

Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar Pasak Bumi Terstandar terhadap Gambaran Histopatologik Testis dan Konsentrasi Testosteron pada Tikus

(The Influence of Pasak Bumi's Root Standardized Extract towards Testes Histopathology and Testosterone Level in Rats)

FARIDA HAYATI^{1*}, SITARINA WIDYARINI², LUKMAN HAKIM³,
NGATIDJAN⁴, MUSTOFA⁴

¹Program Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran UGM, Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia

²Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

³Bagian Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi UGM

⁴Bagian Farmakologi dan Farmakoterapi, Fak Kedokteran, UGM

Diterima 20 Juli 2011, Disetujui 1 Maret 2012

Abstrak: Akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) merupakan salah satu tumbuhan Indonesia yang dikenal sebagai afrodisiak. Penelitian ini dilakukan untuk meneliti pengaruh ekstrak akar pasak bumi terstandar terhadap gambaran histopatologik testis dan kadar testosteron tikus *Wistar*. Sampel penelitian adalah 50 ekor tikus jantan dewasa berumur 3-4 bulan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I (kelompok kontrol negatif) diberi akuades; kelompok II (kelompok kontrol positif) diberi testosteron (Andriol®); kelompok III, IV, dan V masing-masing diberi ekstrak akar pasak bumi terstandar dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Tiap kelompok mendapatkan perlakuan selama 6 hari dan 49 hari dengan pemejanaan dua kali sehari, kemudian diambil testisnya pada hari ke-7 dan ke-50, dihitung berat testis, jumlah sel *Leydig*, dan diameter sel *Leydig*. Kadar testosteron diukur pada hari ke-7 dan ke-50 menggunakan metode ELISA. Data yang didapat kemudian diolah menggunakan analisis parametrik *one way ANOVA* ($p < 0,05$) dan *post hoc Dunnett t (2-sided)*. Pemberian ekstrak air akar pasak bumi terstandar mempengaruhi jumlah sel *Leydig* yang juga akan meningkatkan konsentrasi testosteron pada tikus *Wistar* secara positif pada dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

Kata kunci: testis, testosteron, sel *Leydig*, *Eurycoma longifolia*.

Abstract: The root of pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) is one of plant from Indonesia known as aphrodisiac. This study was conducted to evaluate the influence of pasak bumi standardized extract to testosterone level and histopathological changes of the testes in male *Wistar* rats. Sample were 50 adult male rats aged 3-4 months were divided into 5 groups. Group I (control) was given distilled water, group II (positive control), was given testosterone (Andriol®), group III, IV, and V were each given a standardized extract of the roots of pasak bumi doses of 50, 100, and 200 mg/kg of body weight, respectively. The extract was given orally twice a day for six days and forty nine days and then testes was taken out on 7th and 50th day. Testosterone level was assayed on 7th and 50th day by the ELISA methods. The results were analyzed using *one way ANOVA*, and *post hoc Dunnett (2-sided)* ($p < 0.05$). The data of this study shows that treatment with water extract of pasak bumi root influence the number of *Leydig* cells that would also increase the concentration of testosterone in *Wistar* male rats positively at a dose of 100 mg/kg and 200 mg/kg body weight.

Keywords: testes, testosterone, *Leydig* cells, *Eurycoma longifolia*.

* Penulis korespondensi, Hp. 085747041900
e-mail: farida_hayati@yahoo.com

PENDAHULUAN

DISFUNGSI seksual adalah suatu keadaan dimana keinginan atau kemampuan seksual seseorang mengalami penurunan. Gangguan fungsi seksual pada pria bisa disebabkan karena banyak faktor, yaitu: gangguan psikologis, defisiensi androgen, penyakit kronis yang diderita, gangguan pada penis, penyakit yang terkait dengan gangguan system syaraf, obat-obatan, gaya hidup (*life style*), usia⁽¹⁾. Gangguan yang terjadi merupakan gangguan pada hasrat/libido, gangguan ereksi, gangguan orgasme, dan gangguan ejakulasi. Berbagai faktor yang dapat menyebabkan disfungsi seksual juga karena faktor psikis antara lain: stress, depresi, terlalu banyak konsumsi alkohol atau dapat juga disebabkan oleh gangguan hormonal terutama hormon testosteron dimana hormon ini berperan di dalam pengaturan fungsi testis dan produksi spermatozoa, sehingga dengan adanya penurunan hormon ini secara tidak langsung dapat menurunkan fungsi libido serta menyebabkan terjadinya disfungsi ereksi^(2,3).

Pasak bumi sebagai tanaman asli Indonesia, diyakini secara luas oleh masyarakat dapat meningkatkan kemampuan seksual pria karena memiliki potensi sebagai afrodisiak. Pasak bumi diteliti pada hewan coba terbukti mampu meningkatkan kemampuan seksual⁽⁴⁻¹⁰⁾. Untuk mengevaluasi potensi afrodisiak suatu tanaman, selain mengukur pengaruhnya pada perilaku seksual dan libido⁽¹¹⁾, juga dapat dilakukan dengan mengetahui pengaruhnya terhadap hormon-hormon reproduksi seperti testosteron, *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH)⁽¹⁾. Adanya peningkatan kadar testosteron setelah pemberian akar pasak bumi diperkirakan karena mekanisme penghambatan feedback negatif pada tingkat hipotalamus atau kelenjar hipofisis sehingga mampu memacu pengeluaran FSH dan LH terus-menerus dan meningkatkan kadar testosteron tanpa menyebabkan *feedback* negatif kembali⁽¹⁰⁾.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui mekanisme aksi dan pengaruh pemberian akar pasak bumi terhadap gambaran histopatologik testis, dan konsentrasi testosteron, yang pada akhirnya dapat meningkatkan efek afrodisiak. Parameter histopatologik testis digambarkan melalui pengamatan indeks berat testis, serta jumlah dan diameter sel *Leydig*. Sel *Leydig* merupakan sel yang berperan dalam sekresi hormon steroid. Sel ini merupakan penyusun jaringan interstisial testis. Di dalam penelitian ini sel *Leydig* erat kaitannya dengan produksi hormon testosteron karena sel ini penghasil hormon tersebut. Melalui penelitian ini juga ingin dipastikan keterkaitan antara hormon testosteron, sel *Leydig*, dan berat testis.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Subjek uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur *Wistar* dengan berat badan ± 250 gram berumur 3-4 bulan berjumlah 50 ekor yang diberi pakan BR2-F dan minuman air putih biasa. Hewan coba diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan LPPT UGM. Bahan-bahan lain yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack) terstandar dengan kadar eurikumanon 2,0 % yang diperoleh dari PT. Java Plant, akuades, eter, formalin 10%, etanol (Merck®, Germany), *xylene*, parafin cair, entelan, *Mayer's eggs albumin*, pewarnaan *Mayer's Hematoxylin* dan Eosin, sediaan testosteron sebagai kontrol positif (Andriol®, Belanda), Kit DRG Testosteron ELISA EIA-1559 (DRG®, Germany).

Alat. Timbangan tikus (Ohaus®, US), Sentrifuge, kanula pencekok tikus, seperangkat alat bedah, alat-alat gelas (Pyrex®, Japan), *embedding cassette*, mikrotom, kaca objek, *cover glass*, *hand counter*, mikrometer dan mikroskop (Olympus®, Japan), Ttabung *Eppendorf* 1 mL, pot salep, Freezer, ELISA.

METODE. Penelitian ini telah memenuhi persyaratan etika, karena telah mendapatkan *ethical clearance* (keterangan kelaikan etik) dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran UGM.

Perlakuan hewan uji. Hewan uji sebanyak 50 ekor dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan dan masing-masing kelompok dipelihara dalam satu kandang. Perlakuan pada masing-masing kelompok adalah Kelompok I sebagai kontrol negatif dimana hewan diberikan akuades; kelompok II sebagai kontrol positif dimana hewan diberikan testosteron dosis 8 mg/kg BB (Andriol®); kelompok III, hewan diberikan ekstrak akar pasak bumi terstandar dengan dosis 50mg/kg BB; kelompok IV, hewan diberikan ekstrak akar pasak bumi terstandar dengan dosis 100 mg/kg BB; dan kelompok V, hewan diberikan ekstrak akar pasak bumi terstandar dengan dosis 200 mg/kg BB. Masing-masing kelompok perlakuan diberikan pemejangan dua kali sehari secara oral selama 6 hari ($n = 5$) kemudian dibunuh pada hari ke-7. Hewan uji pada tiap kelompok yang tidak dibunuh sejumlah 5 ekor kemudian dilanjutkan untuk diberikan pemejangan dua kali sehari secara oral selama 49 hari untuk selanjutnya dibunuh pada hari ke-50.

Pengukuran hormon testosteron. Darah diambil pada bagian orbital menggunakan mikrohematokrit pada hari ke-7 dan ke-50, selanjutnya darah yang keluar ditampung sebanyak 2 mL dalam tabung reaksi steril (tabung *Eppendorf*) yang sebelumnya sudah disterilisasi. Darah disentrifus dengan kecepatan

1000 rpm (*round per minute*) selama 10 menit. Setelah dipisahkan, Serum diambil sebanyak 250 mikroliter. Pengukuran kadar hormon testosteron dilakukan dengan metode ELISA (*Immulite Total Testosterone*). Metode ini termasuk *immunoassay* yang menggunakan fase padat yang dilabel ligan dan enzim *chemiluminescent* kompetitif. Fase tersebut adalah buatan *polystyrene* yang disisipkan dalam unit tes *immulite*, dilapisi dengan antibodi poliklonal kelinci yang spesifik untuk testosteron. Sampel serum dan testosteron yang dilabel ligan dimasukkan secara bersama ke dalam unit tes dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dengan pengocokan secara berselang-seling. Testosteron dalam sampel serum akan berkompetisi dengan testosteron berlabel ligan untuk berikatan dengan antibodi pada butiran *polystyrene*.

Pengukuran berat testis dan pembuatan sediaan mikroanatomi testis. Pada hari ke-7 dan ke-50, lima ekor tikus dari tiap kelompok diterminasi dengan cara dislokasi leher, hewan uji dibedah, dan diambil testis, dibersihkan dan ditimbang menggunakan timbangan elektrik dengan ketelitian 0,001 g. Setelah itu dilakukan Fiksasi dengan memasukkan testis kiri ke dalam larutan formalin 10% sekurang-kurangnya selama 24 jam. Organ dipotong 3-5 mm kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya dilakukan didehidrasi dengan larutan etanol bertingkat, yaitu: etanol 80%, 95% dan absolut tiga kali masing-masing selama 1-2 jam. Jaringan dipindahkan ke larutan *xylene* sebanyak tiga kali dan parafin tiga kali masing-masing selama 1-2 jam kemudian dilakukan embedding dengan parafin. Jaringan dipotong dengan mikrotom setebal 5-7 μm lalu diletakkan pada gelas objek yang telah diolesi dengan *Mayer's eggs albumin* dan dibiarkan selama 24 jam. Jaringan diwarnai dengan *Mayer's Hematoxylin* dan *Eosin* dan ditutup dengan entelan, dibaca di bawah mikroskop cahaya.

Pengamatan gambaran histopatologik testis. Pengamatan dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Parameter kuantitatif berupa perhitungan jumlah sel *Leydig*. Sedangkan parameter kualitatif yaitu gambaran perubahan histopatologik testis dilihat dari adanya nekrosis yang terjadi pada tubulus seminiferus menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran

400x.

Parameter untuk mengamati sel *Leydig* dengan cara mengukur diameter intinya dengan menggunakan mikrometer okuler pada mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dilakukan pengukuran diameter inti dan perhitungan jumlah sel *Leydig*. Sel tersebut memiliki karakteristik yaitu berbentuk bulat atau poligonal, memiliki inti di pusat dan sitoplasma eosinofilik dengan banyak tetesan lipid halus. Pengukuran inti sel *Leydig* menggunakan μm , memakai besaran dalam bentuk mikron meter. Jumlah sel *Leydig* merupakan rerata sel *Leydig* pada 5 daerah interstitial yang dicari sebelumnya secara acak⁽¹²⁾.

Analisis Hasil. Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan *one way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95%, dilanjutkan dengan Uji *Dunnett* apabila ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Pengolahan analisis data menggunakan *software* SPSS. Data preparat histopatologi dianalisis secara kualitatif untuk melihat kemungkinan adanya nekrosis atau kerusakan sel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan rasio berat testis dan berat badan tikus. Pengukuran berat testis dan pengamatan secara makroskopik merupakan parameter dalam menentukan kualitas pembentukan sperma, dimana di dalamnya terdapat berbagai organ yang berperan dalam menentukan kualitas sperma. Testis merupakan organ penting dalam menentukan potensi suatu tanaman obat sebagai afrodisiak. Testis melakukan fungsi saling mendukung yaitu spermatogenesis (produksi spermatozoa) dan sekresi steroid (testosteron)⁽¹³⁾.

Parameter dinyatakan sebagai Indeks berat testis (IBT) dalam bentuk persentase yang merupakan rasio berat testis dibandingkan rasio berat badan tikus. Perbandingan terhadap berat badan tikus tetap diperhitungkan mengingat berat testis juga ditentukan oleh variabel berat badan. Indeks berat testis tikus jantan yang mendapatkan perlakuan ekstrak pasak bumi terstandar pada hari ke-7 dan hari ke-50 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Indeks Berat Testis (%) tikus jantan yang mendapatkan perlakuan ekstrak pasak bumi terstandar pada hari ke-7 dan hari ke-50.

Perlakuan	IBT (%) x \pm SE	
	Hari Ke-7	Hari Ke-50
Kontrol negatif	3,33 \pm 0,16	2,42 \pm 0,09
Kontrol positif testosteron 8 mg/kg BB	2,99 \pm 0,07	2,44 \pm 0,16
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 50 mg/kg BB	3,11 \pm 0,10	2,29 \pm 0,08
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 100 mg/kg BB	3,52 \pm 0,21	2,59 \pm 0,08
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 200 mg/kg BB	3,43 \pm 0,03	2,29 \pm 0,07

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak terstandar akar pasak Bumi dengan dosis yang bervariasi selama 6 hari maupun 49 hari tidak berpengaruh terhadap penurunan maupun peningkatan berat testis ($p < 0,05$). Parameter indeks berat testis merupakan parameter yang melibatkan berat testis dan berat tubuh. Berat testis salah satunya ditentukan oleh perkembangan tubulus seminiferus, di mana tubulus seminiferus menempati sebagian besar dari volume testis. Secara keseluruhan volume testis *Rattus Norvegicus* terdiri dari 82,4% tubulus seminiferus, sedangkan sel *Leydig* menempati 2,7% volume testis⁽¹⁴⁾. Pada penelitian ini jumlah sel *Leydig* mengalami penurunan secara bermakna setelah perlakuan 49 hari pada berbagai dosis, tetapi karena sel *Leydig* hanya menempati sebagian kecil (sekitar 2,7%) dari volume testis, sehingga adanya penurunan sel *Leydig* tidak berpengaruh terhadap berat testis. Penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak akar pasak bumi terstandar dengan dosis yang bervariasi selama 6 hari maupun 49 hari tidak berpengaruh terhadap penurunan maupun peningkatan berat testis ($p < 0,05$).

Konsentrasi Testosteron (Tabel 2). Testosteron merupakan androgen utama dalam tubuh. Testosteron disekresi oleh sel-sel interstitial *Leydig* dalam testis yang terletak di antara interstitial tubulus seminiferus dan terdiri 20% massa pada testis dewasa. Testosteron diamati pada pemberian ekstrak pasak bumi dengan dosis dan lama pemberian yang berbeda. Variasi dosis yang diberikan adalah dosis yang terbukti mampu memberikan efek afrodisiak pada tikus jantan, sementara variasi lama pemberian selama 49 hari mengacu pada siklus spermatogenesis tikus.

Pemberian ekstrak akar pasak bumi terstandar dan kontrol positif selama 6 hari belum dapat meningkatkan konsentrasi testosteron darah ($p > 0,05$). Lama pemberian ekstrak pasak bumi terstandar yang berbeda, yaitu selama 49 hari ternyata menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi testosteron, yaitu pada dosis 200mg/Kg BB dan kontrol positif testosteron ($p < 0,05$). Testosteron merupakan hormon steroid

yang berperan mengatur perilaku seksual terutama melalui peningkatan pemrosesan stimuli yang sesuai, dan pengaruhnya terhadap perubahan sintesis enzim reseptor atau protein yang mempengaruhi fungsi *neurotransmitter*⁽¹⁵⁾. Untuk mengevaluasi pengaruh pemberian suatu ekstrak tanaman yang berhubungan dengan potensi afrodisiak, salah satu cara yang dapat digunakan adalah dengan melihat efek tanaman tersebut terhadap hormon reproduksi antara lain testosteron. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack) terstandar selama 6 hari pada variasi dosis yang diberikan belum dapat meningkatkan hormon testosteron. Berbeda dengan perlakuan selama 49 hari, ekstrak akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack) terstandar dosis 200 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar testosteron secara signifikan dan terlihat adanya kecenderungan peningkatan kadar testosteron seiring peningkatan dosis yaitu 50mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak akar pasak bumi terstandar selama 6 hari belum cukup untuk meningkatkan kadar testosteron secara bermakna (ditunjukkan dengan *standart error* yang tinggi), sedangkan perlakuan selama 49 hari dapat dikatakan terdapat kecenderungan peningkatan kadar testosteron seiring peningkatan dosis perlakuan. Hasil ini memperkuat penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak akar pasak bumi dapat meningkatkan testosteron pada mencit, walaupun belum dapat meningkatkan perilaku seksual mencit (*kissing vagina dan mounting*)⁽¹⁶⁾.

Testosteron merupakan salah satu hormon androgen yang dihasilkan oleh sel-sel interstitial *Leydig*. Adanya peningkatan kadar hormon testosteron berhubungan dengan fungsi sel *Leydig* yang dirangsang oleh hormon *Luteinizing Hormone* (LH) dan substansi (ABP) yang dihasilkan sel *Sertoli* dengan pacuan FSH. Selama di dalam testis, LH mengikat reseptor membran pada sel *Leydig* dan menstimulasi sel *Leydig* untuk mengubah kolesterol menjadi testosteron. Pembentukan steroid oleh sel *Leydig* dapat distimulasi oleh produk yang dilepaskan sel *Sertoli*,

Tabel 2. Konsentrasi testosteron (ng/dL) tikus jantan yang mendapatkan perlakuan ekstrak pasak bumi terstandar pada hari ke-7 dan hari ke-50.

Perlakuan	Konsentrasi Testosteron (ng/dL) $\bar{x} \pm SE$	
	Hari Ke-7	Hari Ke-50
Kontrol negatif	3,76± 2,21	2,86 ±1,10
Kontrol positif testosterone 8 mg/kg BB	5,22±1,40	9,18 ±2,18*
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 50 mg/kg BB	6,68±2,36	2,20±1,18
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 100 mg/kg BB	3,311±0,70	3,58±0,27
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 200 mg/kg BB	5,76±0,09	7,09±1,41*

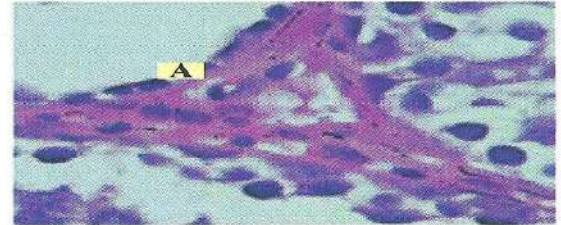
* terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

di mana sekresi ini dapat berlangsung karena adanya peningkatan FSH. *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan testosteron menstimulasi berbagai fungsi sel *Sertoli* termasuk sintesis dan sekresi *androgen-binding protein* (ABP), inhibin, *activin*, estrogen dan beberapa produk lainnya yang terlibat dalam transfer nutrisi *germ cells*, meiosis, pematangan spermatosit, spermiasi dan fungsi sel *Leydig*. Inhibin, yang diproduksi oleh sel *Sertoli* merupakan salah satu senyawa yang dapat merespons FSH dan menstimulasi pembentukan steroid di dalam sel *Leydig*. Inhibin bersama dengan testosteron merupakan senyawa yang terlibat dalam regulasi *feedback* dari fungsi hipofisis. Testosteron, dihidrotestosteron dan estrogen merupakan senyawa-senyawa yang meregulasi pembentukan dan sekresi LH melalui *feedback* negatif pada tingkat hipotalamus atau kelenjar hipofisis⁽¹⁷⁾. Peningkatan kadar testosteron diduga karena peningkatan aktivitas produksi LH dan FSH. LH merupakan hormon utama yang mengatur aktivitas steroidogenesis sel *Leydig* melalui mekanisme sinyal transduksi LH. Apabila LH menurun tentunya menurunkan transduksi LH pada *Leydig* yang menyebabkan penurunan *cAMP* sebagai *second messenger*. Selain itu dibantu oleh FSH secara tidak langsung pada sel *Leydig* berupa peningkatan jumlah reseptor LH, hiperplasi dan hipertropi sel *Leydig* serta peningkatan aktivitas enzim-enzim steroidogenik.

Jumlah Sel *Leydig*. Sel *Leydig* berperan dalam sekresi hormon steroid. Sel ini merupakan penyusun jaringan interstitial testis. Di dalam penelitian ini sel *Leydig* erat kaitannya dengan produksi hormon testosteron karena sel ini penghasil hormon tersebut.

Jumlah sel *Leydig* yang mendapatkan perlakuan ekstrak pasak bumi terstandar dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kontrol positif testosteron dosis 8 mg/kg BB, ekstrak akar pasak bumi terstandar dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB selama 49 hari dapat meningkatkan jumlah sel *Leydig*.

Sel *Leydig* berbentuk poligonal dengan inti sel terletak dipusat dan sitoplasma eosinofilik dengan banyak tetesan lipid halus. Sitoplasma sel *Leydig*



Gambar 1. Jumlah sel *Leydig* (A) perlakuan 49 hari ekstrak akar pasak bumi terstandar dosis 200 mg/kgBB, perbesaran 1000x.

mengandung banyak retikulum endoplasma agranuler. Retikulum endoplasma agranuler banyak mengandung enzim yang diperlukan untuk mensintesis kolesterol serta untuk mengubah pregnenolon yang dihasilkan dalam mitokondria menjadi testosteron.

Sel *Leydig* merupakan salah satu sel yang mensekresi hormon steroid. Sel ini merupakan penyusun jaringan interstitial testis. Secara keseluruhan volume testis *Rattus Norvegicus* terdiri dari 82,4% tubulus semineferus, 15,7% jaringan interstitial, dan 1,9% kapsul. Berdasarkan persentase di atas, sel *Leydig* menempati 2,7% volume testis dan setiap 1 cm³ (berisi sekitar 1 g) volume testis terdapat 22 juta sel *Leydig*⁽¹⁷⁾. Walaupun secara makroskopis tidak terlihat pengaruh ekstrak akar pasak bumi terhadap berat testis, tetapi setelah dilakukan uji mikroskopis terhadap gambaran sel *Leydig* meliputi jumlah dan diameter sel *Leydig*, ternyata terdapat perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Hasil pengukuran jumlah sel *Leydig* setelah pemberian ekstrak pasak bumi terstandar selama 6 hari menunjukkan bahwa hanya pada dosis 200 mg dan kontrol positif yang dapat meningkatkan aktivitas sel *Leydig* ($p < 0,05$), sementara pemberian ekstrak akar pasak bumi terstandar selama 49 hari menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel *Leydig* pada kontrol positif, dosis 100 mg/kg BB, dan 200 mg/kg BB. Peningkatan rerata jumlah sel *Leydig* diduga disebabkan adanya pacuan dari LH dan FSH. LH berperan merangsang sel *Leydig* membentuk *cAMP* dengan cara merangsang enzim adenilat

Tabel 3. Jumlah sel *Leydig* tikus jantan yang mendapatkan perlakuan ekstrak pasak bumi terstandar pada hari ke-7 dan hari ke-50.

Perlakuan	Rerata Jumlah sel <i>Leydig</i> $\bar{x} \pm SE$	
	Hari Ke-7	Hari Ke-50
Kontrol negatif	29,80±2,61	18,48±1,61
Kontrol positif testosterone 8 mg/kg BB	39,72±1,81*	28,48±1,44*
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 50 mg/kg BB	35,56±2,64	23,84±1,02
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 100 mg/kg BB	28,52±1,65	24,84±1,25*
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 200 mg/kg BB	39,32±1,77*	26,52±1,90*

* terdapat beda makna pada level 0,05.

Tabel 4. Diameter sel Leydig tikus jantan yang mendapatkan perlakuan ekstrak pasak bumi terstandar pada hari ke-7 dan hari ke-50.

Perlakuan	Rerata Diameter sel Leydig $\bar{x} \pm SE$	
	Hari Ke-7	Hari Ke-50
Kontrol negatif	7,07 \pm 0,13	7,07 \pm 0,37
Kontrol positif testosterone 8 mg/kg BB	7,06 \pm 0,13	6,97 \pm 0,09
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 50 mg/kg BB	6,88 \pm 0,09	6,82 \pm 0,09
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 100 mg/kg BB	6,91 \pm 0,11	6,61 \pm 0,06
Ekstrak pasak bumi terstandar dosis 200 mg/kg BB	6,94 \pm 0,11	6,75 \pm 0,16

siklase menjadi aktif⁽¹⁸⁾. Aktifnya enzim adenilat siklase akan mempengaruhi semua proses di dalam sel, salah satu adalah meningkatkan jumlah *cAMP*⁽¹⁹⁾. Dengan meningkat dan aktifnya *cAMP* maka akan meningkatkan pembentukan kolesterol menjadi pregnenolon melalui pengaktifan *protein kinase*⁽¹⁸⁾. Setelah pregnenolon terbentuk di dalam mitokondria, selanjutnya akan diubah menjadi bermacam-macam steroid dan salah satunya adalah testosterone.

Diameter Sel Leydig. Selain pengukuran terhadap jumlah sel *Leydig* dilakukan pula pengukuran terhadap diameter sel *Leydig*, hasil penelitian (Tabel 4) menunjukkan pemberian ekstrak akar pasak bumi selama 6 dan 49 hari tidak menunjukkan adanya perbedaan diameter *Leydig* ($p > 0,05$).

Hal ini mengindikasikan pemberian ekstrak akar pasak bumi terstandar tidak memberikan pengaruh yang berarti berupa pengurangan diameter pada diameter sel *Leydig*. Selama fase sintesis dalam siklus sel, DNA mengalami replikasi dan dinyatakan dengan melihat peningkatan volume inti dan peningkatan diameter inti yang nantinya berpengaruh pada aktivitas sel, sehingga diameter inti sel dapat dijadikan parameter untuk melihat aktif atau tidaknya inti sel. Pemberian ekstrak akar pasak bumi terstandar menunjukkan adanya pengurangan rerata diameter sel *Leydig*, hal ini diduga karena kurang aktifnya inti dalam mereplikasi DNA, sehingga DNA dan RNA yang dihasilkan berkurang, dan selanjutnya akan mengganggu kerja sel *Leydig*⁽¹²⁾.

Pengamatan kualitatif histopatologik testis. Hasil pengamatan histopatologik testis secara kualitatif menunjukkan tidak adanya nekrosis pada seluruh kelompok perlakuan pada pengamatan 7 hari dan 50 hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air akar pasak bumi terstandar tidak memberikan efek toksik terhadap sel testis pada pemberian jangka pendek, maupun jangka panjang.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak air akar pasak bumi (*E. longifolia*, Jack) terstandar pada tikus *Wistar* mempengaruhi jumlah

sel *Leydig* yang pada akhirnya dapat meningkatkan konsentrasi testosterone, yaitu pada dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yakubu MT, Akanji MA and Oladiji AT. Male sexual dysfunction and methods used in assessing medicinal plants with aphrodisiac potentials. *Pharmacog Rev* 1. 2007. 49-56.
2. Wibowo S dan Gofir A. Disfungsi ereksi. Yogyakarta: Pustaka Cendekia Press; 2007. 5-8.
3. Baziad A. Menopause dan Andropause. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2003. 217-19.
4. Ang HH, Sim MK. *Eurycoma longifolia*, Jack enhances libido in sexually experienced male rats. *Exp Anim*. 1997. 46(4):287-90.
5. Ang HH, Sim MK. *Eurycoma longifolia*, Jack and orientation activities in sexually experienced male rats, *Biol Pharm Bull*. 1998a. 21(2):153-5.
6. Ang HH, Sim MK. *Eurycoma longifolia*, Jack increases sexual motivation in sexually naïve male rats. *Arch Pharm res*. 1998b. 21(6):779-81.
7. Ang HH, Ikeda S, Gan EK. Evaluation of potency activity of aphrodisiac in *Eurycoma longifolia*, Jack. *Phytother Res*. 2001. 15(5):435-6.
8. Ang HH, Lee KL. Effect of *Eurycoma longifolia*, Jack on libido in middle aged male rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2002. 13(3):249-54.
9. Ang HH, Ngai TH, Tan TH. Effect of *Eurycoma longifolia*, Jack on sexual qualities in middle aged male rats. *Phytomed*. 2003a. 10(6-8):590-3.
10. Ang HH, Lee KL, Kiyoshi M. *Eurycoma longifolia*, Jack enhances sexual motivation in middle aged male rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2003b. 14(3):301-8.
11. Sandroni P. Aphrodisiacs past and present: a Historical Review. *Clin Auton Res*. 2001. 11:303-7.
12. Rumiati F. Pengaruh pemberian Solasodin per Oral terhadap gambaran sel-sel leydig dan kadar testosterone darah mencit (*Mus Muculus*, L) jantan dewasa. Tesis. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada; 1999.
13. Kurniawan C. Sinopsis Fisiologi. Yogyakarta: Pidi Publisher; 2006. 228.
14. Christensen and Mori HAK. Morphometric analysis of leydig cells in the normal rat testis. *The Journal of Cell Biology* 1980 .(84):340-54.

15. Winarni D. Efek ekstrak akar ginseng jawa dan korea terhadap libido mencit jantan pada prakondisi testosteron rendah. Berk Penel Hayati . 2007. 12:153-9.
16. Nainggolan O dan Simanjuntak JW. Pengaruh Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack.) Terhadap Perilaku Seksual Mencit Putih. Cermin Dunia Kedokteran. 2005. 146:55-7.
17. Cunningham J G. Textbook of Veterinary Physiology, Third Edition, Philadelphia: W. B. Saunders Company; 2002. 421-7.
18. Ganong WF. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran diterjemahkan oleh H.M Djauhari W. Edisi 20. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2001.408.
19. Junqueira LC. Carnero JC, Kelly RO. Histologi dasar. Edisi 8. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC;1998. 419-29.