

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AKAR PASAK BUMI
(*Eurycoma longifolia* Jack) PER ORAL TERHADAP JUMLAH
SEL SPERMATOGENIK, SEL SERTOLI DAN SEL LEYDIG
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN STRAIN SWISS**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



LENA ROSIDA

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AKAR PASAK BUMI
(*Eurycoma longifolia* Jack) PER ORAL TERHADAP JUMLAH
SEL SPERMATOGENIK, SEL SERTOLI DAN SEL LEYDIG
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN STRAIN SWISS**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



LENA ROSIDA

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AKAR PASAK BUMI
(*Eurycoma longifolia* Jack) PER ORAL TERHADAP JUMLAH
SEL SPERMATOGENIK, SEL SERTOLI DAN SEL LEYDIG
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN STRAIN SWISS**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**LENA ROSIDA
NIM 090014148 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
Tanggal 5 Februari 2003**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL

Oleh

Pembimbing Ketua



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

Pembimbing



H. Abdoel Kamid Iskandar, dr., MS
NIP. 130 541 811

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar



..... dr., MS, Ph.D
NIP. 130 678 606

Telah diuji pada
Tanggal 5 Pebruari 2003
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Chairul Anwar,drh.,MS
Anggota : 1. Prof. H. Ari Gunawan,dr., MS,Ph.D
2. H. Abdoel Kamid Iskandar,dr.,MS
3. Sri Amindariati,dr.,MS
4. Hj. Iskantijah Budi Rahardjo,dr.,MS

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala Rahmat dan Kerunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini tepat pada waktunya.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya haturkan kepada :

1. Prof.H.Ari Gunawan,dr.,MS.,Ph.D, selaku pembimbing utama yang telah sudi meluangkan waktu dan memberikan bimbingan serta saran-saran baik selama penelitian berlangsung maupun penyelesaian penulisan tesis ini.
2. H.Abdoel Kamid Iskandar,dr.,MS., selaku pembimbing sekaligus Kepala Labolatorium Anatomi–Histologi FK Unair, yang telah memberikan dorongan dan bimbingan serta berkenan menyediakan fasilitas laboratorium guna kelancaran penyelesaian tesis ini.
3. Dr.Drs.Bambang Prajogo,MS.,Apt., selaku konsultan yang telah bersedia meluangkan waktu dan memberikan bimbingan yang tak henti-hentinya guna kebaikan dan kelayakan penelitian ini.
4. Hudi Winarso,dr.,Sp.And., selaku konsultan yang bersedia memberikan arahan dan petunjuk guna kelancaran penelitian ini.
5. M.Cholil Munif,dr., yang dengan cermat memberikan bimbingan metodologi penelitian guna kelayakan hasil penelitian dan penulisan tesis ini.
6. Sutjipto,dr.,MS.,Ph.D., selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang saya peroleh sejak masuk sampai selesainya Program Magister ini.
7. Prof.Dr.Muhamad Amin,dr.,Sp.P., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas guna kelancaran studi sehingga saya dapat menyelesaikan Program Magister ini tepat pada waktunya.
8. Prof.Dr.Puruhito,dr Sp.B sebagai Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.

9. H. Hasni Hasan Basri, dr.,Sp.A., Dekan Fakultas Kedokteran UNLAM yang telah memberi kesempatan dan dukungan dalam mengikuti program Magister ini.
10. Dra.Widjiati,MS., yang tidak bosan dan penuh kesabaran memberikan dorongan guna selesainya tesis ini.
11. Seluruh dosen pengajar Program Pascasarjana Universitas Airlangga, khususnya pengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, yang dengan tulus menstransfer ilmu pengetahuan sebagai bekal dalam menyelesaikan program ini.
12. Seluruh dosen pengajar, tenaga administratif dan laboran bagian Anatomi-Histologi FK Unair yang telah memberikan suasana yang konduktif selama mengikuti program ini.
13. Laboran Kandang hewan Laboratorium Biokimia FK Unair yang telah meluangkan waktu dan tenaga guna kelancaran penelitian tesis ini.

Akhirnya kepada suamiku tercinta, Khairul Fitri dan anakku tersayang, Showieb Amanie, serta seluruh keluarga, saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga atas pengertian, dukungan dan kasih sayang yang diberikan selama menjalani pendidikan ini.

Saya menyadari tesis ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun saya harapkan dari segala pihak. Semoga tesis ini bermanfaat bagi semua pihak, Amin.

Surabaya, Januari 2003

Penulis

LENA ROSIDA

RINGKASAN

Pasak Bumi adalah salah satu obat tradisional yang populer di kalangan pria dan digunakan untuk meningkatkan potensi seksual. Penelitian di tingkat hewan coba telah berhasil membuktikan bahwa ekstrak akar Pasak Bumi dapat meningkatkan libido (efek afrodisiak), hormon testosteron, FSH dan LH. Peningkatan ketiga hormon ini akan mempengaruhi jaringan testis. Sementara itu, penelitian pengaruh ekstrak akar Pasak Bumi terhadap jaringan testis belum pernah diteliti.

Dari tinjauan di atas, maka dilakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak akar Pasak Bumi terhadap jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig pada testis mencit. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *Randomized Severate Sample Pretest Postest Control Group Design*. Sampel penelitian adalah mencit dewasa (*sexual mature*) yang dibagi menjadi 6 kelompok dengan besar sampel 8 ekor. K1 : kelompok kontrol yang datanya diambil sebelum perlakuan, K2 : diberi aquaedst 0,5 ml/hari, P1 : diberi ekstrak metanol akar Pasak Bumi 200 mg/kgBB/hari, P2 : diberi ekstrak metanol akar Pasak Bumi 500 mg/kgBB/hari, P3 : diberi ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 200 mg/kgBb/hari, dan P4 : diberi ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 500 mg/kgBB/hari. Perlakuan diberikan secara oral selama 52 hari.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak metanol dan ekstrak kloroform akar Pasak Bumi dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig; pada dosis 500 mg/kgBB/hari peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Lyedig lebih tinggi dari 200 mg/kgBB/hari; perbedaan jenis pelarut akan berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig.

Setelah 52 hari perlakuan, testis kiri masing-masing mencit diambil untuk dibuat preparat histologis metode parafin dan diwarnai dengan PAS. Untuk jumlah sel sprmatogenik dan sel Sertoli, data diambil dari 10 tubulus seminiferus yang terpotong melintang, sedangkan jumlah sel Leydig dihitung dari 10 jaringan interstitial masing-masing sampel. Data yang diperoleh kemudian dianalisa dengan analisis varian (Anova) pada $\alpha = 0,05$. perhitungan dibantu dengan sistem komputer SPSS for Windows.

Dari hasil penelitian didapatkan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig pada kelompok K2 menurun dibandingkan dengan K1. Ini karena data pengamatan diambil tidak bersamaan, selang 52 hari.

Pada penelitian ini juga berhasil dibuktikan bahwa terdapat pengaruh perbedaan perlakuan yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig. Ini berarti pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig bila dibandingkan dengan kontrol.

Peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh karena ekstrak akar Pasak Bumi dapat meningkatkan hormon testosteron, FSH dan LH (Taufiqurrahman dan Wibowo,

2000). Ketiga hormon ini diperlukan untuk memacu proses spermatogenesis baik secara kuantitatif maupun kualitatif (Wuryantari dan Moeloek, 2000).

Peningkatan proses spermatogenesis pada penelitian ini tidak hanya di tingkat mitosis tetapi juga di tingkat meiosis. Ini terbukti dari meningkatnya jumlah spermatosit primer dan spermatid. Hal ini sesuai dengan Bloom dan Fawcett (1994), Niederberger dan Lamb (1997) yang mengatakan bahwa pada spermatogenesis terjadi proliferasi mitotik dan diferensiasi spermatogonia menjadi spermatosit dan pembelahan meiotik spermatosit menjadi spermatid.

Pengaruh ekstrak akar Pasak Bumi pada peningkatan jumlah sel Sertoli kemungkinan melalui aksi FSH. FSH dapat memacu proliferasi sel Sertoli pada masa pra dan pasca natal (Hadley, 1992). FSH berikatan dengan reseptor FSH spesifik yang melekat pada sel Sertoli dan menyebabkan sel tumbuh dan mensekresi berbagai unsur spermatogenik (Guyton dan Hall, 1996; Tripp dan Lamb, 1997). Hal ini juga ditunjang oleh penelitian Berndtson dan Thompson (1990) yang menyimpulkan bahwa makin besar ukuran testis dan makin cepat spermatogenesis maka jumlah sel Sertoli juga meningkat.

Peningkatan jumlah sel Leydig kemungkinan melalui aksi FSH dan LH. Dengan rangsangan LH, sel progenitor mengalami proliferasi dan diferensiasi menjadi sel Leydig sehingga jumlah sel Leydig bertambah (Hardy dan Zirkin, 1997). Peran FSH pada diferensiasi sel Leydig dilakukan secara tidak langsung, melalui sistem pengaturan lokal parakrin. Rangsangan FSH menyebabkan sel Sertoli mensekresi beberapa substansi seperti *insulin-like growth factor 1*, *transforming growth factor (TGF) α* , *TGF β* , dan *interleukin 1* yang diperlukan oleh sel spermatogenik tapi juga merangsang pertumbuhan dan fungsi sel Leydig (Hardy dan Zirkin, 1997; Tripp dan Lamb, 1997).

Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa untuk ekstrak metanol, peningkatan sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig lebih poten pada dosis 200 mg/kgBB/hari dibandingkan dengan dosis 500 mg/kgBB/hari. Namun sebaliknya, pada ekstrak kloroform dosis 500 mg/kgBB/hari lebih poten dari dosis 200 mg/kgBB/hari. Jika dilihat dari jenis ekstrak, maka ekstrak kloroform lebih poten dalam meningkatkan ketiga jenis sel di atas dibandingkan dengan ekstrak metanol. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan zat aktif yang berhasil disari oleh masing-masing ekstrak. Ekstrak metanol menggunakan pelarut metanol yang bersifat polar sehingga senyawa yang terkandung dalam ekstrak ini adalah senyawa yang bersifat polar, sedangkan ekstrak kloroform menggunakan pelarut kloroform yang bersifat non polar sehingga senyawa yang terkandung dalam ekstrak ini adalah senyawa yang bersifat non polar (Padmawinata, 2000).

ABSTRACT

The study in the male rats showed that Pasak Bumi's root extract induce increasing LH concentration, FSH concentration, and LH concentration. This study was conducted to investigate the effects of Pasak Bumi's root extract in adult male mice on numbers of spermatogenic cells, Sertoli cells, and Leydig cells.

Fifty four adult male mice in sexually mature were used. They were divided into six groups. Each groups consist of nine mice. Group I : without anytreatment were killed before measurment (K1). Group II : treatment with aquadest 0,5 ml/kgBW/day (K2), Group III : treatment with methanol extract 200 mg/kgBW/day, Group IV : treatment with methanol extract 500 mg/kgBW/day, Group V : treatment with chloroform extract 200 mg/kgBW/day, and Group VI : treatment with chloroform extract 500 mg/kgBW/day, treatment given during 52 days peroral administration. At the end of treatment, mice were killed, the left testis was fixed in Bouin solution and embedding in paraffin wax, then stained by the Periodic Acid-Schiff method.

The result of this study showed that administration of methanol extract or chloroform extract Pasak Bumi's root 200 mg/kgBW/day and 500 mg/kgBW/day caused increased numbers of spermatogenic cells, Sertoli cells, and Leydig cells compared to those of control (K2), with significant statistically ($p < 0,05$) (Anova). In the methanol extract, the dose 200 mg/kg/BW/day more potentially than 500 mg/kgBW/day, but in the chloroform extract, the dose 500 mg/kgBW/day more potentially than 200 mg/kgBW/day. In addition, chloroform extract more potentially than methanol extract.

Keywords : Pasak Bumi's root, methanol extract, chloroform extract, spermatogenic cells, Sertoli cells, Leydig cells.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Dalam	i
Prasyarat gelar.....	ii
Persetujuan	iii
Penetapan panitia penguji.....	iv
Ucapan terima kasih.....	v
Ringkasan	vii
Abstrak	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat akademis	4
1.4.2 Manfaat terapan	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack)	5
2.1.1 Tinjauan Umum.....	5
2.1.2 Akar	8
2.1.3 Kandungan kimia	10
2.1.4 Manfaat	11
2.2 Testis	15
2.2.1 Struktur Anatomi Testis	16
2.2.2 Struktur Histologi Testis	18
2.2.3 Spermatogenesis.....	24
2.2.4 Pengaturan Hormonal Fungsi Testis	31
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
PENELITIAN	34
3.1 Kerangka Konseptual	34
3.2 Hipotesis Penelitian	36
BAB 4 METODE PENELITIAN	37
4.1 Rancangan Penelitian	37
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Teknik pengambilan Sampel	38
4.3 Variabel Penelitian	39
4.3.1 Klasifikasi Variabel	39
4.3.2 Definisi Operasional variabel	40

	Halaman
4.4 Bahan Penelitian	41
4.5 Instrumen Penelitian	42
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	43
4.7 Prosedur Penelitian	44
4.7.1 Pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi	44
4.7.2 Pemeliharaan dan pembagian kelompok hewan coba	44
4.7.3 Perlakuan hewan coba	45
4.7.4 Pembiusan	46
4.7.5 Pengambilan jaringan testis	46
4.7.6 Pembuatan sediaan histologis dan pewarnaan	47
4.7.7 Pegumpulan data	47
4.8 Rancangan Analisa data	47
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA HASIL PENELITIAN....	49
5.1 Hasil penelitian	49
5.1.1 Jumlah spermatogonia	49
5.1.2 Jumlah spermatosit primer	51
5.1.3 Jumlah spermatid	53
5.1.4 Jumlah sel Sertoli.....	55
5.1.5 Jumlah sel Leydig	58
5.2 Analisa hasil penelitian	62
5.2.1 Jumlah spermatogonia.....	62
5.2.2 Jumlah spermatosit primer	65
5.2.3 Jumlah spermatid	67
5.2.4 Jumlah sel Sertoli.....	69
5.2.5 Jumlah sel Leydig.....	71
BAB 6 PEMBAHASAN	74
6.1 Jumlah sel spermatogonik	75
6.2 Jumlah sel Sertoli	78
6.3 Jumlah sel Leydig.....	80
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	83
7.1 Kesimpulan	83
7.2 Saran	84
DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN	92

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	: Ciri-ciri asosiasi sel pada tahapan siklus spermatogenesis mencit.....	30
Tabel 5.1	: Rata-rata \pm SD jumlah spermatogonia pada kelompok K1 dan K2.....	49
Tabel 5.2	: Rata-rata \pm SD jumlah spermatogonia setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.....	50
Tabel 5.3	: Rata-rata \pm SD jumlah spermatosit primer pada kelompok K1 dan K2.....	
Tabel 5.4	: Rata-rata \pm SD jumlah spermatosit primer setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.....	52
Tabel 5.5	: Rata-rata \pm SD jumlah spermatid pada kelompok K1 dan K2.....	54
Tabel 5.6	: Rata-rata \pm SD jumlah spermatid setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.....	55
Tabel 5.7	: Rata-rata \pm SD jumlah sel Sertoli pada kelompok K1 dan K2.....	56
Tabel 5.8	: Rata-rata \pm SD jumlah sel Sertoli setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.....	57
Tabel 5.9	: Rata-rata \pm SD jumlah sel Leydig pada kelompok K1 dan K2.....	58
Tabel 5.10	: Rata-rata \pm SD jumlah sel Leydig setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.....	59
Tabel 5.11	: Rangkuman Anova jumlah spermatogonia kelompok K1 dan K2.....	62
Tabel 5.12	: Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah spermatogonia.....	64
Tabel 5.13	: Rangkuman uji LSD terhadap jumlah spermatogonia.....	64
Tabel 5.14	: Rangkuman Anova jumlah spermatosit primer kelompok K1 dan K2.....	65
Tabel 5.15	: Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah spermatosit primer.....	65
Tabel 5.16	: Rangkuman uji LSD terhadap jumlah spermatosit primer ...	66
Tabel 5.17	: Rangkuman Anova jumlah spermatid kelompok K1 dan K2.....	67

Halaman

Tabel 5.18	: Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah spermatid	68
Tabel 5.19	: Rangkuman uji LSD terhadap jumlah spermatid.....	68
Tabel 5.20	: Rangkuman Anova jumlah sel Sertoli kelompok K1 dan K2.....	69
Tabel 5.21	: Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel Sertoli	70
Tabel 5.22	: Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel Sertoli.....	70
Tabel 5.23	: Rangkuman Anova jumlah sel Leydig kelompok K1 dan K2.....	71
Tabel 5.24	: Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel Leydig	72
Tabel 5.25	: Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel Leydig.....	72

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Gambar Tanaman <i>Eurycoma longifolia</i> Jack	7
Gambar 2.2 : Gambar akar <i>Eurycoma longifolia</i> Jack secara makroskopis.	9
Gambar 2.3 : Gambar akar <i>Eurycoma longifolia</i> Jack secara mikroskopis.	9
Gambar 2.4 : Gambar skematis irisan membujur testis	17
Gambar 2.5 : Diagram struktur komponen tubulus seminiferus dan jaringan interstitial.	18
Gambar 2.6 : Gambar penampang melintang tubulus seminiferus dan jaringan interstitial.	20
Gambar 2.7 : Ultrastruktur sel Sertoli dan hubungannya dengan sel Spermatogenik	22
Gambar 2.8 : Fotomikrograf jaringan interstitial testis	24
Gambar 2.9 : Diagram yang menunjukkan sifat klonal sel-sel benih pada proses spermatogenesis.	26
Gambar 2.10 : Diagram spermatogenesis pada testis mencit dewasa	27
Gambar 2.11 : Perubahan utama yang terjadi pada spermatid selama spermiogenesis.	28
Gambar 2.12 : Gambaran skematis sebuah spermatozoon matang	28
Gambar 2.13 : Gambaran spermatid pada spermiogenesis mencit yang diwarnai dengan PAS-Hematoksilin.	30
Gambar 2.14 : Hubungan antara Hipotalamus, Hipofisis anterior, dan testis.	33
Gambar 3.1 : Diagram alur kerangka konseptual penelitian	35
Gambar 5.1 : Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatogonia kelompok K1 dan K2.....	50
Gambar 5.2 : Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatogonia setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.....	51
Gambar 5.3 : Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatisit primer kelompok K1 dan K2.....	52
Gambar 5.4 : Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatisit primer setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.	53
Gambar 5.5 : Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatid kelompok K1 dan K2.....	54

Gambar 5.6	: Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatid setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.....	55
Gambar 5.7	: Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli kelompok K1 dan K2.....	56
Gambar 5.8	: Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.	57
Gambar 5.9	: Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Leydig kelompok K1 dan K2.....	58
Gambar 5.10	: Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Leydig setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.	59
Gambar 5.11	: Gambaran histologis tubulus seminiferus mencit jantan kelompok kontrol dan perlakuan (pembesaran $3,3 \times 10$; PAS).....	60
Gambar 5.12	: Gambaran histologis tubulus seminiferus mencit jantan kelompok kontrol dan perlakuan (pembesaran $3,3 \times 20$; PAS).	61
Gambar 5.13	: Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah spermatogonia	64
Gambar 5.14	: Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah spermatosit primer.....	67
Gambar 5.15	: Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah spermatid.....	69
Gambar 5.16	: Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah sel Sertoli	71
Gambar 5.17	: Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah sel Leydig	73

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	: Cara pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi	92
Lampiran 2	: Perhitungan dosis yang diberikan pada mencit	94
Lampiran 3	: Pembuatan preparat histologis metode parafin	95
Lampiran 4	: Pewarnaan Periodic-Acid-Schiff (PAS)	96
Lampiran 5	: Sertifikasi akar Pasak Bumi yang digunakan pada penelitian.....	97
Lampiran 6	: Dokumentasi pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi	98
Lampiran 7	: Data hasil pengamatan jumlah spermatogonia	99
Lampiran 8	: Data hasil pengamatan jumlah spermatis primer	100
Lampiran 9	: Data hasil pengamatan jumlah spermatid.....	101
Lampiran 10	: Data hasil pengamatan jumlah sel Sertoli	102
Lampiran 11	: Data hasil pengamatan jumlah sel Leydig per 10 jaringan interstitial	103
Lampiran 12	: Rerata dan simpang baku jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig menurut kelompok perlakuan.....	104
Lampiran 13	: Uji normalitas data.....	105
Lampiran 14	: Analisis varian (Anova) jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig antara K1 dan K2.....	108
Lampiran 15	: Uji LSD jumlah sel Sertoli antara K1 dan K2.....	109
Lampiran 16	: Analisis varian (Anova) jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig kelompok K2, P1, P2, P3, P4.....	110
Lampiran 17	: Uji LSD jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig kelompok K2, P1, P2, P3, P4.....	112
Lampiran 18	: Analisis varian (Anova) pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig untuk ekstrak metanol.....	114
Lampiran 19	: Uji LSD pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig untuk ekstrak metanol.....	115
Lampiran 20	: Analisis varian (Anova) pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig untuk ekstrak kloroform.....	116
Lampiran 21	: Uji LSD pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatis primer, spermatid, sel Sertoli, dan sel Leydig untuk ekstrak kloroform.....	117

BAB 1

PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1 Latar Belakang

Penelitian yang dilakukan oleh Taufiqurrahman dan Wibowo (2000) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak akar Pasak Bumi pada tikus jantan meningkatkan kadar *Luteinizing Hormon (LH)* dan *Follicle-Stimulating Hormon (FSH)*. Peningkatan kadar FSH ini dapat terjadi melalui stimulasi kelenjar hipofisis anterior atau karena terjadi hambatan proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus testis (Veldhuis, 1991; Nieschlag dan Behre, 1997). Apabila peningkatan kadar FSH dan LH melalui stimulasi kelenjar hipofisis anterior maka akan terjadi peningkatan proses spermatogenesis (Wuryantari dan Moeloek, 2000).

Sampai saat ini belum ada penelitian tentang pengaruh ekstrak akar Pasak Bumi terhadap proses spermatogenesis pada tubulus seminiferus testis. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak akar Pasak Bumi terhadap proses spermatogenesis.

Dari beberapa penelitian terdahulu telah dibuktikan bahwa ekstrak akar Pasak Bumi dapat meningkatkan efek afrodisiak (Ang dan Sim, 1997; Ang dan Sim, 1998a; Ang *et.al.*, 2000) yang disertai dengan peningkatan hormon testosteron (Leswara, 1993; Ali dkk. *dalam* Taufiqurrahman dan Wibowo, 2000). Karena pemberian ekstrak akar Pasak Bumi ini dapat meningkatkan hormon testosteron, FSH, dan LH, maka diduga mekanisme peningkatan hormon ini melalui stimulasi kelenjar hipofisis anterior.

FSH dan LH diperlukan dalam proses spermatogenesis baik secara kuantitatif maupun kualitatif (Wuryantari dan Moeloek, 2000). FSH bekerja pada sel Sertoli untuk merangsang pertumbuhan dan pematangan sel germinal (Veldhuis, 1991; Tsutsui, 1991; Guyton dan Hall, 1996) sedangkan aksi LH terjadi melalui sel Leydig yang menghasilkan hormon testosteron (Veldhuis, 1991; Guyton dan Hall, 1996). Dengan demikian, peningkatan sekresi FSH dan LH akan mempengaruhi sel spermatogenik, sel Sertoli, dan sel Leydig.

Untuk membuktikan adanya peningkatan proses spermatogenesis setelah pemberian ekstrak akar Pasak Bumi, maka dilakukan penelitian terhadap gambaran histologis tubulus seminiferus pada testis mencit jantan, baik terhadap peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli maupun sel Leydig.

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan dosis dan jenis pelarut terhadap peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig, maka pada penelitian ini digunakan 2 dosis yang berbeda (200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari) dan 2 jenis pelarut (metanol dan kloroform).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah terjadi peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig setelah pemberian ekstrak metanol akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) per oral pada mencit (*Mus musculus*) jantan ?

2. Apakah terjadi peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig setelah pemberian ekstrak kloroform akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) per oral pada mencit (*Mus musculus*) jantan ?
3. Apakah pada dosis 500 mg/kgBB/hari terjadi peningkatan yang lebih tinggi terhadap jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig, daripada dosis 200 mg/kgBB/hari ?
4. Apakah terdapat pengaruh perbedaan pelarut terhadap peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak metanol akar Pasak Bumi pada mencit jantan dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig.
2. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak kloroform akar Pasak Bumi pada mencit jantan dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig.
3. Membuktikan bahwa pada dosis 500 mg/kgBB/hari peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig, lebih tinggi daripada dosis 200 mg/kgBB/hari.
4. Membuktikan bahwa perbedaan jenis pelarut ekstrak akan berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat akademis

Apabila penelitian ini berhasil membuktikan adanya peningkatan proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus, maka diharapkan hasil tersebut dapat memperjelas mekanisme kerja Pasak Bumi dalam meningkatkan potensi seksual pria.

1.4.2 Manfaat terapan

Dari segi praktis, hasil penelitian ini diharapkan dapat :

1. Menambah wawasan tentang khasiat Pasak Bumi.
2. Menjadi bahan pertimbangan untuk menjadi salah satu alternatif dalam pengobatan kemandulan akibat gangguan hormonal.
3. Menambah khasanah penelitian tanaman obat di Indonesia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Sejak jaman dahulu masyarakat Indonesia telah menggunakan bahan-bahan atau tumbuh-tumbuhan yang ada di sekitarnya untuk mengobati berbagai macam penyakit (Azrani, 1998; Noordin, 1990). Pengobatan dengan bahan alam ini dilakukan secara turun-temurun (Sirait, 1990; Rivai, 2000) dan kerjanya didasarkan pada konsep totalitas atau holistik (Sirait, 1990; Adimoelja, 2000b).

Pasak Bumi adalah salah satu obat tradisional yang populer di kalangan pria (Adimoelja, 2000a) dan digunakan untuk meningkatkan potensi seksual (Taufigurrahman dan Wibowo, 2000). Pasak Bumi mempunyai nama latin *Eurycoma longifolia* Jack (Soediby, 1998; Hadiah, 2001). Untuk menunjang penelitian ini, berikut akan dijelaskan tentang tanaman *Eurycoma longifolia* Jack dan jaringan testis.

2.1. Tanaman Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack)

2.1.1. Tinjauan Umum

Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) adalah tumbuhan dari suku Simarubaceae, di Indonesia terutama dikenal dengan sebutan Pasak Bumi (Noorcholis *et.al.*, 1975; Anonim, 1999). Nama lain dari *Eurycoma longifolia* seperti yang tercantum di Herbarium Bogoriense Indonesia antara lain Bidari Mapai (Bugis), Kayu Pai (Makasar), Babi Kurus (Jakarta), Widara Putih (Jawa), Dara Pahit (Kalimantan Timur), Lunad Mandau (Dayak Dusun), Kayu Kebel (Lampung), dan Bebugayan (Batak). Sedangkan nama dari negara lain adalah Tongkat Ali

(Semenanjung Malaya), Piak atau Tung Saw (Muangthai), dan Bina atau Serirama (Brunei) (Heyne, 1987; Dzulkarnain, 1992), sedangkan di Vietnam lebih populer dengan nama Cay Ba Binh (Anonim, 1999).

Eurycoma longifolia Jack berasal dari Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia, Thailand, Laos, Cambodja dan Vietnam. Di Indonesia, spesies ini hanya terdapat secara alamiah di Sumatra dan Kalimantan (Hadih, 2001). Taksonomi *Eurycoma longifolia* Jack menurut Heyne (1987) adalah :

Divisio : Spermatophyta
 Sub divisio : Angiospermae
 Class : Dicotyledonecea
 Ordo : Archilamydeae
 Famili : Simarubaceae
 Genus : *Eurycoma*
 Species : *Eurycoma longifolia* Jack

Eurycoma longifolia Jack merupakan suatu perdu yang kurus, tingginya dapat mencapai 12 meter (Keng, 2000) dan 15 meter (Hadih, 2001). Pohon tanaman ini biasanya tidak bercabang atau dengan beberapa cabang di bagian atas yang masing-masing cabang penuh dengan daun sehingga tanaman ini tampak seperti payung. Kulit batang keras, berwarna kuning dan rasanya pahit (Djoni, 1976; Heyne, 1987; Keng, 2000).

Masing-masing tangkai terdiri dari 20-30 pasang daun. Daun letaknya berpasang-pasangan, bentuk bulat telur sempit, warna hijau gelap dan kaku. Tepi daun bergelombang, gagang daun berwarna coklat gelap (Djoni, 1976; Keng, 2000).



Gambar 2.1. Gambar Tanaman *Eurycoma longifolia* Jack
(www.PasakBumi.com, 2001).

Eurycoma longifolia Jack berbunga pada bulan Juni sampai Juli dan berbuah di bulan September (Keng, 2000; Hadiyah, 2001). Bunga tanaman ini berbentuk genta, warna merah muda, merupakan suatu karangan bunga, kelopak bunga terdiri dari 5 daun kelopak yang kecil. Tajuk bunga terdiri dari 5 daun tajuk, tersusun sedemikian rupa sehingga bunga kelihatan seperti genta (Corner 1940 *cit.* Djoni, 1976; Keng, 2000; Hadiyah, 2001).

Buah *Eurycoma longifolia* Jack berbentuk ellips atau ovoid, berukuran 10-20 x 5-12 mm. Warna buah hijau, jika masak berwarna kuning sampai merah (Corner 1940 *cit.* Djoni, 1976; Hadiyah, 2001).

Eurycoma longifolia Jack menyukai tanah yang asam dan berpasir di daerah dataran rendah sampai ketinggian 700 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini biasanya tumbuh di hutan dekat pantai (Hadiyah, 2001). *Eurycoma longifolia* Jack

memerlukan perlindungan dari sinar matahari penuh atau angin panas yang kering (Heyne, 1987; Anonim, 1992).

Hadih (2001) pada tahun 1991 menemukan *Eurycoma longifolia* Jack yang ada di propinsi Riau, tumbuh pada area dengan suhu rata-rata 25 °C dan kelembaban 86 %. Penyerbukan *Eurycoma longifolia* Jack diduga dilakukan oleh serangga karena bunganya agak harum (Heyne, 1987).

2.1.2. Akar

Gambaran akar *Eurycoma longifolia* Jack dapat dilihat secara makroskopis maupun mikroskopis, yaitu :

Makroskopis

Bentuk akar utuh atau berupa potongan tidak beraturan. Akar yang utuh berupa silinder, diameter 2-7 cm, panjang 10-30 cm. Kulit akarnya tipis, permukaan luar berwarna kelabu kekuningan sampai agak hitam. Bagian kayu umumnya berwarna kuning pucat, kadang-kadang kelabu sampai coklat muda, keras dan sukar dipatahkan (Noorcholies *et.al.*, 1975; Adhyatma, 1989).

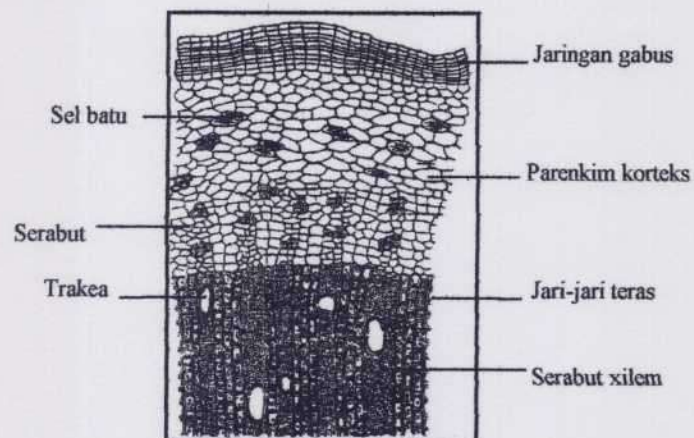
Penelitian pendahuluan yang dilakukan oleh Noor (1977) menyimpulkan bahwa secara makroskopis akar Pasak Bumi berbentuk silindris, tidak ada percabangan, permukaan luar akar berwarna kuning keputihan atau kecoklatan dengan alur dan bagian dalam berwarna putih.



Gambar 2.2. Gambar akar *Eurycoma longifolia* Jack secara makroskopis (www.Pasak Bumi.com., 2001)

Mikroskopis

Pada potongan melintang, tampak jaringan gabus berbentuk segi empat agak beraturan. Sel parenkim korteks berdinding tipis dan berisi butir pati tunggal atau majemuk bentuk poligonal. Pada parenkim ini terdapat sel batu tunggal atau berkelompok berbentuk bulat panjang dengan dinding sel yang tebal dan saluran noktah bercabang-cabang. Selain itu juga terdapat kelompok serabut berdinding tipis, bentuk poligonal dan lumen lebar. Pembuluh kayu terdiri dari trakhea dan trakheida (Noor, 1977; Adhyatma, 1989).



Gambar 2.3. Gambaran akar *Eurycoma longifolia* Jack secara mikroskopis (Adhyatma, 1989).

Menurut penelitian Djoni (1976) pada pemeriksaan serbuk akar Pasak Bumi terdapat beberapa fragmen yang dapat dijadikan tanda pengenal, yaitu :

- Jaringan gabus yang dengan pereaksi floroglusin berwarna merah.
- Berkas serabut sklerenchim dengan jari-jari empulur.
- Sel jari-jari silem yang mengandung bintik-bintik hitam.
- Butir-butir pati.

2.1.3. Kandungan Kimia

Dari serangkaian penelitian terhadap tanaman *Eurycoma longifolia* Jack disimpulkan bahwa kandungan tanaman ini dapat dikelompokkan menjadi : 1) sterol atau sterolester 2) asam lemak, dan 3) kuasinoid.

Sterol yang diisolasi dari *Eurycoma longifolia* adalah kampesterol, sitosterol dan stigmasterol, sedangkan asam lemak pada tumbuhan ini mempunyai atom C 18 dan C 16 (Koch dan Kraus, 1979).

Kuasinoid adalah senyawa yang khas pada tumbuhan suku Simarubaceae. Yang mula-mula didapatkan adalah eurikomalakton yang mempunyai atom C 19 (Koch dan Kraus, 1980). Selanjutnya diisolasi lagi laurikolakton A dan laurikolakton B (Suong, 1980). Beberapa tahun kemudian diisolasi dua macam kuasinoid dengan atom C 20 yaitu eurikolakton dan eurikomanon, yang mempunyai daya oksigenasi sangat tinggi (Darise *et.al.*, 1982).

Chan *et.al.* (1989) berhasil mengisolasi glikosida kuasinoid dan Eurycomanol dari akar *Eurycoma longifolia* Jack, sementara itu Chan *et.al.* (1991) mengisolasi suatu kuasinoid baru dari akar *Eurycoma longifolia* yaitu 13 β , 18-dihydro-

eurycomanol. Hargono (1985) menyebutkan bahwa kandungan kimia *Eurycoma longifolia* adalah eurikomolakton dan amarolid.

Menurut Hadiah (2001), bahan aktif dalam *Eurycoma longifolia* dan spesies lain yang termasuk famili Simarubaceae adalah kuasin, neo-kuasin, glaukarubin, sedrin, dan eurikumanol. Sutarjadi dkk. (1983) menyebutkan bahwa akar Pasak Bumi mengandung alkaloid, flavonoids, dan tanins, tetapi tidak mengandung saponins.

Penelitian yang dilakukan oleh Kanchanapoom *et.al.* (2000) terhadap isolat ekstrak khloroform akar *Eurycoma longifolia* Jack menemukan 3 komponen aktif, yaitu komponen S, komponen Y, dan komponen C. Komponen S merupakan golongan kumarin yang dikenal sebagai scopoletin. Komponen Y diidentifikasi sebagai indol alkaloid, yaitu g-methoxycanthin-6-one. Komponen C diidentifikasi sebagai stigmasterol yang merupakan phytosteroid.

2.1.4. Manfaat

Seperti halnya anggota Simarubaceae lainnya, *Eurycoma longifolia* Jack mengandung substansi pahit yang sudah sejak lama dikenal untuk pengobatan berbagai penyakit. Hampir seluruh bagian tumbuhan ini bisa digunakan sebagai obat mulai dari daun, batang sampai akar (Arzani, 1990).

Menurut Kanchanapoom *et.al.* (2000) *Eurycoma longifolia* Jack merupakan tanaman obat tradisional di wilayah Asia Tenggara yang digunakan untuk mengobati berbagai penyakit terutama sebagai antimalaria, anticacing, afrodisiak, tonikum, antidotum dan mengurangi rasa sakit di tulang.

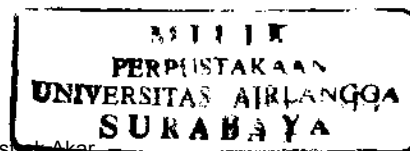
Di Malaysia yang digunakan terutama adalah kulit akarnya sebagai penawar demam, penyembuh luka-luka di mulut, cacingan dan tonikum setelah melahirkan (Heyne, 1987; Hadiah, 2001), disamping itu juga digunakan untuk mengobati malaria dan mempunyai sifat afrodisiak (Keng, 2000).

Di Sabah dan Kalimantan jamu dari kulit kayu *Eurycoma longifolia* Jack diminum untuk mengurangi rasa sakit di tulang dan jamu dari daun tanaman ini digunakan untuk menghilangkan gatal-gatal. Di Vietnam, penduduknya menggunakan bunga dan buahnya untuk mengobati disentri (Hadiah, 2001).

Di pedalaman Sumatra dan Kalimantan, akarnya digunakan sebagai suatu antipiretik (Heyne, 1987; Hadiah, 2001), juga digunakan untuk mendapatkan tenaga baru, menyembuhkan sakit pinggang serta meningkatkan daya vitalitas tubuh sebagai obat kuat laki-laki (Arzani, 1990). Di Lampung dan Belitung digunakan sebagai obat disentri (Heyne, 1987; Hadiah, 2001).

Penduduk yang tinggal di sekitar hutan di daerah Riau menggunakan jamu dari akar atau batang *Eurycoma longifolia* Jack untuk mengobati malaria (Hadiah, 2001). Menurut Seno (1988) di beberapa daerah penduduknya menggunakan tanaman ini untuk meningkatkan nafsu makan.

Dewasa ini *Eurycoma longifolia* Jack lebih dikenal sebagai afrodisiak (Hadiah, 2001). Oleh karena itu, di kalangan masyarakat rumpun Melayu banyak pria yang menggunakan ekstrak akar tumbuhan ini untuk meningkatkan potensi seksual mereka (Adimoelja, 2000a; Taufiqurrahman dan Wibowo, 2000).



Untuk membuktikan secara ilmiah dari kegunaan tumbuhan ini, beberapa ahli telah mengadakan penelitian pada berbagai hewan coba untuk melihat khasiat farmakologinya.

Husin dkk. (1974) mengadakan penelitian pendahuluan terhadap efek Pasak Bumi pada susunan saraf tepi, otot polos, jantung, dan tekanan darah. Penelitian ini membuktikan bahwa infus akar Pasak Bumi dapat merangsang susunan saraf pusat dalam bentuk kenaikan aktivitas atau konvulsi, mempunyai efek stimulasi terhadap otot polos, usus halus bagian atas, menyebabkan penurunan tekanan darah, serta menyebabkan hambatan kerja jantung.

Penelitian yang dilakukan oleh Ngatijan dan Yudono pada tahun 1979 terhadap pengaruh anabolik dan androgenik infus Pasak Bumi menyimpulkan bahwa infus akar Pasak Bumi 5 %, 10 %, dan 20 % tidak menunjukkan efek anabolik dan androgenik pada prostat tikus jantan (Soedibyo, 1998). Sementara itu, Kartowinoto (1991) membuktikan bahwa ekstrak akar Pasak Bumi mempunyai kemampuan meningkatkan libido tikus jantan yang seimbang dengan ekstrak akar ginseng.

Dari penelitian Arzani (1990) tentang efek androgenik akar Pasak Bumi pada anak ayam disimpulkan bahwa obat tradisional Kalimantan ini mempunyai efek yang sama dengan efek yang ditimbulkan larutan metiltestosteron dalam hal efek androgenik.

Karim pada tahun 1993 melakukan penelitian pengaruh androgenik infus batang Pasak Bumi terhadap enam ayam jantan. Dari hasil penelitian tersebut ternyata infus batang Pasak Bumi 25 % telah menunjukkan efek androgenik (Soedibyo, 1998).

Ang dan Sim (1997) mengadakan penelitian efek *Eurycoma longifolia* Jack terhadap libido tikus jantan setelah diberi dosis 200, 400 dan 800 mg/kg berat badan, dua kali sehari selama 10 hari. Penelitian ini membuktikan bahwa *Eurycoma longifolia* Jack merupakan stimulator yang potensial untuk membangkitkan gairah seksual tikus jantan.

Ang dan Sim (1998a) mengadakan penelitian dengan mengamati tingkah laku kopulasi tikus jantan tua yang diberi ekstrak akar Pasak Bumi 0,5 g/kg BB/hari per oral selama 12 minggu. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak akar Pasak Bumi berpengaruh nyata dalam merangsang tingkah laku kopulasi yang tampak dari peningkatan durasi intromissi dan ejakulasi.

Ang dan Sim (1998b) mengadakan penelitian untuk membuktikan khasiat afrodisiak tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack. Pada penelitian ini digunakan suatu jaringan elektrik sebagai suatu rintangan untuk menentukan berapa banyak rangsangan seksual antara tikus perlakuan dan kontrol dalam menghampiri tikus betina yang estrus di dalam kandang tersebut. Pada intensitas jaringan elektrik yang dipertahankan sebesar 0,12 mA, kelompok kontrol mengalami kegagalan melewati rintangan untuk mencapai tikus betina, sementara kelompok perlakuan yang diberi *Eurycoma longifolia* Jack memperlihatkan peningkatan dan mampu mempertahankan level yang tinggi dari jumlah total keberhasilan melewati rintangan, mounting, intromission, maupun ejakulasi selama minggu ke-9 sampai ke-12 masa observasi.

Khasiat afrodisiak *Eurycoma longifolia* Jack juga telah dibuktikan oleh Ang *et.al.* (2000) terhadap inisiasi tingkah laku seksual dan berat organ seksual asesoria pada tikus jantan yang dikastrasi. Ekstrak *Eurycoma longifolia* Jack diberikan dengan

dosis 200, 400 dan 800 mg/kg BB per oral dua kali sehari selama 10 hari. Untuk kontrol positif digunakan testosteron injeksi 15 mg/kg BB/hari, subkutan, selama 32 hari. Penelitian ini memberikan gambaran bahwa *Eurycoma longifolia* Jack memperlihatkan efek afrodisiak.

Eurycoma longifolia Jack tidak hanya mampu meningkatkan libido hewan coba (sebagai afrodisiak), tetapi juga mampu meningkatkan kadar hormon testosteron. Hal ini telah dibuktikan oleh beberapa penelitian pada hewan coba.

Penelitian yang dilakukan oleh Ali dkk berhasil membuktikan bahwa infus ekstrak Pasak Bumi mampu meningkatkan kadar testosteron mencit sekitar 479,6% setelah pemberian selama 1 minggu (Taufiqurrahman dan Wibowo, 2000) dan penelitian Leswara (1993) membuktikan bahwa peningkatan afrodisiak oleh ekstrak Pasak Bumi pada anak ayam sebanding dengan peningkatan kadar testosteron dalam darah. Sementara itu, penelitian yang dilakukan Taufiqurrahman dan Wibowo (2000) menunjukkan bahwa ekstrak Pasak Bumi selain meningkatkan kadar hormon testosteron juga meningkatkan kadar LH dan FSH.

2.2. Testis

Testis merupakan salah satu bagian dari sistem reproduksi laki-laki, testis adalah organ seks primer laki-laki (Gardner, 1960; Lindsay, 1996) yang mempunyai 2 fungsi utama yaitu spermatogenesis dan steroidogenesis (Vander *et.al.*, 1994; Wuryantari dan Moelock, 2000).

Menurut Frandson (1992) testis bervariasi dari satu spesies dengan spesies yang lain dalam hal bentuk ukuran dan lokasi, tetapi struktur dasarnya adalah sama.

2.2.1. Struktur Anatomi Testis

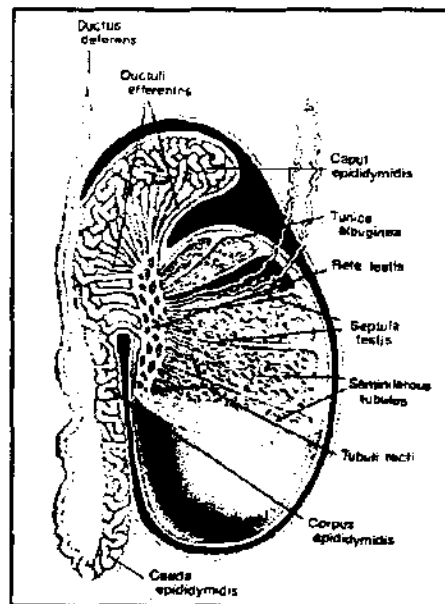
Testis terdapat di dalam skrotum, yaitu suatu kantong yang terdiri dari kulit dan tunika dartos (Gardner, 1960; Applegate, 1995). Kulit skrotum tipis, lembut dan relatif kurang berambut, serta mengandung kelenjar keringat (Frandson, 1992). Tunika dartos terdiri dari jaringan fibroelastik dan otot polos yang berperan dalam mempertahankan temperatur testis dengan cara kontraksi dan relaksasi. Pada waktu suhu dingin, otot polos pada tunika dartos akan berkontraksi yang menyebabkan kulit skrotum berkerut serta ukuran skrotum menjadi kecil (Vander *et.al.*, 1994).

Di dalam skrotum juga terdapat otot kremaster (otot skelet) yang mengatur letak skrotum dan testis. Kontraksi otot kremaster berfungsi mengangkat testis mendekati tubuh. Pada waktu suhu panas atau setelah aktivitas, otot polos pada tunika dartos dan otot kremaster akan relaksasi yang menyebabkan kulit skrotum menjadi longgar dan tipis, serta diikuti dengan penurunan testis dari posisi semula. Peran tunika dartos dan otot kremaster ini penting dalam mengatur suhu di dalam testis (Seeley *et.al.*, 1998).

Skrotum ini membungkus testis dan sebagian funikulus spermatikus, berfungsi melindungi testis dari gangguan luar berupa pukulan panas dan gangguan mekanis lain, serta menyebabkan suhu lebih rendah dari suhu badan sekitar $2,2^{\circ}\text{C}$ (Gardner, 1960; Frandson, 1992; Lindsay, 1996), sampai 3°C (Applegate, 1995). Temperatur yang demikian penting untuk viabilitas sperma.

Jumlah testis sepasang, berbentuk bulat panjang. Parenkim testis dibungkus oleh 3 lapisan yaitu tunika vaginalis, tunika albuginea dan tunika vaskulosa. Tunika vaginalis terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan viseral dan parietal (Gardner, 1960; Dellman dan Brown, 1992; Junqueira *et.al.*, 1992; Vander *et.al.*, 1994). Dari tunika albuginea terdapat trabekula-trabekula yang memanjang menuju posterior pada mediastinum sehingga berbentuk septa yang membagi testis menjadi lobuli-lobuli (Copenhaver *et. al.*, 1978; Telford dan Bridgman, 1995; Lindsay, 1996).

Testis mendapat vaskularisasi dari salah satu cabang arteri testikularis yang memasuki testis dari bagian posterior (Harrison dan Barclay, 1948 *cit.* Jarow, 1990). Di dalam testis, arteri ini menembus tunika albuginea dan masuk ke tunika vaskulosa. Cabang-cabang arteriol yang lebih kecil mengikuti septula testis masuk ke parenkim dan berakhir sebagai anyaman kapiler (Copenhaver *et.al.*, 1978; Leeson *et.al.*, 1989).



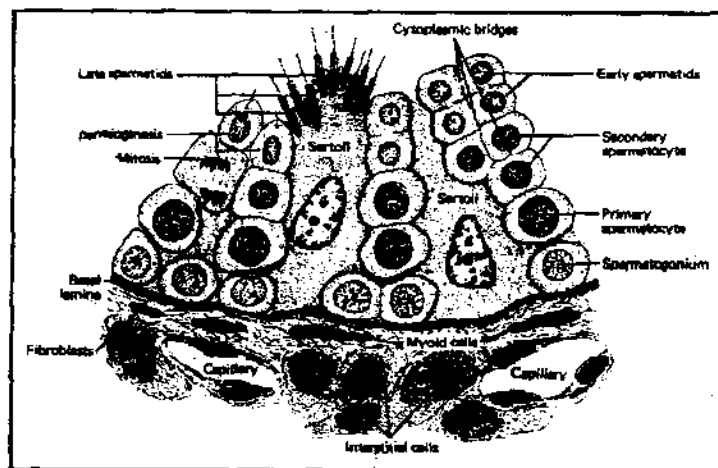
Gambar 2.4. Diagram skematis irisan membujur testis (Bloom dan Fawcett, 1994).

2.2.2. Struktur Histologi Testis

Parenkim testis terbagi menjadi lobus-lobus piramidalis yang berisi tubuli seminiferi. Pada potongan melintang tampak banyak bentukan tubulus seminiferus dimana satu dengan yang lain dipisahkan oleh jaringan interstitial (Gambar 2.6). Tubulus seminiferus ini menempati 60-80 % dari total volume testis (Leeson *et.al.*, 1989; Ismudiono, 1996; Wuryantri dan Moeloek, 2000).

A. Tubulus Seminiferus

Dinding tubulus seminiferus terdiri dari 3 komponen, yaitu tunika propria, lamina basalis, dan lapisan epitel. Tunika propria merupakan lapisan paling luar, yang terdiri dari jaringan ikat fibroelastis dan sel fibroelastis yang pipih (Copenhaver *et.al.*, 1978; Junqueira *et.al.*, 1992). Organisasi lapisan ini berbeda pada beberapa spesies. Pada rodent, lapisan ini terdiri dari selapis sel poligonal yang disebut sel myoid. Sel ini menyerupai sifat otot polos dan dapat berkontraksi untuk mengeluarkan sperma dari tubulus seminiferus. Pada primata, tunika propria terdiri dari beberapa lapisan fibroblas (Copenhaver *et.al.*, 1978; Junquiera *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994).



Gambar 2.5. Diagram struktur komponen tubulus seminiferus dan jaringan interstitial (Junquiera *et.al.*, 1998).

Lapisan epitel terdiri dari 2 jenis sel, yaitu sel spermatogenik dan sel penyokong/sel Sertoli (Copenhaver *et.al.*, 1978; Junquiera *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994).

Sel Spermatogenetik

Sel-sel spermatogenik yang terdapat pada tubulus seminiferus adalah (Copenhaver *et.al.*, 1978; Leeson *et.al.*, 1989; Junqueira *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994).

a. Spermatogonia

Spermatogonia merupakan satu-satunya sel gamet yang sudah ada sejak lahir. Sel ini ada di bagian dasar epitel tubulus seminiferus. Menurut gambaran intinya, dikenal 2 jenis spermatogonia, yaitu:

1. Spermatogonia tipe A, dengan inti sel lonjong berwarna pucat.
2. Spermatogonia tipe B, mempunyai inti bulat yang mengandung massa kromatin padat

b. Spermatisit primer

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

c. Spermatisit sekunder

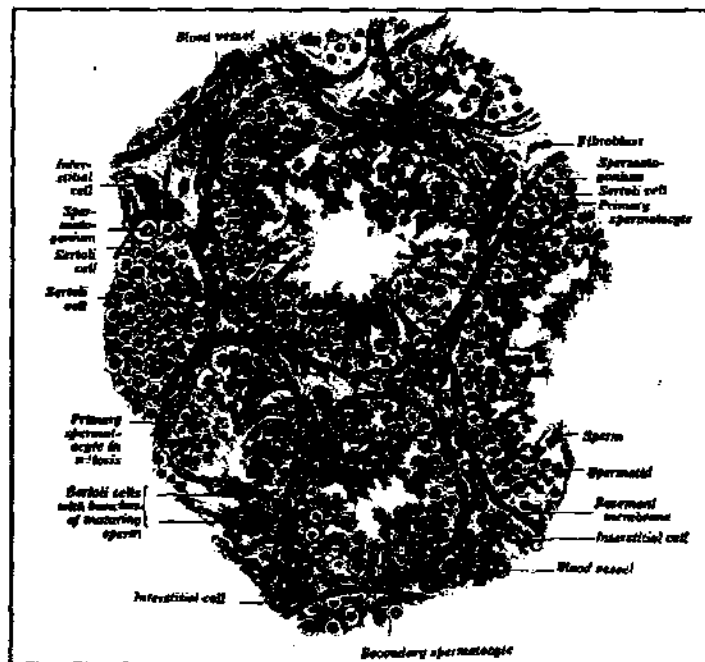
Volume spermatosit sekunder kira-kira separuh spermatosit primer dan letaknya lebih ke arah lumen. Sel ini jarang terlihat pada potongan melintang tubulus seminiferus, karena umur selnya pendek dan cepat membelah menjadi spermatid.

d. Spermatid

Volume spermatid kira-kira separuh volume spermatosit sekunder. Spermatid terletak dekat lumen, mempunyai sebuah inti bulat yang terletak di tengah sel. Segera setelah muncul, spermatid langsung menempel pada permukaan sel Sertoli.

e. Spermatozoon

Spermatozoon merupakan hasil dari transformasi spermatid melalui proses spermiogenesis. Spermatozoon terdiri atas bagian kepala, bagian tengah dan bagian ekor (Gambar 2.12). Spermatozoon terletak bebas dalam lumen tubulus.



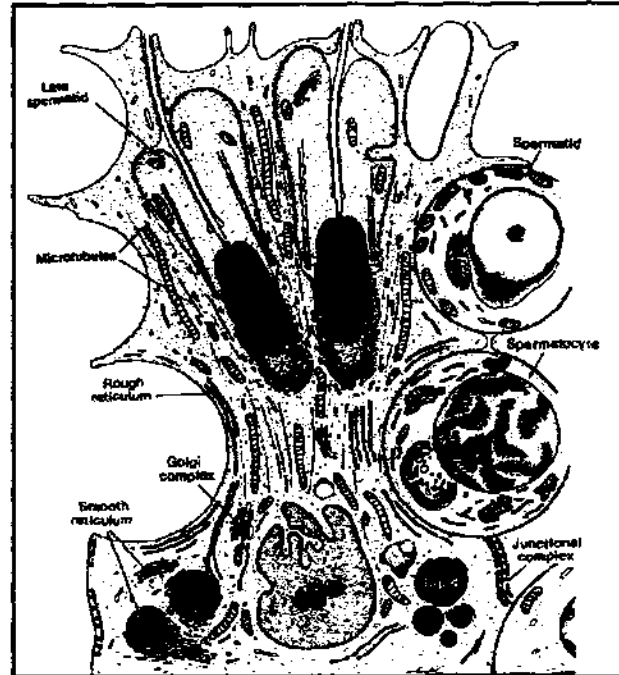
Gambar 2.6. Gambar penampang melintang tubulus seminiferus dan jaringan interstitial (Bloom dan Fawcett, 1994).

Sel Sertoli

Sel Sertoli merupakan sel kolumnar panjang, dimana bagian dasarnya terletak di atas lamina basalis tubulus seminiferus. Bentuk sel Sertoli tidak teratur, memiliki cekungan sebagai tempat perlekatan sel spermatogenik. Ujung atas sel Sertoli ditempati oleh spermatozoa (Copenhaver *et.al.*, 1978; Lesson *et. al.*, 1989; Junquiera *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994). Sel Sertoli pada manusia ditempati kira-kira 4 spermatozoa, sedangkan pada tikus kira-kira 10 spermatozoa (Wuryantari dan Moeloek, 2000).

Sel Sertoli terletak di antara sel spermatogenik dan menempati kurang lebih 35-40 % volume epitel (Wuryantari dan Moeloek, 2000). Sitoplasma sel Sertoli tidak tampak pada mikroskop cahaya, hanya inti yang tampak berbentuk poligonal (Junquiera *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994).

Pemeriksaan mikroskop elektron menunjukkan bahwa sel Sertoli mengandung banyak retikulum endoplasmik halus, sedikit retikulum endoplasmik kasar, aparatus Golgi yang berkembang baik, dan banyak mitokondria dan lisosom. Inti yang memanjang sering berbentuk segitiga, mempunyai banyak lipatan dan sedikit kromatin. Anak inti berkembang baik dengan nukleolema oval sentral diapit oleh 2 massa kromatin basofil (Junqueira *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994). Ultrastruktur sel Sertoli dan hubungannya dengan sel spermatogenik dapat dilihat pada Gambar 2.7. di bawah ini.



Gambar 2.7. Ultrastruktur sel Sertoli dan hubungannya dengan sel spermatogenik (Bloom dan Fawcett, 1994).

Sel Sertoli berfungsi sebagai berikut (Junqueira *et.al.*, 1992; Nieschlag dan Behre, 1997; Seeley *et.al.*, 1998; Wuryantari dan Moeloek, 2000) :

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

5. Menentukan volume akhir testis dan produksi sperma. Penelitian yang dilakukan oleh Berdtson and Thompson (1990) membuktikan bahwa berat testis dan produksi sperma mempunyai korelasi dengan jumlah sel Sertoli pada tikus dewasa.
6. Sebagai salah satu komponen sawar darah testis (*blood testis barrier*)
7. Mensintesis dan mensekresi *androgen binding protein* (ABP), inhibin, dan plasminogen yang merupakan substansi proteolitik yang berperan dalam mengeluarkan sperma ke dalam lumer tubulus seminiferus.

B. Jaringan Interstitial.

Jaringan interstitial merupakan jaringan yang terdapat di antara tubulus seminiferus, terdiri dari jaringan ikat, saraf, darah, dan pembuluh limfe. Jaringan ini menempati 12-15 % total volume testis (Wuryantari dan Moeleok, 2000). Jaringan ikat terdiri dari berbagai jenis sel seperti sel fibroblas, sel mesenkim, makrofag, limposit, dan sel Leydig. Sel Leydig menempati 10-12 % dari jaringan interstitial (Copenhaver *et.al.*, 1978; Junqueira *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994).

Dalam jaringan insterstitial, sel Leydig tersusun dalam kelompok atau berbentuk tali, dan menempati sudut antara tubuli seminiferi. Sel ini berbentuk bulat atau poligonal, inti di tengah, sitoplasma eosinofil dengan butir-butir lemak sehingga dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin tampak pucat (Leeson *et.al.*, 1989; Junqueira *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994).





Gambar 2.8. Fotomikrograf jaringan interstitial testis (Bloom dan Fawcett, 1994).

2.2.3 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses produksi dan maturasi gamet jantan yang berkembang secara progresif dari daerah basal tubulus seminiferus ke arah lumen. Proses ini dimulai dengan pembangian sel muda (*stem cell*) dan diakiri dengan pembentukan spermatozoon (Clermont, 1972; Parvinen, 1982; Bloom dan Fawcett, 1994; Wuryantari dan Moeloek, 2000).

Spermatogenesis ini terdiri dari 2 proses, yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis merupakan proliferasi sel spermatogonium hingga terbentuk spermatid, sedangkan spermiogenesis merupakan transformasi spermatid menjadi spermatozoon (Partodiharjo, 1982; Gilbert, 1988; Franson, 1992; Ismudiono, 1996).

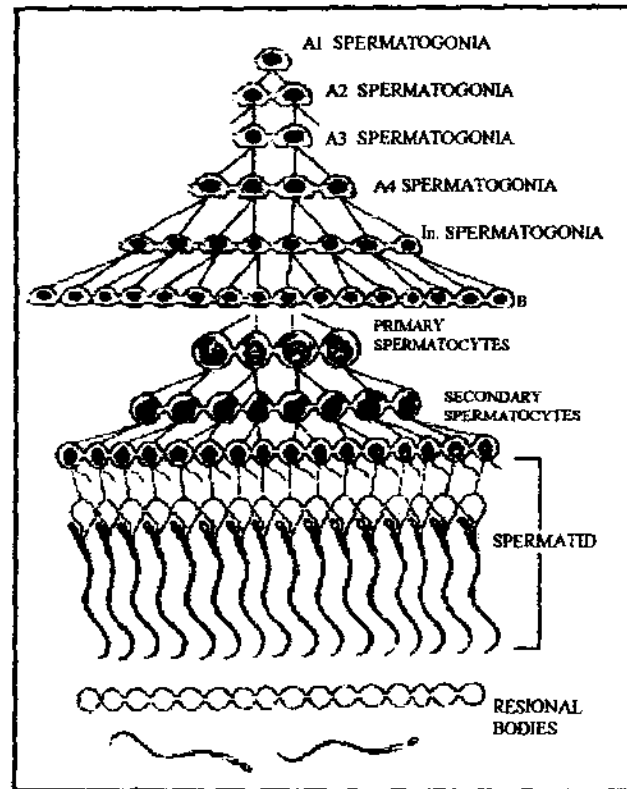
Pendapat lain mengatakan bahwa spermatogenesis dibagi dalam 3 fase, yaitu
1) Proliferasi mitotik dan diferensial sel gamet diploid atau spermatogonia menjadi

spermatisit, 2) pembelahan meiotik spermatisit menjadi spermatid yang bersifat haploid, dan 3) transformasi sel gamet haploid menjadi spermatozoon (Clermont, 1972; Junqueira *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994; Wuryantari dan Moeloek, 2000).

Spermatogenesis dimulai dengan pembelahan dan diferensiasi spermatogonium A_{dark} menjadi sepasang spermatogonium A_{dark} yang baru. Salah satu spermatogonium A_{dark} akan membelah dan berdiferensiasi menjadi sepasang spermatogonium A_{pale} . Kemudian spermatogonium A_{pale} membelah dan berdiferensiasi menjadi sepasang spermatogonium B. Spermatogonium B aktif bermitosis membentuk spermatisit primer. Dengan demikian, jumlah kromosom sampai spermatisit primer adalah diploid. Spermatisit primer mengalami meiosis I menjadi spermatisit sekunder, kemudian pada meiosis II, spermatisit sekunder dibagi menjadi spermatid. Spermatid selanjutnya mengalami spermiogenesis menjadi spermatozoon (Junqueira *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994; Guyton dan Hall, 1996). Diagram pembelahan sel-sel spermatogenik selama spermatogenesis dapat dilihat pada Gambar 2.9.

Pada tahap awal pembagian meiosis I, semua DNA di dalam 46 kromosom bereplikasi, kemudian masing-masing 46 kromosom menjadi dua kromatid yang tetap berikatan bersama pada sentromer. Pada waktu ini, dimana spermatisit primer terbagi menjadi dua spermatisit sekunder, setiap pasang kromosom berpisah, sehingga masing-masing 23 kromosom (dengan dua kromatid) menuju ke satu spermatisit sekunder. Pada meiosis II, kedua kromatid dari setiap 23 kromosom berpisah pada sentromer sehingga terbentuk dua pasang 23 kromosom, satu pasang dibawa ke satu

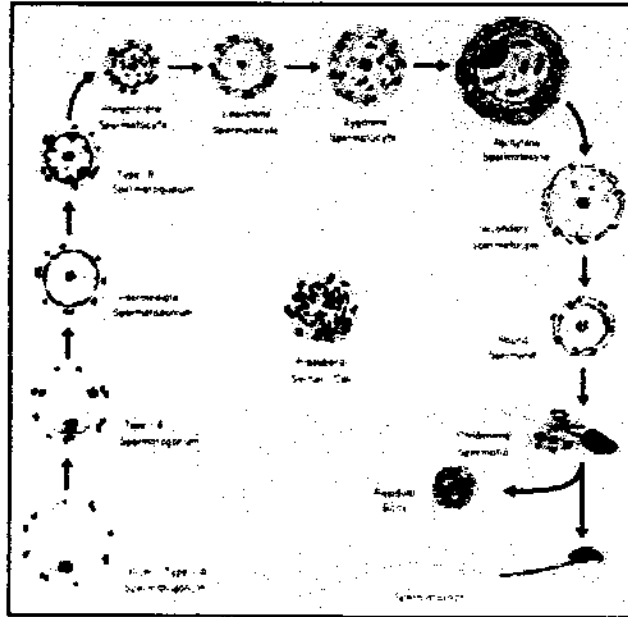
spermatid dan satu pasang yang lain dibawa ke spermatid kedua (Guyton dan Hall, 1996; Seeley *et.al.*, 1998).



Gambar 2.9. Diagram yang menunjukkan sifat klonal sel-sel benih pada proses spermatogenesis (Bloom dan Fawcett, 1994).

Spermatogenesis pada mencit dijelaskan oleh Oakberg (1956a) dan Oakberg (1956b) sebagai berikut : spermatogonium A membelah secara mitosis menjadi spermatogonium intermediat yang selanjutnya membelah menjadi spermatogonium B. Spermatogonium B akhirnya membelah secara mitosis membentuk spermatosit primer preleptotene. Pada tahap kedua spermatogenesis, spermatosit membelah

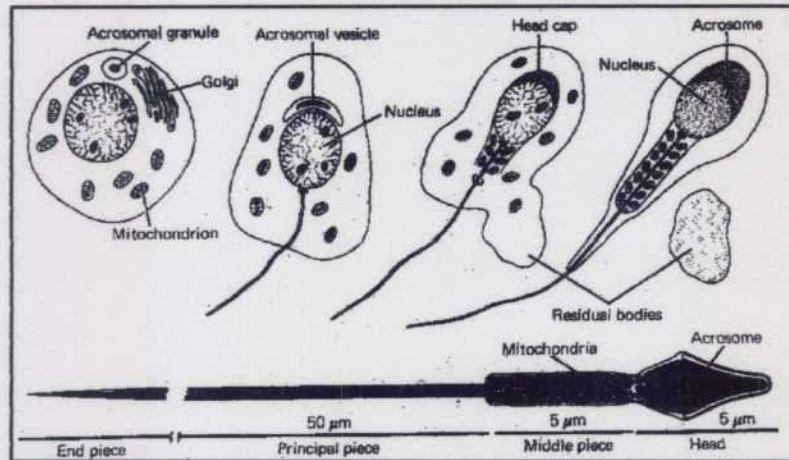
secara meiosis yang akhirnya terbentuk spermatid. Di akhir proses ini spermatid mengalami spermiogenesis menjadi spermatozoon yang matang (Gambar 2.10).



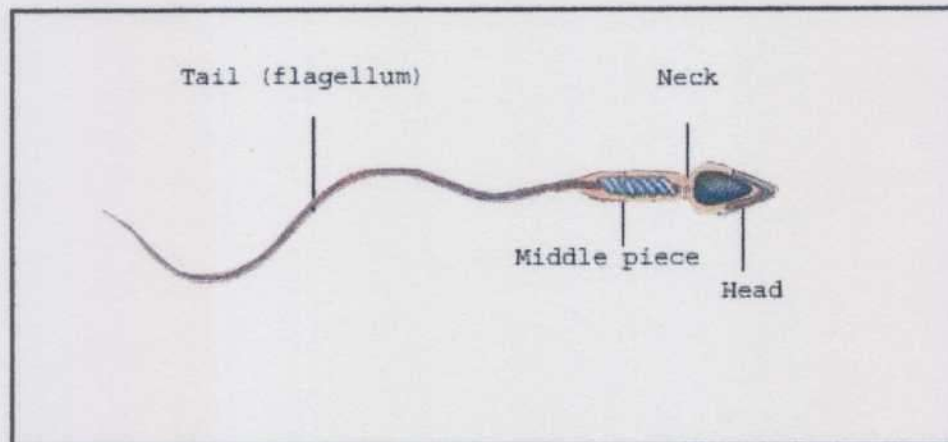
Gambar 2.10. Diagram spermatogenesis pada testis mencit dewasa. Diagram ini memperlihatkan perbandingan volume dan ciri morfologi pada masing-masing tahap sel (Bellve' *et.al.*, 1977 *cit* Whittingham dan Wood, 1983).

Spermiogenesis dibagi menjadi 4 fase, yaitu *Golgi*, *cap*, *akrosom*, dan *maturasi*. Fase *Golgi* ditandai dengan adanya gelembung akrosom dan kраниokaudal yang simetris. Pada fase *cap*, spermatid memanjang dan akrosom tampak lebih berkembang menutup setengah bagian kranial sampai dua pertiga spermatid. Fase *akrosom*, nukleus sel lebih terkondensasi dan sel lebih memanjang. *Maturasi* spermatid ditandai dengan estrusi sisa sitoplasma yang disebut sebagai residual body. Residual body selanjutnya difagositosis oleh sel Sertoli. Setelah melalui keempat fase tersebut, spermatozoon matang siap ditransportasikan ke lumen

tubulus sebagai suatu spermiasi (Leeson *et.al.*, 1989; Veldhuis, 1991; Junqueira *et.al.*, 1992; Guyton dan Hall, 1996; Nieschlag dan Behre, 1997).



Gambar 2.11. Perubahan utama yang terjadi pada spermatid selama spermiogenesis (Junqueira *et.al.*, 1996)

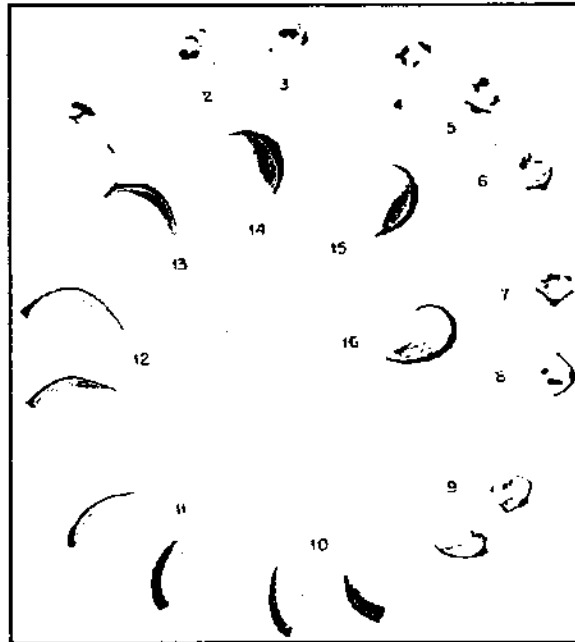


Gambar 2.12. Gambaran skematis sebuah spermatozoon matang (Martini dan Timmons, 1995).

Lama siklus spermatogenesis dapat diukur mulai dari perubahan spermatogonium sampai menjadi spermatozoon yang matang (Clermont, 1972; Whittingham dan Wood, 1983; Bloom dan Fawcett, 1994; Wuryantari dan Moeloek, 2000). Lama siklus spermatogenesis pada tiap spesies berbeda, pada tikus selama 51-53 hari (Leblond and Clermont 1952 *cit* Oakberg, 1956b; Clermont, 1972), pada mencit 34,5 hari (Oakberg, 1956a; Oakberg, 1956b; Clermont, 1972; Davies *et.al.*, 1974; Whitting dan Wood, 1983), dan pada manusia selama 64 hari (Clermont, 1972; Berndtson, 1977; Bloom dan Fawcett, 1994; Wuryantari dan Moeloek, 2000).

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

Menurut Oakberg (1956b) penentuan jumlah tahapan siklus spermatogenesis pada mencit di dasarkan pada siklus spermatid (spermiogenesis). Dua belas tahapan pertama dari 16 tahapan spermiogenesis (lihat gambar 2.12) digunakan sebagai dasar untuk menentukan 12 tahapan spermatogenesis. Asosiasi sel pada masing-masing tahapan spermatogenesis dapat dilihat pada tabel 2.1. Selanjutnya, tahapan sel spermatogonium pada mencit identik dengan tahapan pada tikus seperti yang digambarkan oleh Leblond dan Clermont (1952).



Gambar 2.13. Gambaran spermatid pada spermiogenesis mencit yang diwarnai dengan PAS-Hematoksilin. 1-3 : fase Golgi, 4-7 : fase cap, 8-12 : fase akrosom, dan 13-16 : fase maturasi (Oakberg, 1956b).

Tabel 2.1. Ciri-ciri asosiasi sel pada tahapan siklus spermatogenesis mencit.

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
	Intermediate		In	In	In								
	Type B				B	B	B						
Spermatocytes I	First layer						R	R	R	L	L	Z	Z
	Second layer	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	Dip	Dia
Spermatocytes II													S
Spermatids	First layer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Second layer	13	14	14	15	15	15	16	16				

(Oakberg, 1956b).

Keterangan :

- | | | | | |
|------|-----------------------------------|-----|--------------|-------------------------|
| A | = Spermatogonia type A | R | = Resting | } Primary spermatocytes |
| In | = Intermediate type spermatogonia | L | = Leptotene | |
| B | = Spermatogonia type B | Z | = Zygotene | |
| M-I | = First Meiotic division | P | = Pachytene | |
| S | = Secondary spermatocyte | Dip | = Diplotene | |
| M-II | = Second Meiotic division | Dia | = Diakinesis | |

2.2.4. Pengaturan Hormonal Fungsi Testis

Ditinjau dari fungsinya, testis mempunyai dua fungsi utama, yaitu fungsi reproduksi dan fungsi endokrinologis (Frandsen, 1992; Hardjopranjoto, 1995; Seeley *et.al.*, 1998). Fungsi reproduksi adalah produksi dan maturasi gamet jantan (spermatogenesis) yang terjadi di tubulus seminiferus, sedangkan fungsi endokrinologis adalah menghasilkan hormon steroid (steroidogenesis), testosteron dan estrogen, serta hormon non steroid (inhibin) yang berlangsung di jaringan interstitial (Veldhuis, 1991; Frandsen, 1992).

Perkembangan dan fungsi testis dipelihara oleh hormon gonadotropin (FSH dan LH) yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisis anterior. LH disebut juga *Interstitial Cell-Stimulating Hormon* (ICSH) karena hormon ini bekerja merangsang sel interstitial Leydig. Sintesis dan sekresi hormon gonadotropin dari hipofisis anterior distimulasi oleh *Gonadotrophin Releasing Hormon* (GnRH) yang dihasilkan oleh hipotalamus (Steinberger, 1971; Frandsen, 1992; Vander *et.al.*, 1994; Guyton dan Hall, 1996; Seeley *et.al.*, 1998).

GnRH adalah suatu peptida dengan 10 asam amino yang disekresikan oleh neuron yang sel induknya terletak dalam nukleus arkuatus hipotalamus. Bagian ujung neuron ini berakhir terutama dalam eminensia mediana hipotalamus. Di tempat ini GnRH dilepaskan ke sistem pembuluh darah portal hipotalamus-hipofisis. GnRH kemudian diangkut ke kelenjar hipofisis anterior dalam darah portal dan merangsang pelepasan LH dan FSH (Yen, 1991; Catt dan Dufau, 1991; Guyton dan Hall, 1996; Selley *et.al.*, 1998).

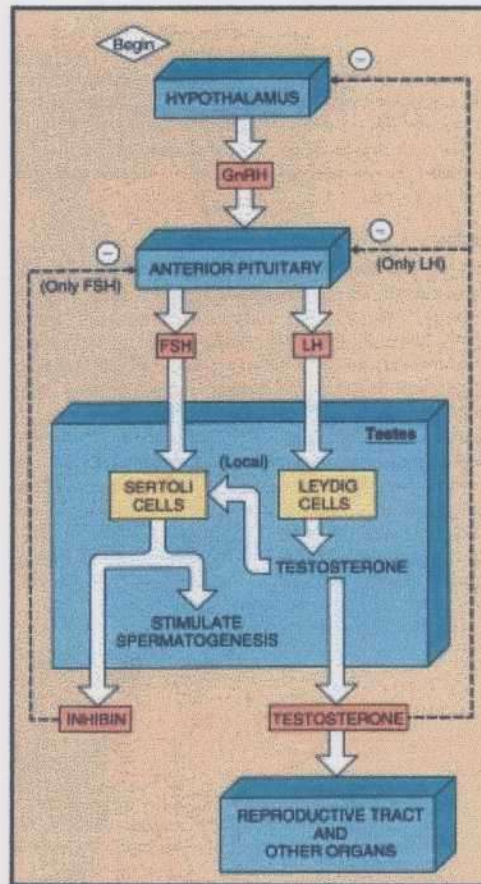
LH dan FSH disekresi oleh sel hipofisis anterior yang sama yaitu gonadotrop (Catt and Dufau, 1991; Vander *et.al.*, 1994; Guyton dan Hall, 1996). Pada hipofisis tikus, beberapa gonadotrop terdiri dari FSH dan LH, tetapi gonadotrop yang lain hanya terdiri dari satu jenis hormon, kira-kira 60 % gonadotrop menghasilkan FSH dan LH, 18 % hanya LH, dan 23 % hanya FSH (Catt dan Dufau, 1991).

FSH bekerja di dalam tubulus seminiferus untuk merangsang proses spermatogenesis melalui sel Sertoli (Steinberger, 1971; Davies, 1981; Tsutsui, 1991; Veldhuis, 1991). FSH berikatan dengan reseptor spesifik yang melekat pada sel-sel Sertoli yang menyebabkan sel-sel tumbuh dan mensekresi berbagai substansi spermatogenik, serta merangsang fungsi sel Sertoli yang lain. Sementara itu, LH merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron. Testosteron ini kemudian masuk ke tubulus seminiferus (sel Sertoli) dan mempunyai efek tropik yang kuat terhadap spermatogenesis (Catt dan Dufau, 1991; Vander *et.al.*, 1994; Guyton dan Hall, 1996).

Ketika terjadi hambatan spermatogenesis, hipofisis anterior akan menambah sekresi FSH. Sebaiknya bila spermatogenesis berjalan terlalu cepat, maka sel Sertoli akan menghasilkan inhibin untuk mempengaruhi hipofisis dalam menghambat sekresi FSH (Catt dan Dufau, 1991; Vander *et.al.*, 1994; Seeley *et.al.*, 1998).

Testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig akan menghambat sekresi LH dengan dua cara yaitu 1) efek langsung ke hipotalamus untuk menurunkan sekresi GnRH dengan akibat GnRH yang mencapai hipofisis anterior akan berkurang, 2) efek

pada hipofisis anterior untuk mengurangi sekresi LH tetapi tidak mengurangi sekresi FSH (Vander *et.al.*, 1994). Mekanisme umpan balik negatif oleh testosteron ini bekerja bersama-sama dengan mekanisme umpan balik oleh inhibin dalam mengatur spermatogenesis (Guyton dan Hall, 1996).



Gambar 2.14. Hubungan antara Hipotalamus, Hipofisis anterior, dan testis. Gambar ini juga memperlihatkan mekanisme umpan balik negatif yang terjadi (Vander *et.al.*, 1994).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Pasak Bumi adalah salah satu obat tradisional yang sangat populer di kalangan pria karena dipercaya mampu meningkatkan kejantanan. Kepercayaan ini telah di buktikan oleh beberapa peneliti pada berbagai hewan coba. Penelitian tersebut membuktikan bahwa akar Pasak Bumi mempunyai efek afrodisiak. Afrodisiak dapat dilihat dari peningkatan libido hewan coba.

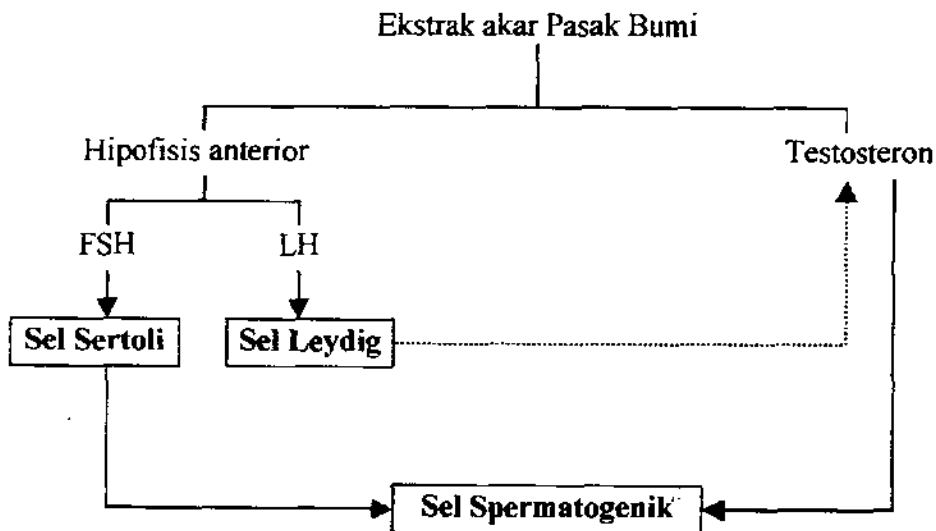
Efek afrodisiak yang ditimbulkan oleh Pasak Bumi tidak hanya bersifat psikis, karena dari beberapa penelitian terbukti bahwa efek afrodisiak disertai dengan peningkatan kadar hormon testosteron dalam darah bahkan penelitian terakhir menyebutkan bahwa peningkatan hormon testosteron disertai dengan peningkatan LH dan FSH. Peningkatan LH memberikan gambaran bahwa testosteron yang terbentuk tidak hanya dari konversi di jaringan perifer, tetapi juga melalui sentral.

Sementara itu, peningkatan FSH dapat terjadi melalui stimulasi kelenjar hipofisis anterior atau karena terjadi hambatan proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus. Karena pemberian ekstrak akar Pasak Bumi juga meningkatkan LH, maka mekanisme peningkatan FSH diduga melalui stimulasi kelenjar hipofisis anterior. Dengan demikian akan terjadi peningkatan proses spermatogenesis setelah pemberian ekstrak akar Pasak Bumi, karena FSH bersama-sama dengan LH diperlukan dalam proses spermatogenesis baik secara kuantitatif maupun kualitatif.

FSH bekerja pada sel Sertoli untuk merangsang pertumbuhan dan pematangan sel spermatogenik. Dengan adanya rangsangan FSH, testosteron diangkut ke lumen tubulus seminiferus dan masuk ke dalam sel spermatogenik untuk meningkatkan metabolisme dan pematangan sel spermatogenik. Sedangkan LH merangsang sel Leydig untuk menghasilkan hormon testosteron.

Dari fenomena di atas, maka perlu dibuktikan apakah pemberian ekstrak Pasak Bumi dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig pada mencit jantan.

Kerangka konseptual di atas dapat digambarkan dengan diagram seperti di bawah ini :



Gambar 3.1. Diagram alur kerangka konseptual penelitian

3.2 Hipotesis Penelitian

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

- 1 Terjadi peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig setelah pemberian ekstrak metanol akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) per oral pada mencit (*Mus musculus*) jantan.
- 2 Terjadi peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig setelah pemberian ekstrak kloroform akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) per oral pada mencit (*Mus musculus*) jantan.
- 3 Pada dosis 500 mg/kgBB/hari terjadi peningkatan yang lebih tinggi terhadap jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig, daripada dosis 200 mg/kgBB/hari.
- 4 Terdapat pengaruh perbedaan pelarut terhadap peningkatan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig.

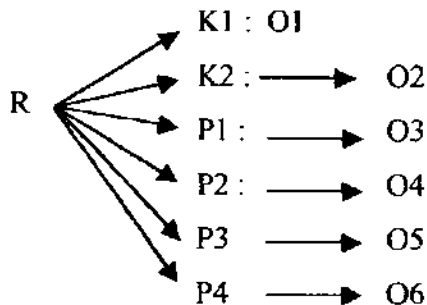
BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian *Randomized Severate Sample Pretest Posttest Control Group Design* (Campbell dan Stanley, 1963).

Rancangan penelitian ini disusun sebagai langkah untuk melihat gambaran histologis tubulus seminiferus setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi yang diberikan pada kelompok perlakuan dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Secara skematis rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut (Campbell dan Stanley, 1963):



Keterangan :

- R : Randomisasi
- K1 : Kelompok kontrol yang datanya diambil sebelum perlakuan
- K2 : Kelompok kontrol dengan pemberian aquadest 0,5 ml/hari per oral.
- P1 : Perlakuan dengan pemberian ekstrak metanol akar Pasak Bumi 200 mg/kg BB/hari per oral.
- P2 : Perlakuan dengan pemberian ekstrak metanol akar Pasak Bumi 500 mg/kg BB/hari per oral
- P3 : Perlakuan dengan pemberian ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 200 mg/kg BB/hari per oral.
- P4 : Perlakuan dengan pemberian ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 500 mg/kg BB/hari per oral

- O1 : Data kelompok kontrol sebelum perlakuan
- O2 : Data kelompok kontrol setelah 52 hari perlakuan
- O3 : Data kelompok P1 setelah 52 hari perlakuan
- O4 : Data kelompok P2 setelah 52 hari perlakuan
- O5 : Data kelompok P3 setelah 52 hari perlakuan
- O6 : Data kelompok P4 setelah 52 hari perlakuan

Pada rancangan ini diperlukan K1 untuk mengetahui ada tidaknya efek maturasi (*maturatation effect*) selama 52 hari perlakuan (Campbell dan Stanley, 1963).

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel

Populasi penelitian adalah seluruh mencit jantan strain Swiss yang ada di tempat penangkarnya. Sedangkan sampel penelitian adalah 54 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan strain Swiss yang berumur 7-8 minggu (*sexually mature*) dan mempunyai berat badan rata-rata 20-40 gram yang diperoleh dari Pusvetma Surabaya.

Besar sampel ditetapkan menurut rumus sebagai berikut (Steel dan Torrie, (1991) :

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

k = jumlah macam perlakuan

r = jumlah replikasi untuk tiap kelompok

Dari rumus tersebut diperoleh besar sampel untuk tiap kelompok minimal 8 ekor. Karena selama perlakuan terdapat kemungkinan mati (f) \pm 10% maka besar sampel tersebut dikalikan $1/1-f$ (Higgins dan Klimbaum, 1985), sehingga besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 9 ekor per kelompok perlakuan.

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara random. Karena populasi pada penelitian ini dianggap homogen maka cara random yang digunakan adalah *simple random sampling* yang dilakukan dengan *random numbers* (Zainuddin, 2000).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

a. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak metanol dan ekstrak kloroform dari akar Pasak Bumi.

b. Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah :

1. Jumlah spermatogonium
2. Jumlah spermatosit primer
3. Jumlah spermatid
4. Jumlah sel Sertoli
5. Jumlah sel Leydig

c. Variabel kendali

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

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

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

1. Ekstrak metanol akar Pasak Bumi adalah ekstrak yang dibuat dari akar Pasak Bumi dengan cara dingin, menggunakan pelarut metanol 96 %.
2. Ekstrak kloroform akar Pasak Bumi adalah ekstrak yang dibuat dari akar Pasak Bumi dengan cara dingin, menggunakan pelarut kloroform.
3. Jumlah spermatogonium adalah jumlah spermatogonium pada tubulus seminiferus stage VII di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 X 40.
4. Jumlah spermatosit primer adalah jumlah spermatosit primer pada tubulus seminiferus stage VII di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40.
5. Jumlah spermatid adalah jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus stage VII di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
6. Jumlah sel Sertoli adalah jumlah inti sel Sertoli pada tubulus seminiferus stage VII di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
7. Jumlah sel Leydig adalah jumlah sel Leydig pada jaringan interstitial testis kiri di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
8. Umur dan jenis kelamin. Jenis kelamin mencit adalah jantan, umur mencit adalah umur 7-8 minggu/*sexually mature* (Solleveld *et.al.*, 1986).
9. Berat badan mencit sebelum perlakuan adalah berat badan rata-rata pada mencit dewasa yaitu 20-40 gram (Jacoby dan Fox, 1984) yang diukur sebelum perlakuan dengan timbangan dalam satuan gram
10. Jaringan testis yang digunakan pada penelitian ini adalah testis kiri. Hal ini digunakan untuk mengurangi bias penelitian.
11. Waktu perlakuan dimulai pada waktu yang sama setiap harinya, yaitu pada pukul 08.00 WIB.

12. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di tempat yang sama (Laboratorium Biokimia FK Unair) dan kondisi kandang sama serta makanan standar dan minuman air ledeng PDAM.

4.4 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini dapat dikelompokkan menjadi :

a. Bahan perlakuan

Bahan yang digunakan pada perlakuan hewan coba adalah :

- Pellet Br 2
- Air ledeng PDAM
- Ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi

b. Bahan Pemeriksaan

Bahan pemeriksaan pada penelitian ini adalah :

1. Ether untuk pembiusan
2. NaCl Fisiologis untuk mencuci testis
3. Testis kiri mencit jantan strain Swiss
4. Bahan untuk pembuatan preparat histologis metode parafin :
 - Larutan Bouin's untuk fiksasi yang dibuat dari (Gridley, 1960)
 - Asam pikrat 1,2 %..... 750 cc
 - Formaldehid 39 – 40 % 250 cc
 - Asam asetat glasial50 cc
 - Alkohol 70%, 80 %, 90%, 95 % dan absolut untuk dehidrasi
 - Larutan xylol untuk clearing
 - Parafin cair untuk blok jaringan

- Albumin Meyer yang dibuat dari putih telur dan gliserin 1 : 1 (Gridley, 1960).
 - Entelan untuk mounting
 - Kertas tissue
 - Kertas label
5. Bahan untuk pewarnaan Periodic-Acid-Schiff (PAS) :
- Larutan Xylol
 - Larutan alkohol 95 % dan absolut
 - Larutan Periodic acid 0,5 %
 - Reagen Schiff
 - Acid alkohol, amoniak water
 - Larutan Hematoksilin

4.5 Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini dapat di kelompokkan menjadi :

- a. Alat untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba :
 - Kandang plastik polypropilen yang ditutup kawat kassa sebanyak 54 buah
 - Botol minum sebanyak 54 buah
 - Tempat makan dari alumunium sebanyak 54 buah
 - Sekam
 - S spuit 1 cc yang ujungnya dimodifikasi
- b. Alat untuk pembiusan dan pengambilan jaringan testis :
 - Toples kecil dan penutupnya dari kaca untuk pembiusan.

- Alas fiksasi dan diseksi hewan coba
 - Instrumen bedah minor .
 - Pot kecil dengan tutup plastik untuk fiksasi jaringan
 - Baskom kecil untuk mencuci jaringan sebelum difiksasi
 - Kertas label
- c. Alat untuk pembuatan preparat histologis metode parafin dengan pewarnaannya :
- Mikrotom putar
 - Pot kecil untuk dehidrasi, clearing, dan infiltrasi
 - Blok dari timah berbentuk L untuk embedding
 - Lampu spiritus
 - Water bath
 - Pinset
 - Gelas obyek dan penutupnya
 - Staining jar
 - Kran air
- d. Alat untuk pengamatan dan pengambilan data :
- Mikroskop cahaya binokuler
 - Mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan kamera
 - Counter

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di 3 tempat, yaitu laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Unair untuk pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi, Laboratorium Biokimia

FK Unair untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba serta pengambilan jaringan, dan laboratorium Anatomi-Histologi FK Unair untuk preparasi jaringan dan pengambilan data penelitian.

Penelitian dimulai pada bulan Mei sampai dengan Oktober 2002.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan ekstrak akar pasak bumi

Akar Pasak Bumi diambil dari tanaman Pasak Bumi yang ada di hutan Kalimantan Tengah, kemudian dilakukan determinasi di laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya. Akar Pasak Bumi kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan (tidak kena cahaya matahari langsung), menggunakan alas dari kain kassa dan penutup kain warna hitam (Soetarno, 2000). Untuk pengeringan ini, akar Pasak Bumi terlebih dulu dipotong-potong kecil. Pengeringan dilakukan lebih kurang 5 -- 7 hari.

Potongan akar Pasak Bumi yang sudah kering kemudian dibuat ekstrak kloroform dan metanol di laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Unair. Pembuatan ekstrak ini dilakukan dengan cara dingin (lihat lampiran 1). Pelarut yang digunakan terlebih dahulu adalah senyawa non polar (n-heksan, eter) ke senyawa yang polar (metanol atau etanol) (Padmawinata, 2000).

4.7.2 Pemeliharaan dan pembagian kelompok hewan coba

Sebelum diberikan perlakuan, hewan coba diaklimatisasi selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium, di laboratorium Biokimia FK Unair, mencit dipelihara

pada kandang individual dari plastik polypropilen yang ditutup kawat kassa dan dilengkapi dengan tempat minum/makan serta beralaskan sekam. Makanan mencit menggunakan makanan standard dan minum air ledeng dari PDAM. Untuk menjaga kebersihan kandang, sekam diganti setiap 2 hari.

Sampel penelitian dibagi secara acak menjadi 6 kelompok yaitu :

1. Kelompok kontrol yang terdiri dari 2 kelompok :

- K1 : Kelompok kontrol yang datanya diambil sebelum perlakuan
- K2 : Kelompok kontrol yang diberi aquades 0,5 ml/hari per oral selama 52 hari.

2. Kelompok perlakuan yang terdiri dari 4 kelompok :

- P1 : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak metanol akar Pasak Bumi 200 mg/kg BB/hari per oral selama 52 hari.
- P2 : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak metanol akar Pasak Bumi 500 mg/kg BB/hari per oral selama 52 hari.
- P3 : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 200 mg/kg BB/hari per oral selama 52 hari.
- P4 : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 500 mg/kg BB/hari per oral selama 52 hari.

Masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor mencit jantan berumur 7-8 minggu dengan berat badan antara 20-40 gram.

4.7.3 Perlakuan hewan coba

Ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi diberikan per oral dengan dosis pemberian masing-masing 200 mg/kg BB/hari dan 500 mg/kg BB/hari yang diberikan 1 kali/hari pada waktu yang sama. Volume pemberian yang digunakan adalah < 1 ml. Karena menurut Ritchel 1978 *cit* Donatus dan Nurlaila (1986) volume

maximum larutan obat yang diberikan per oral pada mencit (20-30 gram) adalah 1,0 ml.

Cara pemberian per oral ini dilakukan dengan cara sonde menggunakan spuit 1 ml yang ujung jarumnya dimodifikasi agar tidak tajam. Ujung jarum diharapkan masuk sampai lambung mencit. Perlakuan ini dilakukan selama 52 hari (1,5 siklus spermatogenesis mencit) (Oakberg, 1956a).

4.7.4 Pembiusan

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

4.7.5 Pengambilan jaringan testis

Mencit diletakkan di atas meja bedah dalam posisi terlentang dengan keempat anggota gerak difiksasi. Testis diambil dengan cara membuka abdomen. Abdomen bagian bawah dijepit dengan pinset kemudian diangkat sedikit. Kulit abdomen yang terangkat digunting pelan-pelan sampai abdomen terbuka. Testis diambil dengan mengangkat duktus deferens sampai testis keluar dari abdomen. Setelah testis dikeluarkan, dengan pelan-pelan, testis dibersihkan dari jaringan ikat dan lemak serta pembungkusnya (Oakberg, 1956a; Oakberg, 1965b), kemudian segera dimasukkan seluruhnya ke larutan fiksatif (Suntoro, 1985) dan diberi label.

4.7.6 Pembuatan sediaan histologis dan pewarnaan

Setelah semua testis terkumpul, bahan ini kemudian dibawa ke laboratorium Anatomi-Histologi untuk dibuat sediaan histologis metode parafin dengan pewarnaan PAS (Teknik pembuatan sediaan dan pewarnaan lihat lampiran 3 dan lampiran 4).

Dengan pewarnaan PAS, gambaran spermiogenesis lebih jelas sehingga lebih mudah menetapkan tahapan siklus tubulus seminiferus karena pada mencit siklus tubulus seminiferus didasarkan pada siklus spermiogenesis (Oakberg, 1956b).

4.7.7 Pengumpulan data

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

Sel spermatogenik yang dihitung adalah spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid. Jumlah sel Sertoli dihitung dari jumlah nukleus sel Sertoli pada 10 tubulus seminiferus yang terpotong melintang. Perhitungan sel Leydig dilakukan dalam 10 jaringan interstitial tiap sampel penelitian.

4.8 Rancangan Analisa Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis secara statistik dengan uji Anova (Analisis varian) pada taraf kepercayaan 0,05. Jika terdapat perbedaan

pengaruh perlakuan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (*Least Significant Difference*) (Steel and Torrie, 1991). Perhitungan statistik dibantu dengan sistem komputer SPSS for Windows.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

Besar sampel pada awal penelitian adalah 9 ekor mencit tiap kelompok, namun di akhir perlakuan hanya 8 ekor karena 1 ekor mencit mati pada masing-masing kelompok. Kematian ini mungkin karena disebabkan oleh aspirasi paru pada waktu pemberian larutan. Setelah 52 hari pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit jantan, maka diperoleh hasil penelitian sebagai berikut :

5.1.1 Jumlah spermatogonia

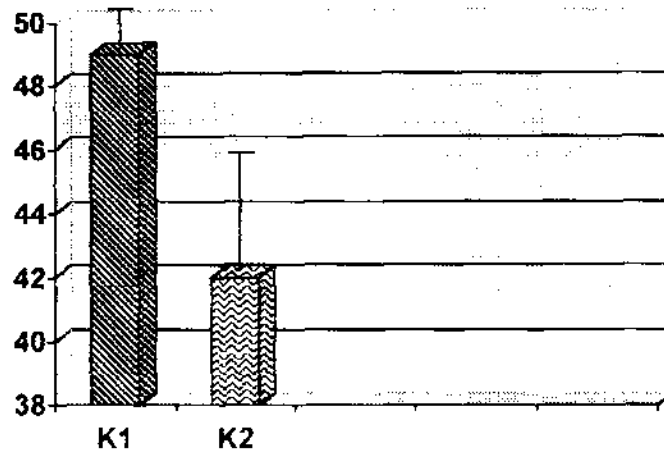
Rata-rata jumlah spermatogonia pada kelompok K2 mengalami penurunan dibandingkan dengan K1 sekitar 7,62, namun penurunan ini secara statistik tidak bermakna ($p > 0,05$). Rata-rata \pm SD jumlah spermatogonia kelompok K1 dan K2 tertera pada Tabel 5.1. di bawah ini.

Tabel 5.1 Rata-rata \pm SD jumlah spermatogonia pada kelompok K1 dan K2.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K1	8	49,75 \pm 5,87 ^a
K2	8	42,13 \pm 15,80 ^a

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

Untuk lebih jelas rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatogonia kelompok K1 dan K2 digambarkan pada histogram berikut.



Gambar 5.1 Histogram Rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatozonia kelompok K1 dan K2.

Jumlah spermatozonia setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada penelitian ini dapat dilihat dengan cara membandingkan dengan kelompok K2, rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatozonia setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari dapat dilihat pada Tabel 5.2.

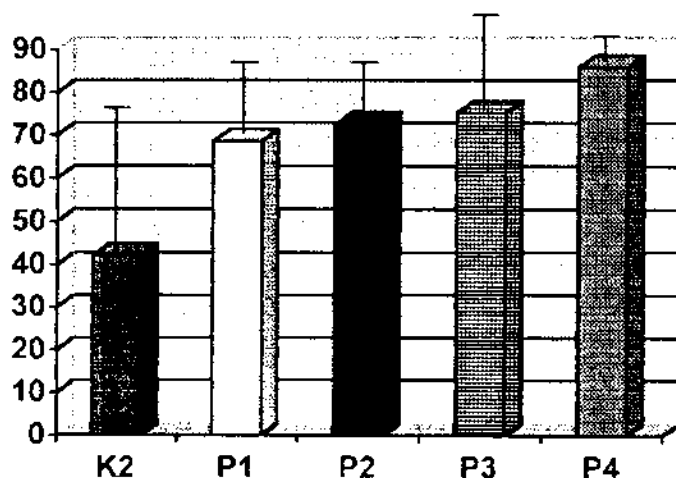
Tabel 5.2 Rata-rata \pm SD jumlah spermatozonia setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K2	8	42,13 \pm 15,80 ^a
P1	8	68,63 \pm 9,55 ^b
P2	8	72,63 \pm 6,21 ^b
P3	8	75,25 \pm 11,12 ^b
P4	8	86,00 \pm 4,50 ^c

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

Dari Tabel 5.2. tampak bahwa pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dengan dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500mg/kgBB/hari dapat meningkatkan jumlah spermatozonia dibandingkan dengan kontrol yang diberi aquades 0,5 ml/hari. Peningkatan ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Rata-rata

dan standard deviasi jumlah spermatogonia ini juga dapat digambarkan sebagai histogram dibawah ini.



Gambar 5.2 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatogonia setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

5.1.2 Jumlah spermatosit primer

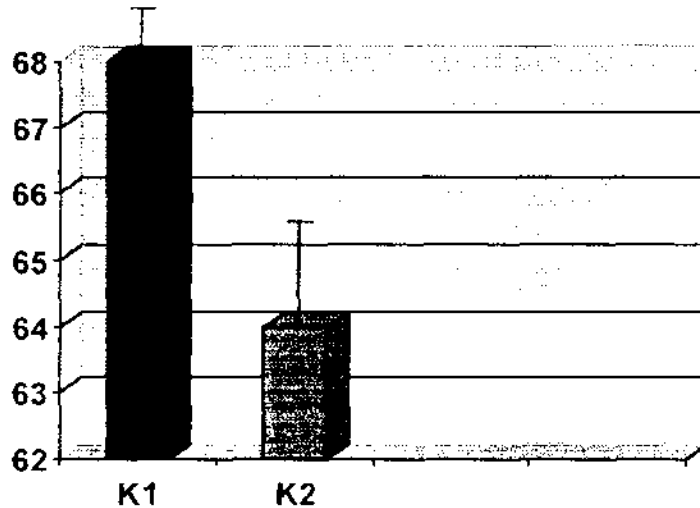
Seperti halnya jumlah spermatogonia, maka rata-rata jumlah spermatosit primer kelompok K2 pada penelitian ini juga mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok K1. Dari perhitungan statistik diketahui bahwa perbedaan perlakuan terhadap penurunan jumlah spermatosit primer ini tidak bermakna ($p > 0,05$). Rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatosit primer kelompok K1 dan K2 dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rata-rata \pm SD jumlah spermatosit primer pada kelompok K1 dan K2.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K1	8	68,03 \pm 3,16 ^a
K2	8	64,50 \pm 5,04 ^a

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

Rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatis primer pada kelompok K1 dan K2 digambarkan dengan histogram berikut.



Gambar 5.3 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatis primer kelompok K1 dan K2.

Untuk evaluasi jumlah spermatis primer setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi, digunakan kelompok K2 sebagai kontrol. Rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatis primer setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Rata-rata \pm SD jumlah spermatis primer setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

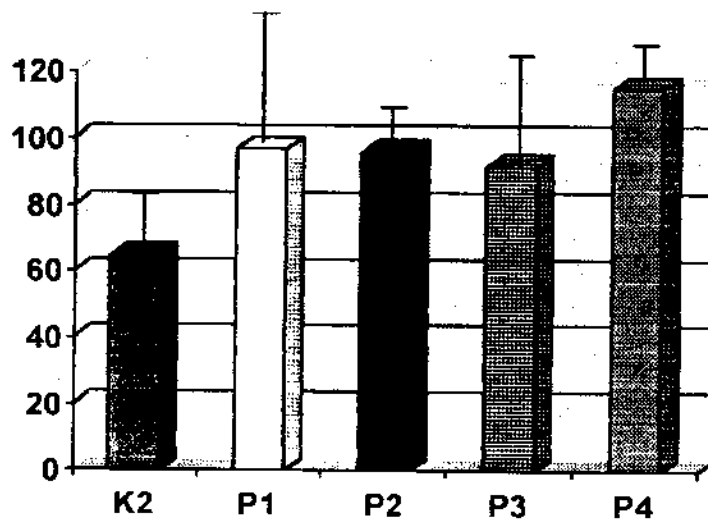
Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K2	8	64,50 \pm 5,04 ^a
P1	8	96,63 \pm 16,34 ^b
P2	8	95,88 \pm 4,91 ^b
P3	8	91,75 \pm 9,72 ^b
P4	8	115,25 \pm 4,46 ^c

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

Dari tabel di atas tampak bahwa pemberian ekstrak metanol akar Pasak Bumi 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari dapat meningkatkan jumlah spermatis

primer dibanding dengan kelompok kontrol. Demikian pula dengan pemberian ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 200mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari juga dapat meningkatkan jumlah spermatis primer dibanding dengan kelompok kontrol. Dari perhitungan statistik, perbedaan perlakuan ini berpengaruh nyata terhadap jumlah spermatis primer ($p < 0,05$).

Untuk lebih jelas, peningkatan jumlah spermatis primer setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dapat dilihat pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatis primer setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

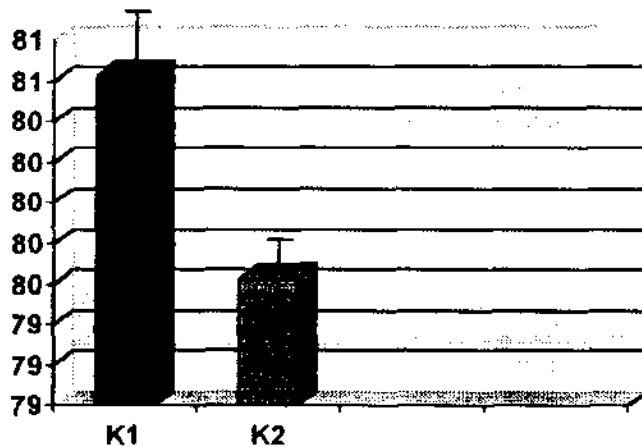
5.1.3 Jumlah spermatid

Jumlah spermatid pada kelompok K2 sedikit menurun dibandingkan K1. Rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatid kelompok K1 dan K2 tertera pada Tabel 5.5 dan histogramnya tampak pada Gambar 5.5.

Tabel 5.5 Rata-rata \pm SD jumlah spermatid pada kelompok K1 dan K2.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K1	8	80,63 \pm 6,86 ^a
K2	8	79,63 \pm 3,38 ^a

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.



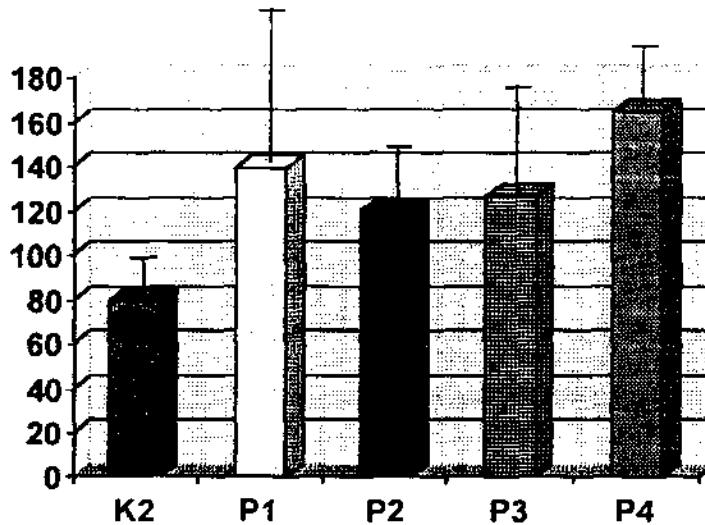
Gambar 5.5 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatid kelompok K1 dan K2.

Pengaruh pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi terhadap jumlah spermatid dapat dilihat pada Tabel 5.6 dan Gambar 5.6. Dari Tabel tersebut tampak bahwa rata-rata jumlah spermatid meningkat setelah pemberian ekstrak metanol 200 mg/kgBB/hari maupun 500 mg/kgBB/hari dibandingkan dengan kontrol. Demikian pula pada kelompok P3 dan P4 yang diberi ekstrak kloroform 200 mg/kgBB/hari dan 500mg/kg BB/hari. Dari perhitungan statistik ternyata peningkatan jumlah spermatid pada keempat kelompok perlakuan berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) dibanding dengan kontrol.

Tabel 5.6 Rata-rata jumlah spermatid setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K2	8	79,63 \pm 3,38 ^a
P1	8	139,13 \pm 26,67 ^b
P2	8	120,25 \pm 4,95 ^c
P3	8	126,38 \pm 6,91 ^c
P4	8	164,63 \pm 4,27 ^d

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan.



Gambar 5.6 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah spermatid setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

5.1.4 Jumlah sel Sertoli

Pada epithelium tubulus seminiferus, selain terdapat beberapa macam tingkat perkembangan sel germinal, juga terdapat sel Sertoli. FSH bekerja di dalam tubulus seminiferus untuk merangsang spermatogenesis melalui sel Sertoli (Tsutsui, 1991; de Kretser *et.al.*, 1992). Oleh karena itu, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi terhadap sel Sertoli mencit maka pada penelitian ini juga dihitung jumlah sel Sertoli.

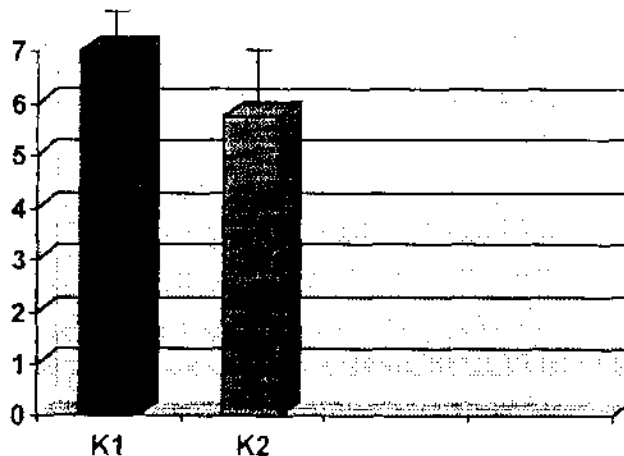
Rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli kelompok K1 dan K2 dapat dilihat pada Tabel 5.7 dan Gambar 5.7. Sedangkan rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform pada mencit dapat dilihat pada Tabel 5.8 dan Gambar 5.8

Tabel 5.7 Rata-rata \pm SD jumlah sel Sertoli pada kelompok K1 dan K2.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K1	8	7,00 \pm 0,53 ^a
K2	8	5,75 \pm 0,71 ^b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna antar pelaku.

Dari Tabel 5.7 tampak bahwa rata-rata jumlah sel Sertoli setelah 52 hari perlakuan menurun dibandingkan dengan rata-rata jumlah sel Sertoli pada awal perlakuan. Penurunan ini dengan analisis varian (Anova) menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli ini digambarkan dengan histogram berikut.



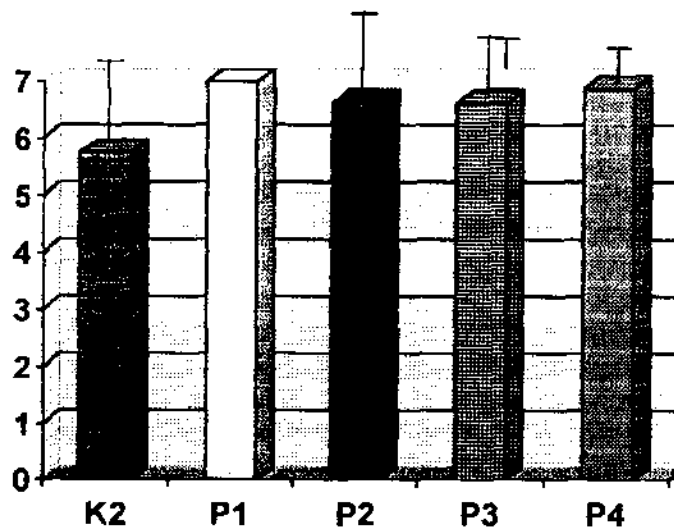
Gambar 5.7 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli kelompok K1 dan K2.

Tabel 5.8 Rata-rata \pm SD jumlah sel Sertoli setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K2	8	5,75 \pm 0,71 ^a
P1	8	7,00 \pm 0,00 ^b
P2	8	6,63 \pm 0,74 ^b
P3	8	6,63 \pm 0,52 ^b
P4	8	6,88 \pm 0,35 ^b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

Dari Tabel 5.8 terlihat bahwa pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dengan dosis 200mg/kgBB/hari pada mencit selama 52 hari dapat meningkatkan jumlah sel Sertoli dibanding dengan kelompok kontrol. Peningkatan rata-rata jumlah sel Sertoli ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Untuk lebih jelas, rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli tersebut digambarkan dengan histogram pada Gambar 5.8 dibawah ini.



Gambar 5.8 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Sertoli setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

5.1.5 Jumlah sel Leydig

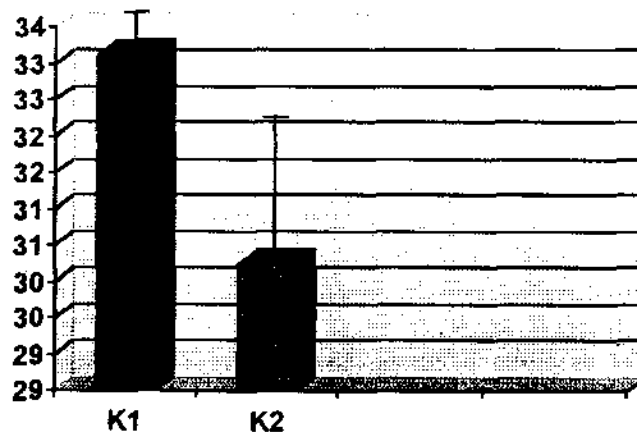
Pada penelitian ini jumlah sel Leydig dihitung dari 10 jaringan interstitial untuk masing-masing sampel. Dari perhitungan tersebut diperoleh rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Leydig kelompok K1 dan K2 seperti tampak pada Tabel 5.9

Tabel 5.9 Rata-rata \pm SD jumlah sel Leydig per 10 jaringan interstitial pada kelompok K1 dan K2.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K1	8	3,13 \pm 1,64 ^a
K2	8	30,25 \pm 3,96 ^a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

Dari Tabel 5.9 tampak bahwa jumlah sel Leydig setelah 52 hari perlakuan menurun dibandingkan dengan jumlah sel Leydig pada awal perlakuan, namun penurunan ini secara statistik tidak bermakna ($P > 0,05$). Rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Leydig pada kelompok K1 dan K2 ini digambarkan pada histogram berikut :



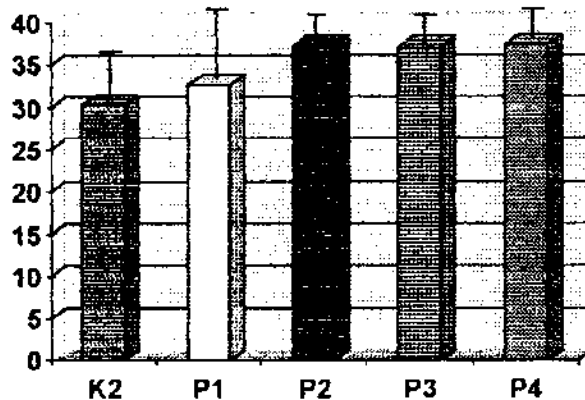
Gambar 5.9 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Leydig per 10 jaringan interstitial pada kelompok K1 dan K2.

Rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Leydig setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari dapat dilihat pada Tabel 5.10 dan Gambar 5.10 di bawah ini.

Tabel 5.10 Rata-rata \pm SD jumlah sel Leydig per 10 jaringan interstitial setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

Perlakuan	Ulangan	Rata-rata \pm SD
K2	8	30,25 \pm 3,96 ^a
P1	8	32,63 \pm 4,44 ^a
P2	8	37,25 \pm 2,60 ^b
P3	8	37,13 \pm 3,48 ^b
P4	8	37,38 \pm 3,50 ^b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

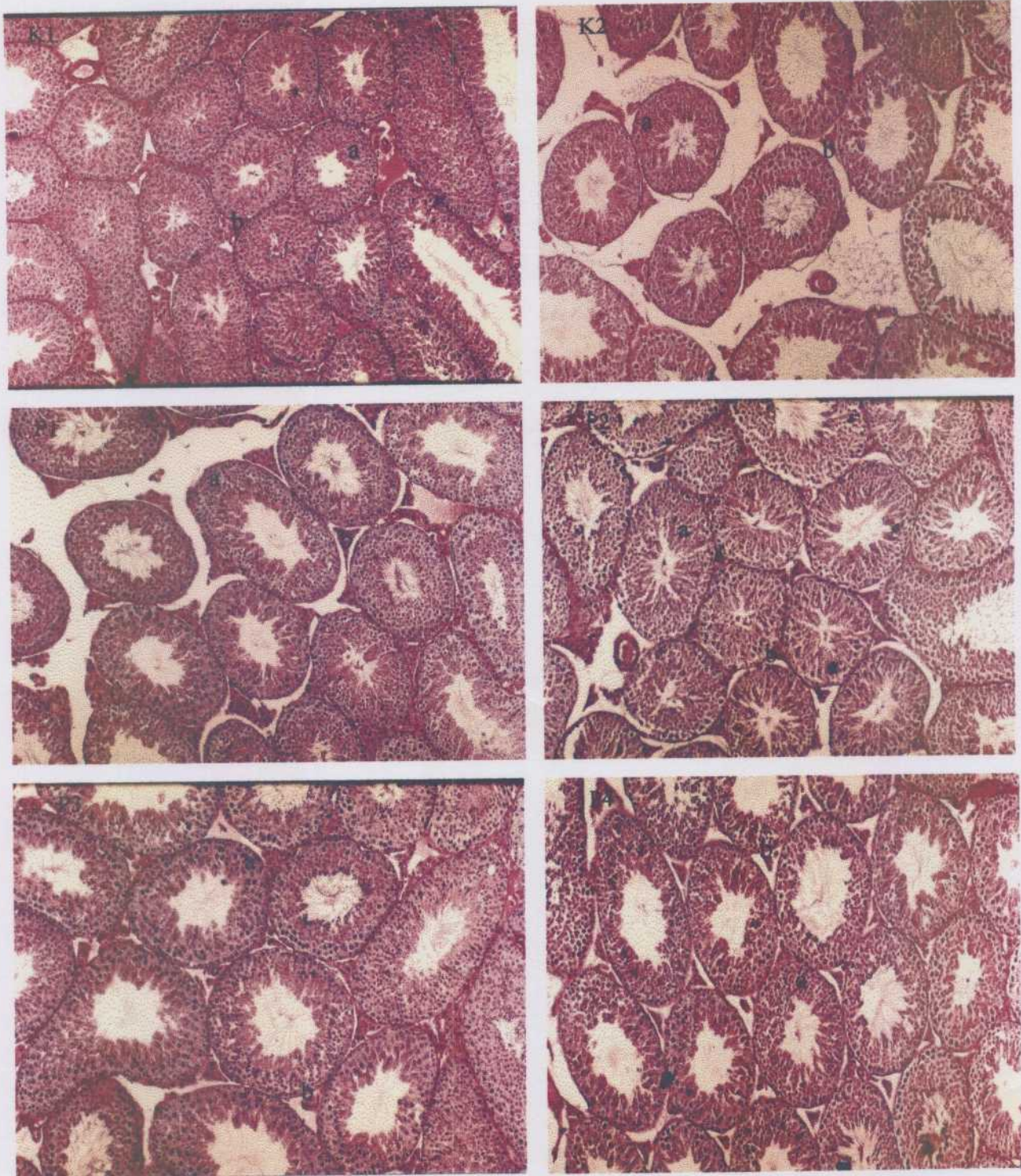


Gambar 5.10 Histogram rata-rata dan standard deviasi jumlah sel Leydig per 10 jaringan interstitial setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi pada mencit selama 52 hari.

Pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari selama 52 hari dapat meningkatkan jumlah sel Leydig mencit jantan jika dibandingkan dengan jumlah sel Leydig kelompok kontrol yang diberi aquadest (Tabel 5.10).

Dari analisa statistik dengan Anova diketahui bahwa secara bermakna terdapat pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel Leydig ($p < 0,05$).

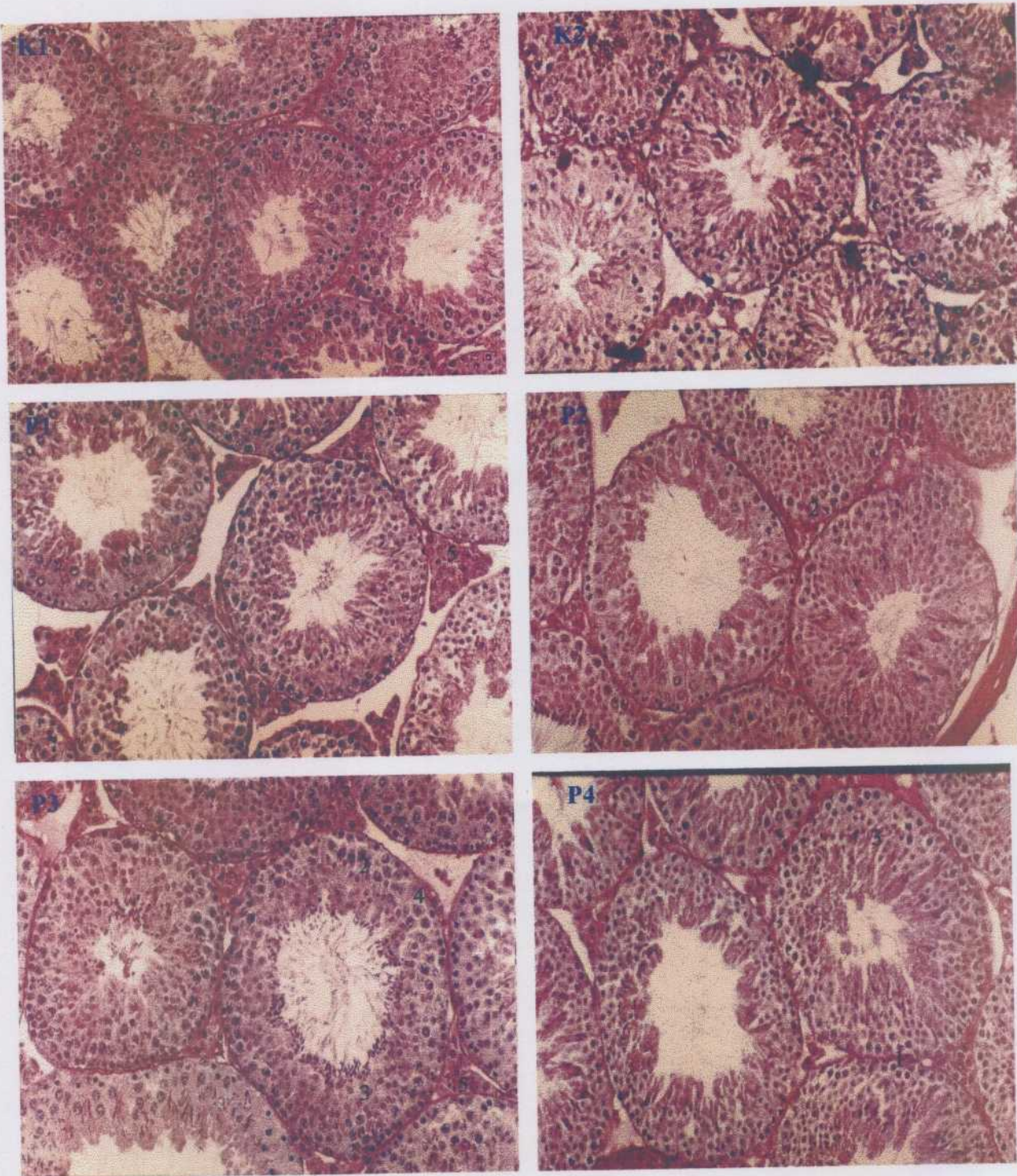
Gambar 5.11 dan Gambar 5.12 memperlihatkan gambaran histologis tubulus seminiferus testis mencit jantan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.



Gambar 5.11 Gambaran histologis tubulus seminiferus mencit jantan kelompok kontrol dan perlakuan (Pembesaran 3,3 X 10; PAS)

Keterangan :

a : Epitel tubulus seminiferus, b : Jaringan interstitial



Gambar 5.12 Gambaran histologis tubulus seminiferus mencit jantan kelompok kontrol dan perlakuan (Pembesaran 3,3 x 20 ; PAS)

Keterangan :

1 : Spermatogonium, 2: Spermatosit primer, 3 : Spermatid, 4 : Inti sel Sertoli, 5 : Sel Leydig

5.2 Analisis Hasil Penelitian

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok, maka semua data hasil penelitian mulai dari jumlah spermatogonia, jumlah spermatosit primer, jumlah spermatid, jumlah sel Sertoli, sampai dengan jumlah sel Leydig dianalisa dengan analisis varian (Anova) pada $\alpha=0,05$. Sebelum dianalisa, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data dengan *One-sample kolmogorov-smirnov test*. Dari uji normalitas data tersebut didapatkan p hitung lebih besar dari α untuk semua data (lampiran 13), maka dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi normal, sehingga bisa dilanjutkan dengan analisis varian (Anova). Jika dengan Anova terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan *Least Significant Difference (LSD)* atau uji beda nyata terkecil (BNT).

5.2.1 Jumlah Spermatogonia

Dari Tabel 5.1 diketahui bahwa rata-rata jumlah spermatogonia pada kelompok K2 menurun dibandingkan dengan K1. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan antara K1 dan K2 terhadap jumlah spermatogonia ini dilakukan uji statistik Anova, seperti yang terangkum pada Tabel 5.11. Dari tabel ini diperoleh F hitung = 1,637 dengan signifikansi (p) = 0,221. Ini berarti $p>0,05$ sehingga secara statistik disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan K1 dan K2 terhadap jumlah spermatogonia.

Tabel 5.11 Rangkuman Anova jumlah spermatogonia kelompok K1 dan K2.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Contrast	232,563	1	232,563	1,637	,221
Error	1988,375	14	142,027		

Pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dapat meningkatkan rata-rata jumlah spermatogonia (Tabel 5.2). Untuk mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan ini dapat dilihat pada rangkuman Anova seperti tampak pada Tabel 5.12. Dari Tabel 5.12 didapatkan F hitung = 20,330 dengan signifikansi (p) = 0,000. ini berarti $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan K2, P1, P2, P3 dan P4 terhadap rata-rata jumlah spermatogonia. Dari hasil ini dilanjutkan dengan uji LSD (lampiran 17) untuk mengetahui antar kelompok mana saja yang berbeda bermakna.

Rangkuman uji LSD ditampilkan pada Tabel 5.13. Dari uji LSD diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 dengan P1, P2, P3 dan P4, antara P1 dengan P4, antara P2 dengan P4, dan antara P3 dengan P4. Sedangkan antara P1 dengan P2, P1 dengan P3, dan P2 dengan P3 tidak bermakna.

Tabel 5.12 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah spermatogonia.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contarst	8508,650	4	2127,163	20,330	,000
Error	3662,125	35	104,632		

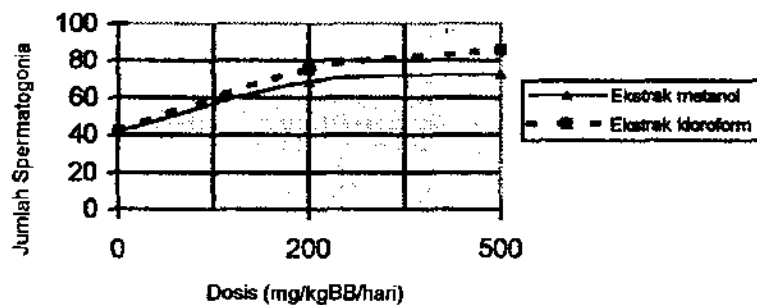
Tabel 5.13 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah spermatogonia

Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K2	P1	,000	Bermakna
	P2	,000	Bermakna
	P3	,000	Bermakna
	P4	,000	Bermakna
P1	P2	,439	Tidak bermakna
	P3	,204	Tidak bermakna
	P4	,002	Bermakna
P2	P3	,611	Tidak bermakna
	P4	,013	Bermakna
P3	P4	,043	Bermakna

Pengaruh besarnya dosis pemberian ekstrak metanol maupun ekstrak kloroform akar Pasak Bumi terhadap jumlah spermatogonia dapat diketahui dengan Anova (Lampiran 18 dan Lampiran 20). Untuk ekstrak metanol diperoleh F hitung = 17,388 dengan signifikansi = 0,000. Ini berarti $p < 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar besarnya dosis ekstrak metanol terhadap jumlah spermatogonia. Dengan uji LSD (Lampiran 19) didapatkan perbedaan yang bermakna adalah antara dosis 0 (kelompok K2) dengan dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari. Sedangkan perbedaan antara dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari tidak bermakna.

Lampiran 20 juga memperlihatkan bahwa F hitung untuk ekstrak kloroform akar Pasak Bumi adalah 31,898 dengan signifikansi = 0,000. Ini berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar besar dosis ekstrak kloroform terhadap jumlah spermatogonia. Dari uji LSD ternyata perbedaan yang bermakna adalah antara dosis 0 dengan 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari. Sedangkan antara 200 mg/kgBB/hari dengan 500 mg/kgBB/hari perbedaannya tidak bermakna.

Pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonia untuk kedua jenis ekstrak akar Pasak Bumi dapat digambarkan dengan diagram garis berikut ini.



Gambar 5.13 Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah spermatogonia.

5.2.2 Jumlah spermatis primer

Jumlah spermatis primer pada kelompok kontrol setelah 52 hari perlakuan adalah 64,50 sedangkan pada kelompok kontrol sebelum perlakuan adalah 68,63 (Tabel 5.3). Perbedaan ini dianalisa dengan Anova seperti tampak pada Tabel 5.14. Dari perhitungan didapatkan $F = 1,637$ dengan signifikansi = 0,221. Ini berarti $p > 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan K1 dan K2 terhadap jumlah spermatis primer.

Tabel 5.14 Rangkuman Anova jumlah spermatis primer kelompok K1 dan K2.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contrast	68,063	1	68,063	3,844	,070
Error	247,875	14	17,705		

Tabel 5.15 memperlihatkan rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan K1, P1, P2, P3, dan P4 terhadap jumlah spermatis primer. Dari analisa tersebut didapatkan F hitung = 30,853 dengan signifikansi = 0,000. Ini berarti $p < 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Dengan uji LSD (Lampiran 17) diketahui bahwa perbedaan jumlah spermatis primer yang bermakna adalah antara kelompok K2 dengan P1, P2, P3 dan P4, antara P1 dengan P4, antara P2 dengan P4, dan antara P3 dengan P4. Rangkuman uji LSD untuk jumlah spermatis primer dapat dilihat pada Tabel 5.16.

Tabel 5.15 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah spermatis primer.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contrast	10640,650	4	2660,163	30,853	,000
Error	3017,750	35	86,221		

Tabel 5.16 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah spermatosit primer

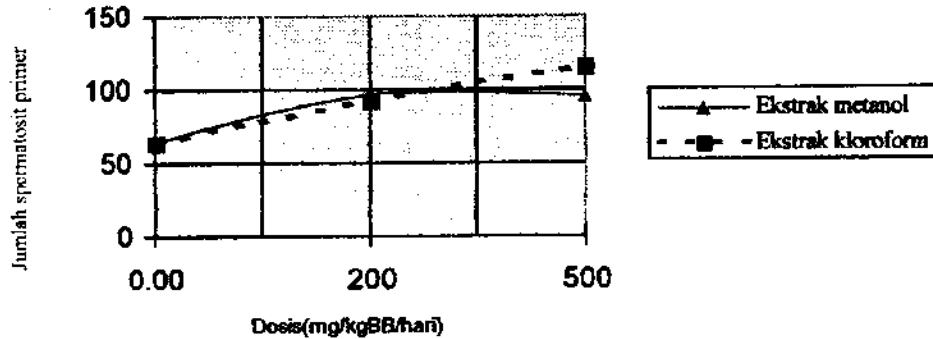
Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K2	P1	,000	Bermakna
	P2	,000	Bermakna
	P3	,000	Bermakna
	P4	,000	Bermakna
P1	P2	,873	Tidak bermakna
	P3	,301	Tidak bermakna
	P4	,000	Bermakna
P2	P3	,380	Tidak bermakna
	P4	,000	Bermakna
P3	P4	,000	Bermakna

Hubungan antara dosis dan jumlah spermatosit primer untuk ekstrak metanol maupun ekstrak kloroform dapat dilihat pada Lampiran 18 dan Lampiran 20. Untuk ekstrak metanol diperoleh F hitung = 25,477 dengan signifikansi = 0,000. Ini berarti $p < 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis ekstrak metanol terhadap jumlah spermatosit primer. Perbedaan yang bermakna adalah antara dosis 0 dengan dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500mg/kg BB/hari, sedangkan perbedaan antara dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari tidak bermakna.

F hitung untuk ekstrak kloroform = 110,695 dengan signifikansi = 0,000 (Lampiran 20), sehingga disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antar besar dosis ekstrak kloroform terhadap jumlah spermatosit primer. Perbedaan yang bermakna adalah antara dosis 0 dengan 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kg BB/hari, dan antara dosis 200 mg/kg BB/hari dan 500 mg/kg BB/hari (Lampiran 21).

Pengaruh dosis terhadap jumlah spermatosit primer untuk ekstrak metanol dan ekstrak kloroform akar Pasak Bumi digambarkan dengan diagram garis seperti

tampak pada Gambar 5.14.



Gambar 5.14 Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah spermatozoid primer.

5.2.3 Jumlah spermatisid

Rangkuman Anova untuk jumlah spermatisid kelompok K1 dan K2 disajikan pada Tabel 5.17. Diketahui F hitung = 0,137 dengan signifikansi = 0,717, sehingga disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan K1 dan K2 terhadap jumlah spermatisid ($p > 0,05$).

Perbedaan jumlah spermatisid antar perlakuan K2, P1, P2, P3, dan P4 secara statistik bermakna, dimana F hitung = 47,306 dengan signifikansi = 0,000 atau $p < 0,05$ (Tabel 5.18). Dengan uji LSD diketahui bahwa perbedaan jumlah spermatisid yang bermakna adalah antara K2 dengan P1, P2, P3, P4, antara P1 dengan P2, P3, P4, antara P2 dengan P4, dan antara P3 dengan P4, sedangkan yang tidak bermakna hanya antara P2 dengan P3 (Tabel 5.19, Lampiran 17).

Tabel 5.17 Rangkuman Anova jumlah spermatisid kelompok K1 dan K2.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contarst	4,000	1	4,000	,137	,717
Error	409,750	14	29,268		

Tabel 5.18 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah spermatid.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contarst	30784,000	4	7696,000	47,306	,000
Error	5694,000	35	162,686		

Tabel 5.19 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah spermatid

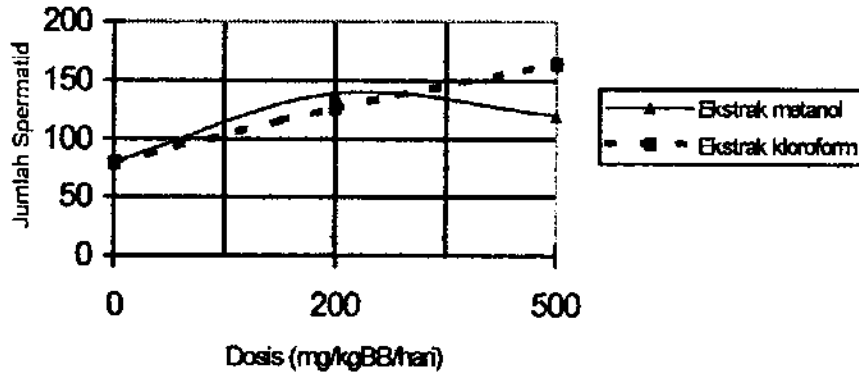
Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K2	P1	,000	Bermakna
	P2	,000	Bermakna
	P3	,000	Bermakna
	P4	,000	Bermakna
P1	P2	,005	Bermakna
	P3	,050	Bermakna
	P4	,000	Bermakna
P2	P3	,343	Tidak bermakna
	P4	,000	Bermakna
P3	P4	,000	Bermakna

Pengaruh perbedaan dosis terhadap jumlah spermatid untuk ekstrak metanol maupun kloroform dapat dilihat pada Lampiran 18 dan Lampiran 20. Untuk ekstrak metanol diperoleh F hitung = 29,684 dengan signifikansi = 0,000, sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis ekstrak metanol terhadap jumlah spermatid. Perbedaan yang bermakna adalah antara dosis 0 dengan 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari, serta antara dosis 200 mg/kg BB/hari dengan 500 mg/kg BB/hari (lampiran 19).

F hitung untuk ekstrak kloroform = 562,16 dengan signifikansi = 0,000 (Lampiran 20) sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis ekstrak kloroform terhadap jumlah spermatid. Seperti halnya ekstrak metanol,

maka untuk ekstrak kloroform terdapat perbedaan yang bermakna antar semua dosis (Lampiran 21).

Pengaruh dosis terhadap jumlah spermatid untuk kedua jenis ekstrak ini dilukiskan dengan diagram garis pada Gambar 5.1.



Gambar 5.15 Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah spermatid.

5.2.4 Jumlah sel Sertoli

Perbedaan jumlah sel Sertoli antara kelompok K1 dan K2 secara statistik bermakna, dimana F hitung = 15,909 dengan signifikansi = 0,001 (Tabel 5.18). Sementara itu, jumlah sel Sertoli kelompok P1, P2, P3 dan P4 meningkat dibanding K2. Perbedaan ini dengan analisa statistik bermakna, dimana F hitung = 6,611 dengan signifikansi 0,000 (Tabel 5.19). Dengan uji LSD diketahui bahwa perbedaan yang bermakna hanya antara K2 dengan P1, P2, P3 dan P4, sedangkan pasangan kelompok lainnya tidak bermakna (Lampiran 17, Tabel 5.20).

Tabel 5.20 Rangkuman Anova jumlah sel Sertoli kelompok K1 dan K2.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contrast	6,250	1	6,250	15,909	,001
Error	5,500	14	,393		

Tabel 5.21 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel Sertoli.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contrast	7,650	4	1,913	6,611	,000
Error	10,125	35	,289		

Tabel 5.22 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel Sertoli

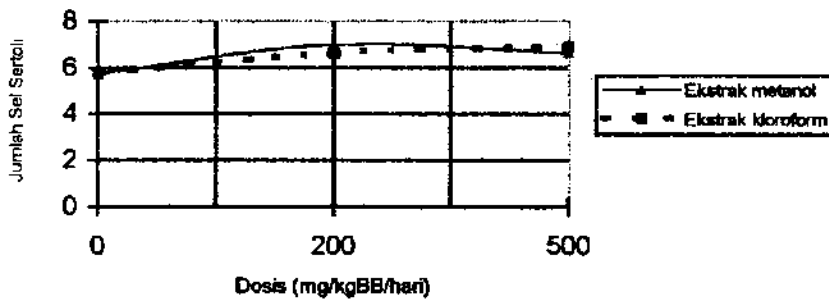
Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K2	P1	,000	Bermakna
	P2	,003	Bermakna
	P3	,003	Bermakna
	P4	,000	Bermakna
P1	P2	,172	Tidak bermakna
	P3	,172	Tidak bermakna
	P4	,645	Tidak bermakna
P2	P3	1,000	Tidak bermakna
	P4	,359	Tidak bermakna
P3	P4	,359	Tidak bermakna

Pengaruh perbedaan dosis terhadap jumlah sel Sertoli untuk ekstrak metanol maupun kloroform dapat dilihat pada Lampiran 18 dan Lampiran 20. Untuk ekstrak metanol F hitung = 9,373 dengan signifikansi = 0,001 sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis ekstrak metanol terhadap jumlah sel Sertoli. Perbedaan yang bermakna adalah antar dosis 0 dengan 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari, sedangkan antara 200 mg/kgBB/hari dengan 500 mg/kgBB/hari tidak bermakna (Lampiran 19).

F hitung untuk ekstrak kloroform = 9,380 dengan signifikansi = 0,001 sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis ekstrak kloroform terhadap jumlah sel Sertoli. Seperti ekstrak metanol, maka perbedaan yang

bermakna hanya antara dosis 0 dengan 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari (Lampiran 21).

Pengaruh dosis terhadap jumlah sel Sertoli untuk ekstrak metanol dan ekstrak kloroform akar Pasak Bumi digambarkan dengan diagram garis seperti tampak pada Gambar 5.16.



Gambar 5.16 Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah sel Sertoli.

5.2.5 Jumlah sel Leydig

Rata-rata jumlah sel Leydig kelompok K2 menurun dibandingkan K1 (Tabel 5.9). Analisa statistik perbedaan jumlah sel Leydig pada kedua kelompok ini dirangkum pada Tabel 5.20. Dari analisa ini diperoleh F hitung = 3,606 dengan signifikansi 0,078. Ini berarti $p > 0,05$, sehingga disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan K1 dan K2 terhadap jumlah sel Leydig.

Tabel 5.23 Rangkuman Anova jumlah sel Leydig kelompok K1 dan K2.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contrast	33,063	1	33,063	3,606	,078
Error	128,375	14	9,170		

Tabel 5.21 memperlihatkan rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan K1, P1, P2, P3, P4 terhadap jumlah sel Leydig. Didapatkan F hitung = 6,524 dengan signifikansi 0,000 sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan tersebut terhadap jumlah sel Leydig. Dengan uji LSD (Lampiran 17, Tabel 5.22) diketahui perbedaan yang bermakna adalah antara K2 dengan P2, P3 dan P4, serta antara P1 dengan P2, P3, dan P4.

Tabel 5.24 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel Leydig.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Contrast	347,150	4	86,788	6,524	,000
Error	465,625	35	13,304		

Tabel 5.25 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel Leydig

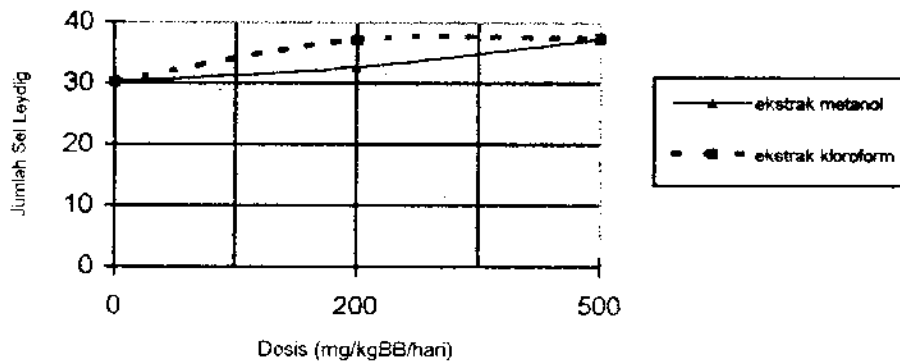
Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K2	P1	,201	Tidak bermakna
	P2	,000	Bermakna
	P3	,001	Bermakna
	P4	,000	Bermakna
P1	P2	,016	Bermakna
	P3	,019	Bermakna
	P4	,013	Bermakna
P2	P3	,946	Tidak bermakna
	P4	,946	Tidak bermakna
P3	P4	,892	Tidak bermakna

Pengaruh perbedaan dosis terhadap jumlah sel Leydig untuk ekstrak metanol maupun kloroform dapat dilihat pada Lampiran 18 dan Lampiran 20. Untuk ekstrak metanol diperoleh F hitung = 7,220 dengan signifikansi 0,004 sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis ekstrak metanol terhadap jumlah sel Leydig. Perbedaan yang bermakna adalah antara dosis 0 dengan 500

mg/kgBB/hari, serta antara dosis 200 mg/kgBB/hari dengan 500 mg/kgBB/hari. Sedangkan antara dosis 0 dengan 200 mg/kgBB/hari tidak bermakna (Lampiran 19).

F hitung untuk ekstrak kloroform = 9,801 dengan signifikansi = 0,001 sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis ekstrak kloroform terhadap jumlah sel Leydig. Dari uji LSD ternyata perbedaan yang bermakna adalah antara dosis 0 dengan 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari, sedangkan antara 200 mg/kgBB/hari dengan 500 mg/kgBB/hari tidak bermakna (Lampiran 21).

Pengaruh dosis terhadap jumlah sel Leydig untuk kedua jenis ekstrak akar Pasak Bumi dilukiskan dengan diagram garis pada Gambar 5.17.



Gambar 5.17 Diagram garis hubungan antara dosis dan jumlah sel Leydig.

BAB 6

PEMBAHASAN

Pasak Bumi adalah salah satu obat tradisional yang populer di kalangan pria (Adimoelja, 2000) dan digunakan untuk meningkatkan potensi seksual (Taufiqurrahman dan Wibowo, 2000). Penelitian di tingkat hewan coba telah berhasil membuktikan bahwa ekstrak akar Pasak Bumi dapat meningkatkan libido/efek afrodisiak (Ang dan Sim, 1997; Ang dan Sim, 1998a ; Ang *et.al.*, 2000), dan hormon testosteron (Leswara, 1993; Ali dkk. *dalam* Taufiqurrahman dan Wibowo, 2000).

Penelitian yang dilakukan oleh Taufiqurrahman dan Wibowo (2000) menunjukkan bahwa ekstrak akar Pasak Bumi selain meningkatkan kadar hormon testosteron juga meningkatkan kadar FSH dan LH. FSH bekerja pada sel Sertoli untuk merangsang pertumbuhan dan pematangan sel germinal (Veldhuis, 1991; Tsutsui, 1991; Hadley, 1992; Guyton dan Hall, 1996), memacu proliferasi sel-sel Sertoli pada masa pra dan pasca natal (Hadley, 1992). Aksi LH terjadi melalui sel Leydig yang menghasilkan hormon testosteron (Veldhuis, 1991; Guyton dan Hall, 1996). Dengan demikian peningkatan sekresi FSH dan LH akan mempengaruhi sel spermatogenik (sel germinal), sel Sertoli dan sel Leydig.

Pada penelitian ini difokuskan pada pengaruh pemberian ekstrak akar Pasak Bumi terhadap jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig. Pengamatan dilakukan terhadap preparat permanen jaringan testis mencit jantan yang diwarnai dengan PAS. Pada penelitian ini digunakan satu kelompok kontrol yang datanya diambil bersamaan dengan dimulainya perlakuan. Data kelompok ini dibandingkan dengan kelompok kontrol setelah perlakuan. Hal ini diperlukan untuk melihat efek maturasi selama 52 hari perlakuan. Ternyata setelah 52 hari perlakuan terjadi

penurunan jumlah sel spermatogenik (Tabel 5.1, Tabel 5.3, Tabel 5.5), sel Sertoli (Tabel 5.7) dan sel Leydig (Tabel 5.9) pada kelompok K2 dibandingkan K1. Penurunan jumlah sel ini kemungkinan disebabkan oleh efek maturasi selama 52 hari. Dalam jangka waktu 52 hari ini, mencit sudah sering mengeluarkan spermatozoa (ejakulasi) sehingga jumlah sel spermatogenik juga berkurang.

6.1 Jumlah Sel Spermatogenik

Massa terbesar pembentuk testis adalah tubulus seminiferus, menempati 60–80% dari total volume testis (Ismudiono, 1996; Wuryantari dan Moeloek, 2000). Epitel tubulus seminiferus tersusun oleh dua jenis sel, yaitu sel spermatogenik (sel germinal) dan sel Sertoli. Pada penelitian ini hanya digunakan tiga jenis sel spermatogenik, yaitu sel spermatogonia, spermatosit primer dan spermatid.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa pemberian ekstrak metanol maupun ekstrak kloroform akar Pasak Bumi pada mencit jantan selama 52 hari dengan dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari dapat meningkatkan jumlah ketiga sel spermatogenik ini (Tabel 5.2, Tabel 5.4 dan Tabel 5.6) Dengan uji anova ternyata peningkatan jumlah sel spermatogenik ini bermakna ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (Tabel 5.12, Tabel 5.15 dan Tabel 5.18).

Seperti diketahui pada penelitian terdahulu bahwa ekstrak akar Pasak Bumi dapat meningkatkan hormon testosteron, FSH dan LH. Secara teoritis, ketiga hormon ini diperlukan pada proses spermatogenesis baik secara kuantitatif maupun kualitatif (Wuryantari dan Moeleok, 2000), sehingga peningkatannya dapat memacu spermatogenesis. Di lain pihak peningkatan FSH dan LH dapat terjadi karena

mekanisme umpan balik negatif (*negative feed back mechanism*) akibat adanya hambatan spermatogenesis.

Ketika terjadi hambatan spermatogenesis, maka hipofisis anterior akan menambah sekresi FSH. Sebaliknya bila spermatogenesis berjalan terlalu cepat, maka sel Sertoli akan menghasilkan inhibin untuk mempengaruhi hipofisis dalam menghambat sekresi FSH (Catt dan Dufau, 1991; Vander *et.al.*, 1994; Seeley *et.al.*, 1998).

Dengan meningkatnya jumlah sel spermatogenik pada penelitian ini, maka didapatkan fakta bahwa pemberian ekstrak akar Pasak Bumi pada hewan coba tidak hanya meningkatkan hormon testosteron, FSH dan LH, tetapi juga meningkatkan proses spermatogenesis. Dari kenyataan ini dapat diasumsikan bahwa mekanisme kerja ekstrak akar Pasak Bumi dapat melalui :

1. Langsung merangsang hipotalamus

Rangsangan ini akan menghasilkan *Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH)* yang selanjutnya merangsang hipofisis anterior untuk mensintesis dan mensekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH), selanjutnya FSH dan LH menuju organ target untuk merangsang proses spermatogenesis.

2. Merangsang hipofisis anterior

Diduga ekstrak akar Pasak Bumi ini memiliki zat aktif yang mirip dengan GnRH (*GnRH like substance*). *GnRH like substance* merangsang hipofisis anterior untuk mensekresi hormon FSH dan LH. Kedua hormon ini selanjutnya menuju organ target untuk merangsang spermatogenesis.

Asumsi mekanisme kerja ekstrak akar Pasak Bumi dan zat aktif apa yang terkandung dalam ekstrak ini masih harus dibuktikan dengan penelitian yang lebih mendalam.

Peningkatan proses spermatogenesis pada penelitian ini tidak hanya di tingkat mitosis tetapi juga di tingkat meiosis. Ini terbukti dari meningkatnya jumlah spermatosit primer (mitosis) (Tabel 5.4) maupun spermatid (meiosis) (Tabel 5.6). Pada spermatogenesis terjadi proliferasi mitotik dan diferensiasi spermatogonia menjadi spermatosit, dan pembelahan meiotik spermatosit menjadi spermatid yang bersifat haploid (Clermont, 1972; Bloom dan Fawcett, 1994; Niederberger dan Lamb, 1997).

Seperti diuraikan sebelumnya, peningkatan jumlah sel spermatogenik ini karena ekstrak akar Pasak Bumi dapat meningkatkan kadar hormon testosteron, FSH dan LH. Di dalam tubulus seminiferus, testosteron diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi sel spermatogenik (Davies *et.al.*, 1974) dan pada tahap spermiogenesis (Guyton dan Hall, 1996).

FSH menyediakan suatu tingkat konsentrasi tertentu untuk androgen yang dapat diarahkan ke lumen tubulus seminiferus. FSH juga menyebabkan mekanisme pengangkutan sehingga androgen dapat mencapai sel spermatogenik untuk tumbuh dan merangsang pematangan sel-sel tersebut (Tendean dkk., 1980; Guyton dan Hall, 1996). Sementara itu, LH merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron (Junqueira *et.al.*, 1992; Bloom dan Fawcett, 1994) yang mempunyai efek tropik yang kuat terhadap spermatogenesis (Vander *et.al.*, 1994; Guyton dan Hall, 1996).

Jika dilihat dari hubungan antara dosis dan jumlah spermatogenik, maka ekstrak kloroform tampak lebih poten (Gambar 5.13., Gambar 5.14., dan Gambar 5.15). Pemberian ekstrak kloroform ini terus meningkat seiring dengan meningkatnya dosis. Untuk jumlah spermatosit primer dan spermatid terjadi perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Pada pemberian ekstrak metanol 500 mg/kgBB/hari, jumlah spermatosit primer dan spermatid berkurang dibanding dengan dosis 200 mg/kgBB/hari.

Perbedaan jumlah sel spermatogenik pada kedua ekstrak ini disebabkan oleh perbedaan zat aktif yang berhasil disari oleh masing-masing jenis ekstrak. Ekstrak metanol menggunakan pelarut metanol yang bersifat polar sehingga senyawa yang terkandung dalam ekstrak ini adalah senyawa-senyawa yang bersifat polar, sedangkan ekstrak kloroform menggunakan pelarut kloroform yang bersifat non polar sehingga senyawa yang terkandung adalah senyawa-senyawa yang bersifat non polar (Padmawinata, 2000).

Meskipun pada penelitian ini terlihat ekstrak kloroform lebih poten, namun masih perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam dengan variasi dosis yang lebih banyak dan interval yang lebih pendek, agar diketahui dosis optimal masing-masing ekstrak.

6.2 Jumlah Sel Sertoli

Rata-rata jumlah sel Sertoli setelah 52 hari perlakuan menurun dibandingkan dengan jumlah sel Sertoli pada awal perlakuan (Tabel 5.7) dimana perbedaan ini bermakna secara statistik ($p < 0,05$). Hal ini mungkin karena pada awal perlakuan, usia

mencit baru memasuki dewasa sehingga masih terbentuk sel Sertoli dari proses proliferasi. Sedangkan kelompok K2, pengamatan dilakukan setelah 52 hari perlakuan, dimana proliferasi sel Sertoli tidak terjadi lagi. Hal ini sesuai dengan Steinberger dan Steinberger (1971) yang mengatakan sel Sertoli tidak mengalami proliferasi pada masa dewasa.

Setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari selama 52 hari, jumlah sel Sertoli meningkat dibandingkan dengan kelompok kontrol (Tabel 5.8), dan secara statistik bermakna ($p < 0,05$) (Tabel 5.19).

Peningkatan jumlah sel Sertoli ini kemungkinan disebabkan oleh terjadinya peningkatan hormon FSH setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi, seperti yang telah berhasil dibuktikan oleh Taufiqurrahman dan Wibowo (2000). Menurut Hadley (1992) FSH dapat memacu proliferasi sel Sertoli pada masa pra dan pasca natal. FSH berikatan dengan reseptor-reseptor FSH spesifik yang melekat pada sel-sel Sertoli. Pengikatan ini mengakibatkan sel tumbuh dan mensekresi berbagai unsur spermatogenik (Guyton dan Hall, 1996; Tripp dan Lamb, 1997).

Penelitian yang dilakukan Berndtson dan Thompson (1990) membuktikan bahwa jumlah sel Sertoli pada tikus berhubungan dengan ukuran testis dan proses spermatogenesis. Makin besar ukuran testis dan makin cepat spermatogenesis maka jumlah sel Sertoli juga meningkat.

Jika ditinjau dari masing-masing jenis ekstrak, maka pada dosis yang sama peningkatan jumlah sel Sertoli berbeda. Pada ekstrak metanol jumlah sel Sertoli

mencapai 7,00 dengan dosis 200 mg/kgBB/hari, namun jumlah ini menurun menjadi 6,63 dengan pemberian dosis 500 mg/kgBB/hari (Tabel 5.8). Jumlah sel Sertoli pada kedua dosis ini secara statistik berbeda bermakna ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol. Pada ekstrak kloroform, jumlah sel Sertoli dengan dosis 200 mg/kg BB/hari adalah 6,63 dan dengan dosis 500 mg/kg BB/hari meningkat sedikit menjadi 6,88. jika dibandingkan dengan kontrol maka perbedaan jumlah sel Sertoli pada kedua jenis ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$).

Perbedaan jumlah sel Sertoli pada kedua jenis ekstrak ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kandungan zat yang berhasil disari oleh masing-masing ekstrak karena sifat kepolaran pelarut yang digunakan juga berbeda.

6.3 Jumlah Sel Leydig

Rata-rata jumlah sel Leydig setelah pemberian ekstrak metanol dan kloroform akar Pasak Bumi dosis 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari pada mencit jantan selama 52 hari meningkat dibandingkan dengan kontrol (Tabel 5.10). Peningkatan jumlah sel Leydig ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$) mulai pada kelompok P2, P3 dan P4 dibandingkan K2 (Tabel 5.21., Tabel 5.22).

Peningkatan jumlah sel Leydig ini diasumsikan karena ekstrak akar Pasak Bumi dapat meningkatkan hormon FSH dan LH seperti pada penelitian Taufiqurrahman dan Wibowo (2000). Penambahan jumlah sel Leydig yang matang dapat distimulasi oleh kedua jenis hormon ini. Hal ini sesuai dengan Williams–Ashman 1988 dalam Rumiati (2000) yang mengatakan bahwa maturasi dan

pertumbuhan sel Leydig serta aktivitasnya dalam menghasilkan testosteron dipelihara oleh LH dan juga oleh substansi yang dihasilkan oleh sel Sertoli dengan pacuan FSH.

Sel Leydig dewasa berasal dari sel-sel yang menyerupai fibroblas di dalam jaringan interstitial (Guyton dan Hall, 1996), yang disebut sel *progenitor* (Hardy dan Zirkin, 1997). Sel ini mempunyai reseptor LH. Dengan rangsangan LH, sel progenitor mengalami proliferasi dan diferensiasi menjadi sel Leydig sehingga jumlah sel Leydig bertambah. (Hardy dan Zirkin, 1997).

Menurut Johnson dan Thomson 1986, jumlah sel Leydig tiap testis berkorelasi signifikan dengan volume total sel Leydig tiap testis dan dengan kadar LH, jika kadar LH naik maka jumlah sel Leydig juga meningkat (Rumiati dkk., 2000).

Peran LH pada sel Leydig ini juga ditunjang oleh kenyataan bahwa penyuntikan LH yang dimurnikan pada seorang anak pada usia berapapun atau sekresi LH pada masa pubertas akan menyebabkan progenitor sel Leydig di jaringan interstitial testis akan berdiferensiasi menjadi sel interstitial Leydig (Guyton dan Hall, 1996).

FSH dapat mempengaruhi jaringan interstitial testis mencit, yaitu dengan meningkatkan massa dan menyebabkan diferensiasi (perkembangan) sel Leydig (Davies, 1981).

Menurut Hardy dan Zirkin (1997), peran FSH pada diferensiasi sel Leydig dilakukan secara tidak langsung karena reseptor FSH tidak ditemukan pada sel Leydig itu sendiri, tetapi pada sel Sertoli dan makrofag yang ada di jaringan interstitial. Peran ini terjadi melalui pengaturan lokal sistem parakrin.

Rangsangan FSH pada sel Sertoli dapat memodulasi pengaturan jumlah dan fungsi sel Leydig. Rangsangan FSH menyebabkan sel Sertoli mensekresi beberapa substansi seperti *insulin-like growth factor 1*, *transforming growth factor (TGF) α* , *TGF β* dan *interleukin 1* yang diperlukan oleh sel spermatogenik tetapi juga dapat merangsang pertumbuhan dan fungsi sel Leydig (Hardy dan Zirkin, 1997; Tripp dan Lamb, 1997).

Dari penelitian Kerr dan Sharpe (1985) berhasil membuktikan bahwa pemberian FSH pada tikus immatur yang dihipofisektomi dapat memperbaiki fungsi sel Leydig yang dilihat dari perubahan jumlah dan morfologi sel Leydig. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa pengaturan hormon gonadotropin oleh testis dapat dilakukan secara lokal melalui interaksi antara tubulus seminiferus dan jaringan interstitial.

Peningkatan jumlah sel Leydig untuk masing-masing ekstrak pada penelitian ini berbeda-beda. Untuk ekstrak metanol, peningkatan jumlah sel Leydig pada dosis 200 mg/kgBB/hari hanya sedikit dan secara statistik tidak bermakna ($p < 0,05$). Baru pada 500 mg/kgBB/hari terjadi peningkatan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) (Tabel 5.10., Lampiran 19). Untuk ekstrak kloroform, peningkatan jumlah sel Leydig secara bermakna sudah terjadi mulai dosis 200 mg/kg BB/hari dibandingkan dengan kontrol (Lampiran 21).

Perbedaan di atas kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kandungan zat yang berhasil disari oleh masing-masing ekstrak karena sifat kepolaran pelarut yang digunakan juga berbeda.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

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

1. Pemberian ekstrak metanol akar Pasak Bumi 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari pada mencit selama 52 hari meningkatkan jumlah sel spermatogonik, sel Sertoli dan sel Leydig dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$).
2. Pemberian ekstrak kloroform akar Pasak Bumi 200 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari pada mencit selama 52 hari dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik, sel Sertoli dan sel Leydig dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$).
3. Tidak semua peningkatan jenis sel lebih tinggi pada dosis 500 mg/kgBB/hari dibandingkan dosis 200 mg/kgBB/hari :
 - a. Untuk ekstrak metanol, peningkatan jumlah spermatosit primer, sel Sertoli dan sel Leydig lebih tinggi pada dosis 200 mg/kgBB/hari dibandingkan dengan dosis 500 mg/kgBB/hari, tetapi secara statistik tidak bermakna ($p < 0,05$). Jumlah spermatogonium lebih tinggi pada dosis 500 mg/kgBB/hari dibanding dengan 200 mg/kgBB/hari.
 - b. Untuk ekstrak kloroform peningkatan jumlah sel spermatogonik sel Sertoli dan sel Leydig lebih tinggi pada dosis 500 mg/kgBB/hari

dibandingkan dosis 200 mg/kgBB/hari. Untuk spermatogonium, sel Sertoli dan sel Leydig peningkatannya tidak bermakna ($p > 0,005$), sedangkan untuk spermatisit primer dan spermatid bermakna ($p < 0,05$).

4. Perbedaan jenis pelarut berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel spermatogonik, sel Sertoli dan sel Leydig.

7.2 Saran

Untuk memperluas khasanah penelitian akar Pasak Bumi maka disarankan untuk melakukan penelitian-penelitian seperti :

1. Pengaruh ekstrak akar Pasak Bumi terhadap jaringan testis dengan dosis yang lebih bervariasi dan interval yang lebih sempit.
2. Mengisolasi zat aktif yang menyebabkan peningkatan jumlah sel spermatogonik, sel Sertoli dan sel Leydig.
3. Pengaruh ekstrak akar Pasak Bumi terhadap jaringan hipofisis anterior, khususnya sel-sel gonadotrop.
4. Pengaruh ekstrak akar Pasak Bumi terhadap organ reproduksi jantan yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhyatma, 1989. *Materia Medika Indonesia* Jilid V. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, hal 212-215.
- Adimoelja A, 2000a. Phytochemicals and the Breakthrough of Traditional Herbs in the Management of Sexual Dysfunctions. *Int J Androl*, 23 Suppl 2 (HD) : 82-84.
- Adimoelja A, 2000b. Current Views on Botanical Medicine for Sexual Dysfunction. *Naskah Lengkap Seminar Asosiasi Sexologi Indonesia*. Surabaya.
- Ang HH dan Sim MK, 1997. *Eurycoma longifolia* Jack Enhances Libido in Sexually Experienced Male Rats. *Exp Anim* 48 (4) : 287 – 290.
- Ang HH dan Sim MK, 1998a. Aphrodisiac Effects of *Eurycoma longifolia* Root in Non-Copulator Male Rats. *Fitoterapia* LXIX : 445 – 447.
- Ang HH dan Sim MK, 1998b. Constituents of *Eurycoma longifolia* Jack. *Arch Pharm Res* 21 (6) : 779-81.
- Ang HH, Cheang HS, and Yusof AP, 2000. Effect of *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali) on the Initiation of Sexual Performance of Inexperienced Male Rats. *Exp Anim* 49 (1) : 35-38.
- Anonim, 1992. Cara Bertanam Pasak Bumi di Australia. *Trubus* 272 th XXIII : 233.
- Anonim, 1999. *Eurycoma longifolia* Jack. *New Sunday Times* May 30th.
- Ansel HC, 1985. *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. (Terjemahan Farida Ibrahim). Jakarta : UI-Press.
- Applegate EJ, 1995. *The Anatomy and Physiology Learning System* : Textbook 1st Ed. Philadelphia : WB Saunders Company, pp 392 – 396.
- Arzani MN, 1990. Efek Androgenik Suatu Ramuan Tradisional Kalimantan yang Biasa Digunakan sebagai Obat Kuat Lelaki. *Medika* 10 : 818-822.
- Aziz S dan Titik RR, 1996. Dasar Formulasi Jamu Majun/Kuat Pria. *Cermin Dunia Kedokteran* 112 : 16-18.
- Bartke A, 1971. Effects of Prolactin on Spermatogenesis in Hypophysectomized Mice. *J Endocrinol* 49 : 311-316.

- Berndtson WE, 1977. Methods for Quantifying Mammalian Spermatogenesis : A Review. *J Anim Sci* 44 : 818 – 833.
- Bloom dan Fawcett, 1994. *A Textbook of Histology* 12th Ed. USA : Chapman & Hall, hal 768-800.
- Budhi M, 1994. *Tahap-tahap Pengembangan Obat Tradisional*.
- Cambell DT dan Stanley JC, 1963. *Experimental and Quasi-Experimental for Research*. Chicago : Rand McNally College Publishing Company, pp 55-56.
- Catt KJ and Dufau ML, 1991. Gonadotropic Hormones : Biosynthesis, Secretion, Reseptors, and Actions. In (Yen SSC, Jaffe RB, eds). *Reproductive Endocrinology* 3th. Ed. USA : WB Saunders Company, pp 112-116.
- Chan KL, Lee SP, Sam TW, dan Han BH, 1989. A Quassinoid Glycoside from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Phytochemistry* 28 (10) : 2857-2859.
- Chan KL, Lee SP, Sam TW, Tan SC, Noguchi H, dan Sankawa U, 1991. 13 β , 18-dihydroeurycomonal, a quassinoid from *Eurycoma longifolia*. *Psytochemistry* 30 (9) : 3138 – 3141.
- Clermont Y, 1972. Kinetics of Spermatogenesis in Mammals : Seminiferous Epithelium Cycle and Spermatogonial Renewal. *Physiol Rev* 52 (1) : 198 – 236.
- Copenhaver. WM, Kelly DE, dan Wood RL, 1978. *Bailey's Textbook of Histology* 17th Ed. Baltimore : The Williams & Wilkins Comp, hal 611-628.
- Darize M, Mohda H, Mizutani K, Tanaka O, 1982. Eurycomanone and Eurycomanol, Quassinoids from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Phytochemistry* 21 (8) : 2091-2093.
- Davies AG, 1981. Role of FSH in the Control of Testicular Function. *Arch Androl* 7 : 97 – 108.
- Davies AG, Courot M, Greshman P, 1974. Effects of Testosterone and Follicle-Stimulating Hormone on Spermatogenesis in Adult Mice during Treatment with Oestradiol. *J Endocrinol* 60 : 37-45.
- de Kretser DM, Mc Lachlan RI, Robertson DM, dan Wreford NG, 1992. Control of Spermatogenesis by Follicle Stimulating Hormon and Testosteron. *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism* 6: 333-54

- Dellman and Brown, 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner*. Jilid II. Jakarta : UI – Press, hal446 – 463, 472 – 477.
- Djoni, 1976. *Pemeriksaan Pendahuluan Anatomis dan Alkaloida dari Akar Eurycoma longifolia Jack*. Tesis, Program Pascasarjana Unair, Surabaya.
- Dzulkarnain B, 1992. *Eurycoma longifolia Jack. Tinjauan Hasil Penelitian Tanaman Obat di Berbagai Institusi*. Jakarta : Depkes RI, hal 46 – 48.
- Frandsen RD, 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press, hal 752 – 791.
- Gardner E, Gray DJ, O’Rahilly R, 1960. *Anatomy : A Regional Study of Human Structure*. Philadelphia : WB Saunder Company, pp 586 – 594.
- Gillbert SF, 1988. *Development Biologi* 2th Ed. Massachusetts : Sinauer Associates Inc Publisher, pp 34-56, 782-787.
- Gridley MF, 1960. *Manual of Histologic and Special Staining Technics* 2nd Ed. USA : McGraw-Hill Book Company Inc, hal 3, 132-133.
- Guyton AC dan Hall JE, 1996. *Textbook of Medical Physiology* 9th Ed. Tokyo : WB Saunders Company, pp 885-895.
- Hadijah JT, 2001. *Eurycoma longifolia Jack (Pasak Bumi)*. *Eksplorasi* 2. 4 : 6.
- Hadley EM, 1992. *Endocrinology*. New Delhi: Willey Eastern Private Ltd., pp 119, 190.
- Hardy MP dan Zirkin BR, 1997. Leydig Cell Function. In (Lipshultz LI dan Howards SS, eds). *Infertility in the Male* 3th Ed. USA : Mosby-Year Book Inc., pp 59-70.
- Hardjopranjoto S, 1995. *Ilmu Kemajiran pada Ternak*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Unair.
- Hargono D, 1985. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Dirjen POM, hal 64.
- Hargono D, 1994. *Upaya Pengembangan Obat Tradisional menjadi Fitofarmaka. Pendidikan Berkelanjutan Apoteker*, Surabaya.
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Jakarta : Yayasan Sarana Wana Jaya, hal 1095.

- Husin DM, Hamzah dan Soedjak M, 1974. Penelitian Pendahuluan dari Khasiat Pasak Bumi. *Kumpulan Makalah Kongres IKAFI IV*, Surabaya.
- Ismudiono, 1998. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak* Edisi I. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Unair, hal 9-15, 25-33.
- Jacoby RO, Fox JG, 1984. Biology and Diseases of Mice. In (Foz JG, Cohen BJ, dan Loew, eds). *Laboratory Animal Medicine*. California : Academi Press inc, pp 40-41.
- Jarow JP, 1990. Intratesticular Arterial Anatomy. *J Androl* 11 (3) : 255-259.
- Junqueira LC, Carneiro J, and Kelly RO, 1992. *Basic Histology* 7th ed. California . Appleton and Lande, pp 423 – 436.
- Junqueira LC, Carneiro J, dan Kelley RO, 1998. *Histologi Dasar* Edisi ke-8 Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta : EGC, hal 418-424.
- Kanchanapoon T, Chumsri P, Ruchirawat S, 2000. Investigation and Structure Elucidation of Active Compounds From *Eurycoma longifolia* Jack Root. *Mahidol University Annual Research Abstract*.
- Kartawinata S, 1991 Pengaruh Biji Kapas, Pasak Bumi, Ginseng Jawa, Bawang Putih, Pegagan dan Mangkokan terhadap Libido Tikus Putih Jantan. *Skripsi*. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Keng CL. 2000. Learn A Three A Month *Eurycoma longifolia*. MSN Mahendol Abstracts.
- Kerr JB dan Sharpe RM, 1985. Follicle-Stimulating Hormone Induction of Leydig Cell Maturation. *Endocrinology* 116 (6) : 2592-604.
- Koch OA and Kraus I., 1979. Component of *Eurycoma longifolia* Jack II Lipophilic Constituents (Sterolester, Fatty acid). *Sci Pharm* 47 (3) : 243-245.
- Koch OA dan Kraus L, 1980. Component of *Eurycoma longifolia* Jack III : Bitler Principle (Furycomalactone). *Sci Pharm* 48 (2) : 110-117.
- I.eeson CR, Thomas SL, and Anthony AP, 1989. *Buku Ajar Histologi (Text Book of Histology)*. Penerjemah : S. Koesparto Sisworo dkk (Jan Tambajong dan Sugito W. eds) Edisi V. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal 511 – 526.
- I.eswara ND 1993 Korelasi antara Khasiat Afrodisiak Pasak Bumi dengan Peningkatan Kadar Testosteron dalam Darah Menggunakan Metode RIA

- (Radioimmuno-Assay). *Simposium Penelitian Tumbuhan obat VII, Ujungpandang.*
- Lindsay DT, 1996. *Functional Human Anatomy*. St. Louis : Mosby – Year Book Inc, pp 789 – 796.
- Niederberger CS dan Lamb DJ, 1997. Spermatogenesis in the Adult. In (Lipshultz LI dan Howards SS, eds). *Infertility in the Male* 3th Ed. USA : Mosby-Year Book Inc., pp 106-22.
- Nieschlag E dan Behre H, 1997. *Andrology, Male Reproductive Health and Dysfunction*. New York : Heidelberg, pp 26 – 57.
- Noor S, 1977. Penelitian Pendahuluan Akar Psak Bumi. *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Noorcholies, Indrajanto G, dan Djoni, 1975. Penelitian Pendahuluan Farmakologi dan Fitokimia Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack). *Simposium Penelitian Tanaman Obat II*. Bogor, hal 117 – 134.
- Oakberg EF, 1956a. Duration of Spermatogenesis in the Mouse and Timing os Stages of the Cycle of the Seminiferous Epithelium. *Am J Anat* 99 (1) : 507-516.
- Oakberg EF, 1956b. A Discriptions of Spermiogenesis in the Mouse and its Use in Analysis of the Cycle of the Seminiferous Epithelium and Germ Cell Renewal. *Am J Anat* 99 (3) 391 – 413.
- Padmawinata K, 2000. Isolasi (Ekstraksi Cair-Padat, Fraksinasi Cair-Cair. *Prosiding Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi*, Surabaya.
- Parvinen M, 1982. Regulation of the Seminiferus Epithelium. *Endocrine Review* 3 (4) : 404-417.
- Perry LM, 1980. *Medical Plants of East and Southeast Asia*. England : The Mit Press, pp 389.
- Rivai E, 2000. Prospek Obat Asli Indonesia. *Kumpulan Abstrak Kongres Ilmiah XIII ISFI, Jakarta.*
- Rumiati F, Soejono SK, dan Suryadi E, 2000. Pengaruh Pemberian Solasodin Per Oral terhadap Gambaran Sel-sel Leydig dan Kadar Testosteron Darah Mencit (*Mus musculus*,L) Jantan Dewasa. *Sains Kesehatan* 13 : 63-77.
- Seeley RR, Stephens TD, Tale Philips, 1998. *Anatomy and Physiology* 4th Ed. USA : McGraw-Hill Companies, pp 914-921.

- Scno SA, 1988. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta : Dian Rakyat, hal 96-97.
- Sirait N, 1990. Sambutan Ketua Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam pada Seminar Pemanfaatan Bahan Alam sebagai Obat. *Phytomedica* 1 (2) : 84-88.
- Soedibyo BRAM, 1998. *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta : Balai Pustaka, hal 291-292.
- Soetarno S, 2000. Persiapan Ekstraksi Bahan Alam. *Prosiding Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi*, Surabaya.
- Solleveld HA, McAnulty P, Ford J, Peters PWJ, dan Tesh J, 1986. Breeding, Housing and Care of Laboratory Animals. In (Ruitenberg EJ dan Peters PWJ, eds). *World Animal Science C2 Laboratory Animals*. New York : Elsevier Science Publisher Comp. Inc, pp 16-18.
- Steel RGD and Torrie JI, 1991. *Principles and Procedures of Statistics, a Biometrical Approach 2nd Ed*. Singapore : Mc Graw Hill Book Company.
- Steinberger A dan Steinberger E, 1971. Replication Pattern of Sertoli Cells in Maturing Rat Testis in Vivo and in Organ Culture. *Biol Reprod* 4 : 84-7
- Steinberger E, 1971. Hormonal Control of Mammalian Spermatogenesis. *Physiol Rev* 51 (1) : 1 – 51.
- Suntoro SH. 1983. Metode Pewarnaan (Histologi & Histokimia). Jakarta : PT. Bhatara Karya Aksara, hal 124-128.
- Sutarjadi, Santa IGP, Rahayu L, Agil M, Santoso MH, 1983. Phytochemical and Pharmacological Screening on Medical Herbs of Central Kalimantan. *Proceedings of Regional Seminar on Chemistry of Natural Products Research Related to Agro-Industry*, Medan.
- Taufigurrachman dan Wibowo S, 2000. Pengaruh Ekstrak Akar *Eurycoma longifolia* Jack (Pasak Bumi) terhadap Peningkatan Kadar Testosteron, LH dan FSH pada Tikus Jantan Sprague Dawley. *M Med Indonesiana* 35 (2) : 81-86.
- Tendean OS, Soedjono D, Arsyad KM, dan Pangkahila AJ, 1980. Peranan Sel Sertoli pada Spermatogenesis. *Prosiding Seminar Spermatogenesis*, Surabaya.
- Telford IR, Bridgman CF, 1995. *Introduction to Fungsional Histologi 2nd ed*. New York : Hapercollins Colage Publishers, pp 419-431.

- Tripp BM dan Lamb DJ, 1997. Sertoli Cell : Morphology, Function, and Regulation. In (Lipshultz LI dan Howards SS, eds). *Infertility in the Male* 3th Ed. USA : Mosby-Year Book Inc., pp 71-105.
- Tsutsui K, 1991. Pituitary and Gonadal Hormone-Dependent and Independent Induction of Follicle-Stimulating Hormone Receptors in the Developing Testis. *Endocrinology* 128 (1) : 477 - 487.
- Vander AJ, Sherman JH. Luciano DS, 1994. *Reproduction in Human Physiology, The Mechanism of Body Function* 6th Ed. New York : McGraw-Hill Inc, pp 648-661.
- Veldhuis J, 1991. The Hypothalamic Pituitary-Testicular Axis. In (Yen SSC and Jaffe RB, eds). *Reproductive Endocrinology* 3rd ed. USA : WB Saunders Company, pp 409-442.
- Weissbach L dan Bach B, 1978 Quantitatif Parameter for Light Microscopic Assessment of The Tubuli Seminiferi. *J Fertil Steril* 7 : 836 – 840.
- Whittingham DG, Wood MJ, 1983. Reproductive Physiology. In (Foster HL. Small JD, Fox JG, eds) *The Mouse in Biomedical Research* Vol. III. California : Academi Press Inc, pp 139-142.
- Wuryantari dan Moeloek N, 2000. Perkembangan Mutakhir Fisiologi Fungsi Testis : Dari Organ Sampai Gen. *MKI* 50 (8) : 377-384.
- Yen SSC, 1991. The Hypothalamic Control of Pituitary Hormone Secretion. In (Yen SSC, Jaffe RB, eds). *Reproductive Endocrinology* 3th. Ed. USA : WB Saunders Company, pp 65-80.
- Zainuddin A, 2000. Metode Penelitian. Program Pasca Sarjana Unair, Surabaya.

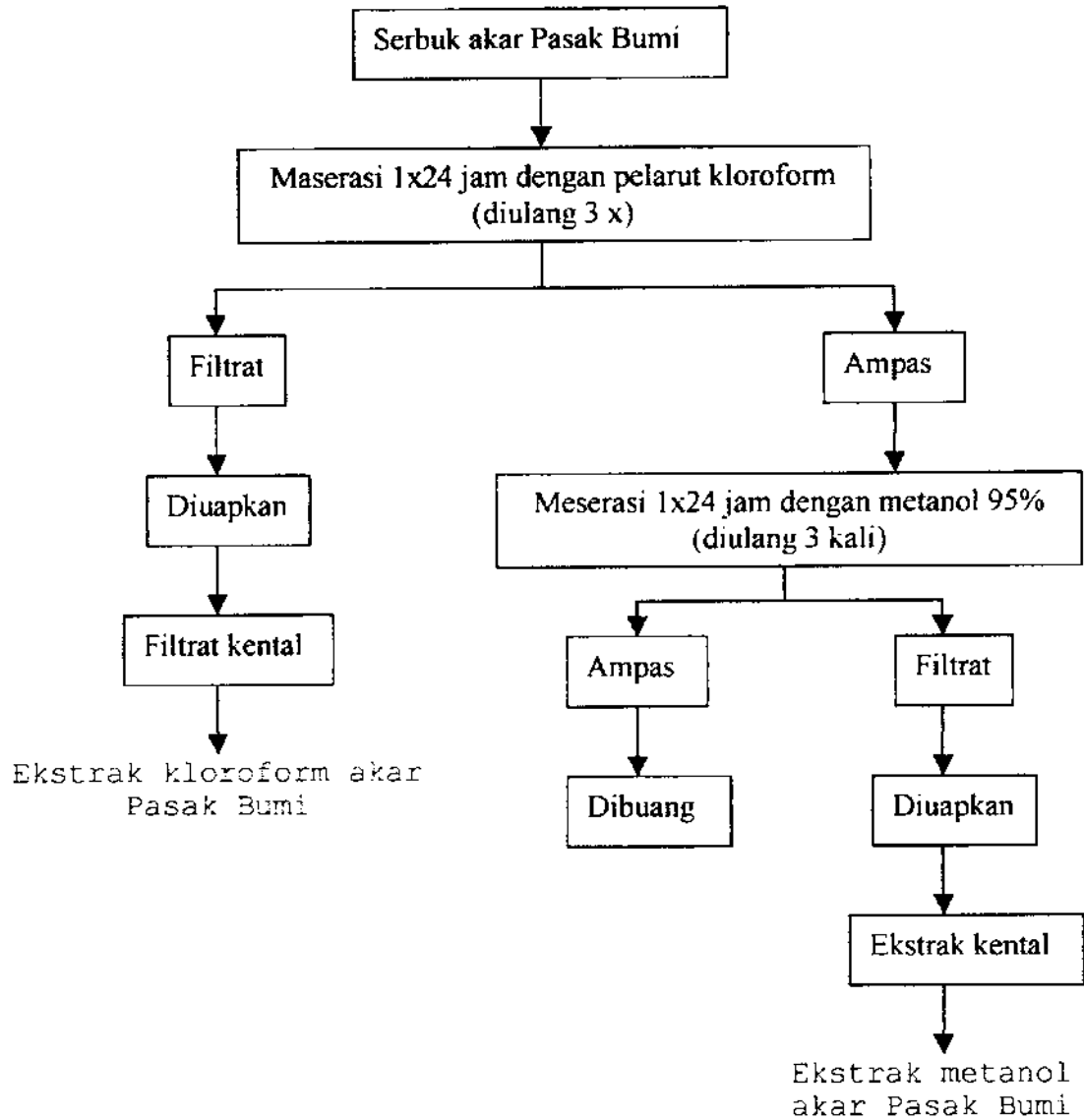
Lampiran 1. Cara Pembuatan Ekstrak Akar Pasak Bumi.

Pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi dilakukan dengan cara dingin, yaitu (Ansel, 1985) :

1. Akar Pasak Bumi yang sudah dikeringkan, dibuat serbuk halus (*digiling*).
2. Serbuk akar tersebut kemudian dimaserasi dengan pelarut kloroform. Maserasi dilakukan 1 x 24 jam dan dimodifikasi dengan pengadukan dan diulang 3 kali.
3. Filtrat yang diperoleh diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ini disebut ekstrak kloroform akar Pasak Bumi.
4. Ampas sisa pada point 2, dimaserasi dengan pelarut metanol 96 %. Maserasi ini juga dilakukan 1 x 24 jam dimodifikasi dengan pengadukan dan diulang 3 kali.
5. Filtrat yang terbentuk diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ini disebut ekstrak metanol akar Pasak Bumi.

Ekstrak kloroform dan metanol tersebut kemudian dibuat larutan dengan aquadest dan CMCNa 10%.

Pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi dapat ditingkatkan seperti terlihat pada bagan berikut :



Bagan cara pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi

Lampiran 2. Perhitungan Dosis yang diberikan pada Mencit.

Pemberian ekstrak akar Pasak Bumi pada mencit berupa larutan. Jumlah larutan yang diberikan pada mencit yang mempunyai berat badan 30 g adalah 0,5 ml baik untuk dosis 200 mg maupun 500 mg.

* Untuk mencit dengan berat badan 25 gram :

jumlah larutan yang diberikan adalah $25/30 \times 0,5 = 0,4$ ml

(untuk semua kelompok perlakuan).

Perhitungan banyaknya larutan yang diberikan ini sesuai dengan volume maksimum larutan obat yang dapat diberikan pada mencit, seperti yang terlihat pada tabel berikut:

Tabel 2.1. Volume maksimum larutan obat yang dapat diberikan pada hewan

Hewan	Volume maksimum sesuai jalur pemberian (ml)				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
Mencit (20-30 gram)	0,5	0,05	1,0	0,5-10	1,0
Tikus (100 gram)	1,0	0,1	2,0-5,0	2,0-5,0	5,0
Hamster (50 gram)	-	0,1	1,0-2,0	2,5	2,5
Marmot (250 gram)	-	0,25	2,0-5,0	5,0	10,0
Merpati (300 gram)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2500 gram)	5,0-10,0	0,5	10,0-20,0	5,0-10,0	20,0
Kucing (3000 gram)	5,0-10,0	1,0	10,0-20,0	5,0-10,0	50,0
Anjing (5000 gram)	10,0-20,0	5,0	20,0-50,0	10,0	100,0

(Ritchel 1974 *cit* Donatus dan Nurlaila, 1986)

Lampiran 3. Pembuatan Preparat Histologis Metode Parafin

Langkah-langkah pembuatan sediaan histologis metode parafin adalah sebagai berikut :

1. Fiksasi : - dengan larutan Bouin
2. Dehidrasi ; - dengan larutan alkohol 70 % selama 2 jam
 - dengan larutan alkohol 80 % selama 2 jam
 - dengan larutan alkohol 90 % selama 2 jam
 - dengan larutan alkohol 95 % selama 2 jam
 - dengan larutan alkohol absolut I selama 1 jam
 - dengan larutan alkohol II selama 1 jam
3. Clearing : - dengan larutan Xylol I selama 2 jam
 - dengan larutan Xylol II selama 2 jam
4. Infiltrasi : - dengan parafin cair I selama 3 jam
 - dengan parafin cair II selama 3 jam
 - dengan parafin cair III selama 3 jam
5. Embedding : - dicetak dalam bentuk blok kemudian didinginkan selama 24 jam
6. Trimming : - dikepris menjadi cetakan yang rapi
7. Sectioning : - dilakukan penyayatan/pemotongan dengan mikrotom dengan tebal sayatan antara 5-7 mikron.
8. Affixing : - potongan tadi diletakkan di atas obyek gelas yang diberi albumin Meyer, keringkan dan sediaan siap untuk diwarnai.

Lampiran 4. Pewarnaan Periodic Acid Schiff (PAS)

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

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

Lampiran 5. Sertifikasi akar Pasak Bumi yang digunakan pada penelitian



UNIVERSITAS AIRLANGGA FAKULTAS FARMASI

JURUSAN BIOLOGI FARMASI, LABORATORIUM BOTANI FARMASI - FARMAKOGNOSI

JL. DARMAWANGSA DALAM, SURABAYA 60286

SURAT KETERANGAN

Telah dilakukan Identifikasi/determinasi

dari tumbuhan : pasak bumi
 a.n. Saudara/i : Lena Rosida
 untuk keperluan : Penelitian (Thesis)

Hasil Identifikasi/determinasi dari tersebut di atas :

nama ilmiah (species) : Eurycoma longifolia Jack.
 # suku (familia) : Simarubaceae

Demikian surat keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Surabaya, 2 April 2003

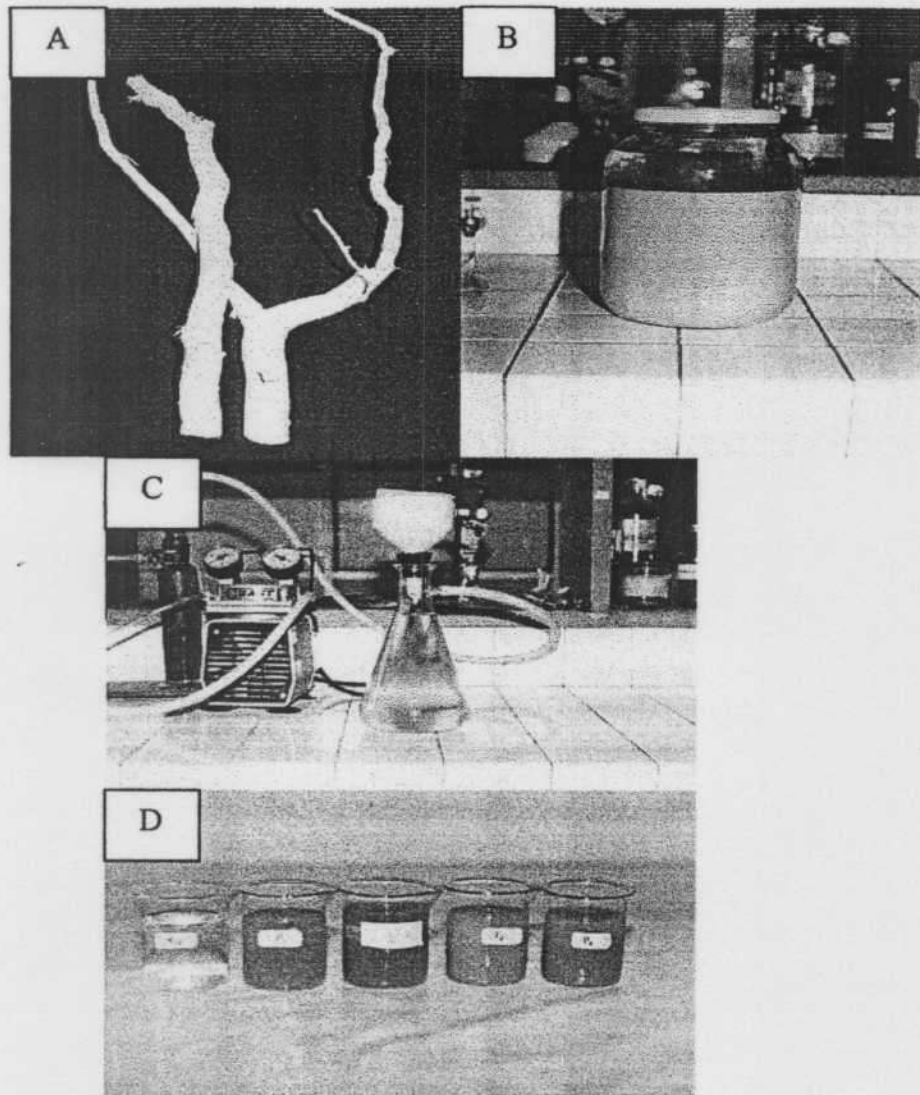


Lab. Botani Farmasi - Farmakognosi
 Jurusan Taksonomi Tumbuhan,

Drs. IGP. SANTA

NIP. 130189850

Lampiran 6. Dokumentasi pembuatan ekstrak akar Pasak Bumi



Keterangan :

- A. Fofo akar Pasak Bumi
- B. Maserasi serbuk akar Pasak Bumi dengan salah satu jenis pelarut.
- C. Filtrasi serbuk akar Pasak Bumi sehingga diperoleh filtrat.
- D. Ekstrak akar Pasak Bumi yang sudah dilarutkan dengan aquadest

Lampiran 7. Data hasil pengamatan jumlah spermatogonia

Sampel	Kelompok											
	K1		K2		P1		P2		P3		P4	
I	35	40	39	64	53	62	77	72	79	85	55	80
	41	36	40	62	62	67	67	69	85	82	69	80
	46	39	46	60	67	65	70	79	80	90	72	87
	48	42	48	69	65	60	75	81	80	85	78	85
	40	52	60	52	63	59	65	80	75	89	82	80
II	40	42	45	60	57	63	67	68	75	92	51	90
	45	58	50	57	50	70	65	63	77	90	75	84
	43	55	48	61	59	74	60	60	86	86	80	86
	50	35	58	65	60	72	60	69	82	91	87	90
	47	37	55	60	62	73	70	61	85	97	85	92
III	50	52	42	45	60	60	79	72	51	72	55	92
	52	55	43	45	65	65	72	76	69	82	80	100
	45	50	40	50	61	67	74	73	89	86	90	95
	48	57	45	40	62	60	70	80	76	92	90	90
	49	59	42	47	63	65	70	81	70	77	95	90
IV	57	60	42	43	68	62	84	80	50	45	87	80
	52	65	39	45	67	65	85	86	52	50	92	77
	60	69	40	47	59	60	80	92	60	55	85	85
	55	68	45	41	63	62	87	90	65	54	80	90
	50	60	40	43	60	70	89	81	63	60	82	87
V	39	42	48	45	65	68	67	68	77	90	85	89
	40	64	45	42	63	70	65	70	82	96	90	90
	46	60	40	40	67	60	69	60	85	92	92	95
	48	62	41	41	63	72	70	72	91	78	95	90
	60	69	43	43	65	68	64	69	77	69	92	92
VI	42	50	64	40	60	68	72	69	57	90	92	92
	48	45	65	51	70	65	70	65	67	83	90	90
	44	40	60	55	63	62	74	71	87	80	90	87
	40	43	54	50	60	69	75	72	78	77	95	81
	42	41	42	46	65	72	70	74	70	81	90	85
VII	43	40	45	42	72	83	81	70	69	60	85	90
	42	60	50	40	67	86	74	70	65	61	80	80
	50	58	40	52	64	87	70	76	60	55	92	85
	52	48	50	50	67	80	72	71	62	60	83	89
	45	61	45	47	74	85	70	85	67	67	87	90
VIII	45	51	42	50	90	90	69	74	70	82	87	85
	48	67	40	47	93	97	72	75	75	80	95	87
	50	43	45	45	92	93	74	4	72	85	92	90
	55	42	50	43	85	82	65	70	76	77	90	92
	60	60	55	41	88	76	67	78	80	72	83	95

Lampiran 8. Data hasil pengamatan jumlah spermatisit primer

Sampel	Kelompok											
	K1		K2		P1		P2		P3		P4	
I	57	62	59	73	65	79	102	85	90	103	82	102
	58	64	57	70	70	80	90	93	110	100	90	115
	70	62	70	64	80	82	85	110	107	112	100	130
	71	76	71	76	82	83	90	108	101	107	112	123
	60	78	78	63	75	79	89	110	95	117	110	131
II	67	65	73	68	95	87	90	91	97	105	69	151
	69	60	74	66	85	90	85	90	92	105	110	121
	53	64	58	70	9	99	84	83	110	119	125	134
	65	58	66	80	89	87	85	95	90	118	137	117
	67	60	64	73	80	100	95	90	98	112	142	123
III	69	72	73	77	94	92	99	91	65	95	70	119
	70	73	75	78	90	101	87	95	80	92	110	127
	63	65	70	67	90	100	90	90	101	97	115	115
	62	79	72	60	96	90	85	95	99	101	112	121
	70	78	76	61	89	99	89	97	99	90	125	123
IV	71	73	67	65	99	97	114	96	70	73	117	110
	69	79	60	60	89	93	105	102	75	80	125	100
	65	80	60	67	90	90	99	103	80	75	110	115
	60	72	67	59	94	87	97	107	87	70	104	123
	64	70	69	65	92	99	107	100	90	83	101	112
V	59	63	58	63	85	92	90	99	99	105	101	111
	57	78	60	65	87	87	90	100	91	115	110	105
	70	64	55	57	90	82	95	89	96	110	108	115
	71	73	50	50	94	94	98	102	109	99	112	110
	68	76	57	58	87	93	93	94	90	80	117	121
VI	63	72	74	62	80	94	99	93	64	105	112	118
	72	67	72	63	81	95	93	87	82	95	106	127
	70	60	75	65	87	86	98	94	101	97	116	110
	59	70	68	67	83	84	102	96	106	90	123	102
	65	74	60	63	90	93	90	100	99	97	120	113
VII	73	60	53	58	92	127	100	87	85	73	107	121
	74	79	62	60	74	137	94	90	80	80	112	110
	78	72	60	62	75	126	90	99	84	75	125	117
	81	76	65	64	98	138	92	96	79	82	130	129
	64	69	57	60	116	129	89	105	86	80	113	118
VIII	73	70	51	67	139	129	97	111	89	95	117	120
	74	79	50	62	123	127	99	110	92	91	123	110
	58	72	56	58	143	131	101	112	97	99	130	113
	64	73	63	60	126	142	90	101	89	81	133	111
	68	68	69	65	145	99	93	115	90	90	111	121

Lampiran 9. Data hasil pengamatan jumlah spermatid

Sampel	Kelompok											
	K1		K2		P1		P2		P3		P4	
I	69	69	67	95	116	113	147	110	145	127	145	145
	72	77	70	82	193	121	125	108	129	130	130	163
	85	79	85	85	102	117	112	123	135	137	153	185
	89	81	89	90	105	109	117	129	121	121	167	187
	68	88	89	87	111	106	109	135	115	132	178	172
II	84	80	89	80	108	107	115	119	121	129	99	202
	83	90	87	85	199	123	105	111	117	125	153	181
	82	97	89	87	118	121	103	99	127	127	179	173
	85	69	90	89	121	117	110	117	130	138	191	163
	88	72	87	85	97	122	121	106	128	145	190	172
III	80	84	89	82	100	102	121	120	194	115	100	173
	84	89	90	87	112	117	117	125	138	130	145	185
	82	84	80	82	106	123	119	115	137	137	156	167
	83	92	84	73	105	199	109	126	146	140	150	173
	80	96	86	84	121	117	110	130	125	125	163	176
IV	84	79	79	85	120	112	125	110	190	136	173	167
	80	89	72	75	102	102	116	131	105	115	167	143
	78	85	76	80	110	112	109	132	110	127	155	169
	75	82	80	69	107	107	112	139	125	121	147	179
	70	89	84	73	100	123	129	121	138	135	157	168
V	67	75	74	82	195	105	125	126	112	126	155	172
	70	95	72	85	199	199	121	132	140	145	167	165
	85	85	76	75	105	194	127	100	149	137	169	153
	89	92	72	70	102	117	130	137	129	114	179	157
	88	90	80	72	100	121	122	120	115	97	163	165
VI	75	89	87	70	192	112	125	115	92	127	153	175
	87	75	89	82	190	120	119	110	118	117	157	181
VII	83	72	88	83	194	199	121	123	127	121	165	171
	72	88	76	85	196	109	130	124	117	129	173	161
	86	91	72	87	102	127	110	131	105	131	170	178
	89	80	72	82	126	167	123	107	115	111	145	163
VIII	88	83	79	79	116	177	112	101	114	130	157	157
	89	80	73	80	121	176	110	121	121	121	175	163
	90	85	77	82	124	188	109	130	116	135	169	159
	87	87	80	78	158	169	111	135	129	140	140	170
VIII	89	82	70	82	197	179	123	139	127	131	169	171
	88	91	67	77	177	201	131	130	130	132	170	165
	89	87	73	73	204	198	133	127	132	140	176	175
	87	89	81	78	199	187	112	119	117	117	180	153
	80	88	85	82	189	174	123	135	125	129	163	182

Lampiran 10. Data hasil pengamatan jumlah sel Sertoli

Sampel	Kelompok											
	K1		K2		P1		P2		P3		P4	
I	9	6	6	8	7	7	7	6	8	6	7	6
	8	7	6	5	6	7	5	5	7	7	6	7
	7	8	5	6	6	8	6	7	6	6	7	7
	7	6	7	7	6	6	7	7	5	6	7	7
	5	7	7	6	6	6	6	8	5	7	7	6
II	7	5	7	7	6	6	7	7	6	8	5	8
	7	7	6	8	7	6	5	6	5	7	8	7
	6	9	5	8	8	7	5	5	6	7	7	7
	7	6	6	7	9	6	7	7	7	7	7	7
	8	6	7	6	7	6	7	5	6	7	6	7
III	5	7	5	5	6	6	7	7	6	5	6	7
	7	8	5	5	7	7	7	7	5	5	7	7
	7	7	6	6	7	7	7	6	9	5	7	6
	7	9	6	5	7	6	6	7	8	5	6	7
	6	8	5	6	6	6	6	7	10	5	7	6
IV	7	7	6	6	6	7	7	7	6	5	7	7
	6	7	5	5	7	7	7	7	7	5	7	6
	7	6	6	6	8	6	6	7	7	5	6	7
	7	6	5	4	8	6	7	8	6	5	6	7
	6	5	6	5	6	7	7	7	5	6	7	6
V	9	7	5	6	6	7	5	7	8	7	7	7
	8	10	5	6	6	6	6	7	8	8	7	6
	8	8	6	4	7	7	7	5	7	6	6	6
	7	7	5	5	7	6	7	7	6	7	7	7
	8	7	6	6	6	7	6	7	6	6	6	7
VI	7	6	7	5	6	7	7	6	6	7	6	7
	8	7	6	6	7	7	7	6	7	6	7	7
	7	7	5	6	7	7	7	7	7	7	7	7
	6	7	7	7	6	7	8	7	6	6	7	6
	7	8	5	6	6	6	6	8	7	6	7	7
VII	8	7	5	7	7	7	7	5	7	5	6	7
	9	6	6	6	6	8	6	6	6	7	7	6
	8	7	5	5	5	7	6	7	7	7	7	7
	7	7	6	7	6	8	6	7	6	7	6	6
	7	6	6	6	5	7	6	8	6	7	6	6
VIII	8	7	5	6	8	6	7	9	7	7	6	7
	9	6	4	5	9	7	7	9	7	7	7	7
	8	7	5	5	8	7	8	8	7	5	7	7
	7	7	6	6	7	7	8	6	6	6	7	6
	8	7	7	6	7	5	6	9	7	7	6	8

Lampiran 11. Data hasil pengamatan jumlah sel Leydig per 10 jaringan interstitial

Sampel	Kelompok					
	K1	K2	P1	P2	P3	P4
I	32	32	33	36	43	34
II	33	24	35	37	40	45
III	32	29	23	37	32	35
IV	35	30	34	34	36	39
V	31	36	33	35	37	37
VI	35	34	37	40	39	36
VII	32	26	36	42	34	35
VIII	35	31	30	37	36	38

Lampiran 12. Rerata dan simpang baku jumlah spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, sel Sertoli dan sel Leydig menurut kelompok perlakuan.

Kelompok	Spermatogonia		Spermatosit primer		Spermatid		Sel Sertoli		Sel Leydig	
	Rerata	Sim. Baku	Rerata	Sim. Baku	Rerata	Sim. Baku	Rerata	Sim. Baku	Rerata	Sim. Baku
K1	50	6	69	3	81	7	7	1	33	2
K2	42	16	65	5	80	3	6	1	30	4
P1	69	10	97	16	139	27	7	0	33	4
P2	73	6	96	5	120	5	7	1	37	3
P3	75	11	92	10	126	7	7	1	37	3
P4	86	5	115	4	165	4	7	0	37	4

mpiran 13. Uji normalisasi data

lompok K1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Spermatogonium	Spermatosit primer	Spermatid	Sel Sertoli	Sel Leydig
	8	8	8	0	8
Normal Parameters ^{a,b} Mean	49,75	68,63	80,63	7,00	33,13
Std. Deviation	5,87	3,16	6,86	,53	1,64
Extreme Absolute	,166	,172	,272	,375	,253
Differences Positive	,166	,101	,177	,177	,253
Negative	-,149	-,172	-,272	-,272	-,248
Kolmogorov-Smirnov Z	,469	,487	,769	,769	,717
Asymp. Sig. (2-tailed)	,981	,972	,596	,596	,683

a. Test distribution is Normal

b. Calculated from data

lompok K2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Spermatogonium	Spermatosit primer	Spermatid	Sel Sertoli	Sel Leydig
	8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b} Mean	42,13	64,50	79,63	5,75	30,25
Std. Deviation	15,80	5,04	3,38	,71	3,96
Extreme Absolute	,397	,190	,198	,263	,126
Differences Positive	,190	,189	,198	,237	,109
Negative	-,397	-,190	-,152	-,263	-,126
Kolmogorov-Smirnov Z	1,123	,537	,561	,744	,356
Asymp. Sig. (2-tailed)	,160	,935	,911	,637	1,000

Test distribution is Normal

Calculated from data

:lompok P1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Spermatogonium	Spermatisit primer	Spermatid	Sel Sertoli	Sel Leydig
		8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	68,63	96,63	139,13	7,00	32,63
	Std. Deviation	9,55	16,34	26,67	,12	4,44
Most Extreme Differences	Absolute	,358	,314	,227	,25	,284
	Positive	,358	,314	,227	,25	,162
	Negative	-,212	-,153	-,137	,25	-,284
Kolmogorov-Smirnov Z		1,014	,888	,643	,71	,802
Asymp. Sig. (2-tailed)		,256	,410	,803	,70	,540

- Test distribution is Normal
- Calculated from data

:lompok P2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Spermatogonium	Spermatisit primer	Spermatid	Sel Sertoli	Sel Leydig
		8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	72,63	95,88	120,25	6,63	37,25
	Std. Deviation	6,21	4,91	4,95	,74	2,60
Most Extreme Differences	Absolute	,226	,240	,185	,300	,288
	Positive	,226	,240	,112	,300	,288
	Negative	-,147	-,177	-,185	-,200	-,106
Kolmogorov-Smirnov Z		,639	,678	,524	,847	,815
Asymp. Sig. (2-tailed)		,808	,747	,947	,469	,520

- Test distribution is Normal
- Calculated from data

kelompok P3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Spermatogonium	Spermatosit primer	Spermatid	Sel Sertoli	Sel Leydig
N	8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b} Mean	75,25	91,75	126,38	6,63	37,13
Std. Deviation	11,12	9,72	6,91	,52	3,48
Most Extreme Absolute Differences	,241	,179	,175	,391	,139
Positive	,126	,158	,175	,61	,139
Negative	-,241	-,179	-,179	-,391	-,123
Kolmogorov-Smirnov Z	,682	,505	,505	1,105	,394
Asymp. Sig. (2-tailed)	,741	,961	,961	,174	,998

- a. Test distribution is Normal
b. Calculated from data

kelompok P4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Spermatogonium	Spermatosit primer	Spermatid	Sel Sertoli	Sel Leydig
N	8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b} Mean	86,00	115,25	164,63	6,88	37,38
Std. Deviation	4,50	4,46	4,27	,35	3,50
Most Extreme Absolute Differences	,162	,147	,183	,513	,196
Positive	,133	,147	,183	,362	,196
Negative	-,162	-,120	-,160	-,513	-,168
Kolmogorov-Smirnov Z	,459	,417	,518	1,451	,555
Asymp. Sig. (2-tailed)	,985	,995	,951	,031	,917

- Test distribution is Normal
Calculated from data

Lampiran 14. Analisis Varian (Anova) jumlah spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, sel Sertoli dan sel Leydig antara K1 dan K2.

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value label	N
Kelompok	1,00 K1	8
	2,00 K2	8

Descriptive Statistics

Kelompok		Mean	Std. Deviation	N
Spermatogonium	K1	49,75	5,87	8
	K2	42,13	15,80	8
	Total	45,94	12,17	16
Spermatosit primer	K1	68,63	3,16	8
	K2	64,50	5,04	8
	Total	66,56	4,59	16
Spermatid	K1	80,63	6,86	8
	K2	79,63	3,38	8
	Total	80,12	5,25	16
Sel Sertoli	K1	7,00	,53	8
	K2	5,75	,71	8
	Total	6,38	,89	16
Sel Leydig	K1	33,13	1,64	8
	K2	30,25	3,96	8
	Total	31,69	3,28	16

Anova
Univariate Tests

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Spermatogonium	Contrast	232,563	1	232,563	1,637	,221
	Error	1988,375	14	142,027		
Spermatosit primer	Contrast	68,063	1	68,063	3,844	,070
	Error	247,875	14	17,705		
Spermatid	Contrast	4,000	1	4,000	,137	,717
	Error	409,750	14	29,268		
Sel Sertoli	Contrast	6,250	1	6,250	15,909	,001
	Error	5,500	14	,393		
Sel Leydig	Contrast	33,063	1	33,063	3,606	,078
	Error	128,375	14	9,170		

The F tests effect of KELOMPOK. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

ampiran 15. Uji LSD jumlah sel Sertoli antara K1 dan K2.

Estimates

Dependent variable	Kelompok	Mean	Std. Error
Sel Sertoli	K1	7,000	,222
	K2	5,750	,222

Pairwise Comparisons

Dependent variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
Sel Sertoli	K1	K2	1,250	,313	,001

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons : Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

ampiran 16. Analisis varian (Anova) jumlah spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, sel Sertoli dan sel Leydig kelompok K2, P1, P2, P3 dan P4.

General Linear Model

Between-Subjects Factors

Kelompok	Value label	N
2,00	K2	8
3,00	P1	8
4,00	P2	8
5,00	P3	8
6,00	P4	8

Descriptive Statistics

Kelompok		Mean	Std. Deviation	N
Spermatogonium	K2	42,13	15,80	8
	P1	68,63	9,55	8
	P2	72,63	6,21	8
	P3	75,25	11,12	8
	P4	86,00	4,50	8
	Total	68,93	17,67	40
Spermatosit primer	K2	64,50	5,04	8
	P1	96,63	16,34	8
	P2	95,88	4,91	8
	P3	91,75	9,72	8
	P4	115,25	4,46	8
	Total	92,80	18,71	40
Spermatid	K2	79,63	3,38	8
	P1	139,13	26,67	8
	P2	120,25	4,95	8
	P3	126,38	6,91	8
	P4	164,63	4,27	8
	Total	126,00	30,58	40
Sel Sertoli	K2	5,75	,71	8
	P1	7,00	,00	8
	P2	6,63	,74	8
	P3	6,63	,52	8
	P4	6,68	,35	8
	Total	6,58	,68	40
Sel Leydig	K2	30,25	3,96	8
	P1	32,63	4,44	8
	P2	37,25	2,60	8
	P3	37,13	3,48	8
	P4	37,38	3,50	8
	Total	34,92	4,57	40

Anova**Univariate Tests**

Dependents Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Spermatogonium	Contrast	8508,650	4	2127,163	20,330	,000
	Error	3662,125	35	104,632		
Spermatosit primer	Contrast	10640,650	4	2660,163	30,853	,000
	Error	3017,750	35	86,221		
Spermatid	Contrast	30784,000	4	7696,000	47,306	,000
	Error	5694,000	35	162,686		
Sel Sertoli	Contrast	7,650	4	1,913	6,611	,000
	Error	10,125	35	,289		
Sel Leydig	Contrast	347,150	4	86,788	6,524	,000
	Error	465,625	35	13,304		

The F tests the effect of KELOMPOK. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

ampiran 17. Uji LSD jumlah spermatogonium, spermatisit primer, spermatid, sel Sertoli dan sel Leydig kelompok K2, P1, P2, P3, P4.

Estimates

Dependent variable	Kelompok	Mean	Std. Error
Spermatogonium	K2	42,125	3,316
	P1	68,625	3,316
	P2	72,625	3,316
	P3	75,250	3,316
	P4	86,000	3,316
Spermatisit primer	K2	64,500	3,283
	P1	96,625	3,283
	P2	95,875	3,283
	P3	91,750	3,283
	P4	115,250	3,283
Spermatid	K2	79,625	4,510
	P1	139,125	4,510
	P2	120,250	4,510
	P3	126,375	4,510
	P4	164,625	4,510
Sel Sertoli	K2	5,750	,190
	P1	7,000	,190
	P2	6,625	,190
	P3	6,625	,190
	P4	6,875	,190
Sel Leydig	K2	30,250	1,290
	P1	32,625	1,290
	P2	37,250	1,290
	P3	37,125	1,290
	P4	37,375	1,290

Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	
Spermatogonium	K2	P1	-26,500	5,114	,000	
		P2	-30,500	5,114	,000	
		P3	-33,125	5,114	,000	
		P4	-43,875	5,114	,000	
	P1	P2	-4,000	5,114	,439	
		P3	-6,625	5,114	,204	
		P4	-17,375	5,114	,002	
	P2	P3	-2,625	5,114	,611	
		P4	-13,375	5,114	,013	
	P3	P4	10,750	5,114	,43	
	Spermatisit primer	K2	P1	-32,125	4,643	,000
			P2	-31,375	4,643	,000
P3			-27,250	4,643	,000	
P4			-50,750	4,643	,000	
P1		P2	,750	4,643	,873	
		P3	4,875	4,643	,301	
		P4	-18,625	4,643	,000	
P2		P3	4,125	4,643	,380	
		P4	-19,375	4,643	,000	
P3		P4	-23,500	4,643	,000	
Spermatid		K2	P1	-59,500	6,377	,000
			P2	-40,625	6,377	,000
	P3		-46,750	6,377	,000	
	P4		-85,000	6,377	,000	
	P1	P2	18,875	6,377	,005	
		P3	12,750	6,377	,050	
		P4	-25,500	6,377	,000	
	P2	P3	-6,125	6,377	,343	
		P4	-44,375	6,377	,000	
	P3	P4	-38,250	6,377	,000	
	Sel Sertoli	K2	P1	-1,250	,269	,000
			P2	-,875	,269	,003
P3			-,875	,269	,003	
P4			-1,125	,269	,000	
P1		P2	,375	,269	,172	
		P3	,375	,269	,172	
		P4	,125	,269	,645	
P2		P3	,000	,269	1,000	
		P4	-,250	,269	,359	
P3		P4	-,250	,269	,359	
Sel Leydig		K2	P1	-2,375	1,824	,201
			P2	-7,000	1,824	,000
	P3		-6,875	1,824	,001	
	P4		-7,125	1,824	,000	
	P1	P2	-4,625	1,824	,016	
		P3	-4,500	1,824	,019	
		P4	-4,750	1,824	,013	
	P2	P3	,125	1,824	,946	
		P4	-,125	1,824	,946	
	P3	P4	-,250	1,824	,892	

Based on estimated marginal means

a. Justment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

ampiran 18. Analisis varian (Anova) pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, sel Sertoli dan sel Leydig untuk ekstrak metanol.

Between-Subjects Factors

Dosis	N
0	8
200	8
500	8

Descriptive Statistics

	Dosis	Mean	Std. Deviation	N
Spermatogonium	0	42,13	15,80	8
	200	68,63	9,55	8
	500	72,63	6,21	8
	Total	61,13	17,51	24
Spermatosit primer	0	64,50	5,04	8
	200	96,63	16,34	8
	500	95,88	4,91	8
	Total	85,67	18,17	24
Spermatid	0	79,63	3,38	8
	200	139,13	26,67	8
	500	120,25	4,95	8
	Total	113,00	29,51	24
Sel Sertoli	0	5,75	,71	8
	200	7,00	,00	8
	500	6,63	,74	8
	Total	6,46	,78	24
Sel Leydig	0	30,25	3,96	8
	200	32,63	4,44	8
	500	37,25	2,60	8
	Total	33,38	4,65	24

Anova
Univariate Tests

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Spermatogonium	Contrast	4396,000	2	2198,000	17,388	,000
	Error	2654,625	21	126,411		
Spermatosit primer	Contrast	5378,583	2	2689,292	25,477	,000
	Error	2216,750	21	105,560		
Spermatid	Contrast	14791,750	2	7395,875	29,684	,000
	Error	5232,250	21	249,155		
Sel Sertoli	Contrast	6,583	2	3,292	9,373	,001
	Error	7,375	21	,351		
Sel Leydig	Contrast	202,750	2	101,375	7,220	,004
	Error	294,875	21	14,042		

The F tests the effect of DOSIS. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

ampiran 19. Uji LSD pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatisit primer, spermatid, sel Sertoli dan sel Leydig untuk ekstrak metanol.

Estimates

Dependent Variable	Dosis	Mean	Std. Error
Spermatogonium	0	42,125	3,975
	200	68,625	3,975
	500	72,625	3,975
Spermatisit primer	0	64,500	3,632
	200	96,625	3,632
	500	95,875	3,632
Spermatid	0	79,625	5,581
	200	139,125	5,581
	500	120,125	5,581
Sel Sertoli	0	5,750	,210
	200	7,000	,210
	500	6,625	,210
Sel Leydig	0	30,250	1,325
	200	32,625	1,325
	500	37,250	1,325

Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) Dosis	(J) Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
Spermatogonium	0	200	-26,500	5,622	,000
		500	-30,500	5,622	,000
	200	500	-4,000	5,622	,485
Spermatisit primer	0	200	-32,125	5,137	,000
		500	-31,375	5,137	,000
	200	500	,750	5,137	,885
Spermatid	0	200	-59,500	7,892	,000
		500	-40,625	7,892	,000
	200	500	18,875	7,892	,026
Sel Sertoli	0	200	-1,250	,296	,000
		500	-,875	,296	,008
	200	500	,375	,296	,220
Sel Leydig	0	200	-2,375	1,874	,219
		500	-7,000	1,874	,001
	200	500	-4,625	1,874	,022

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustment)

ampiran 20. Analisis varian (Anova) pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, sel Sertoli dan sel Leydig untuk ekstrak kloroform.

Between-Subjects Factors

		N
Dosis	0	8
	200	8
	500	8

Descriptive Statistics

	Dosis	Mean	Std Deviation	N
Spermatogonium	0	42,13	15,80	8
	200	75,25	11,12	8
	500	86,00	4,50	8
	Total	67,79	21,99	24
Spermatosit primer	0	64,50	5,04	8
	200	91,75	9,72	8
	500	115,25	4,46	8
	Total	90,50	22,17	24
Spermatid	0	79,63	3,38	8
	200	126,38	6,91	8
	500	164,63	4,27	8
	Total	123,54	35,84	24
Sel Sertoli	0	5,75	,71	8
	200	6,63	,52	8
	500	6,88	,35	8
	Total	6,42	,72	24
Sel Leydig	0	30,25	3,96	8
	200	37,13	3,48	8
	500	37,38	3,50	8
	Total	34,92	4,85	24

Anova
Univariate Tests

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Spermatogonium	Contrast	8367,583	2	4183,792	31,898	,000
	Error	2754,375	21	131,161		
Spermatosit primer	Contrast	10321,000	2	5160,500	110,695	,000
	Error	979,000	21	46,619		
Spermatid	Contrast	28996,333	2	14498,167	562,126	,000
	Error	541,625	21	25,792		
Sel Sertoli	Contrast	5,583	2	2,792	9,380	,001
	Error	6,250	21	,298		
Sel Leydig	Contrast	261,583	2	130,792	3,801	,001
	Error	280,250	21	13,345		

The F tests the effect of DOSIS. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

Lampiran 21. Uji LSD pengaruh dosis terhadap jumlah spermatogonium, spermatisit primer, spermatid, sel Sertoli, sel Leydig untuk ekstrak kloroform.

Estimates

Dependent Variable	Dosis	Mean	Std. Error
Spermatogonium	0	42,125	4,049
	200	75,250	4,049
	500	86,000	4,049
Spermatisit primer	0	64,500	2,414
	200	91,750	2,414
	500	115,250	2,414
Spermatid	0	79,625	1,796
	200	126,375	1,796
	500	164,625	1,796
Sel Sertoli	0	5,750	,193
	200	6,625	,193
	500	6,875	,193
Sel Leydig	0	30,250	1,292
	200	37,125	,193
	500	37,375	,193

Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) Dosis	(J) Dosis	Mean Squares (I-J)	Std Error	Sig. ^a
Spermatogonium	0	200	-33,125	5,726	,00
		500	-43,875	5,726	,000
	200	500	-10,750	5,726	,074
Spermatisit primer	0	200	-27,250	3,414	,000
		500	-50,750	3,414	,000
	200	500	-23,500	3,414	,000
Spermatid	0	200	-46,750	2,539	,000
		500	-85,000	2,539	,000
	200	500	-38,250	2,539	,000
Sel Sertoli	0	200	-,875	,273	,004
		500	-1,125	,273	,000
	200	500	-,250	,273	,370
Sel Leydig	0	200	-6,875	1,827	,001
		500	-7,125	1,827	,001
	200	500	-,250	1,827	,892

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustment).