



## UJI POTENSI KURKUMIN TERHADAP PERBAIKAN DISFUNGSI TESTIS TIKUS (*Rattus norvegicus*) JANTAN SETELAH PAPANAN EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA

### TESTING THE POTENTIAL OF CURCUMIN IN RECOVERING DYSFUNCTION MALE RATS (*Rattus norvegicus*) TESTS AFTER EXPOSURE TO NEEM LEAVE ETHANOL EXTRACT

Agung Janika Sitasiwi\*, Tyas Rini Saraswati, Silvana Tana, Sri Isdadiyanto, Siti Muflichatun Mardiaty

Departemen Biologi FSM Universitas Diponegoro

\*Corresponding author: agssiwi@yahoo.co.id

Naskah Diterima: 29 Januari 2023; Direvisi: 4 April 2023; Disetujui: 4 Agustus 2023

#### Abstrak

Mimba merupakan tanaman yang terbukti memiliki efek antifertilitas. Efek senyawa antifertilitas dapat menyebabkan disfungsi organ reproduksi yang menyebabkan perubahan ukuran organ atau gangguan sintesis hormonal. Kurkumin merupakan sediaan yang dapat meningkatkan sintesis hormon testoteron pada tikus, tetapi belum digunakan untuk meningkatkan potensi reproduksi pada hewan yang telah terpapar senyawa antifertilitas. Penelitian ini menguji potensi kurkumin dalam memperbaiki disfungsi testis yang disebabkan oleh paparan ekstrak etanol daun mimba. Tikus Wistar (*R. norvegicus*) jantan dewasa digunakan sebagai hewan uji, dikelompokkan menjadi empat kelompok, yaitu P0 (kontrol, hewan uji diberi akuades), P1, P2, dan P3 (kelompok perlakuan, diberi sediaan ekstrak etanol daun mimba masing-masing dengan dosis 60, 80, dan 100 mg/kgBB/hari). Pemberian bahan uji dilakukan secara oral selama 14 hari, dilanjutkan dengan pemberian kurkumin dengan dosis 1,35 mg/200gBB/hari selama 14 hari. Pengambilan sampel testis dan darah untuk pengukuran testoteron dilakukan setelah paparan bahan uji 1 selesai (hari ke-15) dan setelah paparan bahan uji 2 (hari ke-29). Variabel penelitian adalah indeks gonadosomatik, volume testis dan kadar testoteron. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kurkumin mampu meningkatkan kandungan hormon testoteron serta meningkatkan indeks gonadosomatik hewan uji sehingga dapat disimpulkan bahwa kurkumin berpotensi memperbaiki disfungsi testis akibat paparan senyawa antifertilitas.

**Kata Kunci:** Disfungsi testis; Indeks gonadosomatik; Mimba

#### Abstract

*Neem is a plant that has been proven to have antifertility effects. The effects of antifertility compounds can cause reproductive organ dysfunction which causes changes in organ size or disruption of hormonal synthesis. Curcumin is a preparation that can increase testosterone hormone synthesis in mice, but has not been used to increase reproductive potential in animals that have been exposed to antifertility compounds. This research was conducted to test the potential of curcumin in improving testicular dysfunction caused by exposure to ethanol extract of neem leaves. Adult male Wistar rats (*R. norvegicus*) were used as test animals, identified into four groups, namely P0 (control, test animals given distilled water), P1, P2, and P3 (treatment groups, given ethanol extract of neem leaves each with doses of 60, 80, and 100 mg/kgBW/day). The test material was administered orally for 14 days, followed by administration of curcumin at a dose of 1.35 mg/200gBW/day for 14 days. Testicular and blood samples were taken for testosterone measurement after exposure to test substance 1 was completed (day 15) and after exposure to test substance 2 (day 29). The research variables were gonadosomatic index, testicular volume and testosterone levels. The results of the study showed that curcumin was able to increase testosterone hormone content and increase the gonadosomatic index of test animals, so it can be concluded that curcumin has the potential to recover testicular dysfunction due to exposure to antifertility compounds.*

**Keywords:** Gonadosomatic index; Neem; Testicular dysfunction

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i1.30801>

## PENDAHULUAN

Testis merupakan organ genitalia maskulina yang berfungsi sebagai penghasil hormon testoteron dan penghasil spermatozoa (Bonet et al., 2013). Disfungsi testis merupakan suatu kondisi yang ditandai dengan kehilangan atau penurunan fungsi testis. Disfungsi testis dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik internal maupun eksternal. Faktor internal di antaranya genetik, kelainan perkembangan dan anatomis, sedangkan faktor eksternal dapat berupa radiasi, nutrisi, penyakit infeksi, serta paparan obat tertentu (Pinart & Muigmule, 2013). Sediaan yang dapat memengaruhi fungsi testis adalah senyawa antifertilitas yang berasal dari tanaman mimba (Priya et al., 2012; Martins et al., 2021). Mekanisme senyawa antifertilitas dalam memengaruhi struktur dan fungsi organ reproduksi, yaitu melalui mekanisme sitotoksik dan hormonal (Fidan et al., 2008).

Mimba merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Hashmat et al. (2012) menyatakan bahwa daun mimba memiliki efek anti-bakteri, anti-diabetes, antioksidan, anti-karies gigi, anti-hipertensi, anti-fertilitas, anti-malaria, anti-tumor, anti-tukak lambung, dan sebagai larvasida. Priya et al. (2012) menyatakan bahwa pemanfaatan tanaman mimba, terutama pada daun dan biji, dapat digunakan sebagai bahan antifertilitas baik pada hewan jantan maupun betina. Senyawa yang bekerja secara sitotoksik dalam mimba adalah nimbidin, nimbin, azadirachtin (Suryawanshi, 2011; Koriem, 2013), dan salannin (Suryawanshi, 2011). Senyawa tersebut dapat menyebabkan atrofi testis karena menyebabkan kematian sel spermatogenik sehingga terjadi penurunan jumlah sel-sel spermatogenik. Senyawa yang diduga bekerja dengan memengaruhi sistem hormonal adalah *campesterol*, beta-sitosterol, dan stigmasterol (Suryawanshi, 2011). Hidana dan Susilawati (2017) membuktikan bahwa daun mimba mengandung dehydrosalanol, azadirachtin, nimbidin, limonoid, nimbolide, gedunin, mahmoodin, tanin, dan diterpenoid. Hasil skrining kandungan fitokimia yang dilakukan Sitaswi et al. (2021) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun mimba mengandung alkaloid, terpenoid, flavonoid, fenolik, saponin, dan tanin, tetapi tidak mengandung steroid.

Efek ekstrak etanol daun mimba memengaruhi struktur dan fungsi organ reproduksi. Penelitian Auta dan Hasan (2016) membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis 50–100 mg/kgBB/hari pada tikus memengaruhi bobot testis, kadar FSH, dan LH. Sitaswi et al. (2017) membuktikan paparan ekstrak etanol daun mimba pada mencit betina menyebabkan terjadinya gangguan sekresi dan aksi hormon reproduksi yang menyebabkan penurunan kandungan hormon estrogen. Perubahan kandungan estrogen diduga terjadi karena senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol daun mimba mengganggu sumbu hipotalamus-hipofisis yang mensekresi gonadotropin. Fitriyani (2015) membuktikan bahwa ekstrak etanol biji mimba menyebabkan gangguan sintesis hormon testoteron pada mencit jantan. Penelitian Avycena et al. (2020) membuktikan bahwa paparan ekstrak etanol daun mimba menyebabkan gangguan perkembangan spermatozoa yang ditunjukkan dengan penurunan indeks spermatogenik pada tubulus semeniferus mencit. Hasil penelitian Saputra et al. (2020) membuktikan bahwa tikus jantan mengalami penurunan indeks gonadosomatik setelah diberi paparan ekstrak etanol daun mimba selama 14 hari dengan dosis 80 mg/kgBB/hari.

Kurkumin adalah pigmen fenolik dan senyawa biologis utama dan aktif *C. longa* (Mohabatti et al., 2017; Mohamadpour et al., 2017). Kurkumin memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antidiabetes, antiinflamasi, antitumor, antioksidan, dll. (Mohamadpour et al., 2017). Mohabatti et al. (2017) menyatakan bahwa pemberian kurkumin memberikan efek positif pada kelenjar reproduksi, testis, dan ovarium. Hal tersebut diduga karena kandungan antioksidan dalam kurkumin. Penelitian Izadpanah et al. (2015) membuktikan bahwa pemberian kurkumin dapat meningkatkan jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa tikus yang telah mengalami stres oksidatif. Mohamadpour et al. (2017) membuktikan bahwa pemberian kurkumin secara signifikan meningkatkan kadar hormon testoteron pada tikus jantan yang mengalami gangguan stres kronis. Hasil penelitian Winarti et al. (2021) menunjukkan bahwa pemberian kurkumin dapat meningkatkan spermatogenesis tikus jantan yang hiperlipid. Penelitian Hanisa et al. (2021) membuktikan bahwa pemberian kurkumin dengan dosis 0,1 mg/ekor/hari memberikan efek perbaikan yang signifikan pada bobot testis, diameter tubulus semeniferus serta sel spermatosit mencit yang terpapar minuman

beralkohol. Tsao et al. (2020) menyatakan bahwa pemberian kurkumin dapat memperbaiki fungsi testis dan spermatogenesis mencit yang mengalami gangguan metabolisme.

Penelitian terdahulu mengkaji tentang efek ekstrak mimba sebagai anti-fertilitas yang mengganggu fungsi reproduksi mamalia. Penelitian tentang kurkumin membuktikan bahwa kurkumin memiliki efek memperbaiki fungsi reproduksi. Penelitian tentang potensi kurkumin untuk memulihkan disfungsi testis yang terjadi akibat paparan senyawa antifertilitas belum dilakukan, sehingga penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi kurkumin dalam memperbaiki disfungsi testis yang disebabkan oleh paparan ekstrak etanol daun mimba. Potensi kurkumin dalam memperbaiki fungsi testis diamati dengan melihat variabel perubahan indeks gonadosomatik, volume testis serta perubahan kadar testoteron tikus setelah menerima paparan senyawa antifertilitas. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi penggunaan kurkumin sebagai terapi yang efektif dalam pengobatan disfungsi testis yang terjadi karena paparan senyawa antifertilitas.

## MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang. Pengukuran hormon testoteron dilakukan di Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dan 8 ulangan. Hewan uji dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu P0, P1, P2, dan P3. Kelompok P0 merupakan kelompok kontrol, hewan uji diberi akuades; kelompok P1, P2 dan P3 merupakan kelompok hewan uji yang diberi ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 60 mg/kgBB/hari, 80 mg/kgBB/hari; dan 100 mg/kgBB/hari (Sitasiwi et al., 2017). Pemberian bahan uji ekstrak etanol daun mimba secara oral dilakukan selama 14 hari, dilanjutkan dengan pemberian kurkumin selama 14 hari. Dosis kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari (Saraswati et al., 2022).

### Persiapan Hewan Uji

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa berumur 2 bulan dengan bobot  $\pm 200$  g, digunakan sebagai hewan uji. Tikus diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Tepadu, UGM Yogyakarta. Tikus dipelihara di kandang pemeliharaan yang terbuat dari box plastik berukuran 30 x 40 x 12 cm dengan penutup berupa kawat strimin. Aklimasi hewan uji dilakukan selama 2 minggu sebelum diberi perlakuan. Aklimasi dan pemeliharaan hewan uji selama paparan bahan uji dilakukan pada kondisi laboratorium yang terkontrol, dengan pakan dan minum yang diberikan secara *ad libitum*.

### Persiapan Bahan Uji

Daun mimba dikumpulkan dari pohon mimba yang ditanam di lingkungan kampus Fakultas Sains dan Matematika UNDIP. Daun mimba yang terkumpul, dibersihkan dengan air mengalir dan selanjutnya dikering-anginkan pada suhu kamar selama 24 jam. Daun dikeringkan menggunakan oven pada suhu 45 °C selama 3–4 hari. Bahan uji berupa ekstrak etanol daun mimba disiapkan dengan metode maserasi menggunakan alkohol 70%. Koleksi, pengeringan, serta ekstraksi daun mimba merujuk pada Sitasiwi et al. (2017), dengan pelarut akuades hangat (45–50 °C).

Kurkumin yang digunakan dalam penelitian ini adalah merk KgaA64271 Darmstadt. Penyediaan bahan uji kurkumin dilakukan dengan melarutkan kurkumin pada akuades hangat. Metode ini merujuk pada Saraswati et al. (2022).

### Cara Perlakuan Hewan Uji

Pemeliharaan dan pemberian bahan uji pada tikus jantan merujuk pada Sitasiwi et al. (2017). Pemeliharaan hewan uji dilakukan pada kandang terpisah, setiap kandang berisi 1 ekor hewan uji. Bahan uji berupa ekstrak etanol daun mimba serta kurkumin diberikan secara oral menggunakan jarum gavage, masing-masing dengan volume 1 mL/hewan/hari, selama 14 hari berturut-turut. Pemberian bahan uji sekitar pukul 16.00–17.00. Pengamatan terhadap bobot badan hewan uji diukur setiap minggu selama perlakuan bahan uji.

Isolasi darah dan testis dilakukan dua kali. Isolasi pertama dilakukan setelah pemberian ekstrak etanol daun mimba selesai dilakukan, yaitu hari ke-15. Isolasi kedua dilakukan pada hari ke-29, setelah hewan uji diberi paparan ekstrak etanol daun mimba dan dilanjutkan dengan paparan kurkumin selama 14 hari. Sebelum mengambil sampel darah, hewan uji dibius menggunakan kloroform, dilanjutkan dengan pembedahan pada abdomen bagian bawah sampai rongga dada. Sampel darah diisolasi dari 4 hewan uji yang diambil secara acak pada setiap kelompok perlakuan, baik pada pengambilan sampel pertama atau kedua. Isolasi darah dilakukan langsung pada jantung dengan menggunakan spuit volume 3 mL dengan jarum 23G. Darah yang sudah tertampung, ditempatkan pada tabung venoject kemudian dibiarkan beberapa saat sampai terbentuk serum. Serum diisolasi dan disimpan dalam freezer (-20 °C) sampai dilakukan pengukuran hormon testoterone. Isolasi testis dilakukan setelah dilakukan isolasi darah, dengan cara membedah pada abdomen bagian bawah. Testis kanan dan kiri yang diisolasi, selanjutnya ditimbang. Pengukuran volume testis menggunakan *caliper* untuk pengukur panjang, lebar, dan tebal testis. Data bobot testis digunakan untuk menentukan nilai indeks gonadosomatik ( $\text{index gonadosomatik} = \text{GSI}$ ), sesuai metoda Caldeira et al. (2010).

### Penentuan Konsentrasi Hormon Testoterone

Penentuan kandungan hormon testoterone dilakukan dengan metode ELISA sesuai panduan yang tercantum pada Testoterone ELISA Kit (ab108666; Abcam, Indonesia). Pengukurannya berdasarkan prinsip pengikatan antigen-antibodi menggunakan indikator warna tertentu. Intensitas warna yang terbentuk dibaca pada ELISA reader (Biotech MBI Smart Reader, MBI 9600) dengan panjang gelombang 450 nm. Sinyal yang terdeteksi berbanding terbalik dengan kadar testoterone dalam sampel.

### Analisis Data

Data dianalisis menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan. Analisis data menggunakan program SPSS versi 22.0.

## HASIL

### Penghitungan Indeks Gonadosomatik

Hasil penghitungan rata-rata indeks gonadosomatik tikus setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dan dilanjutkan dengan paparan kurkumin disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Rerata indeks gonadosomatik pada kelompok perlakuan P3 (100 mg/kgBB/hari) menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol (P0), P1 (60 mg/kgBB/hari) dan P2 (80 mg/kgBB/hari). Indeks gonadosomatik pada kelompok kontrol (P0) menunjukkan perbedaan tidak nyata dengan kelompok P1 dan P2. Hal tersebut berarti bahwa paparan daun mimba dengan dosis 100 mg/kgBB/hari (P3) memiliki pengaruh yang signifikan dalam menyebabkan penurunan indeks gonadosomatik hewan uji.

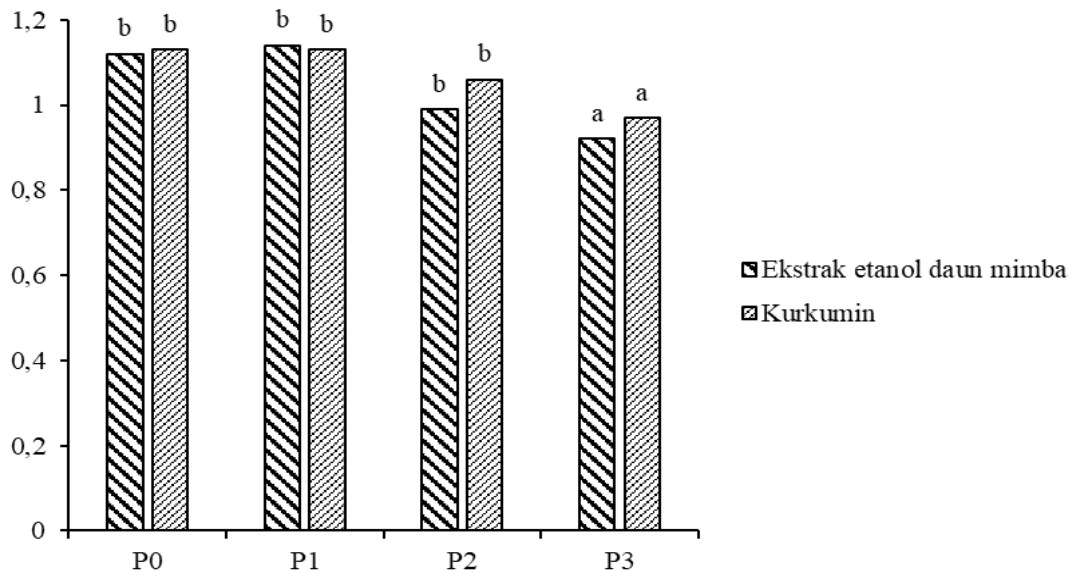
**Tabel 1.** Rata-rata indeks gonadosomatik tikus Wistar jantan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba yang dilanjutkan dengan paparan kurkumin

Ekstrak	P0	P1	P2	P3
Ekstrak etanol daun mimba (n= 4)	1,12 <sup>b</sup> ± 0,76	1,14 <sup>b</sup> ± 0,08	0,99 <sup>b</sup> ± 0,12	0,92 <sup>a</sup> ± 0,05
Kurkumin (n=4)	1,13 <sup>b</sup> ± 0,61	1,13 <sup>b</sup> ± 0,08	1,06 <sup>b</sup> ± 0,09	0,97 <sup>a</sup> ± 0,03

Keterangan: P0= kelompok kontrol, hewan uji menerima paparan akuades, P1= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 60 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P2= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 80 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P3= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari

Paparan ekstrak etanol daun mimba menyebabkan penurunan indeks gonadosomatik hewan uji (Tabel 1 & Gambar 1). Paparan kurkumin pada hewan uji yang telah terpapar ekstrak etanol daun

mimba menunjukkan efek pemulihan terhadap nilai indeks gonadosomatik pada hewan uji untuk semua kelompok perlakuan (Tabel 1 & Gambar 1). Pemberian kurkumin pada kelompok P3 yang sudah menerima paparan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kgBB/hari, ternyata tidak mampu memberikan efek pemulihan indeks gonadosomatik dengan kenaikan yang setara dengan kelompok P0, P1, dan P2. Hal tersebut diduga karena kerusakan testis akibat paparan ekstrak etanol daun mimba yang terjadi pada kelompok P3 lebih parah jika dibandingkan dengan kerusakan yang terjadi pada testis hewan uji kelompok P1 dan P2 sehingga menyebabkan efek pemulihan oleh kurkumin juga kecil atau rendah.



**Gambar 1.** Rerata indeks gonadosomatik tikus Wistar jantan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dilanjutkan dengan paparan kurkumin. Keterangan: P0= kelompok kontrol, hewan uji menerima paparan akuades, P1= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 60 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P2= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 80 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P3= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari

### Penghitungan Volume Testis

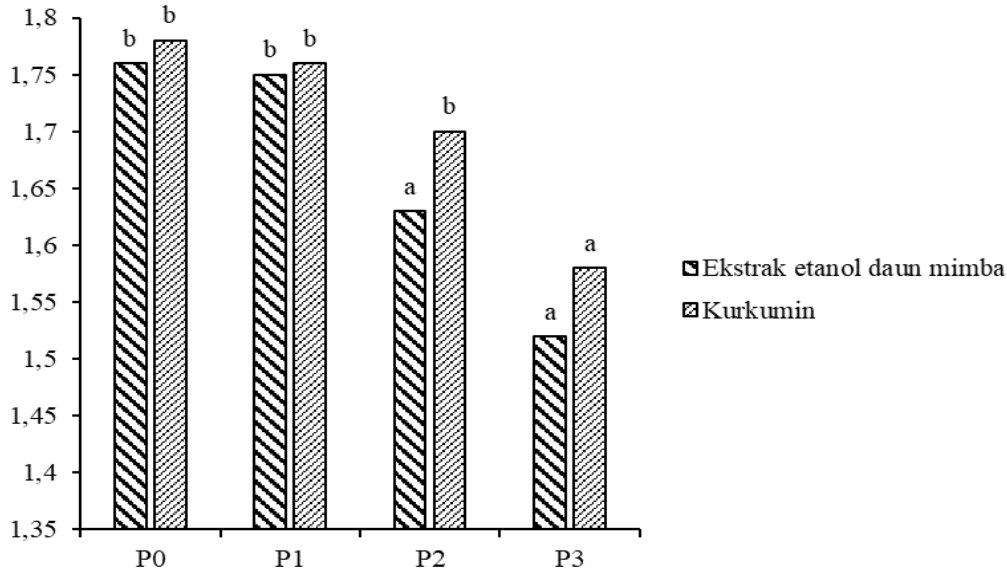
Hasil pengukuran volume testis setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dilanjutkan dengan paparan kurkumin disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2. Volume testis hewan uji mengalami penurunan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba. Penurunan volume testis pada P2 dan P3 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan kelompok P0 dan P1. Dosis ekstrak etanol 60 mg/kgBB/hari (P1) menunjukkan volume testis yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol (P0).

Hasil paparan bahan uji kurkumin setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dalam penelitian ini mampu mempertahankan juga meningkatkan volume testis hewan uji yang ditunjukkan pada kelompok P1 yang menunjukkan perbedaan tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dengan kelompok P0. Peningkatan volume testis akibat paparan kurkumin terjadi pada kelompok P2 dan P3 (seperti terlihat pada Gambar 2). Volume testis pada kelompok P3 juga mengalami kenaikan akibat paparan kurkumin tetapi kenaikan tersebut masih menyebabkan volume testis berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan kelompok P0, P1, dan P2. Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa pemberian kurkumin menyebabkan volume testis pada hewan uji yang telah terpapar ekstrak etanol daun mimba mengalami kenaikan ukuran.

**Tabel 2.** Rerata volume testis tikus Wistar jantan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dilanjutkan dengan paparan kurkumin

Ekstrak	P0	P1	P2	P3
Ekstrak etanol daun mimba (n= 4)	1,76 <sup>b</sup> ± 0,66	1,75 <sup>b</sup> ± 0,38	1,63 <sup>a</sup> ± 0,47	1,52 <sup>a</sup> ± 0,05
Kurkumin (n=4)	1,78 <sup>b</sup> ± 0,29	1,76 <sup>b</sup> ± 0,11	1,70 <sup>b</sup> ± 0,12	1,58 <sup>a</sup> ± 0,61

Keterangan: Angka yang diikuti superkrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0.05$ ). P0= kelompok kontrol, hewan uji menerima paparan akuades, P1= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 60 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P2= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 80 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P3= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari



**Gambar 2.** Rerata volume testis tikus Wistar jantan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dilanjutkan dengan paparan kurkumin. Keterangan: P0= kelompok kontrol, hewan uji menerima paparan akuades, P1= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 60 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P2= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 80 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P3= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari

### Pengukuran Kadar Testosteron

Kadar testosteron hewan uji setelah pemberian ekstrak etanol daun mimba dilanjutkan dengan pemberian kurkumin disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 3. Hal tersebut dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba dapat menurunkan biosintesis hormon testosteron pada hewan uji. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian kurkumin mampu memperbaiki fungsi testis pada hewan uji yang telah terpapar ekstrak etanol daun mimba. Paparan ekstrak etanol daun mimba dengan dosis 60 mg/kgBB/hari (P1) menyebabkan penurunan kadar testosteron pada hewan uji, tetapi tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol (P0). Penurunan kadar testosteron setelah pemberian ekstrak etanol daun mimba kelompok P2 dan P3 menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) dengan kelompok P0 dan P1.

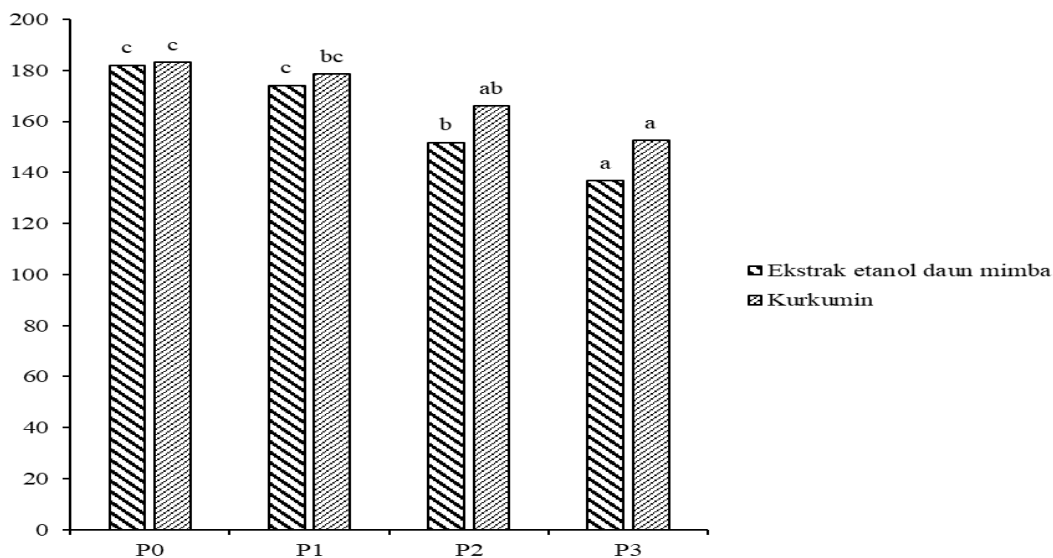
Paparan kurkumin yang dilakukan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba terbukti memberikan efek perbaikan pada sintesis testosteron hewan uji. Kelompok P1 menunjukkan kenaikan kadar testosteron yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol (P0) dan (P2). Kadar testosteron hewan uji pada kelompok P2 mengalami kenaikan yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan P0 dan P3, tetapi berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dengan P1. Efek pemulihan fungsi biosintesis hormon testosteron akibat paparan kurkumin pada hewan uji P3 menunjukkan nilai lebih rendah dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan P0, P1, dan P2. Hal tersebut diduga karena gangguan fungsi testis akibat paparan ekstrak mimba yang terjadi pada Kelompok P3 lebih parah dibandingkan dengan kelompok

P0, P1, dan P2 sehingga menyebabkan pemulihan yang lebih sedikit daripada kelompok perlakuan yang lain. Perbandingan perubahan kandungan hormon testoteron disajikan pada Gambar 3.

**Tabel 3.** Kadar testoteron tikus Wistar jantan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dilanjutkan dengan paparan kurkumin

Ekstrak	P0	P1	P2	P3
Ekstrak etanol daun mimba (n= 4)	181,98 <sup>c</sup> ± 10,16	174,13 <sup>c</sup> ± 8,36	151,73 <sup>b</sup> ± 10,79	136,84 <sup>a</sup> ± 5,43
Kurkumin (n=4)	183,18 <sup>c</sup> ± 8,29	178,46 <sup>bc</sup> ± 11,51 <sup>c</sup>	165,98 <sup>ab</sup> ± 10,11	152,48 <sup>a</sup> ± 5,06

Keterangan: Angka yang diikuti superkrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ). P0= kelompok kontrol, hewan uji menerima paparan akuades, P1= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 60 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P2= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 80 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P3= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35mg/200gBB/hari



**Gambar 3.** Rerata kadar testoteron tikus Wistar jantan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba dilanjutkan dengan paparan kurkumin. Keterangan: P0= kelompok kontrol, hewan uji menerima paparan akuades, P1= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 60 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P2= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 80 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35 mg/200gBB/hari, P3= hewan uji dengan paparan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kgBB/hari, dilanjutkan dengan paparan kurkumin 1,35mg/200gBB/hari

## PEMBAHASAN

Disfungsi testis pada penelitian ini dibuktikan dengan perubahan indeks gonadosomatik, volume testis dan perubahan kandungan hormon testoteron setelah pemberian bahan uji berakhir. Indeks gonadosomatik ditentukan dari perbandingan bobot badan dan bobot testis. Auta dan Hasan (2016) menyatakan bahwa penurunan bobot testis yang terjadi dapat disebabkan oleh kerusakan struktur sel penyusun testis. Kerusakan sel penyusun testis diduga menyebabkan perubahan indeks gonadosomatik hewan uji, seperti yang terjadi pada hewan uji dalam penelitian ini. Hasil penelitian Saputra et al. (2020) membuktikan bahwa indeks gonadosomatik tikus jantan yang diberi paparan ekstrak etanol daun mimba sebesar 80 mg/kgBB/hari mengalami penurunan yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata indeks gonadosomatik berkisar 0,9–1,1. Hasil penelitian Oyeyemi dan Fayomi (2011) menunjukkan bahwa indeks gonadosomatik pada tikus untuk masing-masing testis kanan dan kiri berkisar 0,55–0,65, sehingga hasil penghitungan indeks gonadosomatik pada penelitian ini dapat dikatakan masih dalam kisaran normal. Parhizkar et al. (2014) menyatakan bahwa senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba dapat memengaruhi struktur mikroanatomi testis. Kumar dan Sachin (2013) menyatakan bahwa alkaloid memberi efek toksik pada sel-sel dalam sistem reproduksi sehingga menyebabkan penurunan kandungan hormon reproduksi. Senyawa flavonoid, menurut Kumar dan Pandey (2013) dapat berikatan dengan reseptor hormon reproduksi sehingga memengaruhi serangkaian proses yang diregulasi oleh hormon-hormon tersebut. Martin dan Touaibia (2020) menyatakan bahwa flavonoid dengan dosis tertentu dapat menyebabkan kenaikan steroidogenesis sehingga memengaruhi aksis hipofisis-hipotalamus yang selanjutnya dapat menyebabkan gangguan siklus reproduksi. Senyawa saponin menurut Juang dan Liang (2020) menyebabkan kerusakan struktur membran sel sehingga menyebabkan terjadinya disfungsi sel, termasuk sel penyusun organ reproduksi. Sitasiwi et al. (2021) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun mimba mengandung beberapa macam senyawa, diantaranya tanin. Akanji et al. (2014) menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa yang dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa. Penurunan jumlah spermatozoa diduga menjadi penyebab penurunan indeks gonadosomatik maupun volume testis hewan uji dalam penelitian ini. Penelitian Avycena et al. (2020) juga membuktikan bahwa paparan ekstrak etanol daun mimba menyebabkan penurunan indeks spermatogenik testis mencit.

Variabel berikutnya dalam penelitian ini adalah volume testis, disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2. Paparan ekstrak etanol daun mimba dalam penelitian ini menyebabkan penurunan volume testis hewan uji. Volume testis hewan uji pada penelitian ini menunjukkan nilai yang masih dalam kisaran normal, sesuai pendapat Parhizkar et al. (2014). Mbaeri et al. (2013) menyatakan bahwa volume testis menggambarkan ukuran panjang, lebar, dan tebal testis. Nilai ini menggambarkan keutuhan struktur serta fungsi testis. Parhizkar et al. (2014) menyatakan bahwa volume testis merupakan indikator yang kurang sensitif dalam mendeteksi kinerja reproduksi tikus tetapi Martins et al. (2021) menyatakan bahwa testis berperan dalam biosintesis dan sekresi hormon steroid seks, produksi cairan testis serta spermatozoa sehingga volume testis juga dapat menggambarkan fungsi testis.

Parhizkar et al. (2014) menyatakan bahwa bobot testis merupakan salah satu indikator gangguan fungsi testis yang berkaitan dengan sintesis hormon testoteron. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan senyawa antifertilitas dalam ekstrak etanol daun mimba menyebabkan penurunan testoteron hewan uji, disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 3. Rerata kadar testoteron pada hewan uji kelompok P0 sebesar 181,98 ng/dL. Kadar hormon testoteron tersebut merupakan kadar hormon yang normal untuk tikus jantan dewasa. Hal tersebut sesuai dengan pengapat Luabi et al. (2019) yang menyatakan bahwa rerata kandungan testoteron pada tikus jantan dewasa berkisar 180 ng/dL. Kandungan hormon testoteron dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya nutrisi, zat toksik (Luabi et al., 2019), juga keberadaan betina estrus di lingkungan tersebut (Shulman & Spritzer, 2014). Penelitian ini dilakukan dengan kondisi faktor eksternal yang terkontrol sehingga perubahan kadar testoteron pada penelitian ini disebabkan oleh efek senyawa yang bersifat toksik yang terkandung pada ekstrak etanol daun mimba. Braga et al. (2021) menyatakan bahwa senyawa toksik yang terkandung dalam ekstrak daun mimba di antaranya azadirachtin, *nimbolide*, *gedunin*, *azadirone*, dan salannin. Daniyal dan Akram (2015) menyatakan bahwa perubahan kandungan testoteron merupakan salah satu indikator gangguan fungsi organ reproduksi jantan yang disebabkan oleh paparan senyawa antifertilitas. Gangguan sintesis testoteron pada hewan uji kelompok P2 dan P3 dalam penelitian ini diduga karena senyawa toksik dalam ekstrak etanol daun mimba, di antaranya saponin. Penurunan kandungan hormon testoteron diduga karena sel Leydig dalam testis mengalami gangguan struktur akibat paparan bahan uji ekstrak etanol daun mimba. Hasil Penelitian Avycena et al. (2020) membuktikan bahwa paparan ekstrak etanol daun mimba pada tikus jantan memberikan efek skor kerusakan tubulus seminiferus yang menyebabkan indeks spermatogenik pada hewan uji kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok kontrol. Sel Leydig merupakan sel dalam tubulus



seminiferus yang berfungsi sebagai tempat biosintesis testoteran (Zirkin & Papadopoulos, 2018). Hasil penelitian seperti yang disajikan pada Gambar 3 juga membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun mimba yang diberikan menyebabkan semakin besar gangguan struktur yang terjadi pada sel Leydig dalam testis sehingga semakin besar pula penurunan kandungan testoteran pada hewan uji.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kurkumin dengan dosis 1,35 mg/200gBB/hari efektif memperbaiki disfungsi testis yang ditunjukkan dengan peningkatan indeks gonadosomatik, volume testis, dan kadar testoteran. Khorsandi et al. (2012) menyatakan bahwa kurkumin bekerja mempertahankan fungsi membran penyusun sel pada saluran reproduksi maupun gamet dengan cara meningkatkan ekspresi *bcl-2*, suatu protein anti-apoptosis. Hal tersebut menyebabkan sel penyusun saluran reproduksi dan gamet mengalami perbaikan sehingga menyebabkan kenaikan nilai indeks gonadosomatik, volume testis serta kadar testoteran pada hewan uji yang diberi ekstrak etanol daun mimba menjadi setara dengan kelompok kontrol (P0). Mekanisme kerja kurkumin pada testis yang mengalami kerusakan atau gangguan fungsi diduga terjadi dengan cara menekan kerusakan DNA sehingga struktur dan fungsi sel penyusun saluran reproduksi dan sel spermatozoa tetap terjaga (Sadraei et al., 2022).

Paparan kurkumin yang diberikan pada hewan uji setelah menerima paparan ekstrak etanol daun mimba menyebabkan kenaikan kandungan hormon testoteran. Kadar hormon testoteran hewan uji kelompok P1 menunjukkan perbedaan tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dengan P0 dan P2 tetapi menunjukkan perbedaan bermakna dengan P3 (Gambar 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa kurkumin yang diberikan mampu menyebabkan perbaikan struktur sel yang mensintesis hormon testoteran pada kelompok P1 dan P2, tetapi potensi kurkumin dengan dosis 1,35 mg/kgBB/hari diduga belum dapat memperbaiki sintesis testoteran pada kelompok P3. Biosintesis testoteran terjadi pada sel Leydig dalam tubulus seminiferus (Zirkin & Papadopoulos, 2018). Sadraei et al. (2022) membuktikan bahwa mekanisme kerja kurkumin terjadi dengan cara menurunkan peroksidasi lemak, serta menurunkan terjadinya kerusakan RNA dan DNA sitoplasmik. Hal tersebut menyebabkan perbaikan struktur sel Leydig dalam tubulus seminiferous yang terganggu fungsinya karena paparan ekstrak etanol daun mimba. Perbaikan struktur sel-sel Leydig menyebabkan sintesis testoteran mengalami peningkatan, seperti yang pada kelompok P1 dan P2. Rashid dan Sil (2015) menyatakan bahwa kurkumin berperan dengan meningkatkan aktivitas enzim  $3\beta$ -Hidroksisteroid dehidrogenase (HSD) dan  $17\beta$ -HSD. Kedua enzim tersebut berperan dalam biosintesis testoteran. Mekanisme tersebut menyebabkan perubahan kandungan hormon testoteran setelah menerima paparan kurkumin.

## SIMPULAN DAN SARAN

Berdasar hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian kurkumin terbukti dapat memperbaiki disfungsi testis yang disebabkan oleh paparan senyawa antifertilitas dalam ekstrak etanol daun mimba.

Saran untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian efek paparan ekstrak etanol daun mimba terhadap kadar gonadotropin yang dilanjutkan dengan uji kawin sehingga dapat diketahui dengan pasti efek antifertilitas yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dengan dana mandiri. Terima kasih atas fasilitas yang diberikan oleh Laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi FSM UNDIP.

## REFERENSI

- Akanji, A. M., Ogungbesan, A. M., & Emiola, I. A. (2014). Toxicological effect of raw jack beans, bambara groundnuts and benne seeds on semen and sperm quality of cockerels. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 4(1), 204-211.
- Auta, T., & Hassan, A. T. (2016). Reproductive toxicity of aqueous wood-ash extract of *Azadirachta indica* (neem) on male albino mice. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, X(x), 1-5.

- Avycena, S., Sitaswi, A. J., & Mardiaty, S. M. (2020). Struktur tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) setelah paparan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta Indica* A.Juss). *Jurnal Pro-Life*, 1(7), 42-48.
- Bonet, S., Casas, I., Holt, I. V., & Yeste, M. (2013). Boar reproduction-fundamentals and new biotechnological trends-online books. (2022, December 23) Retrieved from <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-35049-8>.
- Braga, T. M., Rocha, L., Chung, T. Y., Oliveira, R. F., Pinho, C., Oliveira, A. I. ... Cruz, A. (2021). *Azadirachta indica* A. Juss. In Vivo Toxicity – An Updated Review. *Molecules*, 26(2), 252-276.
- Caldeira, B. C., Paula, T. A. R., Matta, S. L. P., Ballerini, M. K., & Campos, P. K. A. (2010). Morphology of testis and seminiferous tubules of the adult crab-eating fox. *Revista Ceres*, 57(2), 569-575.
- Daniyal, M., & Akram, M. (2015). Antifertility activity of medicinal plants. *Journal of the Chinese Medical Association*, 78(7), 382-388.
- Fidan, A. F., Enginar, H., Cigerci, I. H., Korcan S. E., & Ozdemir, A. (2008). The radioprotective potential of *Spinacia oleracea* and *Aesculuc hippocastanum* against ionizing radiation with their antioxidant and antimicrobial properties. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(12), 1528-1536.
- Fitriyani, N. (2015). Uji aktivitas antifertilitas ekstrak etanol 70% biji mimba (*Azadirachta indica* L.) pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur sprague dawley secara in vivo (Skripsi sarjana). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Banten, Indonesia.
- Hanisa, H. C. V., Saraswati, T. R., & Tana, S. (2021). Efekserbuk kunyit dan kurkumin pada spermatogenesis mencit (*Mus musculus*) yang diberi minuman beralkohol. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 6(2), 154-160.
- Hashmat, I., Azad, H., & Ahmed, A. (2012). Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) - a nature drugstore: An overview. *Research. Journal of Biological Sciences*, 1(6), 76-69.
- Hidana, R., & Susilawati. (2017). Efektivitas ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) sebagai ovisida *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan Bakti Timnas Husada*, 17(1), 59-65.
- Izadpanah, M., Alizadeh, R., Minace, M. B., Heydari, L., Babatunde, A., & Abbas, M. (2015). The effect of curcumin on sperm parameters and nitric oxide production in varicocele rats. *International Journal of Morphology*, 33(4), 1530-1535.
- Juang, Yu-Pu., & Liang, P. (2020). Biological and pharmacological effects of synthetic saponins. *Molecules*, 25(21), 457-469.
- Kumar, C. P., & Sachin, J. (2013). Pharmacological action of plant alkaloid in female reproductive system of test animals and/or human being: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 23(2), 98-107.
- Kumar, S., & Pandey, A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-16.
- Khorsandi, L., Mirhoseini, M., Mohamadpour, M., Orazizadeh, M., & Khaghani, S. (2012). Effect of curcumin on dexamethasone-induced testicular toxicity in mice. *Pharmaceutical Biology*, 52(2), 206-212.
- Korriem, K. M. M. (2013). Review of pharmacological and toxicological effects of *Oleum azadirachti* Oil. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 3(10), 834-840.
- Luabi, N. M., Zayed, N. A., & Ali, L. Q. (2019). Zinc oxide nanoparticles effect on thyroid and testosterone hormones in male rats. *Journal of Physics: Conference Series*, 1294, 062034.
- Martin, L. J., & Touaibia, M. (2020). Improvemnet of testicular steroidogenesis using flavonoids and isoflavoneoids for prevention of late-onset male hipogonadism. *Antioxidant Journal*, 9(3), 237-249.
- Martins, R. V. L., Silva, A. M. S., Duarte, A. P., Socorro, S., Corella, S., & Maia, C. J. (2021). Natural Products as Protective Agents for Male Fertility. *Biochem*, 1(3), 122-147.
- Mbaeri, T. U., Orakwe, J. C., Nwofor, A. J. E., Oranus, C. K., & Mbonu, O. O. (2013). Ultrasound measurements of testicular volume: Comparing the three common formulas with the true testicular volume determined by water displacement. *African Journal of Urology*, 19(2), 69-73.

- Mohamadpour, M., Noorafshan, A., Karbalay-Doust, S., Talaei-Khozani, T., & Aliabadi, E. (2017). Protective effects of curcumin co-treatment in rats with establishing chronic variable stress on testis and reproductive hormones. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 15(7), 447-452.
- Mohabatti, R., Anaeigoudari, A., & Khadzair, M. R. (2017). The effects of *Curcuma longa* and curcumin on reproductive system. *Endocrine Regulation*, 52(4), 220-228.
- Oyeyemi, M. O., & Fayomi, A. P. (2011). Gonadosomatic index and spermatozoa morphological characteristics of male wistar rats treated with graded concentration of aloe vera gel. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3(2), 47-53.
- Parhizkar, S., Zulkifli, S. B., & Dollah, M. A. (2014). Testicular morphology of male rats exposed to *Phaleria macrocarpa* (mahkota dewa) aqueous extract. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(5), 384-390.
- Pinart, E., & Puigmule, M. (2013). Boar reproduction: Factors affecting boar reproduction, testis function, and sperm quality-online book (2022, December 1). Retrieved from [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-35049-8\\_4](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-35049-8_4).
- Priya, G., Saravanan, S., & Renuka, C. (2012). Medicinal plants with potential antifertility activity - a review of sixteen years of herbal medicine research (1994-2010). *International Journal of PharmTech Research*, 4, 485-488.
- Rashid, K., & Sil, P.C. (2015). Curcumin ameliorates testicular damage in diabetic rats by suppressing cellular stress-mediated mitochondria and endoplasmic reticulum-dependent apoptotic death. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Molecular Basis of Disease*, 1852(1), 70-82.
- Sadraei, M. R., Tavalee, M., Forouzanfer, M., & Nasr-Estahani, M. R. (2022). Effect of curcumin, nano-curcumin on sperm function in varicocele rat model. *Andrologia*, 54(1), e14282.
- Saputra, A. R., Sitaswi, A. J., & Saraswati, T. R. (2020). Gonadosomatic index tikus jantan (*Rattus norvegicus*) setelah paparan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) sebagai senyawa antifertilitas. *Pro-Life UKI*, 7(3), 288-298.
- Saraswati, T. R., Exmah, N., & Tana, S. (2022). Kidney histopathology of white rats (*Rattus norvegicus*) fed a high-fat diet, curcumin supplement, and turmeric powder (*Curcuma longa*). *Biogenesis*, 10(1), 23-36.
- Shulman, L. M., & Spritzer, M. D. (2014). Changes in the sexual behaviour and testosterone levels of male rats in response to daily interactions with estrus females. *Physiology & Behavior*, 22(133), 8-13.
- Sitaswi, A. J., Isdadiyanto, S., Mardiaty, S. M. (2017). The estradiol 17- $\beta$  concentration in mice after treated with ethanolic leaf extract of *Azadirachta indica* (Neem). *AIP Conference Proceeding*, 1844(1), 020014-1-020014-7.
- Sitaswi, A. J., Isdadiyanto, S., & Mardiaty, S. M. (2021). Formulasi dan evaluasi efek antifertilitas sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun mimba (sneedm) terhadap penurunan potensi reproduksi tikus sprague dawley jantan (Laporan kegiatan penelitian madya dana PNBPM FSM Universitas Diponegoro). Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia.
- Suryawanshi, J. A. S. (2011). Neem-natural contraceptive for male and female-an overview. *International Journal of Biomolecules and Biomedicine*, 1(2), 1-6.
- Tsao, C. W., Ke, P. S., Yang, H. Y., Chang, T. C., & Liu, C. Y. (2020). Curcumin remedies testicular function and spermatogenesis in male mice with low-carbohydrate-diet-induced metabolic dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 10009.
- Winarti, R., Saraswati, T. R., & Tana, S. (2021). Pengaruh serbuk kunyit dan kurkumin terhadap kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi pakan hiperlipid. *Jurnal Akademika Biologi*, 10(1), 24-31.
- Zirkin, B. R., & Papadopoulos, V. (2018). Leydig cells: Formation, function and regulation. *Biology of Reproduction*, 99(1), 101-111.