



Efek Pemberian Ekstrak *Eurycoma Longifolia* dan *Pimpinella Alpina* pada Spermatogenesis Tikus Sprague Dawly

Achmad Zulfa Juniarto *

ABSTRACT

The effect of eurycoma longifolia and pimpinella alpina on spermatogenesis in male Sprague Dawly

Background: Alternative medicine used to overcome infertility among others is using traditional herbs. Crops which often used are pasak bumi (*Eurycoma longifolia*) and purwaceng (*Pimpinella alpina*). Several studies reported that pasak bumi and purwaceng could improve testosterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone level in animal. The aim of the study was to analyze whether the extract of *Eurycoma longifolia* and *Pimpinella alpina* had effect on motility and spermatogenesis in white male Sprague Dawly mouse.

Material and Method: Thirty white male mice, aged 40 days, with mean body weight of 200 grams were divided into 10 groups randomly. Each mouse was placed into individual cage and was given 25 mg *Pimpinella alpina*, 25 mg *Eurycoma longifolia* Jack and plain water in control group. Food was given *ad libitum*. All the treatment was given every morning for 53 days successively then the testis and epididymis were taken for analysis.

Result: Administration of *Eurycoma longifolia* and *Pimpinella alpina* increased the number and motility of sperms as well as the spermatogenesis. However, there was no difference between the effect of *Eurycoma longifolia* and *Pimpinella alpina*.

Conclusion: Extract of *Eurycoma longifolia* and *Pimpinella alpina* can improve spermatogenesis.

Keywords: *Eurycoma longifolia*, *pimpinella alpina*, spermatogenesis

ABSTRAK

Latar belakang: Pengobatan alternatif untuk mengatasi infertilitas antara lain adalah dengan menggunakan pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) dan purwaceng (*Pimpinella alpina*). Pada beberapa penelitian keduanya terbukti meningkatkan kadar hormon testosteron, luteinizing hormone dan follicle stimulating hormone. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari apakah pemberian ekstrak pasak bumi dan purwaceng berpengaruh terhadap peningkatan derajat spermatogenesis serta jumlah dan motilitas sperma pada tikus putih jantan Sprague Dawly.

Metode: Tiga puluh ekor tikus putih jantan, umur 40 hari dengan berat badan rata-rata 200 gram dibagi menjadi 10 kelompok secara acak. Tiap-tiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Setiap tikus ditempatkan dalam kandang individual. Makanan yang diberikan secara *ad libitum*. Masing-masing kelompok diberi perlakuan ekstrak akar pasak bumi sebanyak 25 mg, purwaceng sebanyak 25 mg dan akuades sebagai kontrol. Semua perlakuan tersebut diberikan tiap pagi selama 53 hari berturut-turut, kemudian diperiksa testis untuk derajat spermatogenesisnya dan epididimisnya. Untuk pemeriksaan jumlah dan motilitasnya

Hasil: Pemberian ekstrak pasak bumi maupun purwaceng meningkatkan jumlah, motilitas spermatozoa serta derajat spermatogenesis tikus bila dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,01$). Efek pemberian pasak bumi tidak berbeda dengan pemberian purwaceng ($p > 0,01$).

Simpulan: Ekstrak *Eurycoma longifolia* dan *Pimpinella alpina* meningkatkan derajat spermatogenesis.

* Bagian Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo No. 18 Semarang

PENDAHULUAN

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.

Pewarisan karya pengobatan tradisional dari nenek moyang kepada generasi penerusnya sudah dilakukan sejak ratusan tahun yang lalu. Obat tradisional yang sering digunakan oleh laki-laki untuk meningkatkan kejantannya adalah akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia Jack*)^{1,2,3} dan purwaceng (*Pimpinella alpina*).^{4,5,6} 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 minggu.¹ Sampai saat ini belum banyak penelitian ilmiah yang membuktikan khasiat ekstrak tanaman tersebut paling tidak di Indonesia terutama untuk peningkatan spermatogenesisnya.

Pada beberapa penelitian pasak bumi dan purwaceng dapat meningkatkan kadar hormon testosteron, *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH) pada hewan coba.¹⁻⁷ 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 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.^{8,9} Dalam penanganan kasus infertilitas, ilmu kedokteran di Indonesia baru berhasil menolong tidak lebih dari 50% pasangan infertil untuk memperoleh anak yang diinginkannya.

Berdasarkan data tersebut di atas, sangatlah menarik untuk dilakukan penelitian guna melihat khasiat pasak bumi dan purwaceng dalam meningkatkan jumlah, motilitas serta spermatogenesis. Selain itu dapat digunakan sebagai dasar pengembangan obat tersebut selanjutnya.

METODE

Penelitian eksperimental murni ini dengan kelompok perlakuan diberi *Eurycoma longifolia Jack* dan *Pimpinella alpina*. Faktor-faktor luar yang berpengaruh

terhadap organ spermatogenesis dikendalikan seperti asupan makanan yang kemungkinan mengandung hormon testosteron atau *testosterone like substance*. Rancangan penelitian menggunakan rancangan *experimental randomized post test only control group design*.

Dalam penelitian ini digunakan tikus putih jantan *strain Sprague-Dawly* usia 40 hari dengan berat rata-rata 200 gr sebanyak 30 ekor yang dibagi dalam 3 kelompok. Kelompok I diberi larutan ekstrak *Pimpinella alpina* sebanyak 2 ml (25 mg), kelompok II diberi larutan ekstrak akar *Eurycoma longifolia Jack* sebanyak 2 ml (25 mg) dan kelompok kontrol diberi *aquadest* sebanyak 2 ml.

Semua perlakuan tersebut diberikan tiap pagi selama 53 hari berturut-turut, kemudian diperiksa testis untuk derajat spermatogenesisnya dengan melihat diameter tubulus seminiferus testis dan juga derajat Johnson serta epididimis untuk pemeriksaan jumlah dan motilitas spermatozoa.

HASIL

Pemeriksaan jumlah spermatozoa dalam epididimis

Jumlah spermatozoa dalam epididimis tikus dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah spermatozoa (Σ/LBP)

	Jumlah Sampel	Rerata ± SB	Median
Kontrol	10	98,2±18,5	105
Purwaceng	10	156,2±19,3	162
Pasak bumi	10	162,6±8,3	107

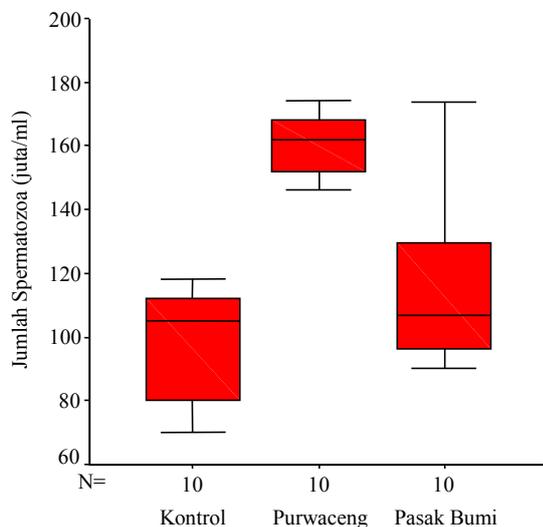
Nilai p=0,000

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada kontrol mempunyai jumlah spermatozoa paling sedikit dibanding kelompok perlakuan baik purwaceng maupun pasak bumi. Data tersebut kemudian diuji non parametric dengan *Kruskal Wallis*. Analisis dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok seperti dapat dilihat pada Tabel 2.

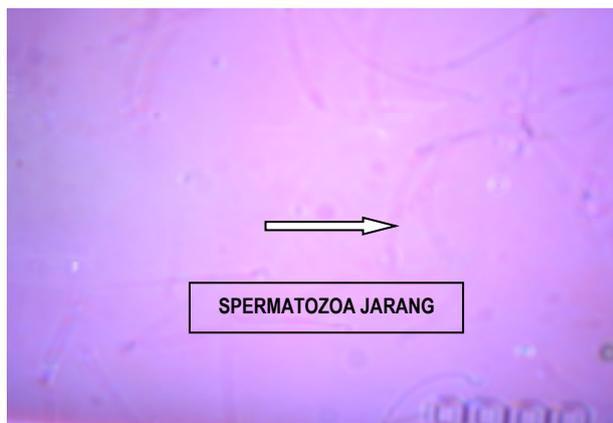
Tabel 2. *Mann Whitney Test* jumlah spermatozoa dalam epididimis

	Perlakuan	Perlakuan	Nilai p
<i>Mann Whitney Test</i>	Kontrol	Purwaceng	0,001
		Pasak bumi	0,000
	Purwaceng	Kontrol	0,001
		Pasak bumi	0,622
Pasak bumi	Kontrol	0,000	
	Purwaceng	0,622	

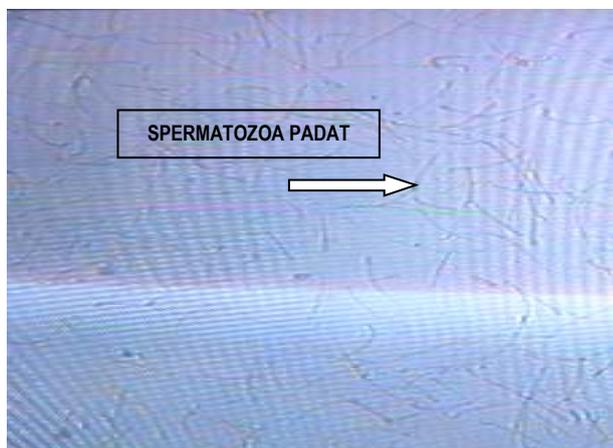
Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna baik antara kontrol dengan purwaceng maupun kontrol dengan pasak bumi ($p < 0,01$). Sebaliknya pada perlakuan pasak bumi dengan purwaceng tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$).



Gambar 1. *Box plot* jumlah spermatozoa



Gambar 2. Sperma kontrol



Gambar 3. Sperma kelompok



Gambar 4. Sperma kelompok pasak bumi

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dalam epididimis

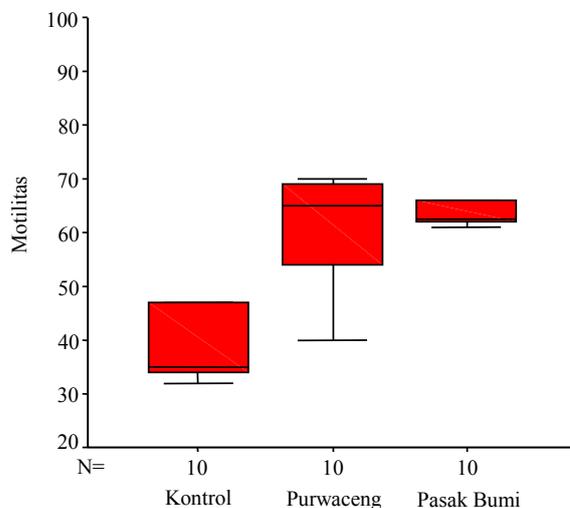
Motilitas spermatozoa dalam epididimis tikus dapat dilihat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Motilitas spermatozoa

	Jumlah Sampel	Rerata ± SB
Kontrol	10	38,7±6,7
Purwaceng	10	62,7±14,2
Pasak Bumi	10	64,8±7,3

Nilai $p=0,000$

Pada Tabel 3 terlihat bahwa pada kontrol mempunyai rerata motilitas spermatozoa paling rendah bila dibandingkan dengan pasak bumi maupun purwaceng. Uji *Lavene* mendapatkan data varian adalah homogen ($p > 0,05$) yang berarti memenuhi syarat dilakukan uji Anova. Pada uji Anova didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) diantara ketiga kelompok perlakuan. Analisis dilanjutkan dengan *Pos Hoc Analysis* dengan *Tukey HSD* seperti dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 5. *Box plot* motilitas spermatozoa

Tabel 4. *Pos hoc analysis* motilitas spermatozoa di epididimis

	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

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna baik antara kontrol dengan pasak bumi maupun kontrol dengan purwaceng ($p < 0,01$). Sebaliknya pada perlakuan pasak bumi dengan purwaceng tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan uji *Tukey HSD* ($p > 0,05$).

Pemeriksaan sediaan testis

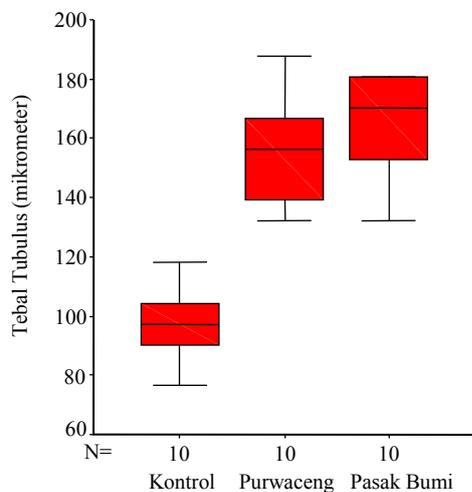
Tabel 5 menunjukkan hasil pemeriksaan diameter tubulus seminiferus.

Tabel 5. Diameter tubulus seminiferus

	Jumlah sampel	Rerata±SB	Median
Kontrol	10	104,3±31,4	97,3
Purwaceng	10	155,3±18,0	156,4
Pasak bumi	10	165,4±16,6	170,3

Nilai $p = 0,001$

Pada Tabel 5 terlihat bahwa pada kontrol mempunyai rerata diameter tubulus seminiferus paling kecil bila dibandingkan dengan pasak bumi maupun purwaceng. Data kemudian diuji 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 Gambar 6 dan Tabel 6.



Gambar 6. *Box plot* diameter tubulus seminiferus

Tabel 6. 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

Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna baik antara kontrol dengan pasak bumi maupun dengan purwaceng ($p < 0,01$). Sebaliknya pada perlakuan pasak bumi dengan purwaceng tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Pemeriksaan derajat spermatogenesis testis dengan menggunakan kriteria Johnson diperoleh hasil sebagai tersaji pada Tabel 7.

Tabel 7. Derajat spermatogenesis Johnson

	Jumlah sampel	Rerata±SD
Kontrol	10	7,3±1,8
Purwaceng	10	9,6±0,5
Pasak bumi	10	9,7±0,5

Nilai $p = 0,001$

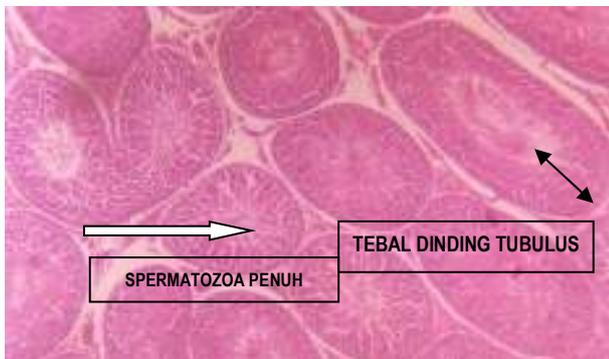
Derajat spermatogenesis testis dari kelompok kontrol mempunyai rerata skor paling rendah bila dibandingkan dengan kelompok pasak bumi maupun kelompok purwaceng. Uji non parametrik *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara ketiga kelompok ($p < 0,01$). Data ini kemudian diuji lebih lanjut dengan menggunakan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok seperti terlihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Uji *Mann Whitney* untuk derajat spermatogenesis Johnson

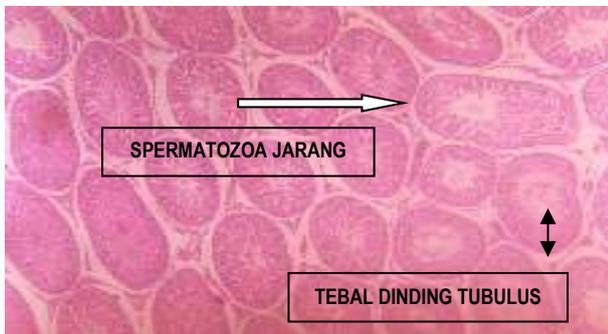
	Perlakuan	Perlakuan	Nilai p
<i>Uji Mann Whitney</i>	Kontrol	Purwaceng	0,002
		Pasak bumi	0,001
	Purwaceng	Kontrol	0,002
		Pasak bumi	0,648
	Pasak bumi	Kontrol	0,001
		Purwaceng	0,648

Terlihat dalam Tabel 8 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

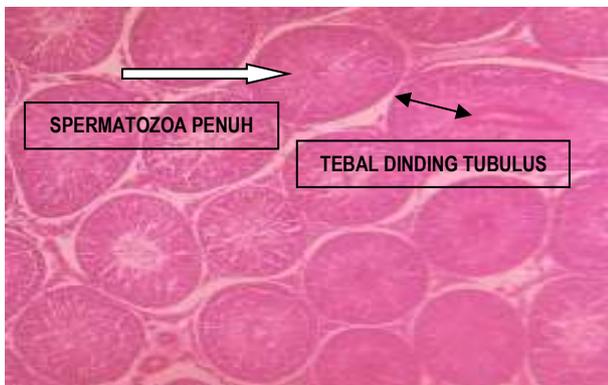
kontrol. Antara kelompok pasak bumi dengan purwaceng tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,01$).



Gambar 7. Tubulus seminiferus purwaceng



Gambar 8. Tubulus seminiferus kontrol



Gambar 9. Irisan tubulus seminiferus kelompok pasak bumi

PEMBAHASAN

Pemeriksaan jumlah spermatozoa menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pasak bumi maupun purwaceng memberikan hasil yang bermakna terhadap peningkatan jumlah spermatozoa tikus. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan peneliti sebelumnya, dimana pemberian ekstrak pasak bumi dan purwaceng dapat meningkatkan kadar LH, FSH dan testosteron.¹⁻⁷ Adanya peningkatan hormon tersebut pada akhirnya juga akan meningkatkan jumlah spermatozoa.^{8,10}

Pemberian ekstrak pasak bumi tidak memberikan perbedaan yang bermakna apabila dibandingkan dengan pemberian ekstrak purwaceng. 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 menampilkan perbedaan yang bermakna.

Seperti pada pemeriksaan jumlah spermatozoa, pada pemeriksaan motilitas pada epididimis ini juga menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan kelompok perlakuan baik pasak bumi maupun purwaceng ($p<0,01$), tetapi tak ada perbedaan yang bermakna antara pemberian pasak bumi dengan purwaceng ($p>0,01$).

Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian pasak bumi maupun purwaceng dapat meningkatkan motilitas spermatozoa. Seperti yang telah disebutkan bahwa pemberian ekstrak pasak bumi dan purwaceng 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.^{8,11-14}

Pematangan pada epididimis ini membutuhkan lingkungan yang sangat tergantung pada kadar hormon testosteron.^{15,16} Hal ini memungkinkan terjadinya peningkatan motilitas spermatozoa pada pemberian pasak bumi maupun purwaceng. Hasil sediaan testis mendukung pemeriksaan jumlah spermatozoa, dimana jumlah spermatozoa pada pemberian ekstrak pasak bumi maupun purwaceng 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 pasak bumi maupun purwaceng. Hal ini membuktikan bahwa terjadi proses spermatogenesis yang lebih baik pada testis tikus yang diberi perlakuan pasak bumi maupun purwaceng yang pada akhirnya akan meningkatkan pula jumlah spermatozoa yang dihasilkan. Pemeriksaan derajat spermatogenesis dengan menggunakan kriteria Johnson, juga menunjukkan hal yang tidak berbeda dengan pengukuran tebal dinding tubulus seminiferus. Kelompok kontrol mempunyai perbedaan yang bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok pasak bumi maupun purwaceng ($p<0,01$), dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok pasak bumi maupun purwaceng ($p>0,01$).

Ketebalan dinding tubulus seminiferus menggambarkan keaktifan testis dalam melakukan proses pembentukan spermatozoa/spermatogenesis. Semakin aktif spermatogenesis, maka semakin tebal dinding tubulus oleh karena adanya peningkatan jumlah sel yang mengalami pembelahan. Pemeriksaan dengan menggunakan kriteria Johnson pada prinsipnya menilai jumlah sel spermatozoa yang ada di dalam tubulus seminiferus sesuai dengan derajat kematangannya, mulai dari sel sertolinya sampai dengan sel spermatozoa matang.¹⁷⁻²⁰ Kedua pemeriksaan tersebut sudah seharusnya mempunyai korelasi yang positif, oleh karena semakin tebal dinding tubulus, maka derajat spermatogenesis menurut kriteria Johnson juga semakin tinggi.

Serangkaian pemeriksaan yang telah dilakukan mulai dari pemeriksaan jumlah spermatozoa dalam epididimis, motilitas spermatozoa dan histologi testis menunjukkan suatu hasil yang saling mendukung dimana terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pemberian ekstrak pasak bumi maupun purwaceng. Pada pemeriksaan histologis testis didapatkan gambaran derajat spermatogenesis yang lebih baik pada kelompok perlakuan. Hal tersebut menggambarkan peningkatan jumlah spermatozoa yang dihasilkan. Hal ini terbukti pada penelitian ini dimana pada pemeriksaan jumlah spermatozoa dalam epididimis menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Rerata jumlah spermatozoa pada kelompok pasak bumi maupun purwaceng jauh lebih banyak daripada jumlah spermatozoa pada kelompok kontrol.

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

Seperti pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya,^{7,21} bahwa baik pasak bumi maupun purwaceng mempunyai pengaruh terhadap sistem reproduksi pria dalam beberapa tingkatan. Keduanya 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 *guanosin-tripospat* (GTP) melalui suatu protein penggabung yang terikat pada membran sel untuk merubah ATP menjadi

cAMP.⁸ cAMP yang terbentuk tersebut akan menembus sitoplasma dan mengaktifasi protein kinase A, yang selanjutnya mengkatalis fosforilasi substrat protein spesifik. Perubahan aktivitas substrat fosforilasi menghasilkan efek cAMP yang khas pada reseptor target yaitu pelepasan LH. Proses seperti tersebut di atas akan menghasilkan sintesa LH lebih banyak.

Dengan pemberian pasak bumi maupun purwaceng terbukti dapat meningkatkan produksi hormon testosteron dalam darah. Peningkatan produksi LH dan FSH yang terjadi di hipofisis 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 hipofisis 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 di bawah kontrol LH dan FSH.^{8,9,13}

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 spermogenesis.

SIMPULAN

Ekstrak *Eurycoma longifolia* maupun *Pimpinella alpina* dapat meningkatkan derajat spermatogenesis dalam testis, jumlah maupun motilitas spermatozoa tikus, dan tidak terdapat perbedaan peningkatan derajat spermatogenesis dalam testis serta jumlah dan motilitas spermatozoa tikus pada pemberian ekstrak *Eurycoma longifolia* dibandingkan dengan ekstrak *Pimpinella alpina*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Noordin A. Efek androgenik suatu ramuan tradisional Kalimantan yang biasa digunakan sebagai obat kuat lelaki, Laporan penelitian, Fakultas Farmasi UGM, 1987/1988.
2. Hoon Ang H. Eurycoma longifolia jack and aphrodisiac property : Is it the Truth or Myth ? 6th Biennial Asia-Pacific Meeting on Impotence, Workshop 3 Asian Traditional Treatments, 23 Oktober 1997;12-5.
3. Anonimus. Pasak bumi bukan obat kuat, Majalah Trubus 264, Th. XXII November 1991;232-3.
4. Caropeboka AM. Pengaruh ekstrak pimpinella alpina kord terhadap siklus birahi mencit, dalam risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat II, November 1977;35-7.
5. Anonimus. Mitos dan khasiat tumbuhan purwoceng, Majalah Trubus 264. Th XXII-November 1991, 231-2.
6. Caropeboka AM. Pengaruh ekstrak pimpinella alpina kord terhadap susunan saraf pusat. Bagian Farmakologi Departemen Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan, IPB Bogor, 1976.
7. Taufiqurrachman. Pengaruh ekstrak pimpinella alpina 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.
8. 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.
9. Sumapraja S. Infertilitas. Dalam : Hanifa W, editor. Ilmu kandungan. Edisi 2. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, 1999;497-521.
10. Koolman J, Rohm KH. Atlas berwarna & teks biokimia. Septelia Inawati Wanandi (alih bahasa). Hipokrates. 2001;26-31.
11. Drews U. Atlas berwarna & teks embriologi. Hendra Laksman (alih bahasa). Hipokrates. 1996;20-6.
12. Mastroiani L, Coutfaris C. 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;45-56.
15. 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.
16. Braunstein GD. Testis, in basic and clinical endocrinology, Editor: Greenspan FS; Baxter JD. 4th edition, Appleton & Lange Norwalk. Connecticut, 1994; 391-9.
17. Syahrums MH. Biopsi testis sebagai pengevaluasi pasien azoospermia. Majalah Kedokteran Indonesia, volume 47 no. 5, Mei 1997:232-41.
18. Luna LG (ed). Manual of histologic staining methods of the armed forces institutes of pathology. 3rd edition. McGraw-Hill Book Company. 1960;30-3.
19. Suntoro SH. Metode pewarnaan (Histologi dan Histokimia). PT Bhratara Karya Aksara. Jakarta. 1983; 23-6.
20. Craigmale MBL. Atlas berwarna histologi. Jan Tambajong (alih bahasa). EGC. 1999;20-6.
21. Pratiknya AW. Dasar-dasar metodologi penelitian kedokteran dan kesehatan, CV Rajawali Jakarta, 1986; 150-51.