1	15,6	1
1	65	7	21	7	
2	63	20	7	10	
3	60	18	12	10	
4	60	19	11	10	
5	59	21	10	10	
6	64	7	6	23	
7	53	10	7	7	
8	50	10	9	31	
9	50	3	9	37	
10	48	9	21	22	
Rata-rata	57,2	12,4	11,4	19	2
1	68	2	25	5	
2	65	15	10	10	
3	55	15	15	15	
4	59	15	16	10	
5	56	20	14	10	
6	51	10	30	9	
7	46	18	20	16	
8	45	17	8	30	
9	34	17	38	11	
10	33	19	30	18	
Rata-rata	51,2	14,8	20,6	13,4	3
1	69	3	25	3	
2	68	12	10	10	
3	65	15	10	10	
4	64	10	10	16	
5	65	18	12	10	
6	60	10	10	10	
7	50	20	10	5	
8	48	26	17	7	
9	44	33	15	4	
10	40	30	13	4	
Rata-rata	57,3	20,6	14,2	7,9	4
1	41	20	30	9	
2	46	18	20	16	

Dosis Tinggi  
Fraksi Non Polar

2-ME (200mg/kg) +

Rerata		53,13%		17,28%		17,08%		12,50%	
Rata-rata	55,6	22,1	14,4	7,9					
10	35	35	20	10					
9	60	18	12	10					
8	64	10	10	16					
7	65	15	10	10					
6	68	12	10	10					
5	44	39	13	4					
4	48	33	15	4					
3	50	26	17	7					
2	55	30	10	5					
1	67	3	27	3					
Rata-rata	51,1	14,9	22,8	11,2					
10	55	21	14	10					
9	59	15	16	10					
8	60	10	15	15					
7	70	10	10	10					
6	68	2	25	5					
5	33	19	30	18					
4	34	17	38	11					
3	45	17	30	8					

PERLAKUAN DOSIS	REPLIKASI	KATEGORI MULTITAS SPERMATOZOA (%)			
		A	B	C	D
Rata-rata	1	62	10	18	10
	2	60	10	20	10
	3	55	20	10	15
	4	52	20	18	10
	5	50	10	20	10
	6	53	18	21	8
	7	49	23	15	13
	8	38	27	13	22
	9	26	26	23	25
	10	19	25	33	23
	11	65	7	21	7
	12	63	20	7	10
	13	60	18	12	10
	14	60	19	11	10
Rata-rata	1	68	2	25	5
	2	65	15	10	10
	3	55	15	15	15
	4	59	15	16	10
	5	56	20	14	10
	6	51	10	30	9
	7	46	18	20	16
	8	45	17	8	30
	9	34	17	38	11
	10	33	19	30	18
	11	10	19	18	18
	12	14,8	20,6	13,4	Rata-rata
	13	51,2	14,8	20,6	Rata-rata
	14	57,3	20,6	14,2	Rata-rata
4	1	41	20	30	9
	2	40	30	20	10
	3	39	13	13	4
	4	48	33	15	4
	5	50	26	17	7
	6	65	20	10	5
	7	60	18	12	10
	8	64	10	10	16
	9	65	15	10	10
	10	68	12	10	10
	11	69	3	25	3
	12	69	3	25	3
	13	57,3	20,6	14,2	Rata-rata
	14	51,2	14,8	20,6	Rata-rata
3	1	33	19	30	18
	2	34	17	38	11
	3	45	8	30	30
	4	46	18	20	16
	5	51	10	30	9
	6	56	20	14	10
	7	59	15	15	15
	8	55	15	10	10
	9	65	2	25	5
	10	68	2	25	5
	11	65	15	10	10
	12	55	15	10	10
	13	56	20	14	10
	14	51	10	30	9
2	1	48	9	21	22
	2	50	3	10	37
	3	50	10	9	31
	4	53	10	7	30
	5	64	7	6	23
	6	64	21	10	10
	7	59	19	11	10
	8	60	18	12	10
	9	60	19	12	10
	10	63	20	7	10
	11	65	7	21	7
	12	63	20	7	10
	13	60	18	12	10
	14	60	19	11	10
1	1	46,4	18,9	19,1	15,6
	2	50	10	20	10
	3	53	18	21	8
	4	49	23	15	13
	5	38	27	13	22
	6	26	26	23	25
	7	19	25	33	23
	8	38	27	13	22
	9	26	26	23	25
	10	19	25	33	23
	11	65	7	21	7
	12	63	20	7	10
	13	60	18	12	10
	14	60	19	11	10
2-ME (200mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis Tinggi	1	46,4	18,9	19,1	15,6
	2	57,2	12,4	11,4	19
	3	51,2	14,8	20,6	Rata-rata
	4	57,3	20,6	14,2	Rata-rata
	5	52,2	14,8	20,6	Rata-rata
	6	53	17	38	11
	7	45	8	30	30
	8	46	18	20	16
	9	34	17	38	11
	10	33	19	30	18
	11	10	19	18	18
	12	14,8	20,6	13,4	Rata-rata
	13	51,2	14,8	20,6	Rata-rata
	14	57,3	20,6	14,2	Rata-rata

	3	45	17	30	8	4	34	17	38	11	5	33	19	30	18	6	68	2	25	5	7	70	10	10	8	60	10	10	3	67	3	27	3	1	55	30	10	5	3	50	26	17	7	4	48	33	15	4	5	44	39	13	4	6	68	12	10	10	7	65	15	10	10	8	64	10	10	16	9	60	18	12	10	10	10	35	35	20	10	9	55,6	22,1	14,4	7,9	10	53,13%	17,28%	17,08%	12,50%	Rerata
5	10	55	21	14	10	9	59	15	16	10	8	60	10	10	7	70	10	10	5	6	68	2	25	5	5	33	19	30	18	6	68	2	25	5	7	70	10	10	8	60	10	10	5	9	59	15	16	10	8	67	3	27	3	1	51,1	14,9	22,8	11,2	Rerata-rata																															
6	10	55	21	14	10	9	59	15	16	10	8	60	10	10	7	70	10	10	5	6	68	2	25	5	5	33	19	30	18	6	68	2	25	5	7	70	10	10	8	60	10	10	5	9	59	15	16	10	8	67	3	27	3	1	51,1	14,9	22,8	11,2	Rerata-rata																															

PERLAKUAN DOSIS	REPLIKASI	KATEGORI MOTILITAS SPERMATOZOA (%)			
		A	B	C	D
1	86	10	2	2	2
2	84	12	2	2	2
3	83	6	6	5	5
4	82	10	4	4	4
5	80	12	6	2	2
6	75	15	6	4	4
7	67	15	8	10	10
8	66	16	3	15	15
9	65	10	10	10	15
10	65	11	12	12	12
Rata-rata	75,3	11,7	5,9	7,1	7,1
1	87	7	3	3	3
2	86	7	4	3	3
3	83	9	4	4	4
4	81	10	5	5	5
5	80	10	5	5	5
6	80	9	3	3	8
7	69	11	12	12	8
8	65	9	13	13	13
9	63	21	11	5	5
10	60	28	10	2	2
Rata-rata	75,4	12,1	7	5,5	5,5
1	89	5	4	2	2
2	85	7	5	3	3
3	84	6	5	5	5
4	80	10	5	5	5
5	80	10	5	5	5
6	69	14	8	9	9
7	64	8	16	12	12
8	68	15	7	10	10
9	67	20	6	7	7
10	57	30	7	6	6
Rata-rata	74,3	12,5	6,8	6,4	6,4
1	92	4	2	2	2
2	90	5	3	2	2
3	89	5	3	3	3
4	85	5	5	5	5
5	80	5	5	5	5
6	80	10	5	5	5
7	64	14	8	9	9
8	68	8	16	12	12
9	67	15	7	10	10
10	57	30	7	6	6
Rata-rata	71,6	12,2	10	6,2	6,2
1	69	14	8	9	9
2	64	16	8	12	12

2-ME (200mg/kg) +  
Fraksi Semi Polar  
Dosis Rendah

2

3

4



PERLAKUAN DOSIS	REPLIKASI	KATEGORI MOTILITAS SPERMATOZOA (%)			
		A	B	C	D
1	76	13	6	5	5
	2	70	19	6	5
	3	65	9	16	10
	4	65	22	6	7
	5	63	23	9	5
	6	64	14	10	12
	7	60	25	5	10
	8	60	20	8	12
	9	55	19	10	16
	10	54	24	10	12
2	Rata-rata	63,2	18,8	8,6	9,4
	1	78	10	8	4
	2	75	10	8	7
	3	74	11	7	8
	4	73	19	5	3
	5	71	10	10	9
	6	75	5	6	14
	7	62	3	8	27
	8	61	2	7	30
	9	57	3	12	28
3	Rata-rata	66,7	8,3	12,9	12,1
	1	81	8	7	4
	2	80	9	7	4
	3	78	10	6	6
	4	76	11	8	5
	5	75	12	8	5
	6	61	7	12	20
	7	68	3	12	17
	8	53	10	15	22
	9	50	7	26	17
4	Rata-rata	69,3	13,8	10,7	6,2
	1	21	28	27	24
	2	50	19	17	14
	3	48	17	27	8
	4	49	26	16	9
	5	60	19	16	5
	6	60	15	12	13
	7	70	18	8	4
	8	79	8	8	5
	9	80	9	6	5
5	Rata-rata	84	5	6	5
	1	82	10	3	5
	2	81	11	5	3
	3	80	10	3	5
	4	70	18	8	4
	5	79	8	8	5
	6	60	15	12	13
	7	60	12	8	4
	8	60	19	16	5
	9	60	15	12	13
6	Rata-rata	60,7	12,9	12,1	12,1
	1	53	10	15	22
	2	50	7	12	17
	3	68	3	12	20
	4	61	7	12	21
	5	45	6	28	21
	6	50	7	26	17
	7	53	10	15	22
	8	68	3	12	17
	9	61	7	12	20
7	Rata-rata	69,3	13,8	10,7	6,2
	1	21	28	27	24
	2	50	19	17	14
	3	48	17	27	8
	4	49	26	16	9
	5	60	19	16	5
	6	60	15	12	13
	7	70	18	8	4
	8	79	8	8	5
	9	80	9	6	5
8	Rata-rata	66,7	8,3	12,9	12,1
	1	50	7	12	21
	2	53	10	15	22
	3	68	3	12	20
	4	61	7	12	21
	5	45	6	28	21
	6	50	7	26	17
	7	53	10	15	22
	8	68	3	12	17
	9	61	7	12	20
9	Rata-rata	69,3	13,8	10,7	6,2
	1	21	28	27	24
	2	50	19	17	14
	3	48	17	27	8
	4	49	26	16	9
	5	60	19	16	5
	6	60	15	12	13
	7	70	18	8	4
	8	79	8	8	5
	9	80	9	6	5
10	Rata-rata	66,7	8,3	12,9	12,1
	1	50	7	12	21
	2	53	10	15	22
	3	68	3	12	20
	4	61	7	12	21
	5	45	6	28	21
	6	50	7	26	17
	7	53	10	15	22
	8	68	3	12	17
	9	61	7	12	20

2-ME (200mg/Kg) + Fraksi Semi Polar

Dosis Tinggi

Rata-rata		16,1	23,5	18,1	
Rata-rata		42,3	16,1	23,5	
10	28	16	35	21	5
9	26	30	27	17	
8	10	15	53	22	
7	68	3	12	17	
6	51	17	12	20	
5	55	12	18	15	
4	56	11	18	15	
3	58	10	16	16	
Rata-rata		42,3	16,1	23,5	
10	28	16	35	21	5
9	26	30	27	17	
8	10	15	53	22	
7	68	3	12	17	
6	51	17	12	20	
5	55	12	18	15	
4	56	11	18	15	
3	58	10	16	16	
Rata-rata		42,3	16,1	23,5	
10	28	16	35	21	5
9	26	30	27	17	
8	10	15	53	22	
7	68	3	12	17	
6	51	17	12	20	
5	55	12	18	15	
4	56	11	18	15	
3	58	10	16	16	
Rata-rata		37,7	16,8	24,3	21,2
10	27	17	48	8	
9	16	26	29	29	
8	16	19	30	35	
7	12	15	30	43	
6	30	18	28	24	
5	49	18	18	15	
4	20	29	26	25	
3	41	11	25	23	
2	82	10	3	5	
1	84	5	6	5	
Rata-rata		42,3	16,1	23,5	18,1
10	28	16	35	21	5
9	26	30	27	17	
8	10	15	53	22	
7	68	3	12	17	
6	51	17	12	20	
5	55	12	18	15	
4	56	11	18	15	
3	58	10	16	16	
Rata-rata		37,7	16,8	24,3	21,2
10	27	17	48	8	
9	16	26	29	29	
8	16	19	30	35	
7	12	15	30	43	
6	30	18	28	24	
5	49	18	18	15	
4	20	29	26	25	
3	41	11	25	23	
2	82	10	3	5	
1	84	5	6	5	
Rata-rata		37,7	16,8	24,3	21,2

PERLAKUAN DOSIS		REPLIKASI		KATEGORI MULTITAS SPERMATOZOA (%)		SAMPEL		A		B		C		D	
1	71	19	5	5	5	5	5	68	20	6	6	6	6	69	68
2	69	20	6	5	5	5	5	65	15	10	10	10	10	65	65
3	68	20	6	6	6	6	6	65	18	9	10	10	10	65	68
4	65	15	10	10	10	10	10	65	21	14	10	10	10	65	65
5	63	18	9	10	10	10	10	63	20	10	10	10	10	63	68
6	63	21	14	14	14	14	14	63	20	10	10	10	10	63	63
7	63	21	13	13	13	13	13	63	24	10	10	10	10	63	64
8	64	18	10	10	10	10	10	64	15	10	10	10	10	64	65
9	55	10	13	13	13	13	13	55	15	14	14	14	14	55	41
10	50	27	13	13	13	13	13	50	22	25	25	25	25	50	40
11	45	20	21	21	21	21	21	45	16	10	10	10	10	45	38
12	4,9	10,9	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	4,9	12	11	11	11	11	4,9	54,2
13	59,3	18,5	12,2	12,2	12,2	12,2	12,2	59,3	19	9	9	9	9	59,3	66
14	Rata-rata	59,3	18,5	12,2	12,2	12,2	12,2	Rata-rata	54,2	15,6	15,3	14,9	14,9	Rata-rata	54,2
15	2	65	15	15	15	15	15	2	65	15	10	10	10	2	65
16	3	60	10	20	20	20	20	3	60	16	14	14	14	3	60
17	4	63	19	10	10	10	10	4	63	21	8	8	8	4	63
18	5	50	10	10	10	10	10	5	50	15	15	15	15	5	55
19	6	60	10	20	20	20	20	6	60	16	14	14	14	6	60
20	7	55	15	15	15	15	15	7	55	22	25	25	25	7	55
21	8	41	22	25	25	25	25	8	41	28	21	21	21	8	41
22	9	40	28	25	25	25	25	9	40	22	25	25	25	9	40
23	10	38	6	10	10	10	10	10	38	12	11	11	11	10	38
24	11	12	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11	11
25	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
26	13	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
27	14	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

Dosis Rendah  
Fraksi Polar

2-ME (200mg/kg) +

4

3

2

1

3	70	10	10	10	Rerata
4	74	8	10	8	
5	74	8	10	8	
6	70	16	4	10	
7	70	14	10	6	
8	60	10	10	20	
9	70	13	7	10	
10	65	10	11	11	Rerata
1	66	9	15	10	
2	80	5	5	10	
3	74	11	8	7	
4	73	9	10	8	
5	52	8	20	20	
6	66	10	14	10	
7	55	15	15	15	
8	41	22	25	12	
9	60	8	21	11	
10	38	6	10	46	Rerata
	60,5	10,3	14,3	14,9	
	58,07%	15,92%	12,75%	13,27%	

Fraksi Polar  
Dosis Tinggi

2-ME (200mg/kg) +

PERLAKUAN DOSIS	REPLIKASI	KATEGORI MOLITITAS SPERMATOZOA (%)			
		SAMPLE	A	B	C
Rata-rata	1	65	14	11	10
	2	63	18	10	9
	3	62	17	11	10
	4	61	2	16	21
	5	60	15	10	15
	6	60	19	11	10
	7	59	10	10	15
	8	59	10	10	15
	9	57	13	10	15
	10	54	20	20	6
Rata-rata	1	59,6	13,8	16,3	10,3
	2	62	17	11	10
	3	61	18	11	10
	4	62	17	11	10
	5	60	15	10	15
	6	60	19	11	10
	7	59	10	10	15
	8	59	10	10	15
	9	57	13	10	15
	10	54	20	20	6
Rata-rata	1	39,3	18,5	24,2	18
	2	61	21	9	6
	3	60	15	15	10
	4	59	17	14	10
	5	58	18	14	10
	6	29	18	14	10
	7	22	10	30	26
	8	20	10	45	23
	9	14	25	45	10
	10	14	18	39	29
Rata-rata	1	40,1	17,9	25,8	16,2
	2	61	23	6	10
	3	58	20	12	10
	4	55	15	15	15
	5	53	18	19	10
	6	60	8	16	16
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	64	21	9	6
	2	61	17	6	16
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	52	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	61	17	6	16
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	55	15	15	15
	6	60	18	19	10
	7	53	3	20	25
	8	50	5	19	26
	9	47	4	32	17
	10	42	11	20	27
Rata-rata	1	53,7	12,3	17,4	16,6
	2	64	21	9	6
	3	59	16	15	10
	4	58	20	12	10
	5	5			

				Rerata
				Rata-rata
1	60	24	6	16,2
2	59	15	10	16
3	50	28	12	10
4	40	20	25	15
5	53	18	10	19
6	60	8	16	16
7	52	3	20	25
8	50	5	19	26
9	47	4	17	32
10	42	11	20	27
				Rata-rata
	51,3	13,6	15,5	19,6
				15,90%
				47,12%

## NPar Tests

#### Lampiran 7 : Uji Normalitas Kadar Testosteron

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Kontrol (-)		Ketamolpok	
Kadar	Testosteron	N	
6	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	52000
146561	Std. Deviation		279
279	Most Extreme Differences	Absolute	-226
684	Kolmogorov-Smirnov Z		-279
738	Asymp. Sig. (2-tailed)		-226
6	mg/kg	N	Kontrol (+) (2-ME) 200
19167	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	083287
083287	Std. Deviation		192
192	Most Extreme Differences	Absolute	-111
469	Kolmogorov-Smirnov Z		-111
980	Asymp. Sig. (2-tailed)		-111
6	Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	N	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi
54833	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	394989
394989	Std. Deviation		201
201	Most Extreme Differences	Absolute	-160
160	Kolmogorov-Smirnov Z		-160
492	Asymp. Sig. (2-tailed)		-160
6	Non Polar Dosis 3 mg/kg	N	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi
24333	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	130333
130333	Std. Deviation		271
271	Most Extreme Differences	Absolute	-198
198	Kolmogorov-Smirnov Z		-271
663	Asymp. Sig. (2-tailed)		-271
771	Kolmogorov-Smirnov Z		-663
6	Semi Polar Dosis 4 mg/kg	N	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi
88167	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	482428
482428	Std. Deviation		226
226	Most Extreme Differences	Absolute	-214
226	Kolmogorov-Smirnov Z		-214
553	Asymp. Sig. (2-tailed)		-214

One way

Kadar Testosteron

## Descriptives

Kontrol (-)		Kontrol (+) (2-ME)		200 mg/kg	
	N	Mean	Std.	Std. Deviation	95% Confidence Interval for Mean
Kontrol (-)	6	52000	146561	059833	36619
Kontrol (+) (2-ME)	6	19167	.083287	034002	10426
					.27907
					.090
					.320
					.800

b. Calculated from data

a. Test distribution is Normal.

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

### Kadar Testosterone Descriptives

	N	Mean	Std.	Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	95% Confidence Interval for Mean	
								Minimum	Maximum
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	54833	.394989	.161254	.13382	.96285	.080	1.040	
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	24333	.130333	.053208	.10656	.38011	.070	.360	
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	88167	.482428	.196950	.37539	1.38794	.400	1.490	
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	31000	.107703	.043970	.19697	.42303	.150	.400	
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 200 mg/kg	6	65333	.242954	.099186	.39837	.90830	.340	.890	
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2000 mg/kg	6	24500	.191911	.078348	.04360	.44640	.010	.510	
Total	48	44917	.332238	.047954	.35269	.54564	.010	1.490	Dosis 2 mg/kg

Kadar Testosterone

### Test of Homogeneity of Variances

Kadar Testosterone

Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
7.398	7	40	.000	

### ANOVA

Kadar Testosterone

Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Between Groups	2.480	.7	.354	5.233	.000
Within Groups	2.708	7	.354	.068	.47
Total	5.188	40			

### Robust Tests of Equality of Means

Kadar Testosterone

Brown-Forsythe	df1	df2	Sig.	
5.233	7	17.403	.002	a. Asymptotically F distributed.

a. Asymptotically F distributed.

## T-Test

Kadar Testosteron

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (-)	6	.52000	.146561	.059833
	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	.19167	.083287	.034002

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Kadar Testosteron	Equal variances assumed		.648	.440	4.771	10	.001	.328333	.068819	.174994	.481673
	Equal variances not assumed				4.771	7.924	.001	.328333	.068819	.169372	.487295

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (-)	6	.52000	.146561	.059833
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	.54833	.394989	.161254

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Kadar Testosteron	Equal variances assumed		12.114	.006	-1.165	10	.872	-.028333	.171996	-411565	.354899
	Equal variances not assumed				-6.351	8.874	-.028333	.171996	.443617	-386950	

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (-)	6	.52000	.146561	.059833
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	.24333	.130333	.053208

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	.021	.888	3.455	10	.006	.276667	.080069	.098261	.455072
	Equal variances not assumed			3.455	9.865	.006	.276667	.080069	.097930	.455403

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (-)	6	.52000	.146561	.059833
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	.88167	.482428	.196950

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	8.894	.014	-1.757	10	.109	-.361667	.205838	-.820303	-.096970
	Equal variances not assumed			-1.757	5.915	.130	-.361667	.205838	.867092	.143759

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (-)	6	.52000	.146561	.059833
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	.31000	.107703	.043970

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	.053	.823	2.828	10	.018	.210000	.074252	.044557 .375443
	Equal variances not assumed			2.828	9.181	.019	.210000	.074252	.042534 .377466

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (-)	6	.52000	.146561	.059833
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	.65333	.242954	.099186

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	3.957	.075	-1.151	10	.276	-.133333	.115835	-.391430 -.124763
	Equal variances not assumed			-1.151	8.213	.282	-.133333	.115835	.399246 -.132579

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (-)	6	.52000	.146561	.059833
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	.24500	.191911	.078348

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	1.527	.245	2.790	10	.019	.275000	.098582	.055346	.494654
	Equal variances not assumed			2.790	9.352	.020	.275000	.098582	.053266	.496734

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	.19167	.083287	.034002
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	.54833	.394989	.161254

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	21.845	.001	-2.164	10	.056	-.356667	.164800	-.723863	.010530
	Equal variances not assumed			-5.444		.078	-.356667	.164800	.770119	.056786

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	.19167	.083287	.034002
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi	6	.24333	.130333	.053208
	Non Polar Dosis 3 mg/kg				

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	2.003	.187	- .818	10	.432	-.051667	.063144	.192361	.089028
	Equal variances not assumed			- .818	8.500	.436	-.051667	.063144	.195801	.092467

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	.19167	.083287	.034002
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi	6	.88167	.482428	.196950
	Semi Polar Dosis 4 mg/kg				

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	12.850	.005	- 3.452	10	.006	-.690000	.199864	1.135324	.244676
	Equal variances not assumed			- 3.452	5.298	.017	-.690000	.199864	1.195201	.184799

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	.19167	.083287	.034002
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	.31000	.107703	.043970

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	1.001	.341	-2.129	10	.059	-.118333	.055583	.242179	-.005513
	Equal variances not assumed			-2.129	9.405	.061	-.118333	.055583	.243250	-.006584

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	.19167	.083287	.034002
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	.65333	.242954	.099186

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	12.491	.005	-4.403	10	.001	-.461667	.104852	.695291	.228042
	Equal variances not assumed			-4.403	6.159	.004	-.461667	.104852	.716631	.206702

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	.19167	.083287	.034002
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	.24500	.191911	.078348

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	7.645	.020	- .624	10	.546	-.053333	.085408	.243633	-.136966
	Equal variances not assumed			- .624	6.819	.553	-.053333	.085408	.256382	-.149716

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	.54833	.394989	.161254
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	.24333	.130333	.053208

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	14.646	.003	1.796	10	.103	.305000	.169805	-.683350	.073350
	Equal variances not assumed			1.796	6.076	.122	.305000	.169805	-.719242	.109242

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	.54833	.394989	.161254
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	.88167	.482428	.196950

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	.261	.621	-1.310	10	.220	-.333333	.254543	.900491	-.233824
	Equal variances not assumed			-9.625		.221	-.333333	.254543	.903499	-.236833

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	.54833	.394989	.161254
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	.31000	.107703	.043970

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	18.020	.002	1.426	10	.184	.238333	.167141	.134080	-.610747
	Equal variances not assumed			1.426	5.739	.206	.238333	.167141	.175189	-.651856

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	.54833	.394989	.161254
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	.65333	.242954	.099186

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
			t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower		
	F	Sig.								
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	3.936	.075	- .555	10	.591	-.105000	.189316	.526822	-.316822
				- .555	8.310	.594	-.105000	.189316	.538748	-.328748

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	.54833	.394989	.161254
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	.24500	.191911	.078348

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
			t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower		
	F	Sig.								
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	7.764	.019	1.692	10	.122	.303333	.179279	.096126	-.702793
				1.692	7.236	.133	.303333	.179279	.117808	-.724475

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	.24333	.130333	.053208
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	.88167	.482428	.196950

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Kadar Testosteron	Equal variances assumed		9.507	.012	-	10	.011	-.638333	.204011	1.092899	.183768
	Equal variances not assumed				3.129	5.726	.022	-.638333	.204011	1.143379	.133288

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	.24333	.130333	.053208
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	.31000	.107703	.043970

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Kadar Testosteron	Equal variances assumed		.320	.584	-	10	.357	-.066667	.069025	-.220464	.087131
	Equal variances not assumed				.966	9.657	.358	-.066667	.069025	.221207	.087874

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	.24333	.130333	.053208
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	.65333	.242954	.099186

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
Kadar Testosteron	Equal variances assumed		5.402	.042	-3.643	10	.005	-.410000	.112556	.660791	.159209
	Equal variances not assumed				-3.643	7.658	.007	-.410000	.112556	.671588	.148412

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	.24333	.130333	.053208
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	.24500	.191911	.078348

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
Kadar Testosteron	Equal variances assumed		2.063	.181	-0.018	10	.986	-.001667	.094707	.212687	.209354
	Equal variances not assumed				-8.803	.018	.986	-.001667	.094707	.216642	.213308

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	.88167	.482428	.196950
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	.31000	.107703	.043970

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
	Kadar Testosteron	Equal variances assumed	10.958	.008	2.833	10	.018	.571667	.201799	.122031	1.021303
	Equal variances not assumed				2.833	5.497	.033	.571667	.201799	.066725	1.076608

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	.88167	.482428	.196950
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	.65333	.242954	.099186

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	
	Kadar Testosteron	Equal variances assumed	3.695	.083	1.035	10	.325	.228333	.220516	-.719673
	Equal variances not assumed				1.035	7.383	.333	.228333	.220516	-.744338
									.287671	

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	.88167	.482428	.196950
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	.24500	.191911	.078348

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	5.951	.035	3.004	10	.013	.636667	.211962	.164386	1.108947
	Equal variances not assumed			3.004	6.544	.022	.636667	.211962	.128286	1.145047

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	.31000	.107703	.043970
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	.65333	.242954	.099186

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	8.460	.016	-3.165	10	.010	-.343333	.108495	-585075	101592
	Equal variances not assumed			-6.892	.016	-.343333	.108495	.600699	085968	

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	.31000	.107703	.043970
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	.24500	.191911	.078348

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	4.195	.068	.723	10	.486	.065000	.089842	.135181	.265181
	Equal variances not assumed			.723	7.865	.490	.065000	.089842	.142796	.272796

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Testosteron	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	.65333	.242954	.099186
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	.24500	.191911	.078348

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Testosteron	Equal variances assumed	.918	.361	3.231	10	.009	.408333	.126397	.126704	.689963
	Equal variances not assumed			3.231	9.491	.010	.408333	.126397	.124644	.692023

## Lampiran 8 : Uji Persentase Motilitas Spermatozoa

### NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Kelompok			Motilitas A	Motilitas B	Motilitas C	Motilitas D
Kontrol (-)	N		6	6	6	6
	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	56.717	16.483	13.817	12.983
		Std. Deviation	3.0096	1.1635	1.9177	1.8978
	Most Extreme Differences	Absolute	.151	.204	.212	.173
		Positive	.116	.131	.212	.173
		Negative	-.151	-.204	-.195	-.136
	Kolmogorov-Smirnov Z		.370	.500	.518	.423
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.999	.964	.951	.994
	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg		6	6	6	6
	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	33.917	17.867	21.150	27.067
2-ME (200 mg/kg) + N Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg		Std. Deviation	11.1575	3.7702	6.5065	8.3311
	Most Extreme Differences	Absolute	.187	.246	.279	.196
		Positive	.187	.246	.279	.196
		Negative	-.175	-.165	-.143	-.160
	Kolmogorov-Smirnov Z		.457	.602	.682	.479
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.985	.861	.740	.976
	2-ME (200 mg/kg) + N Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg		6	6	6	6
	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	57.000	16.117	12.150	14.733
		Std. Deviation	6.9062	5.7461	3.4738	2.4064
	Most Extreme Differences	Absolute	.214	.216	.223	.229
2-ME (200 mg/kg) + N Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg		Positive	.214	.198	.222	.184
		Negative	-.188	-.216	-.223	-.229
	Kolmogorov-Smirnov Z		.524	.529	.546	.561
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.947	.942	.927	.912
	2-ME (200 mg/kg) + N Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg		6	6	6	6
	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	53.133	17.283	17.083	12.500
		Std. Deviation	4.3173	3.8081	4.4029	4.3973
	Most Extreme Differences	Absolute	.216	.234	.229	.186
		Positive	.173	.234	.229	.186
		Negative	-.216	-.164	-.177	-.148
	Kolmogorov-Smirnov Z		.529	.574	.561	.455
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.942	.897	.912	.986

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

Kelompok		Motilitas A	Motilitas B	Motilitas C	Motilitas D
Asymp. Sig. (2-tailed)		.613	.276	.535	.660
2-ME (200 mg/kg) + N Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean Std. Deviation	57.767 13.9788	13.550 4.6659	14.667 7.3612
	Most Extreme Differences	Absolute Positive Negative	.318 .205 -.318	.208 .203 -.208	.262 .262 -.218
	Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.509	.641
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.958	.806
2-ME (200 mg/kg) + N Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean Std. Deviation	58.067 7.1935	15.917 4.1758	12.750 2.3493
	Most Extreme Differences	Absolute Positive Negative	.213 .201 -.213	.232 .183 -.232	.245 .139 -.245
	Kolmogorov-Smirnov Z		.521	.568	.601
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.949	.904	.863
2-ME (200 mg/kg) + N Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean Std. Deviation	47.117 8.9202	15.900 2.9993	20.833 4.9286
	Most Extreme Differences	Absolute Positive Negative	.284 .284 -.180	.258 .258 -.248	.257 .257 -.253
	Kolmogorov-Smirnov Z		.696	.632	.629
	Asymp. Sig. (2-tailed)		.717	.819	.823

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## Oneway

### Descriptives

Motilitas A

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.2287	53.558	59.875	51.8	60.4
Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550	22.208	45.626	22.1	48.3
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195	49.752	64.248	49.4	65.2
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non-Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625	48.603	57.664	46.4	57.3
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.7838	71.269	75.298	71.5	75.4
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068	43.097	72.437	37.7	69.3
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.9367	50.518	65.616	46.9	68.6
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416	37.756	56.478	38.7	59.6
Total	48	54.625	12.9280	1.8660	50.871	58.379	22.1	75.4

### Test of Homogeneity of Variances

Motilitas A

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.121	7	40	.000

### ANOVA

Motilitas A

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5203.797	7	743.400	11.215	.000
Within Groups	2651.453	40	66.286		
Total	7855.250	47			

### Robust Tests of Equality of Means

Motilitas A

	Statistic <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	11.215	7	21.496	.000

a. Asymptotically F distributed.

## Oneway

### Descriptives

Motilitas B

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.4750	15.262	17.704	14.5	17.9
Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392	13.910	21.823	14.2	24.8
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458	10.087	22.147	8.6	22.6
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547	13.287	21.280	12.4	22.1
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.6683	11.082	14.518	11.7	16.1
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049	8.653	18.447	7.5	18.8
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.7048	11.534	20.299	10.3	20.4
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245	12.752	19.048	12.3	19.3
Total	48	15.740	3.8494	.5556	14.622	16.857	7.5	24.8

### Test of Homogeneity of Variances

Motilitas B

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.063	7	40	.011

### ANOVA

Motilitas B

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	126.573	7	18.082	1.269	.290
Within Groups	569.862	40	14.247		
Total	696.435	47			

### Robust Tests of Equality of Means

Motilitas B

	Statistic <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	1.269	7	27.398	.302

a. Asymptotically F distributed.

## Oneway

### Descriptives

Motilitas C

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.7829	11.804	15.829	11.7	16.4
Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563	14.322	27.978	14.2	32.1
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182	8.505	15.795	8.3	16.4
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975	12.463	21.704	11.4	22.8
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.6295	5.365	8.602	5.9	10.0
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052	6.942	22.392	8.0	24.3
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.9591	10.285	15.215	9.3	15.3
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121	15.661	26.006	15.5	25.8
Total	48	14.929	6.1018	.8807	13.157	16.701	5.9	32.1

### Test of Homogeneity of Variances

Motilitas C

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.604	7	40	.000

### ANOVA

Motilitas C

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	930.682	7	132.955	6.492	.000
Within Groups	819.197	40	20.480		
Total	1749.879	47			

### Robust Tests of Equality of Means

Motilitas C

	Statistic <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	6.492	7	22.789	.000

a. Asymptotically F distributed.

## Oneway

### Descriptives

Motilitas D

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.7748	10.992	14.975	10.9	16.0
Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011	18.324	35.810	16.2	39.9
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824	12.208	17.259	10.7	16.9
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952	7.885	17.115	7.9	19.0
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.6479	5.268	8.599	5.5	10.0
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372	8.009	20.025	6.2	21.2
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.3253	9.860	16.673	10.0	18.2
2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878	12.840	19.460	10.3	19.6
Total	48	14.706	6.7218	.9702	12.754	16.658	5.5	39.9

### Test of Homogeneity of Variances

Motilitas D

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.522	7	40	.001

### ANOVA

Motilitas D

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1354.003	7	193.429	10.054	.000
Within Groups	769.585	40	19.240		
Total	2123.588	47			

### Robust Tests of Equality of Means

Motilitas D

	Statistic <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	10.054	7	18.145	.000

a. Asymptotically F distributed.

## T-Test

### Motilitas Spermatozoa

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.7748
	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011
Motilitas C	Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.7829
	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563
Motilitas B	Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.4750
	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392
Motilitas A	Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.2287
	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	8.795	.014	-4.037	10	.002	-14.0833	3.4883	-21.8557	-6.3110
	Equal variances not assumed			-4.037	5.518	.008	-14.0833	3.4883	-22.8031	-5.3636
Motilitas C	Equal variances assumed	6.336	.031	-2.648	10	.024	-7.3333	2.7693	-13.5036	-1.1630
	Equal variances not assumed			-2.648	5.862	.039	-7.3333	2.7693	-14.1483	-.5184
Motilitas B	Equal variances assumed	2.725	.130	-.859	10	.411	-1.3833	1.6108	-4.9725	2.2058
	Equal variances not assumed			-.859	5.944	.424	-1.3833	1.6108	-5.3339	2.5672
Motilitas A	Equal variances assumed	8.954	.014	4.833	10	.001	22.8000	4.7178	12.2880	33.3120
	Equal variances not assumed			4.833	5.724	.003	22.8000	4.7178	11.1195	34.4805

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.7748
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824
Motilitas C	Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.7829
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182
Motilitas B	Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.4750
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458
Motilitas A	Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.2287
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	.405	.539	-1.399	10	.192	-1.7500	1.2512	-4.5377	1.0377
	Equal variances not assumed			-1.399	9.485	.194	-1.7500	1.2512	-4.5584	1.0584
Motilitas C	Equal variances assumed	3.054	.111	1.029	10	.328	1.6667	1.6199	-1.9427	5.2761
	Equal variances not assumed			1.029	7.789	.334	1.6667	1.6199	-2.0866	5.4199
Motilitas B	Equal variances assumed	10.623	.009	.153	10	.881	.3667	2.3934	-4.9663	5.6996
	Equal variances not assumed			.153	5.409	.884	.3667	2.3934	-5.6484	6.3818
Motilitas A	Equal variances assumed	9.601	.011	-.092	10	.928	-.2833	3.0755	-7.1361	6.5694
	Equal variances not assumed			-.092	6.833	.929	-.2833	3.0755	-7.5920	7.0254

**T-Test**

**Group Statistics**

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.7748
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952
Motilitas C	Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.7829
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975
Motilitas B	Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.4750
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547
Motilitas A	Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.2287
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
				F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
		Motilitas D	Equal variances assumed	4.467	.061	.247	10	.810	.4833	1.9552	-3.8732	4.8399
		Motilitas C	Equal variances not assumed			.247	6.800	.812	.4833	1.9552	-4.1677	5.1344
			Equal variances assumed	8.797	.014	-1.666	10	.127	-3.2667	1.9606	-7.6351	1.1018
		Motilitas B	Equal variances not assumed			-1.666	6.831	.141	-3.2667	1.9606	-7.9260	1.3927
			Equal variances assumed	14.939	.003	-.492	10	.633	-.8000	1.6256	-4.4220	2.8220
		Motilitas A	Equal variances not assumed			-.492	5.925	.640	-.8000	1.6256	-4.7899	3.1899
			Equal variances assumed	1.711	.220	1.668	10	.126	3.5833	2.1485	-1.2038	8.3705
			Equal variances not assumed			1.668	8.931	.130	3.5833	2.1485	-1.2826	8.4493

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
				F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
		Motilitas D	Equal variances assumed	4.467	.061	.247	10	.810	.4833	1.9552	-3.8732	4.8399
		Motilitas C	Equal variances not assumed			.247	6.800	.812	.4833	1.9552	-4.1677	5.1344
			Equal variances assumed	8.797	.014	-1.666	10	.127	-3.2667	1.9606	-7.6351	1.1018
		Motilitas B	Equal variances not assumed			-1.666	6.831	.141	-3.2667	1.9606	-7.9260	1.3927
			Equal variances assumed	14.939	.003	-.492	10	.633	-.8000	1.6256	-4.4220	2.8220
		Motilitas A	Equal variances not assumed			-.492	5.925	.640	-.8000	1.6256	-4.7899	3.1899
			Equal variances assumed	1.711	.220	1.668	10	.126	3.5833	2.1485	-1.2038	8.3705
			Equal variances not assumed			1.668	8.931	.130	3.5833	2.1485	-1.2826	8.4493

## T-Test

Group Statistics		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.774
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.647
Motilitas C	Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.782
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.629
Motilitas B	Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.475
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.668
Motilitas A	Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.228
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.783

### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	.297	.598	5.990	10	.000	6.0500	1.0100	3.7996	8.3004
	Equal variances not assumed			5.990	9.696	.000	6.0500	1.0100	3.7900	8.3100
Motilitas C	Equal variances assumed	.924	.359	6.802	10	.000	6.8333	1.0046	4.5949	9.0717
	Equal variances not assumed			6.802	9.559	.000	6.8333	1.0046	4.5809	9.0858
Motilitas B	Equal variances assumed	.219	.650	4.492	10	.001	3.6833	.8199	1.8564	5.5102
	Equal variances not assumed			4.492	9.024	.001	3.6833	.8199	1.8293	5.5374
Motilitas A	Equal variances assumed	.375	.554	-11.368	10	.000	-16.5667	1.4574	-19.8139	-13.3195
	Equal variances not assumed			-11.368	8.491	.000	-16.5667	1.4574	-19.8938	-13.2395

## T-Test

Group Statistics		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.7748
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372
Motilitas C	Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.7829
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052
Motilitas B	Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.4750
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049
Motilitas A	Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.2287
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	10.445	.009	-.420	10	.684	-1.0333	2.4622	-6.5195	4.4528
	Equal variances not assumed			-.420	6.086	.689	-1.0333	2.4622	-7.0376	4.9710
Motilitas C	Equal variances assumed	13.376	.004	-.274	10	.790	-.8500	3.1055	-7.7695	6.0695
	Equal variances not assumed			-.274	5.676	.794	-.8500	3.1055	-8.5554	6.8554
Motilitas B	Equal variances assumed	9.755	.011	1.494	10	.166	2.9333	1.9632	-1.4409	7.3076
	Equal variances not assumed			1.494	5.619	.189	2.9333	1.9632	-1.9504	7.8171
Motilitas A	Equal variances assumed	18.425	.002	-.180	10	.861	-1.0500	5.8376	-14.0569	11.9569
	Equal variances not assumed			-.180	5.463	.864	-1.0500	5.8376	-15.6817	13.5817

**T-Test**

**Group Statistics**

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.774
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.325
Motilitas C	Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.782
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.959
Motilitas B	Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.475
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.704
Motilitas A	Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.228
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.936

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	
Motilitas D	Equal variances assumed	3.760	.081	-.185	10	.857	-.2833	1.5352	-3.7039	3.1372
	Equal variances not assumed			-.185	8.060	.858	-.2833	1.5352	-3.8188	3.2522
Motilitas C	Equal variances assumed	.540	.479	.862	10	.409	1.0667	1.2381	-1.6919	3.8252
	Equal variances not assumed			.862	9.615	.410	1.0667	1.2381	-1.7070	3.8403
Motilitas B	Equal variances assumed	10.094	.010	.320	10	.755	.5667	1.7697	-3.3765	4.5098
	Equal variances not assumed			.320	5.772	.760	.5667	1.7697	-3.8055	4.9389
Motilitas A	Equal variances assumed	1.923	.196	-.424	10	.680	-1.3500	3.1834	-8.4431	5.7431
	Equal variances not assumed			-.424	6.698	.685	-1.3500	3.1834	-8.9468	6.2468

**T-Test**

**Group Statistics**

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (-)	6	12.983	1.8978	.7748
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878
Motilitas C	Kontrol (-)	6	13.817	1.9177	.7829
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121
Motilitas B	Kontrol (-)	6	16.483	1.1635	.4750
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245
Motilitas A	Kontrol (-)	6	56.717	3.0096	1.2287
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
			t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower		
	F	Sig.								
Motilitas D	Equal variances assumed	.259	.622	-2.107	10	.061	-3.1667	1.5029	-6.5154	.1821
				-2.107	8.200	.067	-3.1667	1.5029	-6.6177	.2844
Motilitas C	Equal variances assumed	33.590	.000	-3.250	10	.009	-7.0167	2.1590	-11.8273	-2.2061
				-3.250	6.480	.016	-7.0167	2.1590	-12.2062	-1.8272
Motilitas B	Equal variances assumed	20.858	.001	.444	10	.666	.5833	1.3134	-2.3430	3.5097
				.444	6.471	.671	.5833	1.3134	-2.5745	3.7411
Motilitas A	Equal variances assumed	17.165	.002	2.498	10	.032	9.6000	3.8433	1.0365	18.1635
				2.498	6.124	.046	9.6000	3.8433	.2416	18.9584

**T-Test**

**Group Statistics**

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824
Motilitas C	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182
Motilitas B	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458
Motilitas A	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
			t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower		
	F	Sig.								
Motilitas D	Equal variances assumed	7.186	.023	3.484	10	.006	12.3333	3.5402	4.4453	20.2214
				3.484	5.829	.014	12.3333	3.5402	3.6087	21.0580
Motilitas C	Equal variances assumed	2.274	.162	2.989	10	.014	9.0000	3.0111	2.2907	15.7093
				2.989	7.636	.018	9.0000	3.0111	1.9983	16.0017
Motilitas B	Equal variances assumed	1.794	.210	.624	10	.547	1.7500	2.8057	-4.5015	8.0015
				.624	8.632	.549	1.7500	2.8057	-4.6385	8.1385
Motilitas A	Equal variances assumed	1.686	.223	-4.309	10	.002	-23.0833	5.3570	-35.0195	-11.1472
				-4.309	8.341	.002	-23.0833	5.3570	-35.3493	-10.8174

### T-Test

**Group Statistics**

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952
Motilitas C	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975
Motilitas B	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547
Motilitas A	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	2.649	.135	3.788	10	.004	14.5667	3.8458	5.9976	23.1357
	Equal variances not assumed			3.788	7.585	.006	14.5667	3.8458	5.6130	23.5203
Motilitas C	Equal variances assumed	.802	.392	1.268	10	.234	4.0667	3.2073	-3.0796	11.2130
	Equal variances not assumed			1.268	8.785	.237	4.0667	3.2073	-3.2159	11.3492
Motilitas B	Equal variances assumed	.328	.580	.267	10	.795	.5833	2.1877	-4.2912	5.4578
	Equal variances not assumed			.267	9.999	.795	.5833	2.1877	-4.2912	5.4579
Motilitas A	Equal variances assumed	5.675	.038	-3.935	10	.003	-19.2167	4.8841	-30.0992	-8.3341
	Equal variances not assumed			-3.935	6.464	.007	-19.2167	4.8841	-30.9626	-7.4707

**T-Test**

Group Statistics					
Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.6479
Motilitas C	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.6295
Motilitas B	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.6683
Motilitas A	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.7838

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	10.021	.010	5.815	10	.000	20.1333	3.4623	12.4188	27.8478
	Equal variances not assumed			5.815	5.362	.002	20.1333	3.4623	11.4111	28.8556
Motilitas C	Equal variances assumed	8.173	.017	5.190	10	.000	14.1667	2.7299	8.0842	20.2492
	Equal variances not assumed			5.190	5.560	.003	14.1667	2.7299	7.3567	20.9767
Motilitas B	Equal variances assumed	1.797	.210	3.019	10	.013	5.0667	1.6780	1.3278	8.8055
	Equal variances not assumed			3.019	6.821	.020	5.0667	1.6780	1.0775	9.0558
Motilitas A	Equal variances assumed	11.397	.007	-8.517	10	.000	-39.3667	4.6220	-49.6650	-29.0683
	Equal variances not assumed			-8.517	5.296	.000	-39.3667	4.6220	-51.0509	-27.6824

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372
Motilitas C	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052
Motilitas B	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049
Motilitas A	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	.882	.370	3.162	10	.010	13.0500	4.1267	3.8550	22.2450
	Equal variances not assumed			3.162	8.861	.012	13.0500	4.1267	3.6923	22.4077
Motilitas C	Equal variances assumed	.337	.574	1.616	10	.137	6.4833	4.0109	-2.4534	15.4201
	Equal variances not assumed			1.616	9.851	.138	6.4833	4.0109	-2.4717	15.4384

Motilitas B	Equal variances assumed	.762	.403	1.763	10	.108	4.3167	2.4490	-1.1400	9.7734
	Equal variances not assumed			1.763	9.578	.110	4.3167	2.4490	-1.1728	9.8062
Motilitas A	Equal variances assumed	.898	.366	-3.266	10	.008	-23.8500	7.3018	-40.1194	-7.5806
	Equal variances not assumed			-3.266	9.532	.009	-23.8500	7.3018	-40.2284	-7.4716

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.3253
Motilitas C	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.9591
Motilitas B	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.7048
Motilitas A	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.9367

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	4.795	.053	3.781	10	.004	13.8000	3.6502	5.6668	21.9332
	Equal variances not assumed			3.781	6.484	.008	13.8000	3.6502	5.0274	22.5726
Motilitas C	Equal variances assumed	4.929	.051	2.974	10	.014	8.4000	2.8241	2.1075	14.6925
	Equal variances not assumed			2.974	6.282	.023	8.4000	2.8241	1.5641	15.2359
Motilitas B	Equal variances assumed	.428	.528	.849	10	.416	1.9500	2.2968	-3.1676	7.0676
	Equal variances not assumed			.849	9.897	.416	1.9500	2.2968	-3.1748	7.0748
Motilitas A	Equal variances assumed	1.922	.196	-4.456	10	.001	-24.1500	5.4197	-36.2258	-12.0742
	Equal variances not assumed			-4.456	8.544	.002	-24.1500	5.4197	-36.5105	-11.7895

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	27.067	8.3311	3.4011
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878
Motilitas C	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	21.150	6.5065	2.6563
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121
Motilitas B	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	17.867	3.7702	1.5392
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245
Motilitas A	Kontrol (+) (2-ME) 200 mg/kg	6	33.917	11.1575	4.5550
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	5.760	.037	3.002	10	.013	10.9167	3.6368	2.8134	19.0200
	Equal variances not assumed		*	3.002	6.405	.022	10.9167	3.6368	2.1523	19.6810
Motilitas C	Equal variances assumed	.225	.645	.095	10	.926	.3167	3.3323	-7.1082	7.7415
	Equal variances not assumed			.095	9.317	.926	.3167	3.3323	-7.1827	7.8160
Motilitas B	Equal variances assumed	.005	.942	1.000	10	.341	1.9667	1.9668	-2.4157	6.3491
	Equal variances not assumed			1.000	9.519	.342	1.9667	1.9668	-2.4459	6.3793
Motilitas A	Equal variances assumed	.260	.621	-2.263	10	.047	-13.2000	5.8318	-26.1941	-.2059
	Equal variances not assumed			-2.263	9.538	.048	-13.2000	5.8318	-26.2799	-.1201

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
									Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	2.577	.139	1.091	10	.301	2.2333	2.0464	-2.3263	6.7930
	Equal variances not assumed			1.091	7.748	.308	2.2333	2.0464	-2.5125	6.9792
Motilitas C	Equal variances assumed	1.020	.336	-2.155	10	.057	-4.9333	2.2896	-10.0348	.1681
	Equal variances not assumed			-2.155	9.486	.058	-4.9333	2.2896	-10.0725	.2058
Motilitas B	Equal variances assumed	1.191	.301	-.415	10	.687	-1.1667	2.8142	-7.4372	5.1038
	Equal variances not assumed			-.415	8.682	.689	-1.1667	2.8142	-7.5686	5.2353
Motilitas A	Equal variances assumed	3.809	.080	1.163	10	.272	3.8667	3.3250	-3.5419	11.2753
	Equal variances not assumed			1.163	8.390	.277	3.8667	3.3250	-3.7392	11.4726

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.6479
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.6295
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.6683
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.7838

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
Motilitas D		Equal variances assumed	1.304	.280	6.628	10	.000	7.8000	1.1768	5.1779	10.4221
		Equal variances not assumed			6.628	8.658	.000	7.8000	1.1768	5.1217	10.4783
Motilitas C		Equal variances assumed	5.558	.040	3.330	10	.008	5.1667	1.5516	1.7095	8.6238
		Equal variances not assumed			3.330	6.897	.013	5.1667	1.5516	1.4866	8.8468
Motilitas B		Equal variances assumed	8.472	.016	1.360	10	.204	3.3167	2.4392	-2.1182	8.7515
		Equal variances not assumed			1.360	5.806	.224	3.3167	2.4392	-2.7004	9.3337
Motilitas A		Equal variances assumed	19.050	.001	-5.564	10	.000	-16.2833	2.9264	-22.8037	-9.7630
		Equal variances not assumed			-5.564	5.768	.002	-16.2833	2.9264	-23.5142	-9.0524

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	
										Lower
Motilitas D	Motilitas Equal variances assumed	7.372	.022	.283	10	.783	.7167	2.5352	-4.9322	6.3655
	Equal variances not assumed			.283	6.713	.786	.7167	2.5352	-5.3305	6.7638
Motilitas C	Motilitas Equal variances assumed	5.939	.035	-.757	10	.466	-2.5167	3.3230	-9.9208	4.8874
	Equal variances not assumed			-.757	7.122	.473	-2.5167	3.3230	-10.3472	5.3138
Motilitas B	Motilitas Equal variances assumed	.349	.568	.849	10	.416	2.5667	3.0218	-4.1664	9.2997
	Equal variances not assumed			.849	9.596	.416	2.5667	3.0218	-4.2050	9.3384
Motilitas A	Motilitas Equal variances assumed	6.449	.029	-.120	10	.907	-.7667	6.3653	-14.9495	13.4161
	Equal variances not assumed			-.120	7.304	.907	-.7667	6.3653	-15.6923	14.1590

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.3253
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.9591
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.7048
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.9367

### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
							95% Confidence Interval of the Difference		
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Motilitas D	1.430	.259	.889	10	.395	1.4667	1.6497	-2.2091	5.1425
			.889	9.220	.397	1.4667	1.6497	-2.2517	5.1850
Motilitas C	1.381	.267	-.350	10	.733	-.6000	1.7120	-4.4146	3.2146
			-.350	8.782	.734	-.6000	1.7120	-4.4875	3.2875
Motilitas B	.783	.397	.069	10	.946	.2000	2.8999	-6.2613	6.6613
			.069	9.130	.947	.2000	2.8999	-6.3458	6.7458
Motilitas A	.189	.673	-.262	10	.799	-1.0667	4.0711	-10.1376	8.0043
			-.262	9.983	.799	-1.0667	4.0711	-10.1397	8.0063

### T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	14.733	2.4064	.9824
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	12.150	3.4738	1.4182
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	16.117	5.7461	2.3458
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 0,6 mg/kg	6	57.000	6.9062	2.8195
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Motilitas D	Equal variances assumed		.008	.932	-.875	10	.402	-1.4167	1.6198	-5.0257	2.1924
	Equal variances not assumed				-.875	9.347	.404	-1.4167	1.6198	-5.0602	2.2268
Motilitas C	Equal variances assumed		4.893	.051	-3.527	10	.005	-8.6833	2.4616	-14.1682	-3.1985
	Equal variances not assumed				-3.527	8.984	.006	-8.6833	2.4616	-14.2534	-3.1133
Motilitas B	Equal variances assumed		2.848	.122	.082	10	.936	.2167	2.6462	-5.6794	6.1127
	Equal variances not assumed				.082	7.536	.937	.2167	2.6462	-5.9514	6.3847
Motilitas A	Equal variances assumed		1.530	.244	2.146	10	.057	9.8833	4.6055	-.3784	20.1451
	Equal variances not assumed				2.146	9.410	.059	9.8833	4.6055	-.4664	20.2330

### T-Test

**Group Statistics**

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.6479
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.6295
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.6683
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.7838

### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Motilitas D	6.111	.033	2.917	10	.015	5.5667	1.9085	1.3142	9.8191
						5.5667	1.9085	.9468	10.1865
Motilitas C	12.292	.006	5.303	10	.000	10.1000	1.9045	5.8564	14.3436
						10.1000	1.9045	5.4774	14.7226
Motilitas B	9.080	.013	2.649	10	.024	4.4833	1.6922	.7128	8.2538
						4.4833	1.6922	.4563	8.5104
Motilitas A	5.829	.036	-10.446	10	.000	-20.1500	1.9289	-24.4479	-15.8521
						-20.1500	1.9289	-24.7242	-15.5758

### T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Motilitas D	Equal variances assumed		.993	.343	-.515	10	.618	-1.5167	2.9470	-8.0830	5.0497
	Equal variances not assumed				-.515	9.376	.619	-1.5167	2.9470	-8.1427	5.1094
Motilitas C	Equal variances assumed		3.092	.109	.690	10	.506	2.4167	3.5017	-5.3857	10.2190
	Equal variances not assumed				.690	8.172	.509	2.4167	3.5017	-5.6289	10.4622
Motilitas B	Equal variances assumed		.244	.632	1.518	10	.160	3.7333	2.4587	-1.7451	9.2118
	Equal variances not assumed				1.518	9.614	.161	3.7333	2.4587	-1.7751	9.2417
Motilitas A	Equal variances assumed		13.510	.004	-.776	10	.456	-4.6333	5.9728	-17.9415	8.6749
	Equal variances not assumed				-.776	5.945	.468	-4.6333	5.9728	-19.2809	10.0143

**T-Test**

**Group Statistics**

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.3253
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.9591
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.7048
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.9367

### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Motilitas D	Equal variances assumed		.568	.468	-.344	10	.738	-.7667	2.2314	-5.7385	4.2052
	Equal variances not assumed				-.344	9.202	.739	-.7667	2.2314	-5.7976	4.2642
Motilitas C	Equal variances assumed		5.608	.039	2.127	10	.059	4.3333	2.0373	-.2062	8.8728
	Equal variances not assumed				2.127	7.634	.068	4.3333	2.0373	-.4043	9.0710
Motilitas B	Equal variances assumed		.032	.862	.592	10	.567	1.3667	2.3072	-3.7741	6.5075
	Equal variances not assumed				.592	9.916	.567	1.3667	2.3072	-3.7800	6.5133
Motilitas A	Equal variances assumed		.501	.495	-1.440	10	.180	-4.9333	3.4250	-12.5648	2.6981
	Equal variances not assumed				-1.440	8.188	.187	-4.9333	3.4250	-12.8000	2.9333

### T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	12.500	4.3973	1.7952
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.083	4.4029	1.7975
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	17.283	3.8081	1.5547
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Non Polar Dosis 3 mg/kg	6	53.133	4.3173	1.7625
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Motilitas D	Equal variances assumed		1.438	.258	-1.652	10	.130	-3.6500	2.2093	-8.5727	1.2727
	Equal variances not assumed				-1.652	9.069	.133	-3.6500	2.2093	-8.6421	1.3421
Motilitas C	Equal variances assumed		.871	.373	-1.390	10	.195	-3.7500	2.6980	-9.7616	2.2616

	Equal variances not assumed			-1.390	9.875	.195	-3.7500	2.6980	-9.7719	2.2719
Motilitas B	Equal variances assumed	.892	.367	.699	10	.500	1.3833	1.9790	-3.0261	5.7927
	Equal variances not assumed			.699	9.480	.501	1.3833	1.9790	-3.0591	5.8258
Motilitas A	Equal variances assumed	9.662	.011	1.487	10	.168	6.0167	4.0457	-2.9978	15.0311
	Equal variances not assumed			1.487	7.221	.179	6.0167	4.0457	-3.4911	15.5244

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.6479
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.6295
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.6683
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.7838
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference		
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
										Lower	
Motilitas D	Equal variances assumed		12.789	.005	-2.921	10	.015	-7.0833	2.4253	-12.4872	-1.6794
	Equal variances not assumed				-2.921	5.764	.028	-7.0833	2.4253	-13.0772	-1.0894
Motilitas C	Equal variances assumed		16.091	.002	-2.502	10	.031	-7.6833	3.0704	-14.5246	-.8420
	Equal variances not assumed				-2.502	5.438	.050	-7.6833	3.0704	-15.3887	.0220
Motilitas B	Equal variances assumed		7.142	.023	-.372	10	.718	-.7500	2.0187	-5.2480	3.7480
	Equal variances not assumed				-.372	6.213	.723	-.7500	2.0187	-5.6489	4.1489
Motilitas A	Equal variances assumed		22.620	.001	2.694	10	.023	15.5167	5.7604	2.6817	28.3516
	Equal variances not assumed				2.694	5.189	.042	15.5167	5.7604	.8695	30.1638

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.6479
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.3253
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.6295
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.9591
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.6683
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.7048
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.7838
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.9367

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference
Motilitas D	Equal variances assumed	6.095	.033	-4.293	10	.002	-6.3333	1.4752	-9.6203 -3.0464
	Equal variances not assumed			-4.293	7.261	.003	-6.3333	1.4752	-9.7964 -2.8703
Motilitas C	Equal variances assumed	2.510	.144	-5.027	10	.001	-5.7667	1.1472	-8.3228 -3.2105
	Equal variances not assumed			-5.027	8.634	.001	-5.7667	1.1472	-8.3787 -3.1546
Motilitas B	Equal variances assumed	6.914	.025	-1.702	10	.120	-3.1167	1.8311	-7.1966 .9633
	Equal variances not assumed			-1.702	6.501	.136	-3.1167	1.8311	-7.5148 1.2814
Motilitas A	Equal variances assumed	2.992	.114	5.006	10	.001	15.2167	3.0395	8.4442 21.9892
	Equal variances not assumed			5.006	5.709	.003	15.2167	3.0395	7.6862 22.7471

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.933	1.5870	.6479
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	6.983	1.5420	.6295
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	12.800	1.6371	.6683
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 4 mg/kg	6	73.283	1.9198	.7838
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference			
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		
Motilitas D		Equal variances assumed	.701	.422	-6.393	10	.000	-9.2167	1.4416	-12.4288	-6.0045
		Equal variances not assumed			-6.393	7.379	.000	-9.2167	1.4416	-12.5904	-5.8429
Motilitas C		Equal variances assumed	37.857	.000	-6.569	10	.000	-13.8500	2.1083	-18.5475	-9.1525
		Equal variances not assumed			-6.569	5.970	.001	-13.8500	2.1083	-19.0151	-8.6849
Motilitas B		Equal variances assumed	8.711	.015	-2.222	10	.051	-3.1000	1.3950	-6.2082	.0082
		Equal variances not assumed			-2.222	7.736	.058	-3.1000	1.3950	-6.3360	.1360
Motilitas A		Equal variances assumed	28.572	.000	7.025	10	.000	26.1667	3.7250	17.8668	34.4666
		Equal variances not assumed			7.025	5.462	.001	26.1667	3.7250	16.8298	35.5035

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.3253
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.9591
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.7048
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.9367

### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
							95% Confidence Interval of the Difference			
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
Motilitas D	Motilitas Equal variances assumed	3.659	.085	.279	10	.786	.7500	2.6868	-5.2365	6.7365
	Equal variances not assumed			.279	7.914	.787	.7500	2.6868	-5.4574	6.9574
Motilitas C	Motilitas Equal variances assumed	10.970	.008	.608	10	.557	1.9167	3.1545	-5.1120	8.9454
	Equal variances not assumed			.608	6.008	.566	1.9167	3.1545	-5.7996	9.6330
Motilitas B	Motilitas Equal variances assumed	.090	.770	-.926	10	.376	-2.3667	2.5563	-8.0625	3.3292
	Equal variances not assumed			-.926	9.879	.377	-2.3667	2.5563	-8.0719	3.3386
Motilitas A	Motilitas Equal variances assumed	5.756	.037	-.047	10	.964	-.3000	6.4181	-14.6005	14.0005
	Equal variances not assumed			-.047	7.475	.964	-.3000	6.4181	-15.2833	14.6833

### T-Test

#### Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.017	5.7248	2.3372
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	14.667	7.3612	3.0052
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	13.550	4.6659	1.9049
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Semi Polar Dosis 20 mg/kg	6	57.767	13.9788	5.7068
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416

### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
							95% Confidence Interval of the Difference			
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
Motilitas D	Motilitas Equal variances assumed	4.499	.060	-.799	10	.443	-2.1333	2.6685	-8.0791	3.8124
	Equal variances not assumed			-.799	7.780	.448	-2.1333	2.6685	-8.3173	4.0506

Motilitas C	Equal variances assumed	1.889	.199	-1.705	10	.119	-6.1667	3.6166	-14.2249	1.8915
	Equal variances not assumed			-1.705	8.733	.123	-6.1667	3.6166	-14.3862	2.0529
Motilitas B	Equal variances assumed	1.394	.265	-1.038	10	.324	-2.3500	2.2645	-7.3956	2.6956
	Equal variances not assumed			-1.038	8.529	.328	-2.3500	2.2645	-7.5160	2.8160
Motilitas A	Equal variances assumed	2.911	.119	1.573	10	.147	10.6500	6.7697	-4.4339	25.7339
	Equal variances not assumed			1.573	8.493	.152	10.6500	6.7697	-4.8048	26.1048

## T-Test

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Motilitas D	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	13.267	3.2463	1.3253
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	16.150	3.1545	1.2878
Motilitas C	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	12.750	2.3493	.9591
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	20.833	4.9286	2.0121
Motilitas B	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	15.917	4.1758	1.7048
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	15.900	2.9993	1.2245
Motilitas A	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 0,4 mg/kg	6	58.067	7.1935	2.9367
	2-ME (200 mg/kg) + Fraksi Polar Dosis 2 mg/kg	6	47.117	8.9202	3.6416

## Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality-of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Motilitas D	Equal variances assumed	.529	.484	-1.560	10	.150	-2.8833	1.8480	-7.0008	1.2342
	Equal variances not assumed			-1.560	9.992	.150	-2.8833	1.8480	-7.0013	1.2346
Motilitas C	Equal variances assumed	22.272	.001	-3.626	10	.005	-8.0833	2.2290	-13.0498	-3.1169
	Equal variances not assumed			-3.626	7.161	.008	-8.0833	2.2290	-13.3301	-2.8365
Motilitas B	Equal variances assumed	.867	.374	.008	10	.994	.0167	2.0990	-4.6601	4.6934
	Equal variances not assumed			.008	9.075	.994	.0167	2.0990	-4.7256	4.7589
Motilitas A	Equal variances assumed	1.546	.242	2.341	10	.041	10.9500	4.6783	.5262	21.3738
	Equal variances not assumed			2.341	9.570	.042	10.9500	4.6783	.4624	21.4376