

**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
EURYCOMA LONGIFOLIA DAN PIMPINELLA
ALPINA PADA SPERMATOGENESIS TIKUS
SPRAQUE DAWLY**



Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai derajat Sarjana S-2

Magister Ilmu Biomedik

ACHMAD ZULFA JUNIARTO
NIM. G4A098001

PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2004

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS

**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK EURYCOMA
LONGIFOLIA DAN PIMPINELLA ALPINA PADA SPERMATOGENESIS
TIKUS SPRAQUE DAWLY**

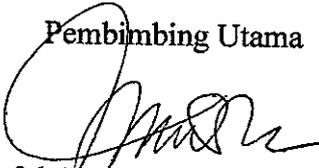
Disusun oleh

Achmad Zulfa Juniarto
G4A098001

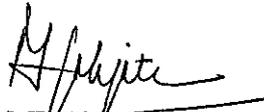
Telah dipertahankan didepan Tim Penguji
Pada tanggal 27 April 2004
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

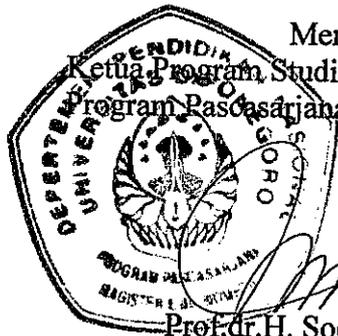
Menyetujui
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama


Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K)
NIP. 130 352 549

Pembimbing kedua


dr. M. Tjahjati, SpPK
NIP. 130 704 307



Mengetahui
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Diponegoro


Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K)
NIP. 130 352 549

UPT-PUSTAK-UNDIP	
No. Daft:	4253/T/MIB/04
Tgl.	11/5 06

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 27 April 2004



Achmad Zulfa Juniarto

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin kami panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, hidayah serta innayahNya yang membuat penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Sholawat dan salam tidak lupa semoga selalu terlimpahkan kepada baginda Rasulullah SAW yang selalu kita nantikan syafaatnya di yaumul qiyamah.

Tesis ini kami susun dalam rangka melengkapi persyaratan untuk menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik di Universitas Diponegoro Semarang. Penulis merasa sangat beruntung dan bersyukur masih diberi kesempatan dan kekuatan untuk menyelesaikan tesis ini. Semua ini juga demi pengembangan ilmu pengetahuan yang Insya Allah berguna buat sesama dan bagi penulis sendiri.

Seperti yang termaktub dalam hadits Rasulullah SAW bersabda, ada tiga perkara yang tidak terputus setelah orang tersebut meninggal dunia antara lain adalah ilmu yang bermanfaat. Semoga penulis termasuk di dalamnya. Amin.

Dalam penyelesaian tesis ini banyak sekali bantuan serta bimbingan yang penulis dapatkan dan untuk itu penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala yang telah dilakukan, terutama kepada :

1. Prof.Dr.dr. Susilo Wibowo, MSMed, SpAnd, yang telah memberikan arahan, bimbingan dan nasihat - nasihat yang sangat berguna bagi penulis.
2. Prof.dr. Kabutrahan Sp.KK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk melanjutkan studi ke jenjang yang lebih tinggi.

3. Prof.dr. H. Soebowo, Sp.PA (K) selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan sekaligus sebagai pembimbing kami yang telah memberikan arahan dan solusinya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
4. dr M. I Tjahjati Sp.PK selaku pembimbing II yang dengan keibuannya memberikan arahan kepada penulis.
5. dr Pudjadi, SU selaku penguji yang telah memberikan saran dan koreksi terhadap tesis ini.
6. dr. Lilien Eka Chandra, MMedRepSc,Sp.OG, selaku penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi masukan dan arahan terhadap tesis ini.
7. drg. Henry Setiawan S, MSc selaku penguji yang telah mengarahkan dan memberi masukan kepada penulis terutama tentang metodologi dan statistik.
8. dr. Krisma Irmajanti dan anak anak kami yang telah ikhlas memberi dorongan dan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan tesis ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga Allah SWT melimpahkan berkah dan rahmahNya kepada pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini. Semoga dapat bermanfaat bagi sesama dan menambah khasanah pengetahuan.

Semarang, 12 April 2004

Penulis

CURRICULUM VITAE

Name : Achmad Zulfa Juniarto, MD
Gender : Male
Date/Place of Birth : June 8, 1970 - Semarang
Nationality : Indonesia
Marital Status : Married
Present Position : Lecturer in Faculty of Medicine Diponegoro University
Working Address : Biology department, Faculty of Medicine Diponegoro University
Jl. Dr Kariadi 18 Semarang, Central Java, Indonesia
Phone. (62) (24) 8311523, 8311480
Fax. (62) (24) 8446905
Home Address : Jl. Suyudono 11 Semarang, Central Java, Indonesia 50246
Phone. (62) (24) 3554484

EDUCATIONAL BACKGROUND

1. Elementary school graduated in 1983
2. Junior High School 1986
3. Senior High School 1989
4. Diponegoro University, Faculty of Medicine 1996
(Medical Doctor)

WORKING EXPERIENCE

Lecture in Biology 1997-present

PROFESIONAL AFFILIATION AND OTHER ACTIVITIES

Member of Indonesian Medical Association
Member of Indonesian Andrology Association

NATIONAL AND INTERNATIONAL WORKSHOP AND CONFERENCE

1. International Post Graduate Course in Andrology, Bandung, 1997
2. Post Graduate Course Management of Male Infertility and Semen Analysis, Surabaya, 1999
3. Workshop on Hot Line AIDS, dr Kariadi Hospital, Semarang, 1999
4. Fragile X Mental Retardation, Autism and Related Disorder, 2002

LIST OF RESEARCH

1. Prostate Fluid Lekosite and Woman Orgasm in Infertile Couple (presented in International Post Graduate Course in Andrology, Bandung, 1997)
2. Prostate Fluid Lekosite in 929 Infertile Patients in Semarang (presented in International Post Graduate Course in Andrology, Bandung, 1997)
3. Effect of Traditional Medicine in Testostosterone and Lutenizing Hormon in a Man
4. Effect of Tribulus terrestris in Testostosterone , Lutenizing Hormon and Erection Performa in a Man

Achmad Zulfa Juniarto

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Daftar isi.....	iii
ABSTRAK.....	iv
I. PENDAHULUAN.....	1
1. LATAR BELAKANG.....	1
2. MASALAH PENELITIAN	2
3. TUJUAN PENELITIAN.....	3
4. MANFAAT PENELITIAN.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
1. INFERTILITAS.....	4
1.1. Definisi Infertilitas.....	4
1.2. Batasan Infertilitas.....	4
1.3. Etiologi.....	5
1.4. Insiden.....	7
2. PENGGUNAAN PASAK BUMI DAN PURWACENG.....	7
2.1. Riwayat Penggunaan Obat Tradisional.....	7
2.1.1. Pimpinella alpina.....	8
2.1.2. Eurycoma longifolia	10
2.2. Proses Pembentukan Spermatozoa.....	12
2.2.1. Spermatogenesis.....	12

2.2.2. Meiosis.....	14
2.2.3. Perkembangan Sel Spermatozoa Setelah Meiosis.....	15
2.2.4. Peranan Testosteron dalam Spermatogenesis.....	16
2.2.5. Pengaturan Produksi Testosteron dan Aktivitas Tubulus Seminiferus.....	19
2.2.6. Testis.....	22
2.2.7. Pematangan Spermatozoa dalam Epididimis.....	24
2.2.8. Penyimpanan Spermatozoa	25
2. 3. Landasan Empiris	25
2.4. Metode Pembacaan Sediaan Testis.....	26
3. KERANGKA TEORI.....	28
III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	29
1. KERANGKA KONSEP.....	29
2. HIPOTESIS PENELITIAN.....	29
2.1 Asumsi.....	29
2.2 Hipotesis Kerja.....	30
IV. METODOLOGI PENELITIAN	31
1. RANCANGAN PENELITIAN.....	31
2. POPULASI, SAMPEL, DAN BESAR SAMPEL.....	31
3. VARIABEL PENELITIAN.....	32
4. BAHAN PENELITIAN.....	34
5. ALAT PENELITIAN.....	34
6. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN.....	35

7. CARA PENELITIAN.....	35
7.1. Prosedur Ekstraksi.....	37
7.2. Prosedur Pembuatan Larutan Bouin.....	38
7.3. Prosedur Pembacaan Sediaan Testis.....	38
7.4. Prosedur Penghitungan Jumlah Spermatozoa.....	39
7.5. Prosedur Penghitungan Motilitas Spermatozoa.....	39
8. ANALISA DATA.....	40
V. HASIL DAN ANALISA.....	41
1. HASIL DAN PERHITUNGAN STATISTIK.....	41
1.1. Pemeriksaan Jumlah Spermatozoa dalam Duktus Deferen.....	44
1.2. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa dalam Duktus Deferen.....	45
1.3. Pemeriksaan Sediaan Testis.....	45
2. GAMBAR HASIL PENELITIAN.....	48
VI. PEMBAHASAN.....	53
1. PEMERIKSAAN JUMLAH SPERMATOZOA DALAM DUKTUS DEFFEREN.....	53
2. PEMERIKSAAN MOTILITAS SPERMATOZOA DALAM DUKTUS DEFFEREN.....	54
3. PEMERIKSAAN HISTOLOGI TESTIS.....	55
4. PEMBAHASAN UMUM.....	56
VII. SIMPULAN DAN SARAN.....	60
A. SIMPULAN.....	60
B. SARAN.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61

PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK EURYCOMA LONGIFOLIA DAN PIMPINELLA ALPINA PADA SPERMATOGENESIS TIKUS SPRAQUE DAWLY

ABSTRAK

Latar Belakang : Infertilitas adalah ketidakmampuan pasangan untuk hamil dan melahirkan, setelah satu tahun bersenggama secara teratur tanpa alat kontrasepsi. Berdasarkan hasil penelitian, 10%-15% dari pasangan mengalami kemandulan dan dari jumlah kasus tersebut 40%-50% penyebabnya adalah kelainan pada pria. Alternatif pengobatan untuk mengatasi permasalahan ini adalah dengan menggunakan ramuan dari tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat. Tanaman yang sering digunakan adalah Pasak Bumi dan Purwaceng. Pada beberapa penelitian pasak bumi dan purwoceng dapat meningkatkan kadar hormon testosteron, *Luteinizing hormon* dan *Follicle Stimulating Hormon* pada hewan coba. Hasil ini memungkinkan pasak bumi dan purwaceng dapat digunakan untuk kepentingan yang lebih luas lagi yaitu untuk menambah / meningkatkan spermatogenesis. Peningkatan spermatogenesis dapat menolong pasangan infertilitas dalam usahanya untuk memperoleh keturunan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari sejauh mana pemberian ekstrak *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* berpengaruh terhadap peningkatan derajat spermatogenesis dan jumlah sperma pada tikus putih jantan Spraque Dawly.

Metode : Tigapuluh ekor tikus putih jantan, umur 40 hari dengan berat badan rata-rata 200 gram dibagi menjadi 10 kelompok (blok)secara acak. Tiap-tiap blok terdiri dari 3 ekor tikus. Setiap tikus dimasukkan ke dalam kandang individual . Makanan yang diberikan secara ad libitum.Masing-masing blok diberikan perlakuan ekstraksi *Pimpinella alpina* sebanyak 25 mg, ekstrak akar *Eurycoma longifolia* Jack sebanyak 25 mg dan akuades sebagai kontrol. Semua perlakuan tersebut diberikan tiap pagi selama 53 hari berturut-turut, kemudian diperiksa testis dan epididimisnya.

Hasil : Dari hasil penelitian dan analisis yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Purwaceng maupun Pasak Bumi memberikan hasil yang bermakna terhadap peningkatan jumlah, motilitas spermatozoa serta derajat spermatogenesis tikus bila dibandingkan dengan kontrol($P < 0,01$). Sedangkan pada pemberian Purwaceng tidak memberikan perbedaan yang bermakna apabila dibandingkan dengan pemberian ekstrak Pasak Bumi ($P > 0,01$)

Simpulan : Ekstrak *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* dapat meningkatkan derajat spermatogenesis dalam testis, jumlah maupun motilitas spermatozoa tikus dibandingkan dengan kontrol.

DIFFERENCE OF INFLUENCE OF GIVING EURYCOMA LONGIFOLIA AND PIMPINELLA ALPINA EXTRACT AT SPRAQUE DAWLY SPERMATOGENESIS

ABSTRACT

Background: Infertility is disability of couple to be pregnant and bear, after one year of coitus regularly without contraception. Pursuant to result of research, 10%-15% from natural couple [of] bareness and from amount of the case 40%-50% its cause [is] disparity [at] man. Medication alternative to overcome these problems by using ingredient of flora which is useful. Crop which is often used is Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*) and Purwaceng (*Pimpinella alpina*). At some research of Pasak Bumi and Purwaceng can improve hormone rate of testosterone, Luteinizing Hormone and Follicle Stimulating Hormone at animal try. These results enable Pasak Bumi and purwaceng can be used for broader purpose that is to add / to improving spermatogenesis. Rising-Up of spermatogenesis can help couple of infertility in its effort to obtain clan. Intention of this research is to study how far giving of extract of *Pimpinella alpina* and *Eurycoma longifolia* have an effect on to make-up of motility and amount of sperm at white male mouse Spraque Dawly

Method : Thirtieth of white male mouse , age 40 day , mean body weighing 200 gram divided to become 10 group (block) at random. Every block consists of 3 mice. Each mouse entered into individual cage. Given food ad libitum. Each block is given of *Pimpinella alpina* extracts counted 25 mg, extract of *Eurycoma longifolia* Jack counted 25 mg and plan water as control. All the treatment given every morning during 53 day successively then checked the testis and epididimis.

Result : From result of analysis and research which have indicated that giving of extract of Purwaceng and also Pasak Bumi give result of having a meaning to make-up of amount, motility of spermatozoa and also degree of mouse spermatogenesis compared to control ($P < 0,01$). While giving of Purwaceng do not give difference meaning if compared to extract of Pasak Bumi

Conclusion: Extract of *Pimpinella alpina* and *Eurycoma longifolia* can improve degree of spermatogenesis in testis, amount of and also mouse motility spermatozoa compared to controle

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Masalah

Bangsa Indonesia sejak dahulu kala sudah mengenal cara-cara pengobatan tradisional sebagai usaha menanggulangi berbagai macam penyakit. Pengobatan tersebut pada umumnya menggunakan bahan-bahan yang diambil dari alam terutama tumbuh-tumbuhan. Pada awalnya obat-obat tradisional tersebut diramu secara sederhana dan mudah dikerjakan.

Pewarisan karya pengobatan tradisional dari nenek moyang kepada generasi penerusnya sudah dilakukan sejak ratusan tahun yang lalu. Bangsa Indonesia sejak dahulu sampai sekarang sekalipun telah mengenal obat-obat modern, tetapi tetap percaya akan khasiat obat-obatan tradisional. Terlebih pada masa krisis sekarang ini, kebutuhan akan obat tradisional semakin diperlukan oleh karena harganya relatif terjangkau.

Obat tradisional yang sering digunakan oleh laki-laki untuk meningkatkan kejantannya adalah akar Purwaceng dan Pasak Bumi. Mitos yang berkembang menyebutkan bahwa akar tumbuhan ini dapat membuat ereksi menjadi lebih kuat dan lama. Penggunaan tanaman tersebut adalah dengan meminum air rebusannya setiap hari selama satu minggu¹. Sampai saat ini belum banyak penelitian ilmiah yang membuktikan khasiat ekstrak tanaman tersebut paling tidak di Indonesia.

Pada beberapa penelitian pasak bumi dan purwaceng dapat meningkatkan kadar hormon testosteron, *Luteinizing hormon* dan *Follicle Stimulating Hormon* pada hewan

coba. Hormon testosteron, LH dan FSH merupakan komponen hormon utama dari tubuh untuk merangsang testis memproduksi spermatozoa, sehingga dengan hasil ini memungkinkan pasak bumi dan purwaceng dapat digunakan untuk kepentingan yang lebih luas lagi yaitu untuk menambah / meningkatkan spermatogenesis. Peningkatan spermatogenesis dapat menolong pasangan infertilitas dalam usahanya untuk memperoleh keturunan.

Infertilitas adalah ketidakmampuan pasangan untuk hamil dan melahirkan, setelah satu tahun bersenggama secara teratur tanpa alat kontrasepsi.² Berdasarkan hasil penelitian, 10%-15% dari pasangan mengalami kemandulan dan dari jumlah kasus tersebut 40%-50% penyebabnya adalah kelainan pada pria.² Dalam penanganan kasus infertilitas, ilmu kedokteran di Indonesia baru berhasil menolong tidak lebih dari 50% pasangan infertil untuk memperoleh anak yang diinginkannya. Ini berarti separuhnya terpaksa menempuh hidup tanpa anak, mengangkat anak (adopsi), poligami, atau bercerai.³ Dengan demikian dapat dikatakan infertilitas dapat mengganggu keharmonisan keluarga.

Jadi sangatlah menarik disini untuk dilakukan penelitian pendahuluan guna melihat kebenaran khasiatnya, seperti apa yang dipercayai oleh masyarakat kita terhadap ramuan obat tersebut. Selain itu dalam bidang studi dapat digunakan sebagai dasar pengembangan obat tersebut selanjutnya.

2. Masalah Penelitian

Pada penelitian ini yang menjadi permasalahan adalah apakah ekstrak *Pimpinella alpina* (Purwaceng) dan *Eurycoma longifolia* (Pasak Bumi) dapat mempengaruhi derajat spermatogenesis, jumlah dan motilitas spermatozoa pada tikus jantan *Sprague-Dawley*.

3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sejauh mana pemberian ekstrak *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* berpengaruh terhadap peningkatan derajat spermatogenesis, jumlah dan motilitas spermatozoa pada tikus putih jantan, melalui pemeriksaan spermatogenesis pada testis serta jumlah dan motilitas spermatozoa di epididimis dan duktus deferens tikus.

4. Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk :

- a. Memberikan dasar ilmiah penggunaan ekstrak *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* dalam peningkatan produksi sperma
- b. Memberikan alternatif pengobatan gangguan infertilitas dengan obat yang harganya lebih terjangkau

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. INFERTILITAS

1.1 Definisi Infertilitas

Secara umum Infertilitas (kesuburan) didefinisikan sebagai ketidakmampuan pasangan untuk hamil atau melahirkan, setelah satu tahun bersenggama secara teratur tanpa alat kontrasepsi^{2,3}. Laki laki dikatakan tidak subur apabila jumlah sperma tozoanya kurang dari 20 juta/ml, motilitas spermatozoanya kurang dari 50%.^{2,3}

Infertilitas dibagi menjadi dua macam yaitu^{2,3} :

- a) Infertilitas primer yaitu suatu keadaan apabila dalam perkawinan sama sekali belum pernah mempunyai anak, setelah senggama secara teratur tanpa alat kontrasepsi selama 1 tahun, sehingga pada kasus dimana pasangan suami istri dengan satu / lain hal terpaksa tidak bisa melakukan senggama secara teratur dan kontinu, tidak bisa digolongkan dalam infertilitas primer.
- b) Infertilitas sekunder yaitu suatu keadaan apabila pasangan pernah mempunyai anak sebelumnya kemudian tidak mempunyai anak lagi.

1.2 Batasan Fertilitas

Beberapa pihak menyatakan bahwa pria dikatakan fertil apabila jumlah spermanya lebih dari 20 juta / ml. Kriteria fertilitas ini sering berubah – ubah sehingga hal terpenting untuk menentukan kesuburan pria adalah jumlah spermatozoa dengan motilitas yang baik.

1.3 Etiologi

Dari sejumlah penelitian menyatakan bahwa sekitar 40% pria bertanggung jawab atas kasus infertilitas. Adapun etiologi yang mempengaruhi antara lain :

A. Infeksi

Infeksi yang sering dijumpai adalah orchitis.

B. Kelainan anatomi dan organ

Contohnya : *undescensus testiculorum*, *hypoplasia kongenital*, *kriptorkismus*, *hypospadia*.

C. *Varicocele*

Merupakan varikosis dari vena – vena *plexus pampiniformis*, yang membentuk benjolan seperti kantung cacing, tampak kebiruan dibawah kulit. Pada *varicocele* disertai nyeri dan tarikan yang menetap pada scrotum. Sehingga mengganggu sirkulasi darah di daerah tersebut, akibatnya terjadi kenaikan suhu testis, yang akhirnya dapat menghambat spermatogenesis. Dapat juga menyebabkan menurunnya motilitas spermatozoa.

D. Obat –obatan

- a. Dalam dosis yang tinggi, obat – obatan sebagai berikut dapat mempengaruhi kualitas sperma : *eritromycin*, *cymetidin*, *gentamycin*, *nitrofurantoin*, maupun kemoterapi.
- b. Macam jenis narkotika, diduga dapat menutup reseptor hormon gonadotropin sehingga menghambat spermatogenesis. Contoh: opium, morfin, heroin.

E. Suhu (Hipertermi)

Yaitu peningkatan suhu pada testis, yang dapat menghambat spermatogenesis dan akan menyebabkan degenerasi sebagian besar sel-sel *tubulus seminiferus* disamping spermatogonia.

F. Kelainan metabolisme hormon

1. Diabetes Melitus
2. Kelainan kelenjar tyroid
3. Hypogonadisme

G. Abnormalitas kromosom

Dijumpai pada *syndroma Klinenefelter*, dimana pertumbuhan genitalia normal, pertumbuhan seks sekunder hampir normal kadang dijumpai *ginekomastia* Pada *syndroma klinefelter* didapati genotipe *XXY*, *XXXY*, *XXXXY*, *XXYY* atau mozaik. Penderita mandul oleh karena *tubulus semineferus* mengalami hialinasi.

H. Tindakan medis

Contoh : post prostatektomi, post vasektomi.

I. Keganasan prostat, pada hipertrofi prostat.

J. Faktor imunologi

K. Gangguan peredaran darah dan syaraf.

L. Trauma pada torsio testis. Pada kasus ini saluran – saluran dalam testis tidak dapat menyalurkan sel sperma, sehingga dapat merusak morfologi spermatozoa.

M. Faktor – faktor lain

- a. Kebiasaan merokok; Menurut penelitian ahli bahwa nikotin dapat menurunkan jumlah, bentuk, dan kematangan dari sperma. Bahkan dapat menyebabkan atrofi testis.
- b. Psikologis; Ditemukan korelasi antara kenaikan kadar prolaktin dan kadar LH dengan masalah psikis. Kecemasan akan mengacaukan kadar LH, sementara kesedihan akan meningkatkan prolaktin yang efeknya akan menghambat LH pada proses spermatogenesis.

N. *Idiopathic Infertility*

Merupakan faktor – faktor penyebab yang tidak dapat diidentifikasi, dan dapat menyebabkan kerusakan pada proses pembentukan sperma.

1.4 Insiden

Banyaknya pasien infertil di Indonesia dapat diperhitungkan dengan banyaknya wanita yang pernah kawin dan tidak punya anak, yang masih hidup. Menurut sensus penduduk terdapat 12% pasangan infertil di Indonesia, baik yang ada di desa maupun di kota (kira-kira 3 juta pasangan). Sementara itu 50% pasangan yang dapat ditolong, sementara sisanya terpaksa hidup dengan tidak memiliki keturunan, mengadopsi anak, poligami dan bercerai^{2,3}.

2. PENGGUNAAN PASAK BUMI DAN PURWACENG

2.1 Riwayat Penggunaan Obat Tradisional.¹

Menurut tradisi atau dongeng rakyat, pengobatan tradisional dikembangkan lebih mantap berkat lahirnya kerajaan-kerajaan, khususnya untuk melayani raja-raja yang mempunyai banyak selir. Seorang raja yang ingin berhubungan dengan permaisuri atau

para selirnya yang jumlahnya banyak, dibutuhkan kondisi badan yang prima. Pengobatan tradisional disini yang dimaksud adalah obat yang dibuat dari bahan atau paduan bahan yang diperoleh dari tanaman, hewan atau mineral yang belum berupa zat murni. Pengobatan tradisional tersebut dahulu dikembangkan berdasarkan pengalaman dengan cara coba-coba. Pengembangan dengan cara ini hampir dilakukan oleh penduduk primitif di seluruh dunia.

Banyak sekali obat tradisional yang sudah dikenal di Indonesia antara lain temulawak (*Curcuma xanthoriza roxb*) yang digunakan sebagai obat penyakit kuning. Temulawak ini dalam pengobatan modern juga telah dikembangkan pemakaiannya. Contoh lain penggunaan obat tradisional adalah penggunaan kunir (*Curcuma domestica val*) sebagai obat untuk mengatasi berak darah. Kunir ini juga telah dikembangkan secara modern.

2.1.1 *Pimpinella alpina*

Tanaman ini mempunyai beberapa nama sesuai daerahnya. Nama tersebut antara lain :

- Antanan Gunung
- Gebongan Depok
- Purwaceng
- Rumput Dempo
- Suripandak Abang

Penggolongan tanaman ini adalah :

- Divisi : *Spermatophyta*



- Sub Divisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dicotyledoneae*
- Bangsa : *Umbelliflorae*
- Suku : *Umbelliferae*
- Marga : *Pimpinella*
- Jenis : *Pimpinella alpina (pruatjan)*

Tanaman purwaceng mempunyai ciri-ciri fisik berupa tumbuhan semak, batang semu bulat, hijau pucat, daun majemuk bentuk seperti jantung, panjang kira-kira 3 cm dengan lebar 2,5 cm, tepi bergerigi, ujung tumpul, pangkal bertoreh. Panjang tangkai kira-kira 5 cm warna hijau kecoklatan dengan pertulangan menyirip. Bunga majemuk bentuk seperti payung, tangkai silindris, panjang kurang dari 2 cm, kelopak bentuk tabung warna hijau, benang sari putih, putik bulat hijau dengan mahkota berambut coklat. Buah lonjong kecil, hijau dengan biji lonjong kecil berwarna coklat. Akar tunggang berwarna putih.

Penggunaan *Pimpinella alpina* (Purwaceng) sebagai obat telah dikenal sejak dahulu. Pada zaman kerajaan Mataram dulu, beberapa bangsawan kerajaan menyuruh abdi dalemnya untuk mencari Purwaceng. *Pimpinella alpina* tumbuh di dataran tinggi yang banyak mendapat sinar matahari (1800-3300 m dpl). Di Jawa Tengah banyak ditemukan di daerah dataran tinggi Dieng dan di daerah lereng Gunung lawu.^{1,4}

Efek farmakologi *Pimpinella alpina* belum banyak diketahui. Tetapi dari hasil penelitian, *Pimpinella alpina* mempunyai efek farmakologis antara lain⁵ :

- 1) mempertinggi aktivitas motorik dan sensibilitas

- 2) mempertinggi tonus pada otot lurik, dalam dosis besar peningkatan tonus dapat sampai terjadi konvulsi
- 3) stimulasi susunan saraf pusat dengan titik tangkap kerja pada medula oblongata
- 4) peningkatan tingkah laku seksual

Jenis *Pimpinella* lain yang terdapat di daratan Eropa seperti *Pimpinella anisum* mempunyai efek farmakologik sebagai perangsang, antispasmodik, ekspektoransia, sudorifik dan aromatik.

2.1.2 *Eurycoma longifolia*

Eurycoma longifolia merupakan tanaman yang sangat terkenal di Indonesia.

Beberapa nama diberikan kepada tanaman ini antara lain :

- Babi kurus
- Bidara Laut
- Bidara Putih
- Kebel
- Mempoleh
- Tungke Ali
- Pasak Bumi

Penggolongan tanaman ini adalah :

- Divisi : *Spermatophyta*
- Sub Divisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dycotyledoneae*
- Bangsa : *Geraniales*



- Suku : *Simarubaceae*
- Marga : *Eurycoma*
- Jenis : *Eurycoma longifolia Jack*

Eurycoma longifolia dipercaya dapat meningkatkan daya vitalitas tubuh sebagai obat kuat laki-laki. Pohon pasak bumi bentuknya indah, tingginya kurang lebih 6 meter, banyak tumbuh di hutan Sumatera dan Kalimantan. Pasak bumi tidak dijumpai di pulau Jawa. Ia disebut pasak bumi karena akar tunggangnya berbentuk kerucut, makin ke ujung makin kecil, nampak seperti pasak yang ditancapkan ke bumi. Seperti *Pimpinella alpina*, pasak bumi juga mengandung saponin, sitosterol dan stigmasterol, sering digunakan sebagai tonikum, obat sakit perut, anti demam, menurunkan kadar kolesterol. Di samping itu pasak bumi juga memiliki efek androgenik yang sama dengan efek metiltestosteron dimana pada penelitian menunjukkan adanya korelasi antara efek afrodisiak dan kadar testosteron dalam darah ^{6,7,8}.

Pada tumbuhan seperti Purwaceng dan Pasak Bumi ditemukan senyawa dengan struktur steroid seperti sterol dan saponin. Sterol adalah suatu steroid alkohol. Senyawa ini mengandung gugus hidroksi dengan posisi β pada atom C-3 dan mempunyai satu atau lebih ikatan rangkap pada cincin B dan rantai samping dan tidak mempunyai gugus yang bersifat asam, seperti karboksil atau karbonil. Sterol yang terpenting pada hewan dan manusia adalah kolesterol. Pada tumbuh-tumbuhan dan mikroorganisme dijumpai sterol yang banyak macamnya dan serupa seperti ergosterol, β -sitosterol dan stigmasterol ⁹. Pasak Bumi dan Purwaceng juga mempunyai kandungan kimia *eurikomolakton amarolinda* yang dipercaya dapat meningkatkan libido dan mempunyai efek androgenik

Perubahan dari kolesterol menjadi hormon steroid, walaupun secara kuantitatif sedikit, tetapi secara fisiologik cukup besar artinya. Perubahan ini menghasilkan sekelompok sinyal yang lipofilik. Senyawa ini mengatur metabolisme, pertumbuhan dan reproduksi.

Hormon steroid pada makhluk bertulang belakang adalah testosteron, progesteron, kortisol, aldosteron, estradiol dan kalsitriol. Steroid ini sebagian besar hanya mengandung satu rantai samping pendek yang mempunyai dua atom karbon atau tidak ada sama sekali. Ciri khasnya adalah gugus keto/okso pada atom C-3 dan ikatan rangkap yang terkonjugasi pada atom C-4 atau C-5 pada cincin A.

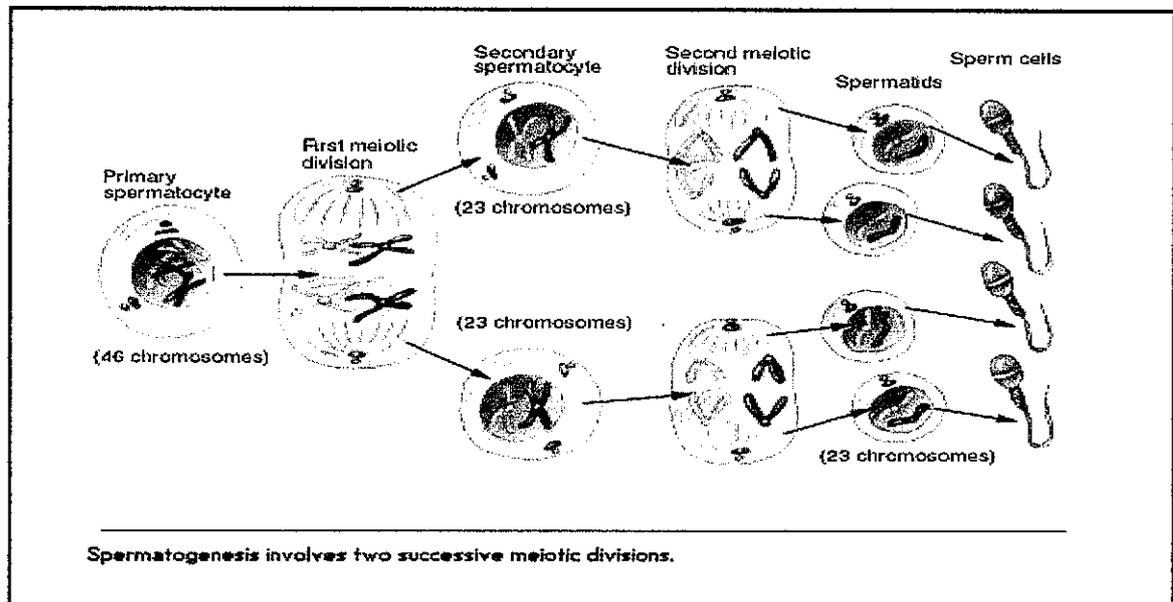
2.2 Proses Pembentukan Spermatozoa

Pimpinella alpina dan *Eurycoma longifolia* dapat meningkatkan kadar hormon LH (*Luteinizing Hormone*), FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan testosteron pada penelitian tikus¹⁰. Hasil ini dimungkinkan dapat pula mempengaruhi proses spermatogenesisnya.

2.2.1 Spermatogenesis

Tubulus seminiferus yang terdiri atas sejumlah besar sel epitel germinal yang disebut spermatogonia, terletak dalam dua sampai tiga lapisan sepanjang batas luar dari epitel tubulus. Spermatogonia terus menerus berproliferasi untuk memperbanyak diri dan sebagian spermatogonia berdiferensiasi melalui tahap-tahap perkembangan tertentu untuk membentuk spermatozoa.^{11,12,13}

Gambar tahap perkembangan spermatozoa



Sumber : *Essential Study Partner Anatomy & Physiology*

Pada tahap pertama spermatogenesis, spermatogonia primitif berkumpul di tepi membran basal dari epitel germinativum, ini disebut sebagai *Spermatogonia tipe A*, membelah empat kali untuk membentuk 16 sel yang sedikit lebih berdiferensiasi yaitu *spermatogonia tipe B*.

Pada tahap ini spermatogonia bermigrasi ke arah sentral diantara sel-sel sertoli. Sel sertoli merupakan sel yang sangat besar dengan pembungkus sitoplasma yang berlebihan yang meluas dari lapisan sel spermatogonia sampai ke bagian tengah lumen dari tubulus. Sel sertoli mempunyai membran yang sangat kuat berlekatan satu sama lain pada bagian dasar dan bagian sisi, membentuk suatu lapisan pertahanan yang mencegah penetrasi pada kapiler-kapiler yang mengelilingi tubulus dari molekul-molekul protein yang besar seperti immunoglobulin yang dapat mengganggu perkembangan lanjut dari

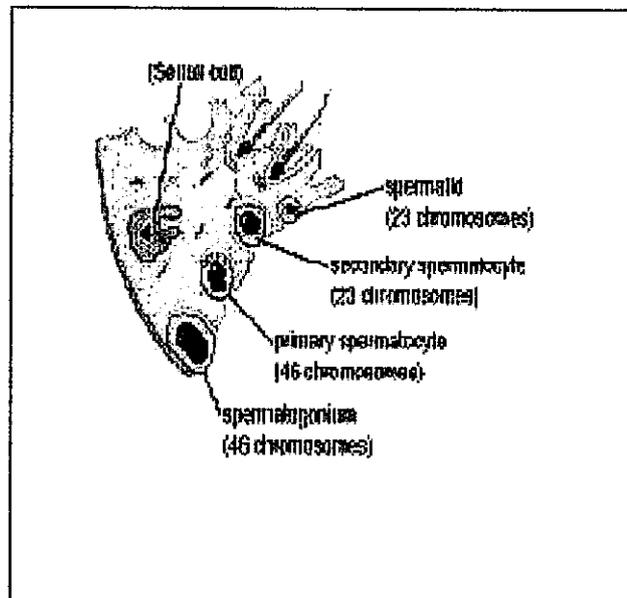
spermatogonia menjadi spermatozoa. Spermatogonia yang sudah dipersiapkan untuk menjadi spermatozoa menembus lapisan pertahanan ini dan terbungkus di dalam prosesus-prosesus sitoplasma sel sertoli yang berlipat kedalam. Hubungan yang erat dengan sel sertoli ini terus berlanjut diseluruh sisa perkembangan spermatozoa.

2.2.2 Meiosis

Dalam waktu sekitar 24 hari, setiap spermatogonium yang melewati lapisan pertahanan masuk ke dalam sel sertoli dimodifikasi secara berangsur-angsur dan membesar untuk membentuk suatu spermatosit primer yang besar. Pada akhir hari ke 24, spermatosit primer membelah menjadi dua menjadi spermatosit sekunder. Proses ini disebut pembelahan meiosis pertama. Pada tahap awal dari proses ini setiap DNA di dalam 46 kromosom menggandakan diri, sehingga masing-masing 46 kromosom menjadi 2 kromatid yang tetap berikatan bersama pada sentromer. Kedua kromatid memiliki gen-gen duplikat dari kromosom tersebut. Pada waktu ini spermatosit pertama terbagi menjadi dua spermatosit sekunder, yang setiap pasang kromosom berpisah sehingga 23 kromosom, yang masing-masing memiliki 2 kromatid, pergi ke salah satu spermatosit sekunder dan 23 kromosom yang lain pergi ke spermatosit sekunder satunya. Dalam 2 sampai 3 hari, terjadi proses meiosis kedua, dimana kedua kromatid dari setiap 23 kromosom berpisah pada sentromer, membentuk 2 pasang kromosom, satu pasang dibawa ke satu spermatid dan satu pasang yang lain dibawa ke spermatid yang lain.

Tujuan dari kedua pembagian ini adalah bahwa setiap spermatid yang dibentuk akhirnya hanya membawa 23 kromosom yang merupakan setengah dari gen-gen spermatogonium yang pertama.^{12,13}

Gambar perkembangan spermatozoa dalam sel sertoli



Sumber : *Essential Study Partner Anatomy & Physiology*

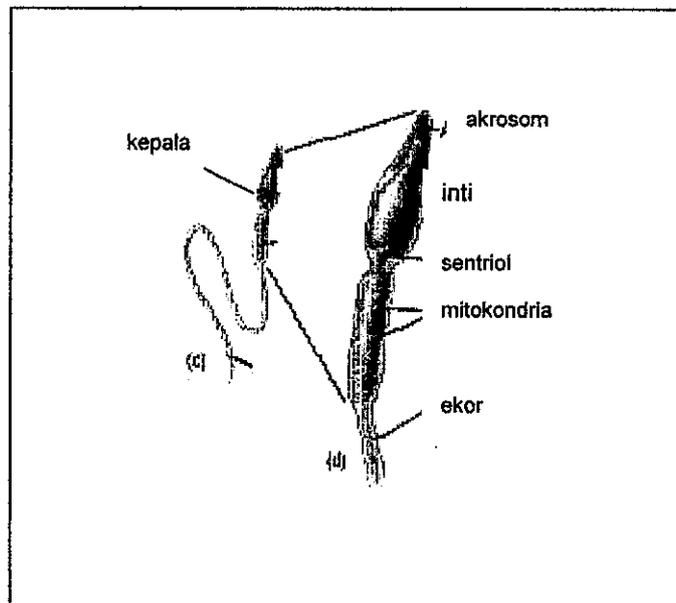
2.2.3 Perkembangan sel spermatozoa setelah meiosis

Selama beberapa minggu setelah meiosis, setiap spermatid dengan bantuan sel sertoli melakukan pembentukan kelengkapan spermatozoa secara fisik sehingga merubah spermatid menjadi sebuah spermatozoa dengan cara-cara sebagai berikut :

1. Menghilangkan sebagian besar sitoplasmanya
2. Mengatur kembali bentuk kromatin dari inti spermatid sehingga membentuk kepala yang padat
3. Mengumpulkan sisa sitoplasma dan membran sel pada salah satu ujung dari sel untuk membentuk ekor.

Semua tahap perubahan akhir dari spermatosit menjadi spermatozoa terjadi ketika spermatosit dan spermatid masih terbenam dalam sel-sel sertoli. Sel sertoli memelihara dan mengatur proses spermatogenesis dari sel germinal menjadi spermatozoa membutuhkan waktu kurang lebih 64 – 73 hari. ^{13,14}

Gambar spermatozoa



Sumber : *Essential Study Partner Anatomy & Physiology*

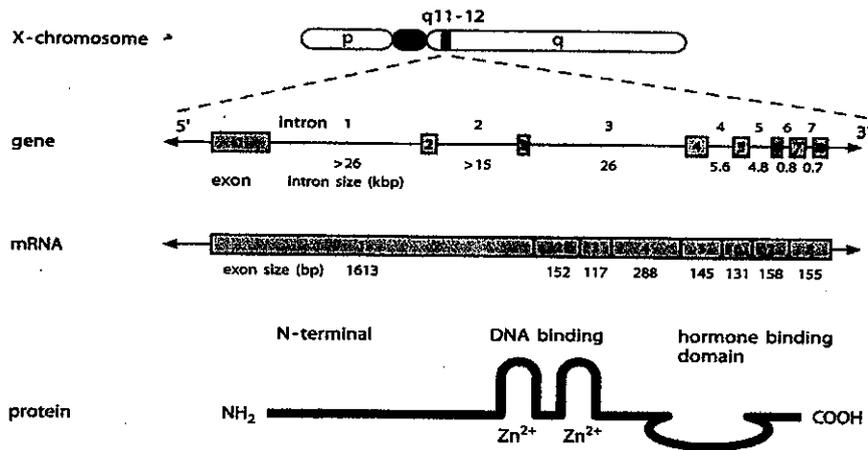
2.2.4 Peranan Testosteron dalam Spermatogenesis

Testosteron didistribusikan dalam plasma sebagian besar terikat oleh albumin maupun *Sex Hormon Binding Globulin* (SHBG). SHBG merupakan suatu β globulin yang terdiri dari subunit protein yang berbeda. Zat ini diproduksi didalam testis (sel sertoli) dan hati. SHBG mempunyai satu sisi pengikat androgen tiap molekulnya. ¹⁵

Pada laki-laki normal, hanya 2% dari total testosteron yang beredar secara bebas, sementara 44% terikat SHBG dan 54% terikat albumin. Rasio antara testosteron bebas dengan yang terikat SHBG tergantung dari kadar SHBG dalam plasma.

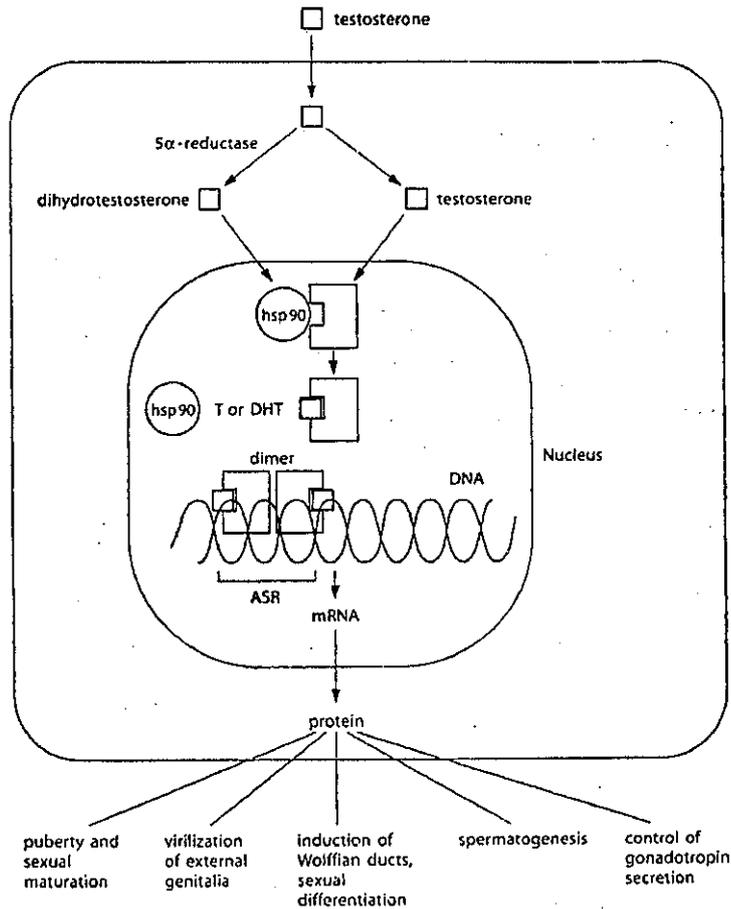
Testosteron dalam darah akan mengalami disosiasi dari protein pengikatnya terjadi di pembuluh kapiler dalam hal ini adalah SHBG sebagai protein pengikat yang dihasilkan oleh sel sertoli testis. Hal ini akibat interaksi antara protein pengikat androgen dengan glikokaliks dari endotel yang menyebabkan terjadinya perubahan sisi pengikat hormon (*hormonal binding site*) sehingga mengakibatkan terjadi perubahan afinitas testosteron dengan protein pengikatnya. Testosteron yang terlepas tersebut dapat masuk kedalam target organ (sel sertoli) secara pasif melalui proses difusi. Testosteron bebas tersebut kemudian mengalami perubahan menjadi produk yang lebih aktif yaitu dehidrotestosteron (DHT) atau dalam bentuk testosteron bebas. Perubahan testosteron menjadi dehidrotestosteron dikatalis oleh enzim *5 α -reductase*. Testosteron/DHT ini kemudian akan menyebabkan terlepasnya suatu protein tertentu (Hsp 90) dari reseptor androgen sehingga memungkinkan testosteron/DHT berikatan dengan reseptor androgen yang terdapat dalam sitoplasma sel sertoli. Kompleks reseptor-testosteron/DHT ini kemudian akan masuk kedalam inti sel dan berinteraksi dengan sekuens spesifik dari DNA sel sertoli. Penempelan ini akan menginduksi sintesa mRNA.

Gen reseptor androgen terletak pada kromosom X pada lengan q 11-12 dengan besar berkisar 90 *kbp*.¹⁵



sumber : *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction*

Reseptor testosteron ini terdiri dari 3 bagian utama yaitu N-terminal, bagian pengikat DNA dan bagian pengikat hormon. Sisi pengikat DNA mempunyai 2 jari seng dimana jari yang pertama berperan penting pada pengikatan secara spesifik reseptor androgen ke daerah spesifik DNA. Sedangkan jari yang kedua berfungsi sebagai penstabil ikatan reseptor – DNA tersebut. Resptor androgen baru dapat berinteraksi secara spesifik setelah membentuk homodimer yang terdiri dari 2 kompleks hormon yang identik. Komplek Testosteron/DHT-reseptor androgen-DNA bersama dengan RNA polimerase dan protein transkripsi basal akan menginisiasi proses sintesa protein yang pada akhirnya akan membentuk *androgen dependent protein*. Protein yang disintesa didalam sel sertoli ini dibutuhkan untuk proses pembelahan / meiosis dari spermatogonia. Adanya testosteron yang tinggi, akibat terikat oleh SHBG yang dihasilkan sel sertoli, merangsang pembelahan spermatogonia yang pada akhirnya akan meningkatkan spermatogenesis.



sumber : *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction*

Dalam testis, reseptor androgen tidak hanya terdapat dalam sel sertoli, tetapi juga pada sel-sel peritubular dan sel leydig.

2.2.5 Pengaturan Produksi Testosteron dan Aktivitas Tubulus Seminiferus

Konsentrasi fisiologis hormon di dalam darah dipertahankan oleh sejumlah mekanisme keseimbangan antara kelenjar penghasil hormon dan jaringan yang menjadi sasaran. Hormon GnRH yang disekresi oleh hipotalamus akan memacu sintesis dan sekresi LH dan FSH dari hipofisis anterior, selanjutnya hormon ini akan merangsang

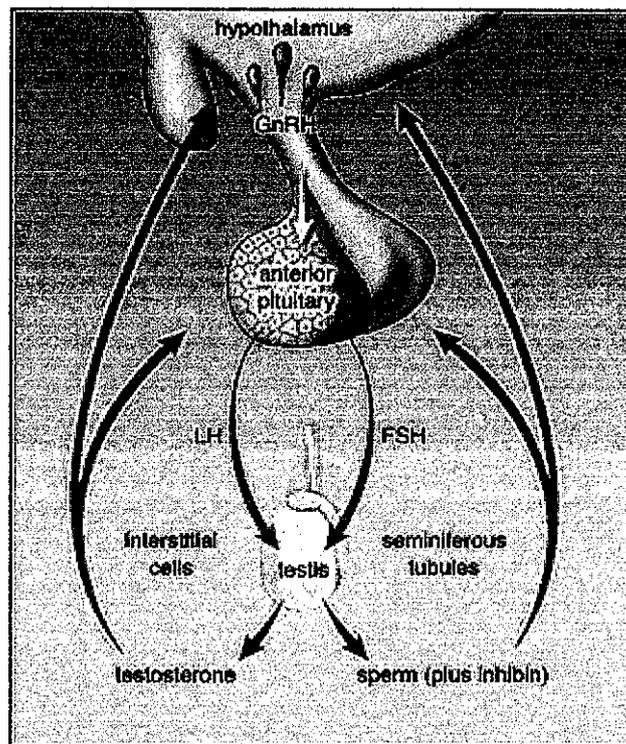
sintesis dan pelepasan hormon testosteron oleh sel leidig testis sebagai organ targetnya. Kadar hormon testosteron yang tinggi akan menghambat sistem tersebut dengan menurunkan sintesis dan sekresi LH dan FSH oleh hipofisis anterior dan penurunan LH mengakibatkan berkurangnya sintesis dan sekresi testosteron oleh sel leidig testis, mekanisme ini disebut umpan balik negatif lengkung panjang. Sebaliknya bila kadar testosteron sedikit, akan memacu sintesis dan sekresi GnRH oleh hipotalamus, kemudian memacu LH dan FSH oleh hipofisis anterior dan terakhir merangsang sintesis dan sekresi testosteron oleh sel leidig testis^{15,16,17}

Selain itu testosteron juga mempunyai efek umpan balik negatif yang lemah pada kelenjar hipofisis anterior, sebagai penguat pada umpan balik hipofisis anterior terhadap hipotalamus. Umpan balik ini secara khusus diduga menghentikan sintesis dan sekresi LH dan pada gilirannya akan menurunkan pula sekresi testosteron. Mekanisme ini disebut umpan balik negatif lengkung pendek, dan sebagai tambahan perlu diketahui bahwa testosteron yang dapat menimbulkan umpan balik ini adalah testosteron yang bebas, tidak terikat. Pemberian testosteron dari luar mempunyai pengaruh yang kecil terhadap penghambatan sekresi FSH, tetapi pemberian testosteron dalam dosis besar akan berdampak pada penekanan sekresi FSH pada pria

Selanjutnya pengaturan terhadap aktivitas tubulus seminiferus dapat diuraikan sebagai berikut: Apabila tubulus seminiferus gagal memproduksi spermatozoa, sekresi FSH oleh kelenjar hipofisis anterior akan meningkat dengan nyata. Sebaliknya bila spermatogenesis berjalan terlalu cepat, sekresi FSH berkurang. Penyebab umpan balik negatif pada hipofisis anterior ini dilakukan oleh inhibin. Inhibin ini mempunyai efek langsung yang kuat terhadap hipofisis anterior dalam menghambat sekresi GnRH,

sementara menurut penulis lain efek hambatan terhadap hipotalamus dalam menghambat sekresi FSH-RH belum diketahui. Menurut Alan G, sel sertoli juga menghasilkan aktivin yang mampu memacu pelepasan FSH dari hipofisis anterior. Aktivin ini secara struktural mirip dengan pengubah faktor pertumbuhan beta . Penurunan inhibin akibat rusaknya tubulus seminiferus menyebabkan peningkatan sekresi FSH, sedangkan konsentrasi fisiologis androgen mempunyai pengaruh yang kecil dalam menghambat sekresi FSH.

Gambar aksis hormon

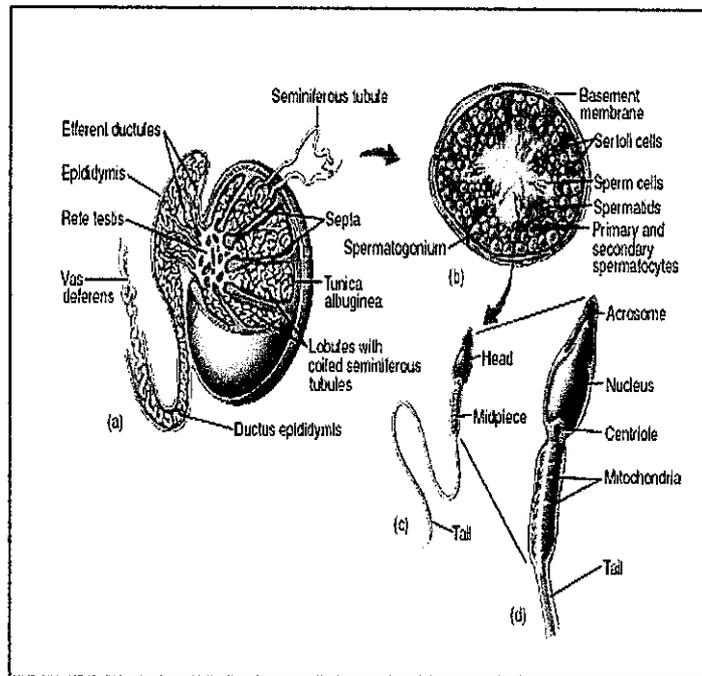


Sumber : *Essential Study Partner Anatomy & Physiology*

2.2.6 Testis

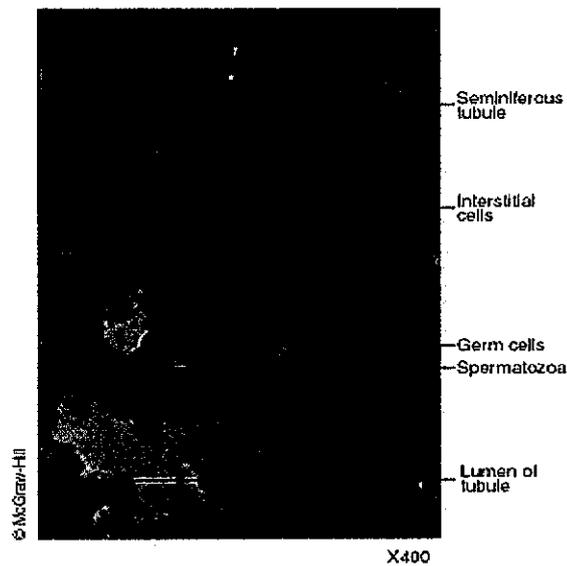
Testis merupakan massa yang ovoid yang terletak di dalam skrotum. Volume testis orang barat rata-rata 20 cc pada orang muda dan akan mengalami penurunan pada orang tua. Pada orang asia cenderung lebih kecil dengan panjang longitudinalnya sekitar 4,5-5,1 cm. Parenkim testis dikelilingi oleh kapsul yang mengandung pembuluh darah, otot polos, dan persarafan yang peka terhadap tekanan. Fungsi kapsul testis belum banyak diketahui tetapi kemungkinan berhubungan dengan perpindahan cairan keluar melalui rete testis atau mengontrol aliran darah ke testis. Testis terdiri dari tubulus seminiferus dan sel interstitial. Tubulus ini dipisahkan menjadi region-regio oleh septum. Tubulus seminiferus merupakan suatu tubulus yang panjang yang bermuara pada rete testis dan menempati 80 % volume testis. Tubulus ini berjalan menuju ke arah rete testis yang letaknya di superoposterior testis. Rete testis kemudian bersatu untuk membentuk 5-10 duktus efferens. Duktus efferens kemudian meninggalkan testis dan masuk ke dalam caput epididimis. Duktus efferens bersatu untuk membentuk satu saluran yang disebut epididimis.¹⁵

Gambar testis



Sumber : *Essential Study Partner Anatomy & Physiology*

Gambar tubulus seminiferus



Sumber : *Atlas Berwarna Histologi*

2.2.7 Pematangan Spermatozoa dalam Epididimis

Setelah terbentuk dalam tubulus seminiferus, spermatozoa membutuhkan waktu beberapa hari untuk melewati epididimis yang panjangnya sekitar 6 meter. Sperma yang bergerak dari tubulus seminiferus dan bagian awal dari epididimis adalah spermatozoa yang tidak motil. Akan tetapi setelah 18-24 jam berada di epididimis, sperma mempunyai kemampuan motilitas. Tetapi hal ini dihambat oleh beberapa faktor penghambat protein dalam cairan epididimis sampai terjadinya suatu ejakulasi.

Apabila terjadi ejakulasi sperma menjadi motil dan mampu untuk membuahi ovum. Keseluruhan kejadian ini adalah suatu proses pematangan. Sel-sel sertoli dan epididimis mensekresikan suatu cairan makanan yang khusus dikeluarkan bersama dengan spermatozoa. Cairan ini mengandung hormon testosteron dan estrogen, enzim-enzim dan nutrien khusus yang sangat diperlukan untuk pematangan spermatozoa.¹⁵

2.2.8 Penyimpanan Spermatozoa

Kedua testis dari seorang manusia dewasa muda dapat membentuk kira-kira 120 juta spermatozoa setiap harinya. Sejumlah kecil spermatozoa disimpan dalam epididimis, tetapi sebagian besar disimpan dalam vas deferens dan ampulla vas deferens. Sperma dapat tetap disimpan dan mempertahankan fertilitasnya dalam duktus genitalis untuk jangka waktu sekitar satu bulan. Selama waktu ini sperma disimpan dalam keadaan *inactive* oleh karena adanya faktor penghambat.¹⁵

1.3 Landasan Empiris

Pada penelitian yang dilakukan oleh Caropeboka yang mencoba untuk mengetahui pengaruh akar *Pimpinella alpina* terhadap susunan saraf pusat dengan menggunakan beberapa hewan coba, yaitu katak, tikus, kelinci dan ker. Dari penelitian tersebut dengan menggunakan ekstrak akar *Pimpinella alpina* 10 % peroral dan dengan disuntikkan, didapatkan hasil bahwa *Pimpinella alpina* mempunyai efek sebagai berikut^{5,6} :

- mempertinggi aktivitas motorik dan sensibilitas
- mempertinggi tonus otot-otot lurik, dalam dosis besar dapat menghasilkan konvulsi
- merupakan stimulasi susunan saraf pusat dengan titik tangkap pada medula oblongata
- meningkatkan tingkah laku seksual

Pada penelitian yang dilakukan oleh Leswara ND yang meneliti efek pasak bumi terhadap peningkatan kadar testosteron dalam darah 100 ekor anak ayam *leghorn*, didapatkan hasil bahwa kadar testosteron dalam darah anak ayam *leghorn* setelah pemberian infus batang dan akar pasak bumi lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Pada penimbangan berat testis didapatkan pada kelompok perlakuan terdapat peningkatan berat testis yang lebih bermakna daripada kelompok kontrol¹⁸. Penelitian M. Noordin Zain juga memperlihatkan efek yang sama dari *Eurycoma longifolia* dengan efek yang ditimbulkan oleh metiltestosteron melewati sistem hormonal dan dalam hal ini adalah efek androgenik .

Penelitian mengenai efek purwaceng dan pasak bumi terhadap spermatogenesis sampai penelitian ini dibuat, belum ditemukan.

2.4 Metode Pembacaan Preparat Testis.¹⁹

Berbagai cara pembacaan preparat sediaan testis yang sudah dikenal antara lain adalah kriteria :

1. Clermont, cara ini memerlukan jumlah sediaan yang banyak sehingga sulit untuk pemeriksaan rutin
2. Steinberger and Tjioe, cara ini membandingkan antara tiap individu dengan rata-rata standar
3. De Krefser, menghitung pada sediaan testis secara kualitatif
4. Johnson, menghitung secara kuantitatif

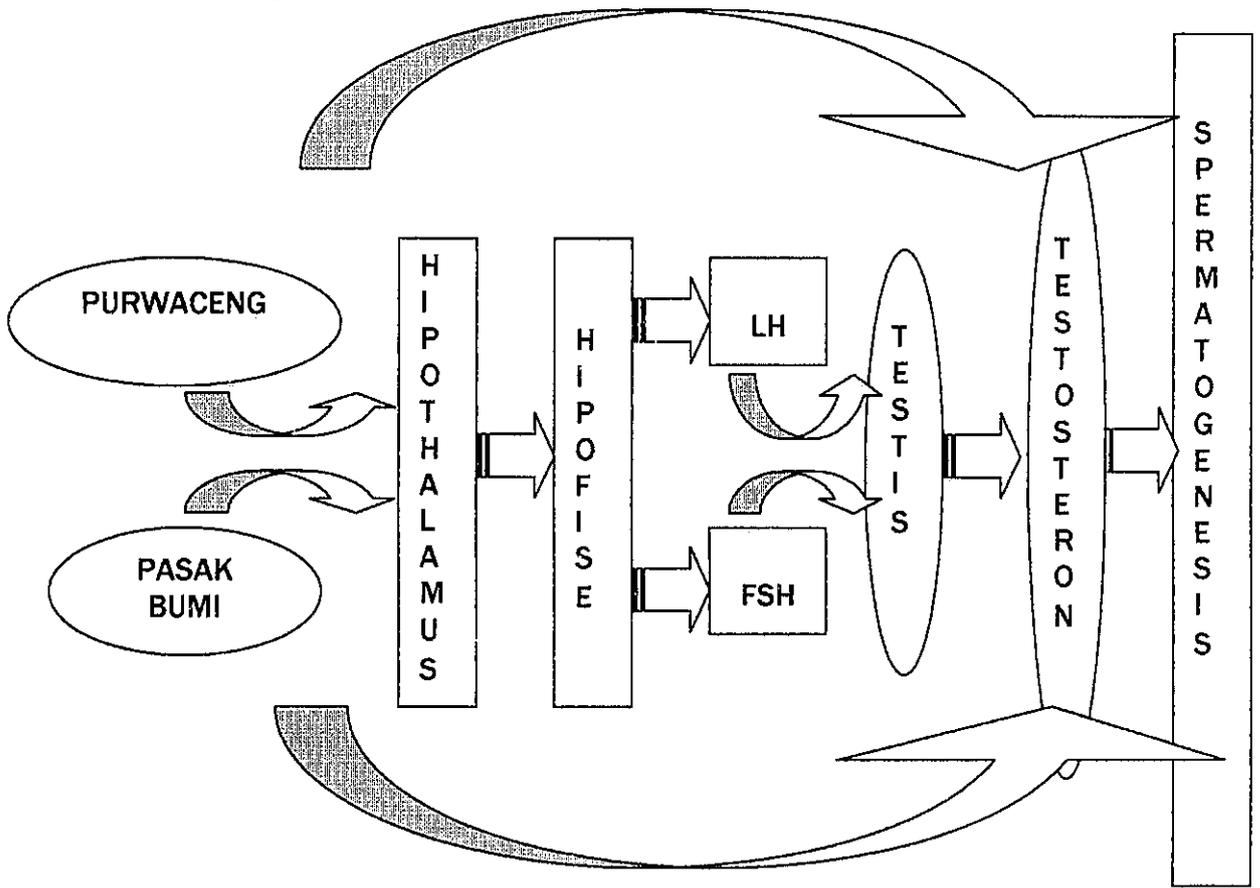
Pada kriteria Johnsen terdapat kriteria penilaian 1 sampai dengan 10, yaitu :

- 1) Nilai 10 : Kriteria spermatogenesis lengkap dan teratur dengan spermatozoa yang banyak dan epitel seminiferus normal. Lumen tubulus seminiferus terbuka
- 2) Nilai 9 : Spermatozoa banyak, tetapi epitel seminiferus tidak teratur. Tampak bagian epitel seminiferus yang lepas (*sloughing*). Lumen tubulus seminiferus tertutup
- 3) Nilai 8 : Jumlah spermatozoa dalam tubulus seminiferus kurang dari sepuluh
- 4) Nilai 7 : Tidak tampak spermatozoa dalam tubulus seminiferus, tetapi masih banyak spermatid
- 5) Nilai 6 : Tidak ada spermatozoa dan jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus kurang dari sepuluh

- 6) Nilai 5 : Tidak ada spermatozoa dan spermatid dalam tubulus tetapi masih banyak spermatosit
 - 7) Nilai 4 : Tidak ada spermatozoa dalam tubulus seminiferus dan jumlah spermatosit kurang dari lima
 - 8) Nilai 3 : Sel kelamin dalam tubulus hanya terdiri atas spermatogonia
 - 9) Nilai 2 : Dalam tubulus seminiferus tidak terdapat sel kelamin, hanya sel sertoli
 - 10) Nilai 1 : Dalam tubulus seminiferus tidak terdapat sel
5. Pemeriksaan diameter/ketebalan dinding tubulus seminiferus

Cara ini agak sederhana adalah dengan mengukur ketebalan dinding tubulus seminiferus dengan menggunakan micrometer obyektif

KERANGKA TEORI

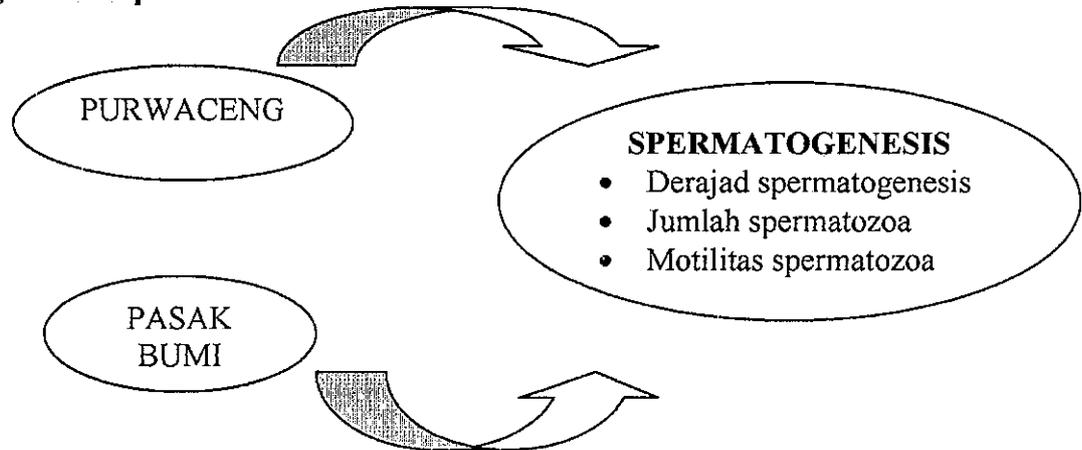


BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

PENELITIAN

1. Kerangka Konsep



2. Hipotesis Penelitian

2.1. Asumsi

Untuk menyusun hipotesis penelitian ini, sebelumnya perlu diajukan beberapa premis sebagai berikut :

- a. Testosteron yang dihasilkan oleh sel leydig testis (testosteron endogen) mempunyai peran yang sangat penting terhadap spermatogenesis dengan suatu mekanisme tertentu. Dalam kenyataan sehari-hari banyak orang dengan keluhan berkurangnya kejantanan dan kemandulan, berupaya untuk mengatasi problem tersebut dengan berbagai cara diantaranya mengkonsumsi ekstrak akar *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia*

- b. Hasil penelitian terdahulu, *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* dapat meningkatkan kadar LH, FSH dan Testosteron sehingga diperkirakan juga dapat meningkatkan spermatogenesis.
- c. Dalam ekstrak akar *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* mengandung zat kimia sterol, yang secara biokimiawi dapat berpotensi atau dikonversi menjadi testosteron, selain itu ekstrak akar *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* juga mempunyai efek rangsangan terhadap susunan saraf pusat
- d. Pemberian ekstrak *Pimpinella alpina* dalam dosis besar pada hewan coba dapat menimbulkan kekejangan dan kematian
- e. Biosintesis dan sekresi testosteron serta spermatogenesis oleh testis diatur oleh poros hipotalamus, hipofisis anterior dan testis, yang lebih spesifik lagi adalah bahwa spermatogenesis sangat dipengaruhi oleh testosteron endogen daripada testosteron eksogen

Dari premis-premis tersebut dapat diasumsikan bahwa pemberian ekstrak akar *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* dengan dosis tertentu dapat mempengaruhi poros hipotalamus, hipofisis anterior dan testis, yang pada akhirnya akan meningkatkan spermatogenesis.

2.2 Hipotesis Kerja

Berdasarkan asumsi yang telah disampaikan di atas, dapat disusun hipotesis sebagai berikut : ekstrak akar *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* meningkatkan jumlah dan motilitas spermatozoa serta derajat spermatogenesis tikus jantan *Sprague Dawly*

BAB IV

METODE PENELITIAN

1. Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini adalah jenis penelitian eksperimental murni dimana kelompok perlakuannya diberi *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia Jack*. Faktor-faktor luar yang berpengaruh terhadap organ spermatogenesis dikendalikan. Rancangan penelitian menggunakan rancangan *Experimental Randomized Post Test Only Control Group Design*.

2. Populasi, Sampel dan Besar Sampel

Dalam penelitian ini digunakan populasi tikus putih jantan strain Sprague-Dawly usia 40 hari dengan berat rata-rata 200 gram sebanyak 30 ekor, yang diperoleh dari UPHP Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Besar sampel ini ditetapkan dengan menggunakan rumus :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

t = jumlah perlakuan

n = besar ulangan

dari rumus di atas didapatkan $(3-1)(n-1) \geq 15$, $n-1 \geq 7,5$, $n \geq 8,5$

Jadi jumlah sampel minimal sesuai rumus tersebut adalah 8,5. Untuk menjaga agar tingkat representatifnya tinggi apabila terjadi *droup out*, maka sampel diperbesar menjadi 10 ekor tiap kelompok. Jadi jumlah keseluruhan sampel adalah $10 \times 3 = 30$ ekor tikus

3. Variabel Penelitian

A. Klasifikasi Variabel

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah :

- Ekstrak *Pimpinella Alpina*
- Ekstrak akar *Eurycoma longifolia Jack*

Variabel tergantungnya adalah :

1. Derajat spermatogenesis testis
2. Jumlah spermatozoa di duktus deferens

Variabel pengendalinya adalah :

1. Jenis tikus
2. Umur tikus
3. Berat tikus
4. Perawatan tikus
5. Lingkungan dan sanitasi kandang tikus

B. Definisi Operasional

a. Variabel bebas

- Ekstrak *Pimpinella Alpina* : bahan hasil ekstraksi dari akar , batang dan daun dari *Pimpinella Alpina* dengan menggunakan metode Soklet

- Ekstrak akar *Eurycoma longifolia Jack* : bahan hasil ekstraksi dari akar *Eurycoma longifolia Jack* dengan menggunakan metode Soklet

b. Variabel tergantung

- Tingkat spermatogenesis di testis : pemeriksaan histologis testis untuk menentukan derajat spermatogenesisnya dengan menggunakan pengukuran ketebalan tubulus seminiferus dengan menggunakan mikrometer obyektif dan pemeriksaan kuantitatif dengan menggunakan kriteria Johnsen .
- Jumlah spermatozoa di duktus deferens : pemeriksaan jumlah sperma secara langsung di bawah mikroskop cahaya dengan mengurut duktus deferens, ditampung dan diencerkan 2 cc.

c. Variabel pengendali

- Jenis tikus : tikus putih jantan strain *Sprague-Dawley*
- Umur tikus : 40 hari dengan berat rata-rata 200 gram
- Perawatan tikus : memberi makan tikus dengan ransum biasa, diberikan sebanyak 15-20 gram perhari dan diberi minum dengan aquades sebanyak 25-35 ml perhari. Pada malam hari tidak diberikan makanan.
- Lingkungan dan sanitasi kandang tikus : tikus ditempatkan dalam kandang secara sendiri-sendiri dengan suhu lingkungan antara 21-24 derajat Celcius. Kandang dibersihkan dari kotoran tikus sekali sehari

4. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah tanaman *Pimpinella alpina* dan akar *Eurycoma longifolia*. Binatang coba yang digunakan adalah tikus putih jantan strain Sprague-Dawley usia 40 hari dengan berat rata-rata 200 gram sebanyak 30 ekor. Ransum makanannya berasal dari UPHP Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Bahan kimia yang dipakai adalah larutan *Bouin* dan larutan *George*.

5. Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah :

- a. Timbangan untuk menimbang tikus
- b. Timbangan untuk menimbang bahan ekstraksi
- c. Lemari pendingin untuk menyimpan ekstrak akar purwaceng dan pasak bumi
- d. Spuit dengan ujung bulat untuk memasukkan larutan ekstrak ke mulut tikus
- e. Instrumen pemeriksaan spermatogenesis :
 - a) mikroskop cahaya
 - b) hemositometer dari *Neubauer Improve*
 - c) skalpel
 - d) pinset
 - e) jarum
 - f) gelas obyek biasa
 - g) gelas obyek dengan cekungan

h) kaca penutup gelas obyek

6. Tempat dan Waktu Penelitian

Ekstraksi purwaceng dan pasak bumi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Diponegoro Semarang. Pemberian ekstrak kepada hewan percobaan dilakukan di UPHP Fakultas Kedokteran Hewan UGM Yogyakarta. Pemeriksaan sperma dilakukan di PAU UGM Yogyakarta. Pelaksanaan penelitian ini memerlukan waktu 76 hari dan direncanakan dimulai bulan Mei 2002 sampai Juli 2002 dengan jadwal penelitian sebagai berikut :

- 2 hari..... persiapan
- 6 hari..... adaptasi tikus dengan kandangnya
- 53 hari pelaksanaan penelitian
- 2 hari..... pengumpulan data
- 13 hari..... analisa data dan penyusunan laporan

7. Cara Penelitian

Hewan percobaan yang terdiri dari 30 ekor tikus putih jantan, umur 40 hari dengan berat badan rata-rata 200 gram dibagi menjadi 10 kelompok (blok)secara acak. Tiap-tiap blok terdiri dari 3 ekor tikus. Setiap tikus dimasukkan ke dalam kandang individual . Selanjutnya dibiarkan di kandang selama 1 minggu untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan. Makanan yang diberikan adalah makanan tikus sehari-hari yang didapat dari UPHP Fak. Kedokteran Hewan UGM dan air minumnya dari PDAM secara *ad libitum*.

Setelah penyesuaian selama 1 minggu, maka masing-masing blok diberikan perlakuan sebagai berikut secara acak :

- 1) Perlakuan I diberi larutan ekstraks *Pimpinella alpina* sebanyak 2 ml.
(25 mg)
- 2) Perlakuan II diberi larutan ekstrak akar *Eurycoma longifolia* Jack sebanyak 2 ml. (25 mg)
- 3) Pada kelompok kontrol diberi aquadest sebanyak 2 ml.

Semua pemberian tersebut diberikan tiap jam 7 pagi selama 53 hari berturut-turut, dengan pertimbangan spermatogenesis pada tikus memerlukan waktu 53 hari. Pada hari ke-54 tikus-tikus dikorbankan kemudian diambil duktus defferennya dengan cara menjepit caput dan cauda epididimis, kemudian dilakukan pengguntingan pada duktus efferen kira-kira 0,5 cm dari klem kaput epididimis dan pada duktus defferen kira-kira 0,5 cm dari klem pada kauda epididimis.. Duktus defferen setelah dipotong lalu diurut dan ditampung cairan spermanya dan dihitung dengan menggunakan metode hemositometer, dengan pengenceran 2 cc EBSS dan diaduk dengan baik

Selanjutnya testis diambil untuk pemeriksaan histologi. Testis tersebut difiksasi dalam larutan Bouin dan dikirim ke bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.. Testis tersebut kemudian diproses sesuai prosedur histologi yaitu dibuat dalam bahan blok, lalu dipotong transversal di tengah dengan mikrotom setebal 5 mikron. Setelah diletakkan di atas kaca gelas alas diwarnai dengan *Haematoxilin Eosin* (HE), ditutup dengan *deck glass* kemudian ditutup dengan Kanada Balsem pada tepinya. Sediaan preparat irisan testis ini siap untuk dilihat dengan mikroskop.

7.1 Prosedur Ekstraksi

- Potongan kecil tumbuhan Purwaceng / Pasak Bumi yang telah ditimbang, dibungkus dengan kertas saring
- Masukkan potongan-potongan kecil yang telah dibungkus ke dalam tabung alat soxhlet (*porous thimble*)
- Masukkan methanol 99 % secukupnya ke dalam labu alas bulat. Kemudian alat soxhlet yang telah dilengkapi dengan kondensor dipasang pada labu tersebut
- Pelarut pada labu tersebut dipanaskan, bila mendidih pelarut menguap keluar melalui pipa samping masuk ke dalam kondensor, dan karena mendapat pendinginan, maka uap tersebut menjadi titik-titik air yang selanjutnya mengumpul dan menetes dalam alat soxhlet. Berkumpulnya pelarut dan kontakannya dengan bahan ekstraksi menyebabkan larutnya senyawa organik yang terdapat dalam bahan ekstraksi.
- Sesudah isi tabung ekstraksi mencapai tabung sifon maka larutan ekstrak dikeluarkan dari tabung ekstraksi dan masuk ke dalam labu (*flask*). Proses ini akan berlanjut sampai sebagian besar senyawa telah terekstraksi.
- Hasil ekstraksi didestilasi dengan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kering.
- Selanjutnya dibuat larutan 1,25 % dengan menambahkan air sebanyak 100 ml pada 1,25 gram ekstrak kering

7.2 Prosedur Pembuatan Larutan Bouin

Larutan *Bouin* adalah larutan yang mempunyai komposisi sebagai berikut :

- Picric Acid, yang dilarutkan sampai jenuh dalam akua 750 cc
- 37-40 % formalin 250 cc
- Asam Asetat Glasial 50 cc

7.3 Prosedur Pembacaan Sediaan Testis

Setelah testis dibuat dalam sediaan PA, maka dilakukan pengukuran ketebalan tubulus seminiferus dan tingkat spermatogenesis dengan kriteria Johnsen dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Buat satu titik secara acak dalam preparat testis dengan menggunakan spidol transparan
2. Amati titik yang telah kita buat tersebut dalam mikroskop dengan pembesaran 100 kali
3. Ukur ketebalan dinding tubulus seminiferus yang terletak paling dekat dengan titik yang telah kita buat, masing-masing 4 tubulus
4. Tingkat spermatogenesis dalam tubulus seminiferus dinilai dengan menggunakan kriteria Johnsen
5. Ulangi tahap 1 –4 tersebut diatas terhadap semua preparat
6. Kalibrasikan mikrometer obyek dengan menggunakan mikrometer slide standar internasional.
7. Kalikan hasil yang didapat dalam pengamatan dengan mikrometer obyek dengan hasil kalibrasi. Skala dalam mikrometer (μm)

8. Masing masing sediaan dibaca oleh 2 orang pemeriksa
9. Hasil tiap preparat dihitung reratanya.

Catatan :

Hasil kalibrasi yang kita lakukan adalah :

$$1000 \mu\text{m} = 72 \text{ epu (eye per unit)}$$

$$1 \text{ epu} = 1000 : 72$$

$$= 13,9 \mu\text{m}$$

7.4 Prosedur Penghitungan Jumlah Spermatozoa

1. Cairan sperma dari epididimis, kemudian diencerkan dengan 2 cc EBSS.
Dengan menggunakan pipet lekosit, isaplah sperma sampai angka 11.
2. Kocok isi pipet hingga homogen, kemudian taruh pada bilik hitung, tutup dengan *deckglass* dan tempatkan dibawah mikroskop
3. Hitung jumlah sperma yang ada dalam bidang yang luasnya 1 mm^2
4. Catat hasil yang didapatkan

7.5 Prosedur Penghitungan Motilitas Spermatozoa

1. Suatu volume tertentu (10-15 mikroliter) dengan bantuan pipet teteskan diatas kaca obyek yang bersih kemudian ditutup dengan *deckglass*.
2. Siapan kemudian diperiksa dengan pembesaran 400X.
3. Lapangan pandang diperiksa secara sistematis dan motilitas spermatozoa yang dijumpai dicatat.
4. Kategori yang dipakai adalah sesuai kategori WHO 1999 yaitu :
 - a) Jika spermatozoa bergerak cepat dan lurus kedepan

- b) Jika gerakannya lambat lurus
 - c) Jika tidak bergerak maju (berputar)
 - d) Jika sperma tak bergerak
5. Periksa empat sampai enam lapangan pandang.
 6. Catat hasil yang didapatkan dan hitung reratanya jumlah sperma a dan b.

8. Analisa Data

Semua hasil pemeriksaan dan penghitungan dicatat, kemudian dianalisis dengan menggunakan *SPSS 11 for windows*. Normalitas data diuji dengan menggunakan Shapiro-Wilk. Data yang normal dianalisis secara parametrik dengan menggunakan uji Anova dan dilanjutkan dengan *pos hoc analysis* dengan tes *Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok.

Data yang tidak normal, dianalisis secara Non Parametrik dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*.¹⁷ dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Dengan analisis ini akan terlihat pengaruh pemberian ekstrak *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* terhadap derajat spermatogenesis, jumlah dan motilitas spermatozoa dibandingkan dengan kontrol

BAB V

HASIL DAN ANALISA

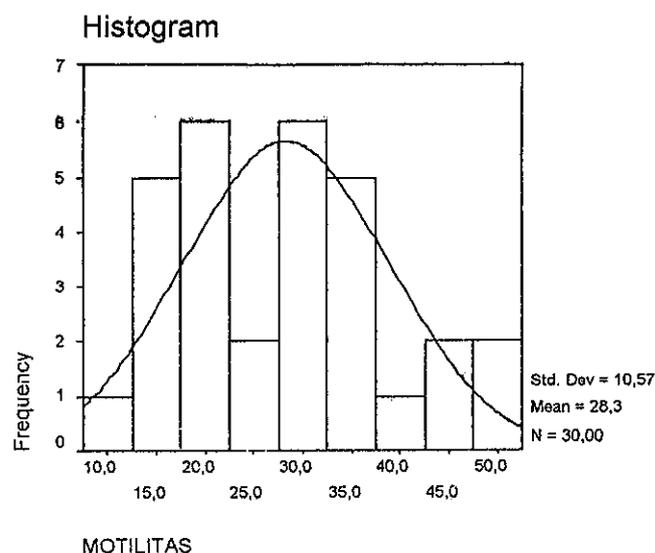
1. HASIL DAN PERHITUNGAN STATISTIK

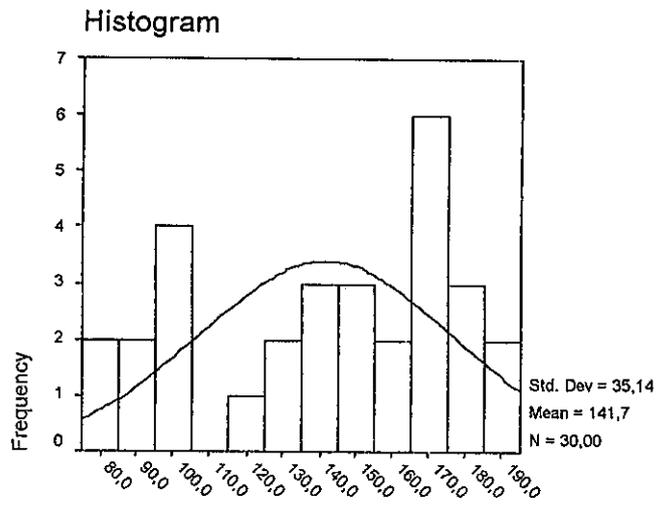
Dari hasil penelitian di Unit Pengembangan dan Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) dan Laboratorium Patologi Anatomi Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta , maka didapatkan hasil sebagai berikut :

Normalitas data dihitung dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* dan digambarkan dengan diagram *box-plot*

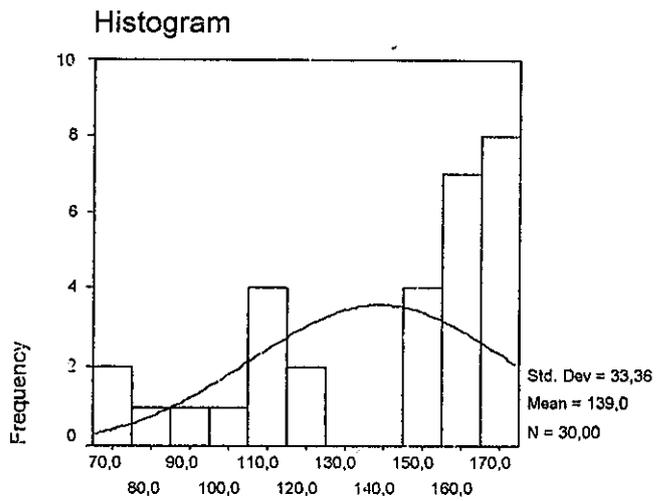
Tabel 1. Normalitas Data *Shapiro-Wilk*

Variabel	Rata-Rata ± Std. Deviasi	Nilai p
Motilitas Spermatozoa	28,3±10,6	0,473
Sediaan Testis (tebal dinding tubulus)	141,6500±35,14236	0,016
Jumlah Spermatozoa	139,00±33,358	0,001





SEDIAAN TESTIS



JUMLAH SPERMATOZOA

Diagram 1 *box plot* Motilitas Spermatozoa

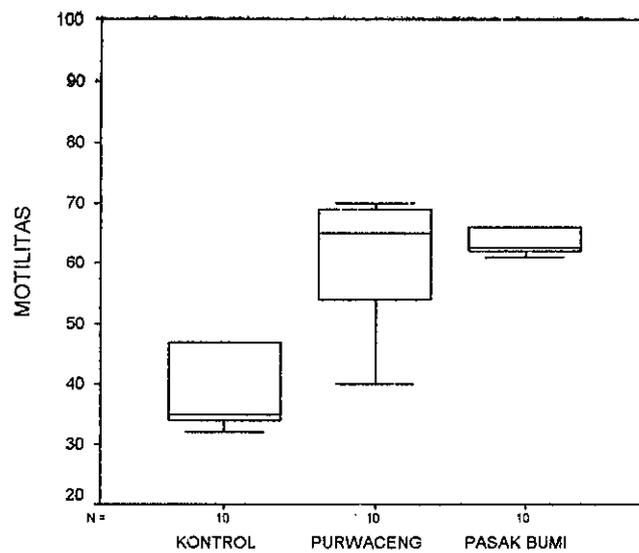


Diagram 2. *box plot* Diameter Tubulus Seminiferus

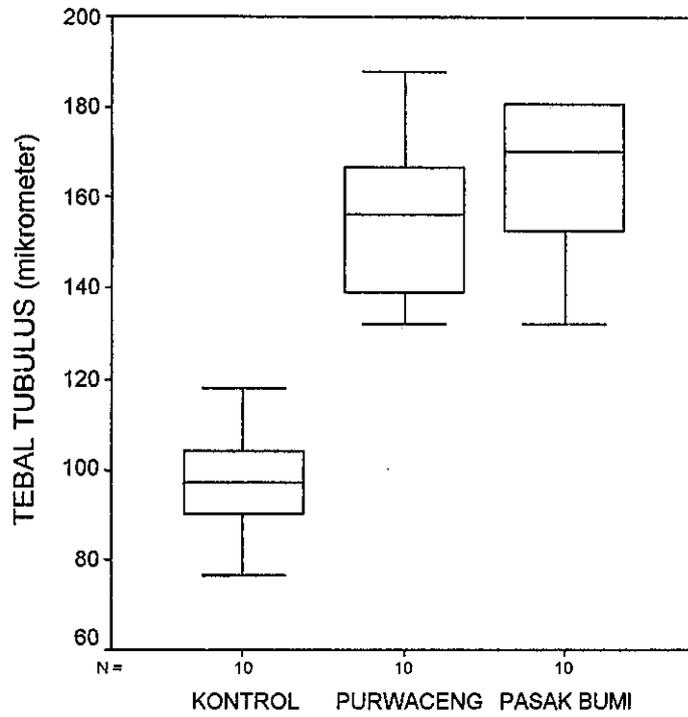
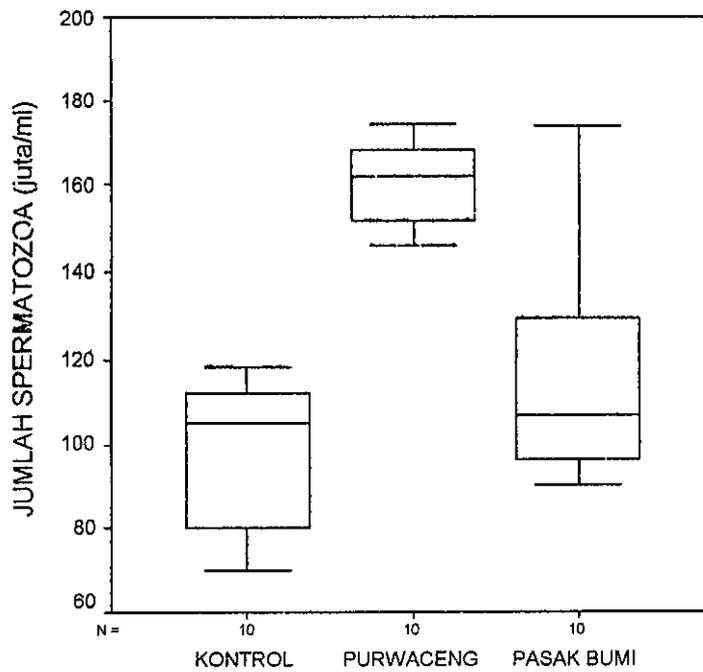


Diagram 3. *box plot* Jumlah Spermatozoa



Dari hasil uji normalitas diatas didapatkan hasil bahwa data motilitas mempunyai distribusi yang normal ($p>0,05$), tetapi tidak dengan data jumlah spermatozoa dan diameter tubulus seminiferus yang mempunyai distribusi yang tidak normal ($p<0,05$). Pengujian data dengan distribusi data yang tidak normal digunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* sedangkan untuk distribusi data normal digunakan uji Anova. Variabel lain, yaitu tingkat spermatogenesis, yang diperiksa dari sediaan testis dengan menggunakan kriteria Johnson jenis datanya adalah ordinal sehingga uji yang dipakai adalah non parametrik *Kruskal Wallis*.

1.1. Pemeriksaan Jumlah Spermatozoa dalam Duktus Defferen

Jumlah spermatozoa dalam duktus defferen tikus dapat dilihat dalam tabel 1 sebagai berikut :

tabel 2. Jumlah Spermatozoa

	Jumlah Sampel	Rata rata \pm Std. Deviasi	Median
Kontrol	10	98,2 \pm 18,5	105
Purwaceng	10	156,2 \pm 19,3	162
Pasak Bumi	10	162,6 \pm 8,3	107
p		0,000	

Dari tabel terlihat bahwa pada kontrol mempunyai rata-rata jumlah sperma 98,2 \pm 18,5, perlakuan dengan Purwaceng mempunyai rata-rata 156,2 \pm 19,3 dan Pasak Bumi mempunyai rata-rata 162,6 \pm 8,3. Data tersebut kemudian dilakukan uji non parametric *Kruskal Wallis* didapatkan perbedaan yang bermakna ($p<0,01$) diantara ketiga kelompok perlakuan. Analisis dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing masing kelompok seperti dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3. *Mann Whitney Test* Jumlah Spermatozoa dalam duktus Defferen

	Perlakuan	Perlakuan	Nilai p
<i>Mann Whitney Test</i>	Kontrol	purwaceng	0,001
		pasakbumi	0,000
	Purwaceng	kontrol	0,001
		pasakbumi	0,622
	Pasakbumi	kontrol	0,000
		purwaceng	0,622

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna baik antara kontrol dengan Purwaceng maupun kontrol dengan Pasak Bumi ($p < 0,01$). Sebaliknya pada perlakuan Purwaceng dengan Pasak Bumi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$)

1.2. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa dalam Duktus deferens

Motilitas spermatozoa dalam duktus defferen tikus dapat dilihat dalam tabel 4 sebagai berikut :

tabel 4. Motilitas Spermatozoa

	Jumlah Sampel	Rata-rata \pm Std. Deviasi
Kontrol	10	38,7 \pm 6,7
Purwaceng	10	62,7 \pm 14,2
Pasak Bumi	10	64,8 \pm 7,3
Nilai p		0,000

Dari tabel terlihat bahwa pada kontrol mempunyai rata-rata motilitas spermatozoa 38,7 \pm 6,7, perlakuan dengan Purwaceng mempunyai rata-rata 62,7 \pm 14,2 dan Pasak Bumi mempunyai rata-rata 64,8 \pm 7,3. Dari uji *Lavene test* didapatkan data varian adalah

homogen ($p > 0,05$) yang berarti memenuhi syarat dilakukannya uji Anova. Dari uji anova didapatkan didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) diantara ketiga kelompok perlakuan. Analisis dilanjutkan dengan *Pos Hoc Analisis* dengan *Tukey HSD* seperti dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 5 *Pos Hoc Analisis* Motilitas Spermatozoa di duktus Defferent

	PERLAKUAN	PERLAKUAN	Nilai p
<i>Tukey HSD</i>	Kontrol	Purwoceng	0,000
		Pasak Bumi	0,000
	Purwoceng	Kontrol	0,000
		Pasak bumi	0,886
	Pasak Bumi	Kontrol	0,000
		Purwoceng	0,886

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna baik antara kontrol dengan Purwaceng maupun kontrol dengan Pasak Bumi ($p < 0,01$). Sebaliknya pada perlakuan Purwaceng dengan Pasak Bumi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan *Tukey HSD* ($p > 0,05$)

1.3. Pemeriksaan Sediaan Testis

Pada pemeriksian diameter tubulus seminiferus didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 6. Diameter Tubulus Seminiferus

	Jumlah Sampel	Rata-rata \pm Std. Deviasi	Median
Kontrol	10	104,3 \pm 31,4	97,3
Purwaceng	10	155,3 \pm 18,0	156,4
Pasak Bumi	10	165,4 \pm 16,6	170,3
Nilai p			0,001

Dari tabel terlihat bahwa pada kontrol mempunyai rata-rata diameter tubulus seminiferus 104,3 \pm 31,4, perlakuan dengan Purwaceng mempunyai rata-rata 155,3 \pm 18,0

dan Pasak Bumi mempunyai rata-rata $165,4 \pm 16,6$. Data kemudian di uji dengan uji parametrik *Kruskal Wallis* dan didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) diantara ketiga kelompok perlakuan. Analisis dilanjutkan dengan *Uji Mann Whitney* seperti dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 7. *Uji Mann Whitney* Diameter Tubulus Seminiferus

	PERLAKUAN	PERLAKUAN	Nilai p
<i>Uji Mann Whitney</i>	Kontrol	Purwaceng	0,002
		Pasak Bumi	0,000
	Purwaceng	Kontrol	0,002
		Pasak Bumi	0,363
	Pasak Bumi	Kontrol	0,000
		Purwaceng	0,363

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna baik antara kontrol dengan Purwaceng maupun kontrol dengan Pasak Bumi ($p < 0,01$). Sebaliknya pada perlakuan Purwaceng dengan Pasak Bumi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$)

Pemeriksaan derajat spermatogenesis testis dengan menggunakan kriteria Johnsen diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 8. Derajat Spermatogenesis Johnsen

	Jumlah Sampel	Rata-rata \pm Std. Deviasi
Kontrol	10	$7,3 \pm 1,8$
Purwaceng	10	$9,6 \pm 0,5$
Pasak Bumi	10	$9,7 \pm 0,5$
Nilai p		0,001

Derajat spermatogenesis testis dari kelompok kontrol mempunyai rata-rata $7,3 \pm 1,8$, sedangkan kelompok Purwaceng $9,6 \pm 0,5$ dan kelompok Pasak Bumi $9,7 \pm 0,5$. Uji non parametrik *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara ketiga

kelompok ($p < 0,01$). Data ini kemudian diuji lebih lanjut dengan menggunakan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing masing kelompok seperti terlihat pada tabel di bawah ini

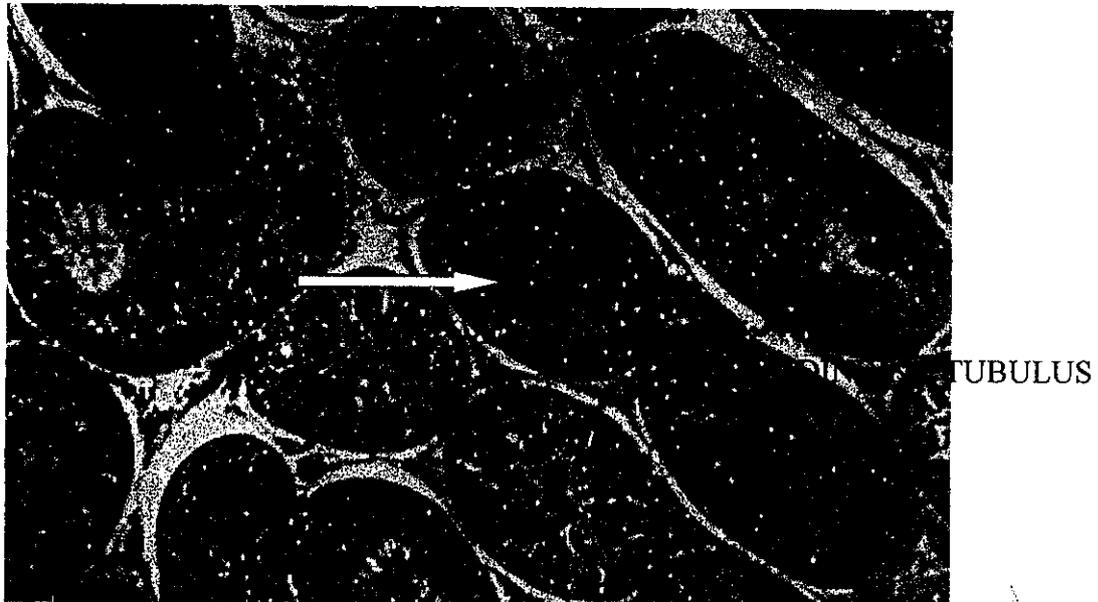
Tabel 9. Uji *Mann Whitney* untuk Derajat Spermatogenesis Johnsen

	PERLAKUAN	PERLAKUAN	Nilai p
<i>Uji Mann Whitney</i>	Kontrol	Purwaceng	0,002
		Pasak Bumi	0,001
	Purwaceng	Kontrol	0,002
		Pasak Bumi	0,648
	Pasak Bumi	Kontrol	0,001
		Purwaceng	0,648

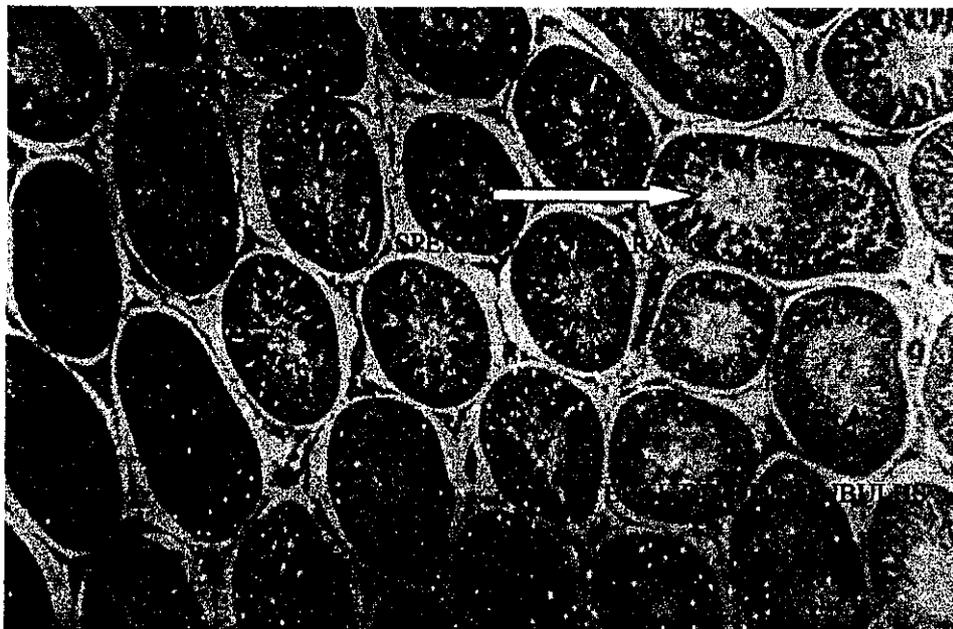
Terlihat dalam tabel bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok Purwaceng ($p < 0,01$). Hal yang sama juga pada kelompok Pasak Bumi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok Pasak Bumi dengan Purwaceng tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$)

2. GAMBAR HASIL PENELITIAN

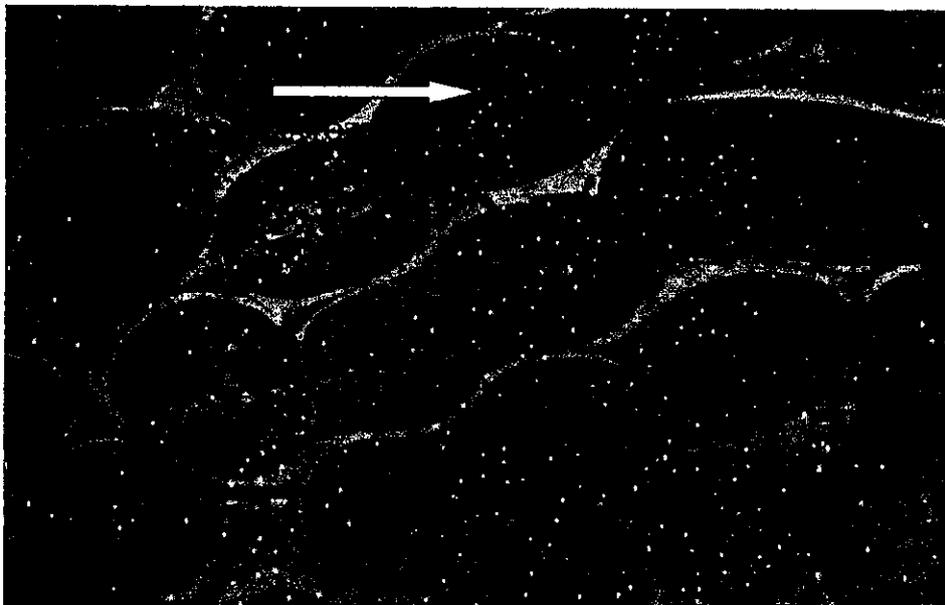
Gambaran Tubulus Seminiferus Purwaceng



Gambaran Tubulus Seminiferus Kontrol



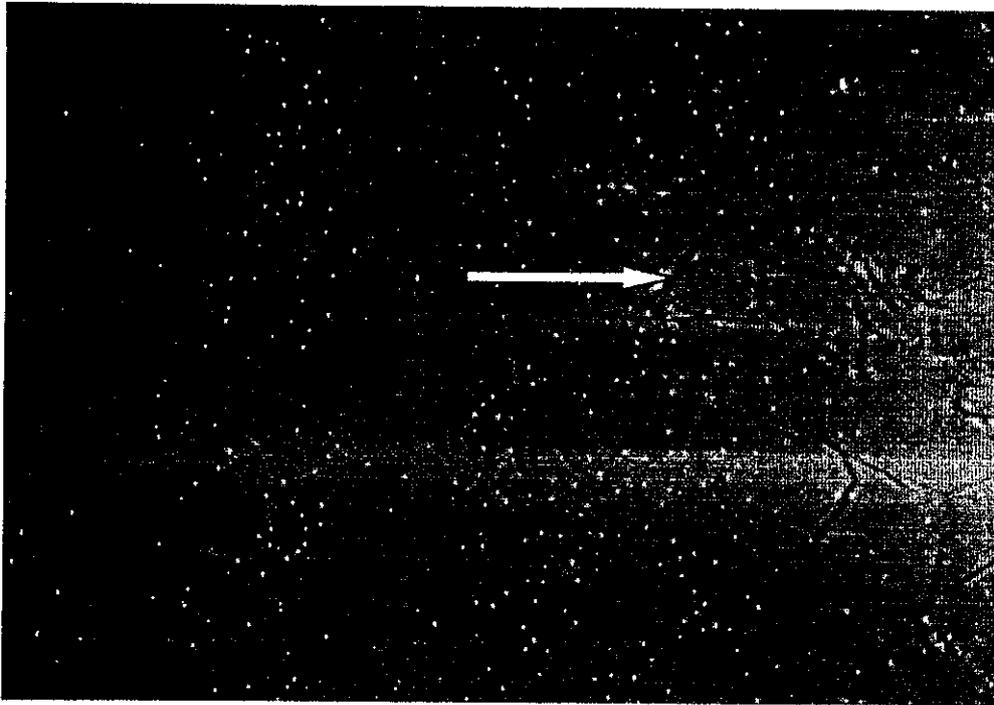
Gambaran Irisan Tubulus seminiferus Kelompok Pasak Bumi



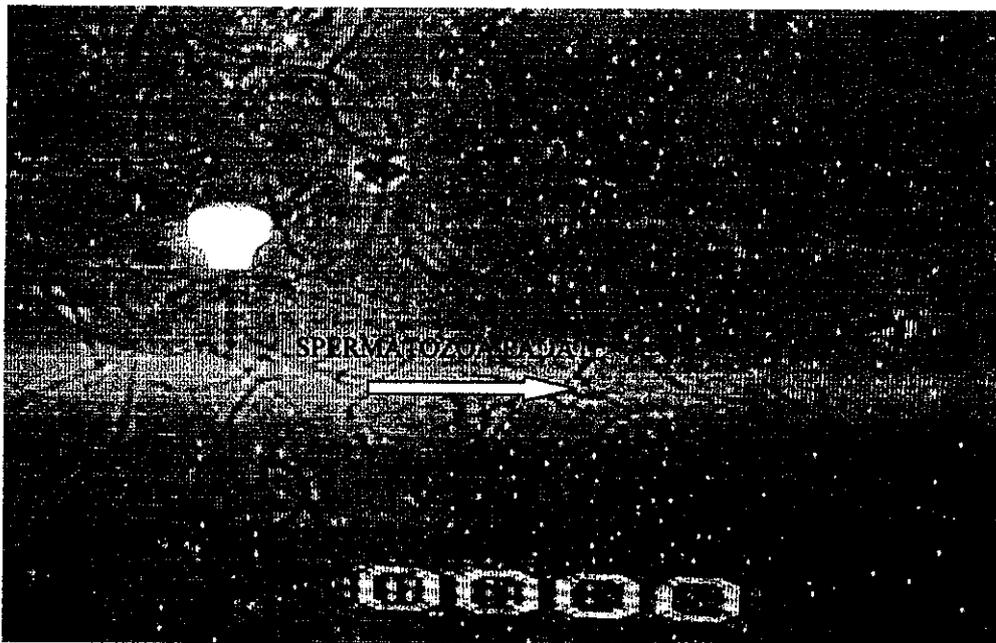
Gambar Sperma Kontrol



Gambar Sperma Kelompok Purwaceng

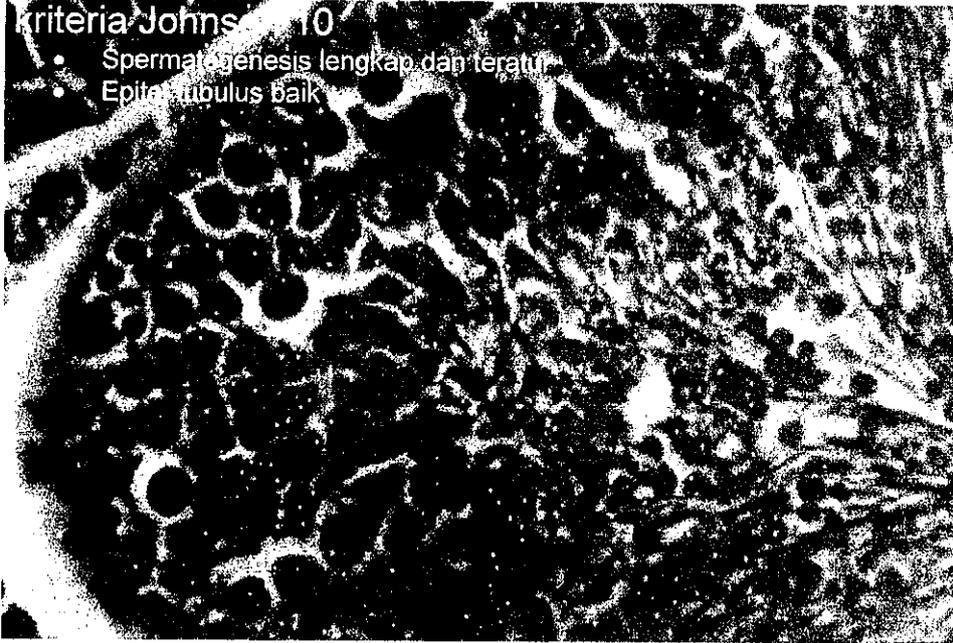


Gambar Sperma Kelompok Pasak Bumi



Kriteria Johnsen 10

- Spermato-genesis lengkap dan teratur
- Epitel tubulus baik



Kriteria Johnsen 7

- Tak tampak spermatozoa
- Banyak spermatid



BAB VI

PEMBAHASAN

1. Pemeriksaan Jumlah Spermatozoa dalam Duktus Defferen

Dari Hasil pemeriksaan jumlah spermatozoa dalam duktus defferen yang diberi akuades sebagai kontrol, perlakuan II dengan purwoceng dan perlakuan III dengan menggunakan pasak bumi selama 53 hari, maka diperoleh rata-rata $98,20 \pm 18,51$ juta/cc, $156,20 \pm 19,38$ juta/cc serta $162,60 \pm 8,38$ juta/cc.

Dari hasil tersebut diatas menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi perlakuan Purwaceng dan Pasak Bumi mempunyai rata-rata jumlah spermatozoa yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Hal ini dapat terlihat juga pada hasil analisis *Kruskal Wallis*, dimana terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) antara kelompok perlakuan kontrol, Purwaceng dan Pasak Bumi. Namun antara pemberian Purwaceng dan Pasak Bumi tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$).

Dari hasil penelitian dan analisis yang telah dilakukan tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Purwaceng maupun Pasak Bumi memberikan hasil yang bermakna terhadap peningkatan jumlah spermatozoa tikus. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan peneliti sebelumnya, dimana pemberian ekstrak Purwaceng dan Pasak Bumi dapat meningkatkan kadar LH, FSH dan Testosteron. Dengan adanya peningkatan hormon tersebut pada akhirnya juga akan meningkatkan jumlah spermatozoa.

Pemberian ekstrak Purwaceng tidak memberikan perbedaan yang bermakna apabila dibandingkan dengan pemberian ekstrak Pasak Bumi. Hal ini menunjukkan bahwa baik

Pasak Bumi maupun Purwaceng sama-sama meningkatkan jumlah spermatozoa oleh karena keduanya mengandung bahan-bahan yang dapat merangsang pembentukan atau bahkan bahan yang dapat dirubah menjadi testosteron, sehingga keduanya tidak menampakkan perbedaan yang bermakna.

2. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa

Dari tabel 4 dapat diketahui bahwa motilitas spermatozoa pada kelompok kontrol mempunyai rata-rata $38,7 \pm 6,65$ persen, perlakuan Purwaceng $62,7 \pm 14,22$ persen, dan perlakuan Pasak Bumi $64,8 \pm 7,31$ persen.

Seperti pada pemeriksaan jumlah sperma, pada pemeriksaan motilitas pada duktus deferens ini juga menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan kelompok perlakuan baik Purwaceng maupun Pasak Bumi ($p < 0,01$), tetapi tak ada perbedaan yang bermakna antara pemberian Purwaceng dengan Pasak Bumi ($p > 0,01$).

Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian Purwaceng maupun Pasak Bumi dapat meningkatkan motilitas spermatozoa. Seperti yang telah peneliti sebutkan bahwa pemberian ekstrak Purwaceng dan Pasak Bumi dapat meningkatkan kadar hormon testosteron, maka tidak saja terjadi peningkatan jumlah spermatozoa tetapi juga terjadi peningkatan pada pematangan spermatozoa yang terjadi di epididimis. Pematangan di epididimis akan meningkatkan kemampuan spermatozoa antara lain dalam kapasitasnya melakukan glikolisis sehingga dengan demikian gerakan spermatozoa akan lebih baik.

Pematangan pada epididmis ini membutuhkan lingkungan yang sangat tergantung pada kadar hormon testosteron. Hal ini memungkinkan terjadinya peningkatan motilitas spermatozoa pada pemberian purwaceng maupun pasak bumi.

3. Pemeriksaan Sediaan Testis

Pada pemeriksaan diameter tubulus seminiferus didapatkan hasil rata rata diameter tubulus untuk kontrol adalah $104,25 \pm 31,4 \mu\text{m}$, perlakuan Purwaceng $155,29 \pm 18,08 \mu\text{m}$, dan perlakuan Pasak Bumi $165,41 \pm 16,64 \mu\text{m}$.

Hasil ini mendukung pemeriksaan jumlah sperma, dimana jumlah sperma pada pemberian ekstrak Purwaceng maupun Pasak Bumi menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna bila dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,01$). Peningkatan jumlah spermatozoa menunjukkan terjadinya proses spermatogenesis yang lebih baik. Pemeriksaan histologi testis menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pemberian Purwaceng maupun Pasak Bumi. Hal ini membuktikan bahwa terjadi proses spermatogenesis yang lebih baik pada testis tikus yang diberi perlakuan Purwaceng maupun Pasak Bumi yang pada akhirnya akan meningkatkan pula jumlah spermatozoa yang dihasilkan.

Pemeriksaan derajat spermatogenesis dengan menggunakan kriteria Johnsen, juga menunjukkan hal yang tidak berbeda dengan pengukuran tebal dinding tubulus seminiferus. Kelompok kontrol mempunyai perbedaan yang bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok Purwaceng maupun Pasak Bumi ($p < 0,01$), dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok Purwaceng dengan kelompok Pasak Bumi ($p > 0,01$).

Ketebalan dinding tubulus seminiferus menggambarkan keaktifan testis dalam melakukan proses pembentukan sperma / spermatogenesis. Semakin aktif spermatogenesis, maka semakin tebal dinding tubulus oleh karena adanya peningkatan jumlah sela yang mengalami pembelahan. Pemeriksaan dengan menggunakan kriteria Johnsen pada prinsipnya menilai jumlah sel sperma yang ada didalam tubulus seminiferus sesuai dengan derajat kematangannya, mulai dari sel sertolinya sampai dengan sel spermatozoa matang.

Kedua pemeriksian tersebut sudah seharusnya mempunyai korelasi yang positif, oleh karena semakin tebal dinding tubulus, maka derajat spermatogenesis menurut kriteria Johnsen juga semakin tinggi.

4. Pembahasan Umum

Dari serangkaian pemeriksaan yang telah dilakukan mulai dari pemeriksaan jumlah spermatozoa dalam duktus defferens, motilitas spermatozoa dan histologi testis menunjukkan suatu hasil yang saling mendukung dimana terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pemberian ekstrak Purwaceng maupun Pasak Bumi. Pada pemeriksaan histologis testis didapatkan gambaran derajat spermatogenesis yang lebih baik pada kelompok perlakuan. Oleh karena hal tersebut, maka sudah semestinya akan meningkatkan jumlah spermatozoa yang dihasilkan. Hal ini terbukti pada penelitian ini dimana pada pemeriksaan jumlah spermatozoa dalam duktus defferens menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Rata-rata jumlah spermatozoa pada kelompok Purwaceng maupun Pasak Bumi jauh lebih banyak daripada jumlah spermatozoa pada kelompok kontrol. Hal ini membuktikan hipotesa yang telah

disusun peneliti bahwa pemberian ekstrak Purwaceng maupun Pasak Bumi akan meningkatkan derajat spermatogenesis.

Seiring dengan peningkatan jumlah spermatozoa dan derajat spermatogenesis testis, dalam penelitian ini juga dibuktikan terjadinya peningkatan motilitas dari spermatozoa pada tikus yang diberi Purwaceng maupun Pasak Bumi. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak purwaceng maupun pasak bumi tidak hanya meningkatkan jumlah spermatozoa dan derajat spermatogenesis saja, tetapi juga kualitas gerakan dari spermatozoanya.

Seperti pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, bahwa baik *Pimpinella alpina* maupun *Eurycoma longifolia* mempunyai pengaruh terhadap sistem reproduksi pria dalam beberapa tingkatan :

1. *Hipotalamus-Hipofise*

Pimpinella alpina maupun *Eurycoma longifolia* mengandung zat aktif yang dapat meningkatkan sekresi LH. Zat aktif ini diduga adalah *eurikomolakton* dan *amarolinda*.. Zat ini akan memperbaiki aktivitas membran sel hipofise anterior , sehingga dengan adanya GnRH dari hypothalamus akan ditangkap oleh reseptor spesifik di membran sel hipofise anterior. Ikatan kompleks hormon-reseptor ini selanjutnya akan menyebabkan aktivasi enzim *adenilat siklase* yang tergantung *guanositripospat* (GTP) melalui suatu protein penggabung yang terikat pada membran sel untuk merubah ATP menjadi cAMP². cAMP yang terbentuk tersebut akan menembus sitoplasma dan mengaktivasi protein *kinase A*, yang selanjutnya mengkatalis fosforilasi substrat protein spesifik. Perubahan aktifitas substrat fosforilasi menghasilkan efek cAMP yang khas pada reseptor target yaitu

pelepasan LH. Proses seperti tersebut diatas akan menghasilkan sintesa LH lebih banyak.

2. Testis

Dengan pemberian *Pimpinella alpina* dan *Eurycoma longifolia* terbukti dapat meningkatkan produksi hormon testosteron dalam darah. Peningkatan produksi LH dan FSH yang terjadi di hipofise akan meningkatkan kadar LH dan FSH dalam darah dan juga pada organ target yaitu testis. Aktivitas membran testis juga menjadi lebih baik sehingga afinitas reseptor LH pada sel leydig akan meningkat. LH akan terikat pada reseptor dan akan merangsang pembentukan dan sekresi testosteron. FSH yang dihasilkan hipofise akan merangsang sel sertoli untuk membentuk *sex hormone binding globulin* (SHBG) yang berfungsi untuk mengikat testosteron yang dihasilkan sel leydig. Proses ini akan meningkatkan kadar testosteron dalam testis yang merupakan syarat untuk inisiasi terjadinya proses spermatogenesis. Inisiasi spermatogenesis terjadi dibawah kontrol LH dan FSH^{2,3,13}.

3. *Eurikomolakton* dan *amarolinda* yang merupakan komponen utama pada kedua tanaman tersebut mampu memperbaiki afinitas membran reseptor sel dan juga terhadap enzim *5- α reductase* yang berperan dalam konversi testosteron menjadi bentuk yang lebih poten yaitu dehidrotestosteron. Perbaikan afinitas membran dan enzim *5- α reductase* akan memudahkan testosteron untuk masuk ke dalam sel leydig. Testosteron/DHT ini kemudian akan menyebabkan terlepasnya suatu protein tertentu (Hsp 90) dari reseptor androgen sehingga memungkinkan testosteron/DHT berikatan dengan reseptor androgen yang terdapat dalam

sitoplasma. Kompleks reseptor-testosteron/DHT ini kemudian akan masuk ke dalam inti sel dan berinteraksi dengan sekuens spesifik dari DNA. Penempelan ini akan menginduksi sintesa mRNA. Proses ini selanjutnya akan meningkatkan kejadian spermatogenesis dan terutama adalah spermiogenesis.

BAB VII

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan, maka dapat kami simpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak *Pimpinella alpina* dapat meningkatkan baik derajat spermatogenesis dalam testis, jumlah maupun motilitas spermatozoa tikus.
2. Ekstrak *Eurycoma longifolia* dapat meningkatkan baik derajat spermatogenesis dalam testis, jumlah maupun motilitas spermatozoa tikus.
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada pemberian ekstrak *Eurycoma longifolia* dengan ekstrak *Pimpinella alpina* dalam meningkatkan derajat spermatogenesis dalam testis, jumlah maupun motilitas spermatozoa tikus.

B. Saran

Ada beberapa aspek yang perlu diperhatikan maupun dikembangkan dari penelitian ini antara lain adalah :

1. Perlu diteliti mengenai efek ekstrak tersebut terhadap organ lain terutama ginjal dan hati
2. Perlu dilakukan pemisahan kandungan ekstrak dari tanaman tersebut supaya dapat diteliti efek zat tertentu terhadap spermatogenesis khususnya.
3. Penentuan dosis dan uji toksisitas dari pemakaian ekstrak tanaman purwaceng dan pasak bumi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Caropeboka AM. Pengaruh Ekstrak *Pimpinella alpina* Kord terhadap Siklus Birahi Mencit, dalam risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat II, November 1977, 35-7
2. Nieschlag E. Scope and Goals of Andrology. In : *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction*, Eds : Nieslag E, Behre HM. Berlin Heidenberg. Spinger Verlag, 2000, 1-4
3. Sumapraja S. Infertilitas. Dalam : Hanifa W, editor. *Ilmu Kandungan*. Edisi 2. Jakarta : Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, 1999. 497-521
4. Anonimus. Mitos dan Khasiat Tumbuhan Purwoceng, *Majalah Trubus* 264. Th XXII- November 1991, 231-32
5. Caropeboka AM. Pengaruh Ekstrak *Pimpinella alpina* Koord. Terhadap Susunan Saraf Pusat. Bagian Farmakologi Dept. Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan, IPB Bogor, 1976
6. Noordin A. Efek Androgenik Suatu Ramuan Tradisional Kalimantan yang Biasa Digunakan sebagai Obat Kuat Lelaki, Laporan penelitian, Fakultas Farmasi UGM, 1987/1988
7. Hoon Ang H. *Eurycoma longifolia* Jack and Aphrodisiac Property : Is it the Truth or Myth ?, 6th Biennial Asia-Pasific Meeting on Impotence, Workshop 3 Asian Traditional Treatments, 23 Oktober 1997
8. Anonimus. Pasak Bumi Bukan Obat Kuat, *Majalah Trubus* 264, Th. XXII November 1991, 232-33

9. Koolman J, Rohm KH. Atlas Berwarna & Teks Biokimia. Septelia Inawati Wanandi (alih bahasa). Hipokrates. 2001
10. Taufiqqurrachman. Pengaruh Ekstrak *Pimpinella alpine* Molk (purwoceng) dan *Eurycoma longifolia* Jack (pasak bumi) terhadap Peningkatan Kadar Testosteron, LH dan FSH serta Perbedaan Peningkatannya pada Tikus Jantan Spraque Dawly. Magister Thesis. Program Studi Ilmu Biomedis Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro. 1999
11. Drews U. Atlas Berwarna & Teks Embriologi. Hendra Laksman (alih bahasa). Hipokrates. 1996
12. Mastroiani L, Coutfaris C. eds. Reproductive Physiology. Parthenon Publishing Group, USA, 1998 : 55-68
13. Weinbauer GF, Gromoll MS, Nieslag E. Physiology of Testicular Function, in : Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction, Eds : Nieslag, Behre HM. Berlin Heidenberg. Spinger Verlag, 1997, 25-44
14. Guyton AC, Hall JE. Fisiologi Kedokteran.ed.II. Penerbit Buku Kedokteran EGC.Jakarta 1997.
15. Weinbauer GF, Gromoll J, Simoni M, Nieshclag E. *Physiology of Testicular Function*. In : *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction*, Eds : Nieslag E, Behre HM. Berlin Heidenberg. Spinger Verlag, 2000, 3-57
16. Granner DK. Karakteristik Sistem Hormon. Dalam Harper's Review of Biochemistry, Editor : Murray RK; Granner DK; Mayes PA; Rodwel VW. 2nd ed. Alih bahasa Hartono A, EGC, 1995 : 554-55

17. Braunstein GD. Testis, in Basic and Clinical Endocrinology, Editor : Greenspan FS; Baxter JD, 4th edition, Appleton & Lange Norwalk. Connecticut, 1994 : 391-9
18. Leswara ND. Korelasi antara Khasiat Afrodisiak Pasak Bumi dengan Peningkatan Kadar Testosteron Dalam Darah Menggunakan Metode RIA. FMIPA UI
19. Syahrums MH. Biopsi testis Sebagai Pengevaluasi Pasien Azoospermia. Majalah Kedokteran Indonesia, volume 47 no. 5, Mei 1997 : 232-41
20. Pratiknya AW. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, CV Rajawali Jakarta, 1986 : 150-151.
21. Luna LG (ed). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institutes of Pathology. IIIrd edition. Mc Graw-Hill Book Company. 1960
22. Suntoro SH. Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia). PT Bhratara Karya Aksara. Jakarta. 1983
23. Craigmaile MBL. Atlas Berwarna Histologi. Jan Tambajong (alih bahasa). EGC. 1999