

PEMBERIAN PASAK BUMI MEMENGARUHI KADAR TESTOSTERON DAN SPERMATOZOA KAMBING PERANAKAN ETAWA

The Administration of Eurycoma longifolia Jack Affect the Level of Testosterone and Spermatozoa of Etawa Crossbreed Goat

Hurip Pratomo^{1*} dan Yudi²

¹Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Terbuka, Tangerang Selatan

²Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

*Corresponding author: hurip@ecampus.ut.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui kinerja pemberian pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) terhadap kadar testosteron dan kualitas spermatozoa kambing peranakan etawa (PE). Seluruh kambing dikelompokkan ke dalam 2 kelompok, masing-masing terdiri atas tiga ekor, yaitu Kelompok 1 (K1, kontrol), diberikan 20 ml akuades per oral setiap pagi pukul 9:00 WIB selama enam hari, Kelompok 2 (K2) diberikan dosis seduhan pasak bumi 90 mg/kg bobot badan dalam 20 ml akuades per oral setiap pagi pukul 9:00 WIB selama enam hari. Konsentrasi testosteron diukur pada hari ke-1, 3, dan 6 menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Kualitas spermatozoa meliputi konsentrasi dan persentase spermatozoa hidup. Hasil penelitian menunjukkan kadar testosteron pada K2 meningkat dari hari ke-1 (9,36 ng/ml) sampai hari ke-6 (12,43 ng/ml) ($P<0,05$). Konsentrasi spermatozoa tidak meningkat nyata ($P>0,05$) pada K2 hari ke-1 sampai hari ke-6 dibandingkan dengan K1 (4016,66±794,64 vs 4462,50±901,56 juta/ml). Persentase spermatozoa hidup meningkat pada K2 dibandingkan dengan K1 pada hari ke-3 sampai hari ke-6, yaitu dari 88,6 dan 89,8% pada K1 menjadi 91,0 dan 92,7% pada K2. Disimpulkan bahwa pemberian pasak bumi dosis 90 mg/kg bobot badan dalam 20 ml akuades selama 6 hari dapat meningkatkan kadar hormon testosteron dan persentase spermatozoa hidup, walaupun tidak meningkatkan konsentrasi spermatozoa kambing jantan PE.

Kata kunci: kualitas spermatozoa, pasak bumi, testosteron level

ABSTRACT

The study aimed to find out the effect of *Eurycoma longifolia* Jack on testosterone level and spermatozoa quality of Etawa crossbreed goat. Goats were divided into two treatment groups, three goats each. Group 1 (K1) was control group which given orally 20 ml of distilled water every morning at 9:00 am for six days, and group 2 (K2) was administered with *Eurycoma longifolia* with the dose of 90 mg/kg bw in 20 ml of distilled water orally every morning at 9:00 am for six days. The concentration of testosterone was measured on day 1, 3, and 6 using the method of *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). The quality of sperm consisted of concentration and percentage of life sperm. The results showed that level of testosterone on K2 increased started from day 1 (9.36 ng/ml) to day 6 (12.43 ng/ml) ($P<0.05$). The percentage of life spermatozoa increased higher on K2 compare to K1 on day 3 to day 6, that was 88.6 and 89.8% on K1 to 91.0 and 92.7% on K2. In conclusion, the administration of pasak bumi with the dose of 90 mg/kg bw in 20 ml of distilled water for 6 days able to increase testosterone levels and percentage of life sperm of Etawa crossbreed goat.

Key words: quality of spermatozoa, *Eurycoma longifolia*, testosterone level

PENDAHULUAN

Indikator kualitas reproduksi induk kambing pejantan unggul dapat ditelusuri dari kualitas semen dan konsentrasi hormonalnya (Novita *et al.*, 2006). Pejantan kambing peranakan etawa (PE) membutuhkan kondisi kualitas reproduksi prima untuk dapat mengawini sejumlah betina PE dalam rangka peningkatan populasi kambing (Budi, 2005). Pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) populer sebagai afrodisiak dalam obat tradisional Indonesia. Tumbuhan pasak bumi atau dengan nama lain tongkat Ali merupakan suatu pohon dengan bentuk ramping dapat mencapai tinggi 15 m, daun-daunnya tipe pinatus berderet menyirip. Bunga pasak bumi adalah *diocious* atau berumah dua. Buah yang masak berwarna hijau gelap kemerahan. Akar pasak bumi keras dengan bagian dalam berwarna kekuningan (Lemmens, 2003; Fatmawati *et al.*, 2009).

Rebusan air bubuk akar pasak bumi diyakini dapat meningkatkan karakter reproduksi sekunder seperti libido dan durasi ereksi (Kardono *et al.*, 2003;

Fatmawati *et al.*, 2009). Penelitian pada distribusi sel asidofil dan sel basofil hipofisis yang disebabkan dari pemberian pasak bumi telah dilakukan menggunakan metode pewarnaan hemaktosilin eosin (HE) pada hipofisis tikus jantan. Pemberian secara oral pasak bumi dosis 18 mg/200 g bobot badan, dan kontrol 1 ml akuades selama tiga hari menunjukkan hasil bahwa populasi sel basofil meningkat signifikan pada hari ketiga, sementara sel asidofil menurun pada hari ketiga dibandingkan kontrol. Sel basofil hipofisis diketahui memproduksi hormon *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH) (Pratomo *et al.*, 2012).

Serbuk akar pasak bumi yang diseduh dengan air jika diminum beberapa kali dapat meningkatkan libido dan ketahanan ereksi pria (Kardono *et al.*, 2003; Travison *et al.*, 2013). Senyawa kandungan kimia akar pasak bumi sebagai tanaman obat tradisional digunakan untuk memulihkan kemampuan ereksi dan kesegaran tubuh (Adimoelja, 2000). Pasak bumi berperan juga meningkatkan libido tikus putih jantan tua (Ang *et al.*, 2004). Pratomo *et al.* (2012) memperoleh sejumlah

temuan pada tikus putih jantan dengan pemberian ekstrak air (seduhan) akar pasak bumi, antara lain (1) terjadi peningkatan kadar testosteron serum yang signifikan dibanding dengan kontrol, (2) kualitas semen secara makroskopis yang meliputi warna, konsistensi, dan pH dipertahankan setara dengan kontrol. Dosis temuan efektif penelitian Pratomo *et al.* (2012) adalah 18 mg/200 g bobot badan tikus putih jantan yang diberikan per oral sekali sehari selama tiga hari.

Berdasarkan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air pasak bumi pada tikus putih jantan dapat meningkatkan konsentrasi spermatozoa, menurunkan spermatozoa yang abnormal, serta meningkatkan populasi sel-sel basofil hipofisis (Pratomo *et al.*, 2011). Penelitian perlakuan pasak bumi pada kambing pejantan PE belum pernah dilakukan. Penelitian bertujuan menjelaskan kinerja pemberian pasak bumi enam hari terhadap kadar testosteron dan kualitas spermatozoa kambing PE.

MATERI DAN METODE

Hewan Coba

Dalam penelitian ini digunakan enam ekor kambing PE jantan, berumur 14-16 bulan. Seluruh kambing dikelompokkan ke dalam dua kelompok, masing-masing terdiri atas tiga ekor kambing, yaitu Kelompok 1 (K1, kontrol), diberikan 20 ml akuades per oral setiap pagi pukul 9:00 WIB selama enam hari. Kelompok 2 (K2) diberikan dosis seduhan pasak bumi 90 mg/kg bobot badan dalam 20 ml akuades per oral setiap pagi pukul 9.00 WIB selama enam hari. Kambing jantan PE dalam K1 dan K2 setiap hari digoda dengan didekati kambing betina estrus pada pukul 13.00 sampai dengan pukul 14.00 WIB, selanjutnya pada pukul 14.00 WIB hari ke-1, ke-3, dan ke-6 diambil sampel darah dan semen sesuai keperluannya.

Berdasarkan dosis efektif pada tikus putih, digunakan seduhan pasak bumi 18 mg/200 g bobot badan (90 mg/kg bobot badan) selama tiga hari temuan Pratomo *et al.* (2012), relatif aman karena masih jauh di bawah dosis LD₅₀. Dosis LD₅₀ pasak bumi temuan Panjaitan (2008) adalah 34,65 g/kg bobot badan. Diketahui bahwa kambing PE termasuk hewan ruminansia yang biasa mengeluarkan kembali makanan yang telah masuk ke lambung untuk dikunyah ulang, maka dosis perlakuan 90 mg/kg bobot badan disesuaikan dengan bobot badan (Calisi dan Bentley, 2009).

Pembuatan Serbuk Akar Pasak Bumi

Sumber akar tanaman pasak bumi diperoleh dari Banjarmasin yang berasal langsung dari hutan-hutan di provinsi Kalimantan Selatan sehingga terjamin keasliannya. Pembuatan serbuk akar pasak bumi dilakukan di Laboratorium Hewan Coba dan Toksikologi Puslitbang Biomedis dan Farmasi Depkes Jakarta. Akar tanaman pasak bumi diproses mengikuti cara Depkes (2003) yang dimodifikasi. Akar pasak bumi dikuliti, bagian dalam berupa kayu dicuci bersih

lalu ditiriskan dan dipotong-potong. Potongan dikeringkan dalam oven pada suhu 50° C selama lima hari, selanjutnya digiling sampai menjadi serbuk menggunakan alat giling merk Wiley mill USA, lalu disaring dengan pengayak Mesh 50.

Pengukuran Kadar Testosteron

Pengukuran kadar testosteron di Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR) Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Sampel darah diambil pada pukul 14:00 WIB pada hari ke-1, 3, dan 6. Darah tersebut didiamkan 2 jam pada suhu kamar, lalu serumnya diambil dan disimpan di dalam eppendorf. Serum tersebut selanjutnya diproses mengikuti prosedur analisis hormon testosteron dengan teknik ELISA (EIA 1559) (Asihara dan Kasahara, 2001; Squires, 2003).

Serum dimasukkan ke dalam masing-masing sumur pelat (*microplate*) sebanyak 25 µl standar, sampel dan *quality control* (QC), ditambahkan 200 µl konyugat enzim HRP *testosterone (enzym conjugate)* ke dalam setiap sumur, dikocok perlahan selama kurang lebih 10 detik. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam. Setelah diinkubasi, larutan pada pelat dibuang dan dicuci dengan larutan pencuci (*washing solution*) dengan volume 300 µl setiap sumur. Pencucian dilakukan sebanyak 4 kali menggunakan alat *microplate strip washer Elx50™*. Setelah pencucian selesai, dikeringkan dengan cara dibanting secara perlahan pada kertas penyerap.

Tahapan berikutnya ditambahkan 200 µl larutan substrat *tert-butyl mercaptan* (TBM) pada masing-masing sumur pelat, lalu diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang. Setelah diinkubasi dengan larutan substrat, reaksi enzimatik dihentikan dengan menambahkan 100 µl *stop solution* (H₂SO₄ 0,5 M) ke dalam setiap sumur pelat. Setelah itu, absorbans dibaca pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *ELISA reader (absorbance microplate reader Elx808™)* yang telah dilengkapi dengan program Gen 5 (*BioTek® Instruments, Inc.*). Pembacaan dilakukan tidak boleh lebih dari 10 menit setelah penambahan *stop solution*.

Pengukuran Konsentrasi Spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan kamar hitung Neubauer dengan cara mencampurkan semen kambing jantan PE sejumlah 1 µl dengan larutan *formosaline* 999 µl. Campuran dihomogenkan, lalu ditetaskan pada kamar hitung Neubauer. Penghitungan spermatozoa (pembesaran 40 x) dilakukan acak teratur dari 25 kamar hitung, hanya dihitung lima kamar saja terdiri atas bagian sudut-sudut dan tengah (sudut kanan atas dan bawah, sudut kiri atas dan bawah, serta tengah). Konsentrasi spermatozoa diperoleh dari hasil penghitungan x 10 x 10⁶ sperma/ml (Yudi *et al.*, 2010).

Pengukuran Persentase Spermatozoa hidup

Spermatozoa hidup dihitung dengan cara: satu tetes semen dari ejakulat kambing jantan PE ditetaskan lalu

dicampur tiga tetes eosin negrosin dan dibuat preparat ulas pada obyek gelas. Preparat diletakkan di atas meja penghangat (*hot plate*) sampai kering. Spermatozoa dihitung dengan pembesaran 40 x atau 100 x. Spermatozoa yang hidup berwarna putih/bening karena tidak menyerap warna negrosin eosin. Perhitungan spermatozoa yang hidup dibandingkan dengan seluruh spermatozoa yang ada dan dinyatakan dalam persentase (Yudi *et al.*, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perolehan pengukuran kadar testoteron dari serum darah kambing jantan PE K1 dan K2 disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar hormon testoteron kambing jantan PE yang mendapat perlakuan pasak bumi

Hari ke-	Rata-rata konsentrasi testoteron (ng/ml)	
	K1, kontrol	K2, pasak bumi
1	8,28±0,70 ^a	9,36±0,38 ^a
3	7,36±1,09 ^a	10,43±1,64 ^b
6	11,92±2,17 ^a	12,43±3,62 ^b

^{a,b} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Kadar testoteron tidak meningkat nyata secara statistik pada kelompok kontrol dari hari ke-1 sampai hari ke-3 dan bahkan sedikit menurun (8,28±0,70 vs 7,36±1,09 ng/ml). Fenomena yang terjadi itu menggambarkan bahwa di bawah pengaruh perlakuan godaan dari betina estrus sekali setiap tiga hari, sampai pada hari ke-3 belum meningkatkan respons sel-sel sertoli untuk mensekresi testoteron ke dalam aliran darah pada K1. Peningkatan kadar testoteron secara signifikan pada K1 terjadi pada hari ke-6.

Kadar testoteron pada K2 mengalami peningkatan signifikan (P<0,05). Kadar testoteron yang terjadi pada K2 meningkat dari hari ke-1 (9,36 ng/ml) sampai hari ke-6 (12,43 ng/ml). Berdasarkan hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa senyawa yang terkandung dalam pasak bumi memengaruhi peningkatan sintesis testoteron di dalam sel-sel Leydig dan libido (Adimoelja, 2000), yang diikuti dengan sekresi testoteron ke dalam sirkulasi darah. Peningkatan libido pada mencit jantan juga dijumpai setelah pemberian ekstrak etanol pasak bumi (Nainggolan dan Simanjutak, 2005). Beberapa senyawa yang terkandung di dalam akar pasak bumi yang bekerja mengaktifkan sel-sel Leydig untuk meningkatkan produksi testoteron masih belum diketahui (Pratomo *et al.*, 2012).

Testoteron dibutuhkan untuk perkembangan normal spermatozoa. Testoteron mengaktifkan gen-gen di dalam sel-sel Sertoli yang memicu diferensiasi sel-sel spermatozoa dalam perkembangan spermatogenesis misalnya diferensiasi spermatogonia. Testoteron juga berpengaruh pada respons tanggapan jalur sumbu hipotalamus-hipofisis-adrenal (*hypothalamic-pituitary-adrenal axis* atau HPA) (Mehta *et al.*, 2008). Sekitar 95% testoteron kira-kira diproduksi oleh testis pada jantan. Testoteron juga disintesis dalam jumlah yang jauh lebih sedikit pada

betina oleh sel-sel teka dari ovarium, oleh plasenta, dan juga oleh zona reticularis dari korteks adrenal pada jantan dan betina. Pada testis, testoteron diproduksi oleh sel-sel Leydig. Kelenjar generatif jantan juga mengandung sel-sel Sertoli yang membutuhkan testoteron untuk proses spermatogenesis (Mooradian 1987; Morgentaler dan Schulman 2009).

Konsentrasi spermatozoa tidak meningkat nyata (P<0,05) pada kelompok perlakuan pasak bumi dibandingkan dengan kelompok kontrol (4016,66±794,64 vs 4462,50±901,56 juta/ml). Senyawa kimia kandungan pasak bumi yang diberikan selama enam hari tidak bekerja meningkatkan konsentrasi spermatozoa pada K2 secara statistik. Walaupun konsentrasi spermatozoa tidak meningkat nyata secara statistik, konsentrasi spermatozoa baik K1 maupun K2 relatif mengalami peningkatan pada hari ke-6. Peningkatan relatif konsentrasi spermatozoa diduga disebabkan adanya perlakuan godaan kambing betina estrus pada K1 dan K2 yang meningkatkan libido. Perlakuan godaan betina estrus meningkatkan libido dan aktivitas sel basofil hipofisis terjadi pada tikus putih jantan (Pratomo, 2013).

Peningkatan testoteron pada hari ke-6 ternyata belum meningkatkan konsentrasi spermatozoa pada kambing jantan PE K2 pasak bumi. Hal ini kemungkinan masih diperlukan waktu tambahan di dalam proses atau mekanisme terjadinya peningkatan konsentrasi spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa berkorelasi dengan kelimpahan jumlah sel-sel spermatozoa dan cairan semen di dalam tubulus seminiferus yang berkaitan dengan aktivitas hormon testoteron. Melalui pengaruh pada hewan jantan dan pria maka hormon testoteron membantu mempertahankan kondisi optimum dalam proses spermatogenesis di dalam tubuli seminiferi (Favig dan Foad, 2009). Testoteron dan dehidrotetosteron (DHT) berikatan dengan reseptor di sitoplasma, kemudian kompleks steroid-reseptor mengalami modifikasi dan translokasi ke dalam nukleus dan berikatan dengan tempat spesifik (*specific binding site*) pada kromosom. Hal ini menyebabkan aktivitas RNA polimerase meningkat diikuti dengan peningkatan sintesis protein yang dibutuhkan dalam proses spermatogenesis (Squires, 2003).

Peningkatan persentase spermatozoa hidup dari semen ejakulat kambing pejantan PE berbeda nyata secara statistik antara K2 pasak bumi dengan K1 kontrol (P<0,05). Hasil penelitian pada Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase hidup spermatozoa meningkat pada K2 dibandingkan dengan K1 pada hari ke-3 dan hari ke-6, yaitu dari 88,6 dan 89,8% pada K1 menjadi 91,0 dan 92,7% pada K2. Kemungkinan mekanisme kerja pasak bumi pada peningkatan persentase spermatozoa hidup dimulai dari tingkat aktivitas sel-sel produsen LH pada hipofisis yang dirangsang oleh senyawa kandungan pasak bumi misalnya: eurikomanon, longilakton, atau lainnya secara sendiri ataupun bersinergi. Kerja pasak bumi pada peningkatan persentase spermatozoa hidup berkaitan dengan peningkatan nyata sel-sel produsen hormon LH dan peningkatan testoteron temuan

Tabel 2. Konsentrasi dan persentase spermatozoa hidup kambing jantan PE yang mendapat perlakuan pasak bumi

Hari ke-	Konsentrasi spermatozoa (juta/ml)		Persentase spermatozoa hidup (%)	
	K1, kontrol	K2, pasak bumi	K1, kontrol	K2, pasak bumi
1	3687,50±530,33 ^a	3445,83±212,98 ^a	89,90±0,60 ^a	89,80±2,30 ^a
3	3375,00±777,82 ^a	3341,66±236,29 ^a	88,60±2,40 ^a	91,00±2,10 ^b
6	4462,50±901,56 ^a	4016,66±794,64 ^a	89,80±0,60 ^a	92,70±2,60 ^b

^{a,b}Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Pratomo (2012). Kedua hormon tersebut mengaktifkan sel-sel epididimis untuk mensekresikan senyawa-senyawa antara lain karnitin, gliseroposporilkolin, fruktosa, dan glikoprotein. Dua senyawa yang terakhir membungkus permukaan spermatozoa. Kemampuan daya hidup yang dinyatakan dalam persentase spermatozoa hidup berhubungan dengan kecukupan nutrisi dan energi di dalam semen. Plasma semen mengandung protein, asam askorbat, natrium, kalium, dan kalsium, komponen protein dan natrium terdapat dalam jumlah cukup besar (Nurcholidah *et al.*, 2008; Safarinejad *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Pemberian pasak bumi dosis 90 mg/kg bobot badan dalam 20 ml akuades sampai hari ke-6 meningkatkan kadar hormon testosteron dan persentase spermatozoa hidup, walaupun tidak meningkatkan konsentrasi spermatozoa kambing jantan PE.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Terbuka, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan atas bantuan pendanaan kegiatan melalui skim PUPT No. 8592/UN31.2/PG/2014 tanggal 19 Maret 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimoelja, A. 2000. Phytochemical and the breakthrough of traditional herbs in the management of sexual dysfunction. *Int. J. Androl.* 23(2):82-84.
- Ang, H.H. and K.L. Lee. 2002. Effect of *Eurycoma longifolia* Jack on orientation activities in middle-aged male rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 16(6):479-483.
- Ang, H.H., K.L. Lee, and M. Kiyoshi. 2004. Sexual arousal in sexually sluggish old male rats after oral administration of *Eurycoma longifolia* Jack-tongkat ali. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 15(3-4):303-309.
- Ang, H.H., Y. Hitotsuyanagi, and K. Takeya. 2000. Eurycolactones A-C, novel quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *Tetrahedron Pychochemistry.* 41(35):6849-6853.
- Asihara, Y. and Y. Kasahara. 2001. Immunoassay and immunochemistry. In *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. John, B.H. (Ed.). 21st ed. WB Saunders Co., Philadelphia.
- Bhat, R. and A.A. Karim. 2010. Tongkat ali (*Eurycoma longifolia* Jack) a review on its ethnobotany and pharmacological importance. *Fitoterapia.* 81(7):669-679.
- Budi, U. 2005. Pengaruh interval pemerahan terhadap aktivitas seksual setelah beranak ada kambing peranakan etawa. *J. Agribisnis Peternakan.* 1(2):5-17.
- Calisi, R.M., and G.E. Bentley. 2009. Lab and field experiments: Are they the same animal? *Horm. Behav.* 56:1-10.
- Cox, R.M. and A.H.B. John. 2005. Testosterone has opposite effects on male growth in lizards (*Sceloporus* spp.) with opposite patterns of sexual size dimorphism. *J. Exp. Biol.* 208(24):4679-4687.
- Depkes, 2003. Standarisasi Sediaan Obat Herba. **Makalah Seminar dan Pameran Nasional.** Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta.
- Fatmawati, D., R.S. Saraswati, dan M.A. Djaelani. 2009. Efek pemberian pasak bumi (*Eurycoma longifolia*) terhadap motilitas dan abnormalitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*). *Sains Medika.* 1(2):159-167.
- Favig, EM. and O. Foad. 2009. Serum and plasma levels of total and free testosterone and of sex hormone binding globulins in rats growing in the below sea level environment of the Jordan valley. *J. Endocrinol.* 5(2):1-6.
- Fitrianto, T.Y. Astuti, dan S. Utami. 2013. Kajian viskositas dan berat jenis susu kambing peranakan etawa (PE) pada awal, puncak, dan akhir laktasi. *J. Ilmiah Peternakan.* 1(1):299-306.
- Goymann, W. and J.C. Wingfield. 2014. Male-to-female testosterone ratios, dimorphism, and life history-what does it really tell us? *Behav. Ecol.* 25(4):685-699.
- Itokawa, H., E. Kishi, H. Morita, and K. Takeya. 1992. Cytotoxic quassinoids and tirucallane type triterpenes from the woods of *Eurycoma longifolia*. *Chemical Pharmacy Bulletin.* 40(4):1053-1055.
- Kardono, L.B.S., N. Artanti, I.D. Dewiyanti, and T. Basuki. 2003. **Selected Indonesian Medicinal Plants: Monographs and Descriptions.** 1st ed. PT Gramedia Widiasarana, Jakarta.
- Lemmens, R.H.M.J. 2003. *Eurycoma longifolia* Jack. In **Medicinal and Poisonous Plants 3. Plants Resources of South East Asia.** Lemmens, R.H.M.J. and N. Bunyapraphatsara (Eds.). Backhuys Publishers, Leiden.
- Manalu W., W.Y. Sumaryadi, Sudjatmogo, dan A.S. Satyaningtyas. 2000. Effect of superovulation prior to mating on milk production performane during lactation in evves. *J. Dairy Sci.* 83:477-83.
- Mardalena, Adriani, dan F. Manin. 2008. Peningkatan susu kambing peranakan etawa melalui aplikasi teknologi pemberian konsentrat di kabupaten Muoro Jambi. *J. Pengabdian pada Masyarakat.* 45:24-35.
- Mehta, P.H., A.C. Jones, and R.A. Josephs. 2008. The social endocrinology of dominance: basal testosterone predicts cortisol changes and behavior following victory and defeat. *J. Pers. Soc. Psychol.* 94(6):1078-1093.
- Mooradian, A.D., J.E. Morley, and S.G. Korenman. 1987. Biological actions of androgens. *Endocr. Rev.* 8(1):1-28.
- Morgentaler, A. and C. Schulman. 2009. Testosterone and prostate safety. *Front. Horm. Res.* 37:197-203.
- Nainggolan, O. and J.W. Simanjutak. 2005. The effect of ethanolic pasak bumi root (*Eurycoma longifolia* Jack) extract on sexual behaviour in white mice. *Cernin Dunia Kedokteran.* 146:55-57.
- Ng-Kwai-Hang, K.F. 1998. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with traits, milk composition, and technological properties. *J. Anim. Sci.* 78:131-147.
- Novita, C.I., A. Sudono, I.K. Utama, dan Toharmat. 2006. Produktivitas kambing peranakan etawa yang diberi ransum berbasis jerami padi fermentasi. *Media Peternakan.* 29(2):96-106.
- Nurcholidah, S., R. Idi, S. Darodjah, M. Rizal, M. Fitriati. 2008. Kualitas spermatozoa kauda epididimis sapi peranakan Ongol (PO) dalam pengencer susu, tris, sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5°C. *Anim Prod.* 10(1): 22-29.
- Panjaitan, R.G.P. 2008. Pengujian aktivitas hepatoprotektor akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) **Disertasi.** Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pratomo, H. 2013. Peningkatan libido dan populasi sel basofil hipofisis tikus putih jantan pengaruh pemberian pasak bumi. **Prosiding Seminar Nasional Matematika, Sains, dan Teknologi.** Yogyakarta:4.B 22-31.
- Pratomo, H., I. Supriatna, W. Manalu, dan A. Winarto. 2012. Tingkat aktifitas sel endokrin penghasil folikel stimulating hormon (FSH)

- terkait pemberian pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack). **J. Kefarmasian Indonesia**. 1(1):1-10.
- Pratomo, H., I. Supriatna, W. Manalu, dan A. Winarto. 2011. Perubahan Sebaran Sel-Sel Asidofil dan Basofil Hipofisa Pengaruh Pemberian Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack). **J. Matematika, Sains, dan Teknologi**. 12(2):80-91.
- Reed, W.L., M.E. Clark, P.G. Parker, S.A. Raouf, N. Arguedas, D.S. Monk, E. Snajdr, V. Nolan, and E.D. Ketterson. 2006. Physiological effects on demography: A long-term experimental study of testosterone's effects on fitness. **Am. Natural Sci**. 167(5):667-683.
- Safarinejad, M.R., Y.H. Seyyed, D. Farid, and A.A. Majid. 2010. Relationship of omega 3 and omega 6 fatty acids with semen characteristics and antioxidant status of seminal plasma: comparison between fertile and infertile men. **Clin. Nutri**. 29:100-105.
- Squires, E.J. 2003. **Applied Animal Endocrinology**. Cabi Publishing, Wallingford UK.
- Travison, T.G., J.E. Marley, A.B. Arrujo, O' Donnel, and B. Mc Kinlay. 2013. The relationship between libido and testosterone levels in aging men. **J. Clin. Endocrinol. Metab**. 97(7):2509-2513.
- Yudi, Y., T.L. Yusuf, B. Purwantara, M. Agil, T. Wresdiyati, D. Sayuthi, A. Aditya, J. Manansang, R. Sudarwati, dan Y.T. Hastuti. 2010. Morfologi dan biometri spermatozoa anoa (*Bubalus* sp) yang diwarnai dengan pewarna William's dan eosin negrosin. **Media Peternakan** 33(2):88-94.