



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2005

## EFEK PROTEKSI CURCUMINE TERHADAP KUALITAS DAN KUANTITAS SEL SPERMATOZOA PADA STRESS

Oleh:

**Drh.Sri Agus Sudjarwo,Ph.D.**  
**dr. Widajat Sastrowardoyo, Sp.FK**

### LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian  
dan Pengabdian kepada Masyarakat  
Nomor : 036/SPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005  
Nomor Urut: 75

PUSLIT OBAT TRADISIONAL  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November, 2005



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA  
TAHUN ANGGARAN 2005

## **EFEK PROTEKSI CURCUMINE TERHADAP KUALITAS DAN KUANTITAS SEL SPERMATOZOA PADA STRESS**

Oleh:

**Drh.Sri Agus Sudjarwo, Ph.D.**  
**dr. Widajat Sastrowardoyo, Sp.FK**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian  
dan Pengabdian kepada Masyarakat  
Nomor : 036/SPPP/PP-PM/DP3M/IV/2005  
Nomor Urut : 75

**PUSLIT OBAT TRADISIONAL  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**November, 2005**



- |  |                                       |  |
|--|---------------------------------------|--|
| 1. Puslit Pembangunan Regional         | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Puslit Obat Tradisional             | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)      | 10. Puslit Kesehatan Reproduksi                  |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584) | 7. Puslit Olah Raga                   |  |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995716)   | 8. Puslit Bioenergi                   |  |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066  
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

### IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

<b>1. Judul Penelitian</b>	: Efek Proteksi Curcumin Terhadap Kualitas Dan Kuantitas Sel spermatozoa Pada Stress
a. Macam penelitian	(v) Fundamental, ( ) Terapan, ( ) Pengembangan,
b. Kategori Penelitian	: (v) I, ( ) II, ( ) III
<b>2. Kepala Proyek Penelitian</b>	
a. Nama Lengkap dan gelar	: drh. Sri Agus Sudjarwo, Ph.D
b. Jenis Kelamin	: Laki-laki
c. Pangkat/Golongan dan NIP	: Penata (Gol IIIc) 131 406.098
d. Jabatan Sekarang	: Lektor
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Obat Tradisional
f. Univ/Inst/Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu Yang Diteliti	: Farmakologi
<b>3. Jumlah Tim Peneliti</b>	: 2 (satu) orang
<b>4. Lokasi Penelitian</b>	: Lab. Farmakologi Universitas Airlangga
<b>5. Kerjasama dengan Instansi Lain</b>	
a. Nama Instansi	: -
b. Alamat	: -
<b>6. Jangka Waktu Penelitian</b>	: 8 bulan
<b>7. Biaya Yang Diperlukan</b>	: 6 000.000

Surabaya, 24 Desember 2005

Mengetahui  
Ketua Lembaga Penelitian  
Universitas Airlangga

Prof.Dr./H. Sarmanu, MS  
NIP 130 701 125

Ketua Peneliti

Drh. Sri Agus Sudjarwo, Ph.D  
NIP 131 406 098

**SUMMARY :**

**PROTECTIVE EFFECTS OF CURCUMINE ON QUALITY AND  
QUANTITY OF SPERMATOZOA CELL IN STRES**

**Sri Agus Sudjarwo, Widayat Sastrowardojo\*,  
Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine  
Faculty of Medicine\*, Airlangga University, Surabaya**

Protective effect of curcumine on quantity and quality of spermatozoa cell were studied in stressed-rat. Sprague Dawley Rats were divided into the negative control groups were given saline perorally without swimming training; positive control groups were accustomed to swimming training and given saline perorally; curcumine groups were accustomed to swimming training and received doses of 100, 200 and 400 mg/kg curcumine perorally respectively. Curcumine were given 30 min before swimming training (30 min per day) for a period of 4 week. In all rats were measurement of malondialdehyde (MDA), number spermatozoa, motility and number of abnormal morphology of spermatozoa.

In the result show that positive control groups decrease number spermatozoa, decrease motility and increase number of abnormal morphology of spermatozoa compared to spermatozoa from negative control groups. In curcumine groups shows curcumine significantly a dose-dependent increased number spermatozoa, increased motility and decreased number of abnormal morphology of spermatozoa.

In conclusion, it is suggested that treatment of stressed-rat with curcumine may prevent free radicals so that induced increase quality and quantity of spermatozoa cell in rat stress.

***Key Word : Curcumine, Spermatozoa cell, Stress***

**RINGKASAN :**

**EFEK PROTEKSI *CURCUMINE* TERHADAP KUALITAS DAN  
KUANTITAS SEL SPERMATOOZOA PADA STRESS**

**Sri Agus Sudjarwo, Widayat Sastrowardojo\***  
**Laboratorium Farmakologi**  
**Fakultas Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran\***  
**Universitas Airlangga, Surabaya**

Telah dilakukan suatu penelitian yang bertujuan untuk membuktikan bahwa *curcumine* dapat memperbaiki kuantitas dan kualitas spermatozoa pada tikus yang mengalami stres.

40 ekor tikus secara acak dibagi menjadi 5 kelompok sebagai berikut : tikus diberi pelarut *curcumine* (kontrol negatif), tikus dibuat stress dan diberi pelarut *curcumine* (kontrol positif), tikus dibuat stress dan diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB. Setelah 4 minggu dari perlakuan, pada semua hewan percobaan diambil darahnya untuk diperiksa kadar MDA nya, dan diambil spermatozoanya dari caput epididimis untuk diperiksa kuantitas (jumlah spermatozoa) dan kualitas (jumlah spermatozoa yang abnormal dan kecepatan pergerakan spermatozoa) spermatozoanya.

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap. Data dari hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisa varian yang dilanjutkan dengan Uji LSD.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada tikus yang diberi stressor dapat terjadi kenaikan kadar MDA, penurunan jumlah spermatozoa dan dapat meningkatkan jumlah spermatozoa yang abnormal serta dapat menurunkan kecepatan pergerakan spermatozoa, sedangkan pada pemberian *curcumine* dosis 400 mg/kg dapat menurunkan kadar MDA, meningkatkan jumlah spermatozoa dan dapat menurunkan jumlah spermatozoa yang abnormal serta dapat meningkatkan kecepatan pergerakan spermatozoa pada tikus yang diberi stresor.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan untuk melakukan pemeriksaan histopatologi testes pada tikus yang diberi stresor.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat-Nya, sehingga penelitian tentang pengaruh pemberian *curcumine* terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa pada tikus yang menerima stressor dapat terselesaikan.

Stress merupakan salah satu penyebab gangguan reproduksi seperti infertilitas, karena pada stress dapat terjadi peningkatan produksi radikal bebas yang dapat menurunkan kuantitas dan kualitas spermatozoa. Dengan semakin meningkatnya infertilitas akibat stress ini maka perlu upaya untuk meneliti dan menemukan obat baru yang dapat digunakan untuk mengatasi kasus infertilitas akibat adanya stress. Oleh karena *curcumine* mempunyai efek antioksidan maka perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa *curcumine* dapat juga digunakan untuk memperbaiki kuantitas dan kualitas spermatozoa akibat adanya stress, sehingga dari hasil penelitian ini diharapkan dapat ditemukan obat antifertilitas yang dapat berguna bagi masyarakat banyak.

Hasil penelitian ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada Dirjen Dikti, Rektor UNAIR, Dekan Fakultas Kedokteran UNAIR, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR dan Ketua Lembaga Penelitian UNAIR serta kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini sehingga dapat terselesaikan..

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan informasi kepada masyarakat banyak,

Surabaya, 3 November 2005

Peneliti

**DAFTAR ISI**

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	i
SUMMARY.....	ii
RINGKASAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB. I PENDAHULUAN.....	1
BAB. II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT.....	12
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	13
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	28

**DAFTAR TABEL**

TABEL :

	Halaman
1. Rata-rata dan simpangan baku kadar MDA dari berbagai kelompok .....	15
2. Rata-rata dan simpangan baku jumlah spermatozoa dari berbagai kelompok.....	18
3. Rata-rata dan simpangan baku jumlah spermatozoa abnormal dari berbagai kelompok.....	20
4. Rata-rata dan simpangan baku kecepatan pergerakan spermatozoa dari berbagai kelompok.....	23



## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR:

	Halaman
1. Struktur kimia Curcumine.....	4
2. Spermatozoa dengan bagian-bagiannya .....	10
3. Kadar MDA dari berbagai kelompok .....	17
4. Jumlah spermatozoa dari berbagai kelompok.....	19
5. Jumlah spermatozoa abnormal dari berbagai kelompok.....	22
6. Kecepatan pergerakan spermatozoa dari berbagai kelompok.....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

### LAMPIRAN :

	Halaman
1. Data kadar MDA dari berbagai kelompok.....	30
2. Analisis statistik kadar MDA dari berbagai kelompok.....	31
3. Data jumlah spermatozoa dari berbagai kelompok.....	32
4. Analisis statistik jumlah spermatozoa dari berbagai kelompok.....	33
5. Data jumlah spermatozoa abnormal dari berbagai kelompok.....	34
6. Analisis statistik jumlah spermatozoa abnormal dari berbagai kelompok.....	35
7. Data kecepatan pergerakan spermatozoa dari berbagai kelompok.....	36
8. Analisis statistik kecepatan pergerakan spermatozoa dari berbagai kelompok.....	37

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang Masalah

Stres merupakan suatu respon dari organisme terhadap suatu rangsangan fisik, kimia, psikis, psikososial, kultural dll yang berasal dari luar atau dalam organisme itu sendiri (Covelli, 1992). Di negara berkembang seperti Indonesia, ekonomi merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya stress. Hal ini karena individu tidak mampu mengatasi beban fisik atau psikologik. Stres dapat menimbulkan perubahan patologis pada tubuh manusia, salah satu diantaranya adalah gangguan reproduksi seperti infertilitas. Latihan fisik yang berlebihan juga merupakan penyebab terjadinya stress oksidatif (ketidak seimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan tubuh).

Infertilitas pada keadaan stress dapat disebabkan oleh adanya hambatan motilitas, meningkatnya kerusakan membran, adanya kelainan morfologi dan viabilitas dari spermatozoa (Alvarez and Storey, 1997; Huszar and Vigue, 1997; Lamirande and Gagnon, 1997; Twigg *et al.*, 1998). Keberhasilan fertilisasi ditentukan oleh jumlah dan mutu spermatozoa yang merupakan salah satu faktor yang penting dalam menentukan kesuburan pria sehingga spermatozoa mampu membuahi sel telur (Gopalkrishnan *et al.*, 1995). Pada keadaan stress, rendahnya kualitas dan kuantitas dari spermatozoa dapat diakibatkan oleh adanya radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species - ROS*) seperti superoksid anion, hydrogen peroksid dan lipid peroksid yang dapat mengganggu integritas sel spermatozoa (Sikka, 1996; Alvarez and Storey, 1997). Radikal bebas dapat menyebabkan gangguan terhadap komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan seperti komponen fungsional (enzim dan DNA) maupun komponen struktural (molekul penyusun membran) (Iwasaki dan Ganon, 1992). Telah dilaporkan bahwa tingginya radikal bebas dapat menimbulkan efek negatif pada spermatozoa seperti adanya penurunan jumlah spermatozoa, hambatan motilitas spermatozoa, peningkatan jumlah spermatozoa yang abnormal, menurunnya aktivitas *superoxide dismutase superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione peroxidase* (GSHPx) sehingga dapat terjadi penurunan kualitas dan matinya spermatozoa (Sikka, 1996; Alvarez and Storey, 1997).

Pada saat ini banyak peneliti yang tertarik pada antioksidan dan radikal bebas. Studi dan penelitian yang dilakukan pada umumnya untuk mengetahui peranan dari antioksidan dalam mencegah terjadinya berbagai keadaan patologik sebagai akibat dari peningkatan pembentukan radikal bebas. Verma and Kanwar (1999) melaporkan bahwa antioksidan seperti vitamin E dapat memperbaiki morfologi sel sperma yang abnormal dan motilitas sperma yang rendah, karena vitamin E dapat mencegah peningkatan produksi malondialdehid (MDA). Hsu *et al* (1998) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pemberian antioksidan vitamin E atau vitamin C dapat menghambat terbentuknya radikal bebas sehingga dapat menghambat kerusakan sel spermatozoa dan dapat meningkatkan motilitas serta kemampuan penetrasi sel spermatozoa pada oosit tikus

Telah ditemukan antioksidan baru yaitu *curcumine* yang dapat menurunkan kadar Malondialdehid (lipid peroksid) pada kelinci hiperkholesterol dan dapat memperbaiki gangguan fungsi endothelium pembuluh darah (Sudjarwo, 2002). *Curcumine* yang diisolasi dari temu lawak ini juga mempunyai efek antioksidan yang kuat dan dapat menghambat proses lipid peroksidasi (Rajakumar and Rao, 1994; Osawa *et al.*, 1995). *Curcumine* mempunyai efek antioksidan yang kuat dan distribusinya luas ke jaringan termasuk jaringan testis serta aman penggunaannya, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai efek proteksi *curcumine* terhadap kualitas dan kuantitas sel spermatozoa pada keadaan stress, sehingga dari hasil penelitian ini diharapkan *curcumine* dapat digunakan untuk menurunkan jumlah spermatozoa yang mati maupun yang abnormal dan dapat meningkatkan motilitas (pergerakan) sel spermatozoa serta dapat meningkatkan produksi sel spermatozoa, yang selanjutnya *curcumine* nantinya dapat digunakan untuk menangani kasus infertilitas pada keadaan stress

## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah *curcumine* dapat menurunkan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus yang menerima stresor "

2. Apakah *curcumine* dapat meningkatkan kuantitas (jumlah) sel spermatozoa tikus yang menerima stresor ?
3. Apakah *curcumine* dapat memperbaiki kualitas (morphologi dan kecepatan gerak) sel spermatozoa tikus yang menerima stresor ?

### 1.3. Hipotesis

- a. Pemberian *curcumine* dapat menurunkan kadar malondialdehyde (MDA) pada tikus yang menerima stresor
- b. Pemberian *curcumine* dapat meningkatkan kuantitas (jumlah) sel spermatozoa tikus yang menerima stresor
- c. Pemberian *curcumine* dapat memperbaiki kualitas (morphologi dan kecepatan gerak) sel spermatozoa tikus yang menerima stresor

## BAB II

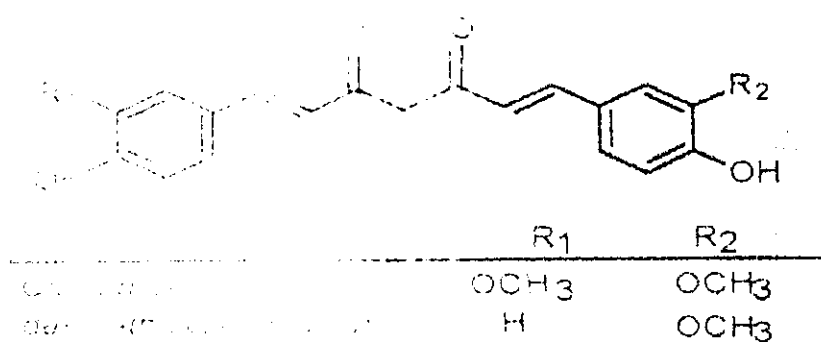
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan Tentang *Curcumine*

*Curcumine* merupakan salah satu bahan aktif yang diisolasi dari temulawak (*Curcuma xanthorrhiza roxb*) yang banyak tumbuh didaerah tropis seperti di Indonesia. Di Jawa sering tumbuh liar di pekarangan-pekarangan, pinggir jalan dan lereng-lereng sungai. Rimpangnya menjadi komoditi penting sejak dahulu sebagai bahan jamu, penghasil zat warna dan aromatikum. Secara tradisional rimpang temu lawak digunakan untuk peluruh batu empedu, pelancar asi, pelancar pencernaan, penurun panas, peluruh batu ginjal, menurunkan kolesterol dan untuk merangsang nafsu makan.

##### 2.1.1 Struktur dan sifat kimia *curcumine*

*Curcumine* atau *bis-(4-hydroxy-3-methoxy-cinnamoyl)-methane* yang juga dikenal sebagai *diferuloyl-methane*. Struktur kimia dari *curcumine* dapat terlihat pada gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Struktur Kimia *Curcumine* ( Sumber Sudarsono *et al.*, 1996 Dalam Tumbuhan Obat)

*Curcumine* berupa kristal berwarna kuning gelap, tidak larut dalam air atau eter, larut dalam alkohol. Dalam larutan basa *curcumine* menghasilkan larutan yang

berwarna merah kecoklatan yang apabila ditambahkan larutan asam akan berubah warna menjadi kuning.

### 2.1.2 Efek biologik *curcumine*

Data penelitian pada hewan coba (anjing) *curcumine* mempunyai sifat merangsang produksi empedu dan sekresi pankreas (Stecher, 1978). Pemberian *curcumine* 0.1- 0.5 % pada tikus selama 7 hari dapat menyebabkan penurunan kadar kolesterol dalam darah (Hadi, 1985).

*Curcumine*, natrium *curcumine* dan turunan semisintetiknya *feruloyl-4-hydroxycinnamoyl-methane* dan *bis-4-hydroxycinnamoyl-methane* mempunyai efek anti radang dan dapat menurunkan kadar SGPT (Hadi, 1985). Dan juga telah dilaporkan bahwa *curcumine* yang diisolasi dari temu lawak ini mempunyai efek antioksidan (Rajakumar and Rao, 1994; Brouet and Oshima, 1995; Osawa *et al.*, 1995), dapat menghambat proses lipid peroksidasi (Sudjarwo 2002) dan dapat menurunkan kadar LDL, meningkatkan kadar HDL serta menurunkan kadar trigliserida (Piyachaturawat and Suksamrarn, 1997).

## 2.2. Tinjauan Tentang Stres

Stres merupakan suatu respon dari organisme terhadap suatu rangsangan fisik, kimia, psikis, psikososial cultural dll yang berasal dari luar atau dalam organisme itu sendiri (Covelli, 1992). Latihan fisik yang berlebihan merupakan salah satu penyebab terjadinya stress oksidatif (ketidak seimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan tubuh). Pada keadaan stress ini dapat menyebabkan kerusakan sel endothelium, otot polos, dan juga sel spermatozoa, hal ini karena jumlah antioksidan internal seperti SOD, katalase dan glutation dalam endotel, otot polos dan sel spermatozoa adalah rendah dan juga disebabkan oleh adanya peningkatan jumlah superoksid radikal (Sperelakis, 1998).

Stres fisik yang berat (*swimming stress*) pada tikus dapat mengakibatkan meningkatnya jumlah lipid peroksid yang dianggap identik dengan kadar malondialdehyde (MDA) plasma darah (Davies *et al.*, 1992).

## 2.3 Tinjauan Tentang Radikal Bebas

Oksidan yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar merupakan oksidan endogen yang terbentuk dalam tubuh kita sendiri, yang disebut sebagai senyawa oksigen reaktif (*Reactive Oxygen compound / ROC, Reactive OxygeSpecies ROS*). ROS dapat berbentuk radikal seperti radikal superoksida anion ( $O_2^-$ ), radikal hidroperoksil ( $HO_2$ ), radikal hidroksil ( $OH$ ), hidroperoksida, hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), lipid peroksida ( $LOOH$ ), radikal peroksil ( $XOO$ ), radikal lipid peroksil ( $LOO$ ), alkoksi radikal ( $XO$ ) dan radikal lipoksi ( $LO$ ) (Freisleben, 2000).

ROS merupakan oksidan yang sangat kuat yang dapat bereaksi dengan semua senyawa yang dapat melepaskan elektron. Reaksi dari ROS ini yang paling penting adalah terhadap asam lemak khususnya asam lemak tak jenuh jamak (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang merupakan komponen membran sel, DNA yang merupakan perangkat genetik sel, dan protein yang melaksanakan berbagai peran penting seperti enzim, reseptor, antibodi dan pembentuk matrik ekstrasel serta sitoskeleton.

### 2.3.1 Efek radikal bebas terhadap asam lemak tak jenuh

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh jamak. Radikal bebas akan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh jamak sehingga dapat terbentuk lipid peroksida yang bersifat toksik terhadap sel dan dapat mengakibatkan kerusakan membran sel (Evan and Bruedorfer, 1992).

### 2.3.2 Efek radikal bebas terhadap DNA

Radikal hidroksil dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA yang berupa hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan cincin purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tidak terlalu parah, maka masih dapat diperbaiki oleh sistem DNA (DNA repair sistem). Akan tetapi jika kerusakannya terlalu parah, misalnya rantai DNA terputus di banyak tempat, maka kerusakan ini tidak dapat diperbaiki, akhirnya sel akan mati.

Pada perbaikan DNA, nukleotida yang rusak, dapat diganti namun sering tak sempurna, sehingga terjadi mutasi. Bila mutasi ini terjadi pada jenis gen khusus, yaitu proto onko-gen atau anti onkogen maka dapat menimbulkan kanker. Rantai DNA



yang terputus dapat disambung kembali, tetapi penyambungannya sering kurang sempurna sehingga terjadi translokasi (Evan and Bruedorfer, 1992).

### 2.3.3 Efek radikal bebas terhadap protein

Oksidan dapat merusak protein karena dapat bereaksi dengan asam amino penyusun protein, khususnya asam amino sistein yang mengandung gugusan sulfhidril (-SH).

Pembentukan ikatan disulfida menimbulkan ikatan intra maupun antar molekul protein sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya (misalnya enzim kehilangan aktivitasnya). Protein dapat juga bereaksi dengan aldehyd hasil peroksidasi lipid sehingga menimbulkan apa yang disebut AGE (*Advanced Glycoxylated Endproducts*) yang dapat merusak fungsi biologis protein (Evan and Bruedorfer, 1992).

## 2. 4. Tinjauan Tentang Spermatozoa

### 2.4.1 Spermatogenesis

Spermatogenesis terjadi pada tubulus seminiferus yang banyak mengandung sel epitel germinativum berukuran kecil sampai sedang yang dinamakan spermatogonia. Sel ini mengalami proliferasi dan sebagian berdiferensi melalui stadium definitive untuk membentuk spermatozoa. Stadium pertama spermatogenesis adalah pertumbuhan beberapa spermatogonia menjadi sel yang sangat besar yang dinamakan spermatosit primer. Kemudian spermatosit primer membelah dengan proses meiosis membentuk dua spermatosit sekunder. Masing-masing sel ini segera membelah dengan pembelahan mitosis membentuk dua spermatid. Spermatid yang pertama kali dibentuk mereka masih mempunyai sifat umum sel epiteloid, kemudian sebagian besar sitoplasmanya hilang, dan setiap spermatid akan mengalami proses diferensiasi yang komplek yang dinamakan spermiogenesis yang menghasilkan perubahan spermatid menjadi spermatozoa yang terdiri atas kepala, leher, badan dan ekor. Didepan kepala sperma terdapat struktur kecil yang dinamakan akrosom yang dibentuk dari golgi apparatus dan mengandung hialuronidase dan protease yang memegang peranan penting untuk penetrasi sperma kedalam ovum.

## 2.4.2 Faktor yang mempengaruhi kuantitas dan kualitas spermatozoa

Untuk keberhasilan fertilisasi, spermatozoa harus diproduksi dalam jumlah dan kualitas yang baik yang dapat dipengaruhi oleh :

### A. Makanan

Makanan harus cukup seimbang antara karbohidrat, protein, mineral dan suplai protein yang esensial untuk reproduksi. Pada umumnya, apabila reproduksi terganggu pada orang dewasa karena kekurangan makanan, maka dapat diperbaiki dengan memberi makanan yang layak dan cukup baik kualitas dan kuantitasnya. Tetapi apabila terjadi hambatan dan perkembangan alat reproduksi ketika masih belum dewasa maka akan sulit sekali untuk mengembalikan alat reproduksi kepada kondisi fungsi yang normal dengan memberikan makanan yang cukup.

Kualitas dan kuantitas makanan yang rendah dapat menyebabkan atrofi testes, penurunan jumlah spermatozoa, kehilangan libido dan dapat menghambat kelancaran fungsi reproduksi melalui pengaruhnya terhadap sekresi hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisis dalam hal ini tubulus seminiferus sehingga dapat mempengaruhi pembentukan spermatozoa.

Defisiensi vitamin A, vitamin E, protein dan defisiensi mineral seperti kobalt, zat besi, cuprum, fosfor dapat menyebabkan atrofi epitelium tubulus seminiferus sehingga dapat menurunkan kualitas dan produksi spermatozoa.

### B. Suhu

Suhu lingkungan yang terlalu rendah atau terlalu tinggi dapat mempengaruhi reproduksi. Fungsi thermo regulator skrotum dapat terganggu dengan akibat buruk terhadap spermatogenesis. Peninggian suhu testes karena hernia inguinalis, demam yang tak kunjung reda karena penyakit menular dapat menyebabkan kegagalan pembentukan dan penurunan produksi spermatozoa.

### C. Frekuensi ejakulasi

Frekuensi ejakulasi yang terlalu sering dalam satuan waktu yang relatif pendek, cenderung dapat menurunkan volume dan jumlah spermatozoa per ejakulasi.

### D. Umur

spermatogenesis dimulai sewaktu mencapai masa pubertas. Pada waktu pubertas, testes terus berkembang dan menghasilkan lebih banyak spermatozoa. Spermatogenesis secara normal dapat terus berlangsung selama hidup. Pada lanjut

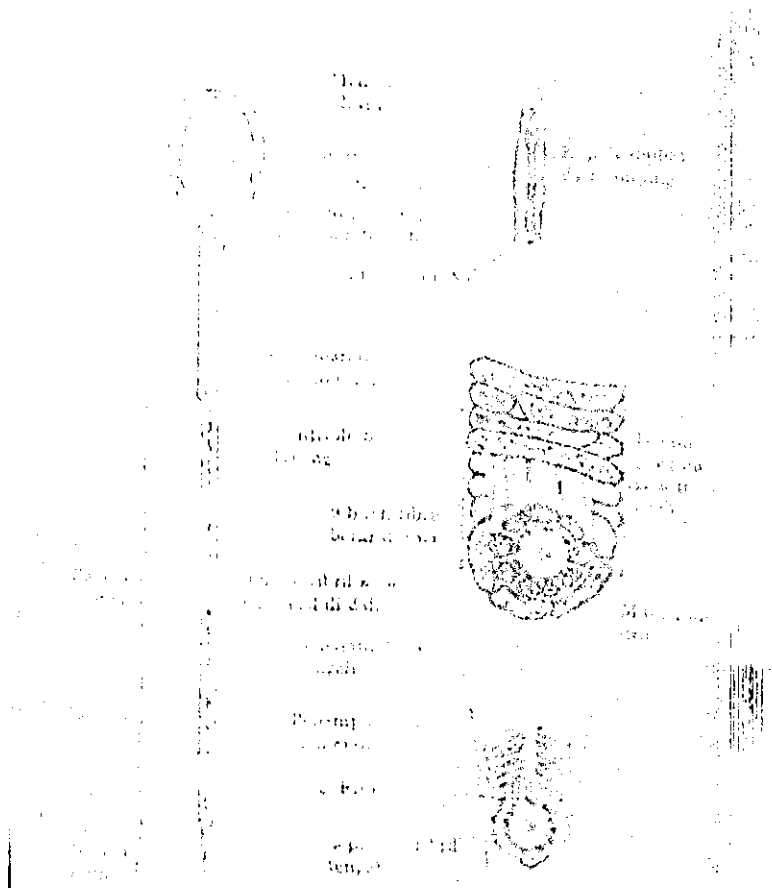
usia mulai terjadi atrofi tubulus semeniferus yang dapat mengakibatkan penurunan pembentukan spermatozoa

#### E. stress

Stres merupakan suatu respon dari organisme terhadap suatu rangsangan fisik, kimia, psikis, psikososial cultural dll yang berasal dari luar atau dalam organisme itu sendiri (Covelli, 1992). Latihan fisik yang berlebihan merupakan salah satu penyebab terjadinya stress oksidatif (ketidak seimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan tubuh). Pada keadaan stress dapat menyebabkan infertilitas, hal ini karena adanya hambatan motilitas, meningkatnya kerusakan membran, adanya kelainan morfologi dan viabilitas dari spermatozoa (Alvarez and Storey, 1997; Huszar and Vigue, 1997; Lamirande and Gagnon, 1997; Twigg *et al.*, 1998). Pada keadaan stress, rendahnya kualitas dan kuantitas dari spermatozoa dapat diakibatkan oleh adanya radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (Reactive Oxygen Species / ROS) seperti superoksid anion, hydrogen peroksid dan lipid peroksid yang dapat mengganggu integritas sel spermatozoa (Sikka, 1996; Alvarez and Storey, 1997). Radikal bebas menyebabkan gangguan terhadap komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan seperti komponen fungsional (enzim dan DNA) maupun komponen struktural (molekul penyusun membran) (Iwasaki dan Ganon, 1992). Sudjarwo *et al* (2000) melaporkan bahwa tingginya radikal bebas pada spermatozoa dapat menghambat pembentukan energi (ATP), karena adanya oksidasi DNA yang dapat menyebabkan menurunnya kualitas dan matinya spermatozoa. Aktifitas fisik yang berlebihan dilaporkan dapat meningkatkan jumlah radikal superoksid hingga 75 kali (Halliwell and Guetteridge, 1998) Swimming stress diketahui dapat meningkatkan kadar MDA dan penurunan jumlah enzim antioksidan seperti SOD dan glutathion (Brady *et al*, 1995).

#### 2.4.3 Morfologi spermatozoa

Secara sitologik, spermatozoa dibagi atas kepala dan ekor. Ekor dibagi menjadi bagian tengah atau leher, bagian utama dan bagian ujung seperti terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Spermatozoa dengan bagian-bagiannya

Pada umumnya bentuk abnormal pada spermatozoa karena adanya gangguan pada testes. Bentuk abnormal pada spermatozoa dapat terjadi pada bagian kepala (kepala kecil, kepala besar, kepala dua, kepala miring), pada bagian leher (leher patah, leher besar), dan pada bagian ekor (ekor patah, ekor tergulung)

#### 2.4.4 Pergerakan spermatozoa

Dibagian ekor banyak adenosin trifosfat yang memberikan energi untuk pergerakan sperma. Spermatozoa yang motil dan fertile mampu melakukan pergerakan dengan menggunakan aksonema (flagel) melalui media cair dengan kecepatan 1 sampai 4 mm permenit. Spermatozoa yang normal cenderung bergerak dalam garis lurus bukan pergerakan melingkar. Telah diketahui ada 4 macam cara bergerak yaitu gerak maju (progresif), gerak mundur (reserve), gerak bergetar (vibratory) dan gerak berputar (sirkulair).

## BAB III

### TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

#### 3.1. Tujuan Penelitian

Penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa akibat stress dapat menimbulkan infertilitas. Untuk mencegah penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa akibat adanya stress, maka pada penelitian ini secara umum bertujuan untuk membuktikan bahwa *curcumine* sebagai antioksidan dapat memproteksi kuantitas dan kualitas spermatozoa dari gangguan radikal bebas pada tikus yang mengalami stress. Sedangkan secara khusus penelitian ini bertujuan :

- a. Membuktikan bahwa pemberian *curcumine* dapat menurunkan kadar malondialdehide (MDA) pada tikus yang menerima stresor
- b. Membuktikan bahwa pemberian *curcumine* dapat meningkatkan kuantitas (jumlah) sel spermatozoa tikus yang menerima stresor
- c. Membuktikan bahwa pemberian *curcumine* dapat memperbaiki kualitas (morphologi dan kecepatan gerak) sel spermatozoa tikus yang menerima stresor

#### 3.2. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan :

- a. Memberikan informasi bahwa antioksidan *curcumine* dapat digunakan untuk mencegah terjadinya infertilitas akibat adanya stress
- b. Pemberian *curcumine* dapat digunakan untuk menurunkan kadar MDA pada keadaan stress
- c. Pemberian *curcumine* dapat digunakan untuk memperbaiki kualitas spermatozoa pada keadaan stress
- d. Pemberian *curcumine* dapat digunakan untuk memperbaiki kuantitas spermatozoa pada keadaan stress

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. Tempat Dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi FK UNAIR Surabaya dari tanggal 20 Juni 2005 sampai tanggal 20 Oktober 2005.

#### **4.2. Materi Penelitian**

##### **IV.2.1 Bahan penelitian**

Bahan kimia yang digunakan untuk penelitian ini adalah *curcumine*, asam tiobarbiturat, Aquadest, larutan Hank (9.8 g *Hank Balanced Salt solution* /HBBS, 0.35 g NaHCO<sub>3</sub> yang diencerkan dengan aquadest menjadi 1000 ml), methanol, pewarna kristal violet, pewarna safranin

##### **4.2.2 Hewan coba**

Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan umur 2-3 bulan dengan berat badan 250-300 mg yang diperoleh dari PUSVETMA Surabaya.

##### **4.2.3 Alat penelitian**

Alat yang digunakan untuk penelitian adalah kandang tikus, bak air, sonde, mixer, sentrifuge, mikroskop, improve naubauer, spektrofotometer.

#### **4.3 Prosedure Penelitian**

##### **4.3.1 Induksi stress pada tikus**

Untuk membuat stress pada tikus dapat dilakukan dengan cara Willner et al 1990 yaitu dengan cara memberi memberi beban kerja aktivitas fisik renang "Behavioural despair". Satu hari sebelum direnangkan tikus ditimbang berat badannya untuk menentukan berat beban pada ekor, dengan beban 2 % dari berat badan tikus, kemudian tikus dimasukkan kedalam air dan diamati sampai tikus tersebut tidak memberikan gerakan berenang. Selanjutnya tikus diangkat dari air. Perlakuan ini dilakukan setiap hari selama 30 menit selama 4 minggu.

#### 4.3.2 Perlakuan terhadap hewan percobaan

Sebanyak 40 ekor tikus dibagi secara acak dalam 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus. Pemberian *curcumine*, maupun pemberian stressor pada tikus dilakukan selama 4 minggu. *Curcumine* diberikan secara oral dengan menggunakan sonde sehari sekali. 1 jam setelah pemberian *curcumine*, tikus diberi perlakuan stressor dengan perincian sebagai berikut :

##### **Kelompok Kontrol Negatif :**

8 ekor tikus tanpa diberi stressor dan diberi pelarut *curcumine*

##### **Kelompok Kontrol Positif :**

8 ekor tikus diberi stressor dan diberi pelarut *curcumine*

##### **Kelompok Perlakuan I :**

8 ekor tikus diberi stressor dan diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB

##### **Kelompok Perlakuan II :**

8 ekor tikus diberi stressor dan diberi *curcumine* dosis 200 mg/kg BB

##### **Kelompok Perlakuan III :**

8 ekor tikus diberi stressor dan diberi *curcumine* dosis 400 mg/kg BB

Setelah empat minggu perlakuan, semua tikus dianestesi dengan eter kemudian diambil darahnya secara intra kardial untuk diperiksa kadar MDA (Malondialdehyde). Disamping itu juga diambil kauda epididimis kiri dan kanan kemudian dimasukan dalam larutan Hank 10 ml dalam cawan petri dan dicacah halus sehingga berbentuk suspensi selanjutnya diperiksa kualitas dan kuantitas sel spermatozoanya. Pemeriksaan kadar MDA, kualitas dan kuantitas spermatozoa dilakukan dengan cara sebagai berikut :

##### **a. Pemeriksaan kadar Malondialdehyde (MDA)**

Penetapan kadar Malondialdehyde dalam darah dilakukan dengan metode Espinosa, 1993. Pengukurannya berdasarkan jumlah malondialdehyde yang bereaksi dengan reagen asam tiobarbiturat. Kadar malondialdehyde yang terdeteksi ini dianggap identik dengan konsentrasi lipid peroksid plasma.

##### **b. Pemeriksaan kualitas spermatozoa**

- Pemeriksaan abnormalitas dari sel spermatozoa dilakukan dengan cara membuat hapusan suspensi sperma, kemudian dimasukan kedalam methanol, larutan pewarna

safranin, buffer fosfat, larutan pewarna kristal violet. Setelah kering dilakukan pengamatan dengan mikroskop untuk melihat bentuk sperma yang normal dan yang abnormal.

- Pemeriksaan kecepatan gerak sel spermatozoa dilakukan dengan cara mengambil 0.5 µl suspensi sperma dengan pipet hemositometer dimasukkan dalam kamar hitung Neubeuer. Kecepatan sperma dihitung waktu yang diperlukan oleh spermatozoa untuk menempuh jarak sepanjang 0.25 mm dengan menggunakan stopwatch dalam detik.

#### ***c. Pemeriksaan kuantitas sel spermatozoa***

Pemeriksaan jumlah sel spermatozoa dilakukan dengan menggunakan kamar hitung Neubeuer dan dilihat dibawah mikroskop. Semen dihisap sebanyak 0.05 ml ke dalam hemositometer. Bersihkan ujung pipet dan teteskan tepat pada pinggir gelas penutup dari gelas obyek sitometer thoma. Hitung spermatozoa yang terdapat pada 5 kotak, yaitu 4 kotak ditengah dan 1 kotak disudut dengan mempergunakan pembesaran kecil (45x10)

#### **4.4. Rancangan Penelitian Dan Analisis Data**

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dan data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Apabila hasil perlakuan yang diberikan terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji LSD.



## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Pengaruh Pemberian *Curcumine* Terhadap Kadar MDA Tikus

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa pada kelompok tikus yang dibuat stress (Kontrol positif) dengan cara direnangkan menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang tanpa direnangkan (Kontrol negatif), sedangkan pada kelompok tikus yang dibuat stress dan diberi *curcumine* memperlihatkan adanya penurunan kadar Malondialdehyde (MDA) bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang dibuat stres

Data hasil penelitian kadar MDA tikus yang diperoleh dari berbagai perlakuan ditabulasikan seperti yang tercantum pada lampiran 1, dan penghitungan statistik kadar MDA tercantum pada lampiran 2. Hasil rata-rata dan simpangan baku dari penghitungan kadar MDA dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Rata-rata dan simpangan baku kadar MDA tikus dari berbagai kelompok

Kelompok	Kadar MDA ( $\mu\text{M/ml}$ )
	$\bar{X} \pm \text{SD}$
Kontrol Negatif	$4.11 \pm 0.64^a$
Kontrol Positif	$7.19 \pm 0.53^b$
<i>Curcumine</i> dosis 100 mg/kg BB	$7.09 \pm 0.49^b$
<i>Curcumine</i> dosis 200 mg/kg BB	$6.75 \pm 0.54^b$
<i>Curcumine</i> dosis 400 mg/kg BB	$4.94 \pm 0.43^c$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

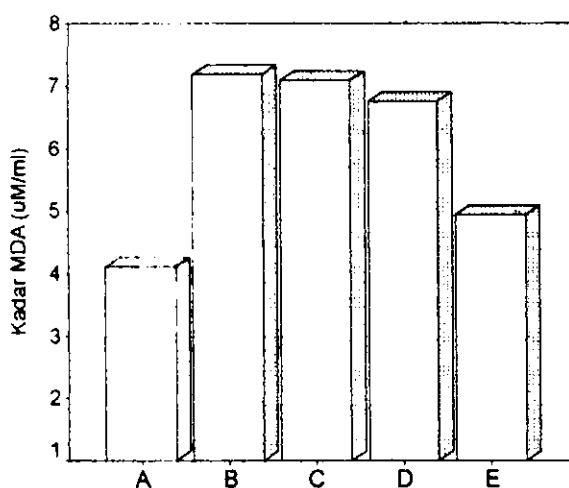
Pada penghitungan statistik dengan uji ANOVA terhadap kadar MDA, menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna diantara berbagai kelompok pada  $p < 0.05$ . Untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok maka dilakukan Uji LSD. Pada tikus yang dibuat stress dengan cara direnangkan menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA dan pada uji LSD terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok tikus yang tanpa direnangkan. Maslachah (2000) melaporkan bahwa tikus yang dibuat stress dengan cara direnangkan selama 1 bulan dapat menyebabkan kenaikan kadar MDA sebagai akibat adanya peningkatan

produksi superoksid anion. Meningkatnya radikal bebas superoksid ini berhubungan dengan meningkatnya lipid peroksidasi plasma yang dapat diukur sebagai *Thiobarbituric Acid-Reactive Substances* (TBARS) plasma yang diekspresikan sebagai MDA. Kenaikan produksi superoksid pada tikus stres ini karena adanya aktivasi atau kenaikan xanthine oksidase.

Tikus yang menerima stresor dan diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB menunjukkan adanya penurunan kadar MDA bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Pada uji LSD terdapat perbedaan kadar MDA yang bermakna antara tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 400 mg/kg BB dengan kelompok kontrol positif sedangkan pada tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg dan BB 200 mg/kg BB tidak berbeda bermakna pada  $p < 0.05$ . Hasil ini menunjukkan bahwa *Curcumine* mempunyai khasiat sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat lipid peroksidasi dalam plasma (Rajakumar and Rao, 1994; Osawa *et al.*, 1995). Telah dilaporkan bahwa antioksidan seperti probukol, vitamin C dan vitamin E mempunyai kemampuan menghambat lipid peroksidasi dan modifikasi oksidasi LDL sehingga dapat menghambat kenaikan kadar MDA (Hsu *et al.*, 1998; Pryadarsini, 1998).

Sudjarwo (2002) juga melaporkan bahwa antioksidan *curcumine* dapat menurunkan pembentukan radikal bebas superoksid pada kelinci hiperkholesterolemia, yang diperlihatkan dengan adanya penurunan TBARS plasma. Mekanisme antioksidan dalam menghambat produksi radikal bebas superoksid masih belum diketahui dengan jelas.

Pada uji LSD juga terdapat perbedaan penurunan kadar MDA yang bermakna antara *curcumine* dosis 400 mg/kg BB dengan *curcumine* dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Hasil ini menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi *curcumine* yang diberikan berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada tikus yang mengalami stress seperti terlihat pada gambar 3.



Gambar 3. Efek *curcumine* terhadap kadar MDA tikus. Kontrol negatif (A), kontrol positif (B), *Curcumine* dosis 100 mg/kg BB (C), *Curcumine* dosis 200 mg/kg BB (D) dan *Curcumine* dosis 400 mg/kg BB (E).

Pada gambar 3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi *curcumine* yang diberikan semakin kuat pula efek penurunan kadar MDA pada tikus yang mengalami stress. Hal ini karena semakin besar konsentrasi *curcumine* yang diberikan semakin kuat pula khasiat antioksidannya sehingga semakin kuat efeknya dalam menghambat kenaikan kadar MDA.

## 5.2. Pengaruh Pemberian *Curcumine* Terhadap Kuantitas Spermatozoa Tikus

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa pada kelompok tikus yang dibuat stress (Kontrol positif) dengan cara direnangkan menunjukkan adanya penurunan kuantitas spermatozoa yang ditandai dengan menurunnya jumlah spermatozoa bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang tanpa direnangkan (Kontrol negatif), sedangkan pada kelompok tikus yang dibuat stress yang diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB memperlihatkan adanya peningkatan jumlah spermatozoa bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya menerima stressor.

Data hasil penelitian dari jumlah spermatozoa tikus yang diperoleh dari berbagai perlakuan ditabulasikan seperti yang tercantum pada lampiran 3, dan penghitungan statistik jumlah spermatozoa tercantum pada lampiran 4. Hasil rata-rata

dan simpangan baku dari penghitungan jumlah spermatozoa tikus dari berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Rata-rata Dan Simpangan Baku jumlah spermatozoa tikus dari berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Jumlah Spermatozoa ( $\times 10^7$ )
	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol Negatif	149.0 $\pm$ 11.1 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	121.5 $\pm$ 6.9 <sup>b</sup>
<i>Curcumine</i> 100 mg/kg BB	123.4 $\pm$ 6.1 <sup>b</sup>
<i>Curcumine</i> 200 mg/kg BB	124.4 $\pm$ 7.4 <sup>b</sup>
<i>Curcumine</i> 400 mg/kg BB	136.9 $\pm$ 7.7 <sup>c</sup>

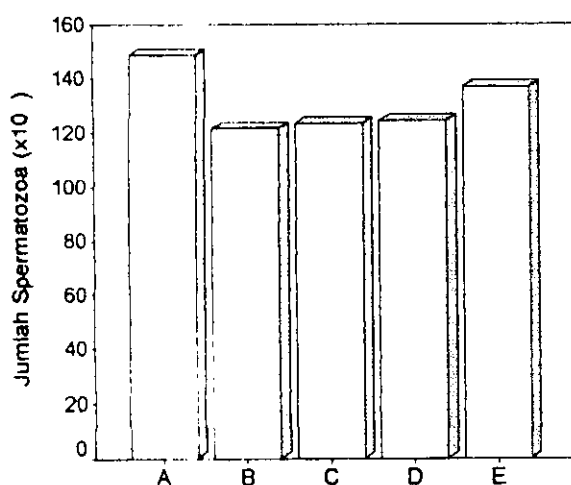
Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Pada penghitungan statistik dengan ANOVA menunjukkan adanya perbedaan jumlah spermatozoa yang bermakna diantara berbagai kelompok pada  $p < 0.05$ . Untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok maka dilakukan Uji LSD. Pada tikus yang dibuat stress dengan cara direnangkan menunjukkan adanya penurunan jumlah spermatozoa dan pada uji LSD terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok tikus yang tanpa direnangkan pada  $p < 0.05$ . Hal ini karena pada keadaan stress dapat terjadi peningkatan produksi radikal bebas seperti superoksida anion, hidrogen peroksida dan lipid peroksida yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan testes terutama tubulus seminiferus sehingga dapat menghambat proses spermatogenesis dan dapat mengakibatkan penurunan pembentukan spermatozoa (Alvarez and Storey 1997; Fuchs *et al.*, 1997).

Pemberian *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB pada tikus yang mengalami stress menunjukkan adanya peningkatan jumlah spermatozoa bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Pada uji LSD terdapat perbedaan jumlah spermatozoa yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 400 mg/kg BB sedangkan dengan tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB tidak berbeda bermakna pada  $p < 0.05$ . Pada kelompok kontrol negatif (tikus yang tidak stress atau tidak direnangkan) memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kelompok tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan yang diberi *curcumine* dosis 400 mg/kg BB pada  $p < 0.05$ . Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian *curcumine* dosis 400 mg/kg BB

mempunyai khasiat untuk meningkatkan jumlah spermatozoa pada tikus yang mengalami stress tetapi belum dapat mencapai jumlah spermatozoa seperti pada tikus yang normal (kontrol negatif). Telah dilaporkan bahwa *curcumine* mempunyai khasiat sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat pembentukan radikal bebas superoksid anion, hidrogen peroksid dan lipid peroksid (Pryadarsini. 1998). Pemberian antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E pada keadaan stress, mempunyai kemampuan untuk meningkatkan produksi spermatozoa. Vitamin E dan vitamin C dapat menghambat pembentukan radikal bebas sehingga mampu mencegah kerusakan tubulus seminiferus dari testes (Kessopoulou *et al.*, 1995; Hsu *et al.*, 1998; Potts *et al.*,1999).

Pada uji LSD juga terdapat perbedaan jumlah spermatozoa yang bermakna antara pemberian *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dengan dosis 400 mg/kg BB. Hasil ini menunjukkan bahwa besarnya dosis dari *curcumine* yang diberikan berpengaruh terhadap peningkatan jumlah spermatozoa pada tikus yang mengalami stress seperti terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. Efek *curcumine* terhadap jumlah spermatozoa tikus.. Kontrol negatif (A), kontrol positif (B), *Curcumine* dosis 100 mg/kg BB (C), *Curcumine* dosis 200 mg/kg BB (D) dan *Curcumine* dosis 400 mg/kg BB (E).

Pada gambar 4 menunjukkan bahwa semakin besar dosis *curcumine* yang diberikan semakin besar pula peningkatan jumlah spermatozoa pada tikus yang mengalami stress. Hal ini karena semakin besar dosis *curcumine* yang diberikan

semakin kuat pula khasiat antioksidannya sehingga semakin kuat efeknya dalam melindungi kerusakan tubulus seminiferus akibat adanya stress.

### 5.3. Pengaruh Pemberian *Curcumine* Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa pada kelompok tikus yang dibuat stress (Kontrol positif) dengan cara direnangkan menunjukkan adanya penurunan kualitas spermatozoa yang ditandai dengan meningkatnya jumlah spermatozoa yang abnormal ( kepala abnormal, leher abnormal, ekor abnormal) dan menurunnya kecepatan pergerakan spermatozoa bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang tanpa direnangkan (Kontrol negatif), sedangkan pemberian *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB pada kelompok tikus yang dibuat stress memperlihatkan adanya penurunan jumlah spermatozoa yang abnormal dan peningkatan kecepatan pergerakan spermatozoa bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang dibuat stress

#### 5.3.1 Pengaruh pemberian *curcumin* terhadap jumlah spermatozoa yang abnormal

Data hasil penelitian dari jumlah spermatozoa abnormal yang diperoleh dari berbagai perlakuan ditabulasikan seperti yang tercantum pada lampiran 5, dan penghitungan statistik jumlah spermatozoa abnormal tercantum pada lampiran 6. Hasil rata-rata dan simpangan baku dari penghitungan jumlah spermatozoa tikus dari berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3.** Rata-rata Dan Simpangan Baku jumlah spermatozoa abnormal dari berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Jumlah Spermatozoa Abnormal (%)
	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol Negatif	$10.5 \pm 2.7^a$
Kontrol Positif	$27.7 \pm 4.9^b$
<i>Curcumine</i> 100 mg/kg BB	$27.8 \pm 6.9^b$
<i>Curcumine</i> 200 mg/kg BB	$26.6 \pm 8.9^b$
<i>Curcumine</i> 400 mg/kg BB	$17.3 \pm 3.9^c$

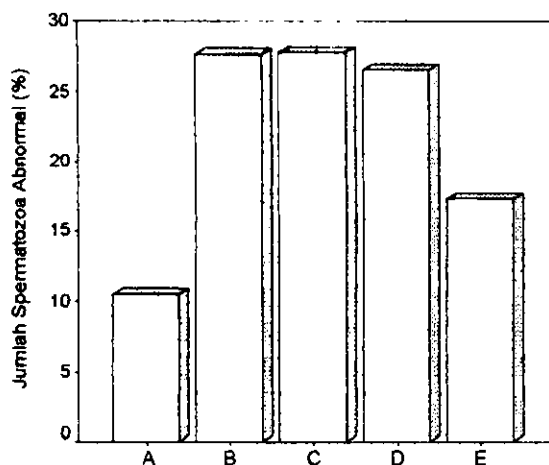
Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Pada penghitungan statistik dengan uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan jumlah spermatozoa abnormal yang bermakna diantara berbagai kelompok perlakuan pada  $p < 0.05$ . Untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan maka dilakukan Uji LSD. Pada tikus yang dibuat stress dengan cara direnangkan menunjukkan adanya peningkatan jumlah spermatozoa yang abnormal dan pada uji LSD terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok tikus yang tanpa direnangkan pada  $p < 0.05$ . Hasil ini karena pada keadaan stress, membran spermatozoa yang banyak mengandung *polyunsaturated fatty acid* mudah mengalami peroksidasi akibat adanya radikal bebas seperti superoksid anion, lipid peroksid dan hidrogen peroksid sehingga dapat menyebabkan kerusakan membran spermatozoa dan dapat mengakibatkan terjadinya spermatozoa yang abnormal (kelainan bagian kepala, bagian leher atau bagian ekor) (Huzar and Vigue, 1997; Twigg *et al.*, 1998). Disamping itu, meningkatnya radikal bebas superoksid ini berhubungan dengan meningkatnya lipid peroksidasi yang dapat diukur sebagai Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) plasma yang diekspresikan sebagai MDA. Malondialdehid (MDA), hasil oksidasi dari fatty acid berpengaruh terhadap morfologi dari spermatozoa (Suleiman *et al.*, 1996).

Pemberian *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB pada tikus yang mengalami stress menunjukkan adanya penurunan jumlah spermatozoa yang abnormal bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (tikus stress). Pada uji LSD terdapat perbedaan jumlah spermatozoa abnormal yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 400 mg/kg BB tetapi tidak bermakna dengan kelompok tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB pada  $p < 0.05$ . Sedangkan pada kelompok kontrol negatif (tikus yang tidak stress atau tidak direnangkan) memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kelompok tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB pada  $p < 0.05$ . Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian *curcumine* dosis 400 mg/kg BB mempunyai khasiat untuk menurunkan jumlah spermatozoa yang abnormal pada tikus yang mengalami stress, tetapi tidak dapat menurunkan seperti pada tikus yang normal (kontrol negatif). Hal ini karena *curcumine* mempunyai khasiat sebagai antioksidan yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas superoksid anion,

hidrogen peroksid dan lipid peroksid sehingga dapat mencegah kerusakan DNA, membran sel, protein dan karbohidrat dari spermatozoa (Sikka, 1996; Inoue *et al.*, 1998). Telah dilaporkan bahwa pemberian antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E pada keadaan stress, mempunyai kemampuan untuk menghambat kerusakan membran sel, DNA, protein pada spermatozoa. Hal ini karena vitamin E dan vitamin C dapat menghambat pembentukan radikal bebas sehingga mampu mencegah terjadinya kelainan morfologi dari spermatozoa (Alvarez and Storey, 1997; Huszar and Vigue, 1997).

Pada uji LSD juga terdapat perbedaan jumlah spermatozoa abnormal yang bermakna antara pemberian *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dengan dosis 400 mg/kg BB. Hasil ini menunjukkan bahwa besarnya dosis dari probukol yang diberikan berpengaruh terhadap penurunan jumlah spermatozoa yang abnormal pada tikus yang mengalami stress seperti terlihat pada gambar 5.



Gambar 5. Efek *curcumine* terhadap jumlah spermatozoa abnormal tikus. Kontrol negatif (A), kontrol positif (B), *Curcumine* dosis 100 mg/kg BB (C), *Curcumine* dosis 200 mg/kg BB (D) dan *Curcumine* dosis 400 mg/kg BB (E).

Pada gambar 5 menunjukkan bahwa semakin besar dosis *curcumine* yang diberikan semakin kuat penurunan jumlah spermatozoa yang abnormal pada tikus yang mengalami stress. Hal ini karena semakin besar dosis *curcumine* yang diberikan semakin kuat pula khasiat antioksidannya sehingga semakin kuat efeknya dalam melindungi kerusakan membran sel, DNA, protein dan karbohidrat dari tikus yang mengalami stress.



### 5.2.2 Pengaruh pemberian *Curcumine* terhadap kecepatan pergerakan spermatozoa

Data hasil penelitian dari kecepatan pergerakan spermatozoa yang diperoleh dari berbagai perlakuan ditabulasikan seperti yang tercantum pada lampiran 7, dan penghitungan statistik kecepatan pergerakan spermatozoa tercantum pada lampiran 8. Hasil rata-rata dan simpangan baku dari penghitungan kecepatan pergerakan spermatozoa tikus dari berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4.** Rata-rata Dan Simpangan Baku Kecepatan pergerakan Spermatozoa dari berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Kecepatan Pergerakan Spermatozoa (detik/0.25 mm)
	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol Negatif	$22.8 \pm 2.9^a$
Kontrol Positif	$32.9 \pm 3.7^b$
<i>Curcumine</i> 100 mg/kg BB	$34.0 \pm 4.9^b$
<i>Curcumine</i> 200 mg/kg BB	$31.5 \pm 6.0^{bc}$
<i>Curcumine</i> 400 mg/kg BB	$27.5 \pm 4.9^c$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

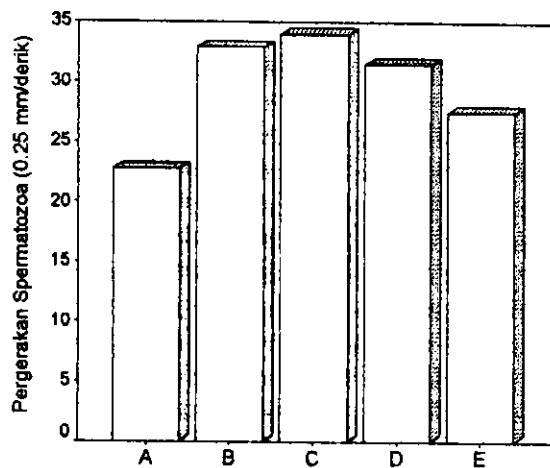
Pada penghitungan statistik dengan uji ANOVA terhadap kecepatan pergerakan spermatozoa, menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna diantara berbagai kelompok perlakuan pada  $p < 0.05$ . Untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan maka dilakukan Uji LSD. Pada tikus yang dibuat stress dengan cara direnangkan menunjukkan adanya hambatan kecepatan pergerakan spermatozoa dan pada uji LSD terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok tikus yang tanpa direnangkan pada  $p < 0.05$ . Hal ini karena spermatozoa dari tikus yang mengalami stress dapat terjadi gangguan pada aksonema dan protein dinein dari bagian ekor spermatozoa sebagai akibat adanya peningkatan pembentukan produksi radikal bebas. Telah dilaporkan bahwa alat gerak spermatozoa terletak pada bagian ekor spermatozoa yang disusun oleh aksonema. Aksonema pada spermatozoa mempunyai struktur identik dengan struktur fibrilair

flagella atau silia. Aksonema terdiri atas sepasang mikrotubulus sentral (mikrotubulus singlet) dikelilingi oleh sembilan pasang mikrotubulus dublet disebelah luarnya. Mikrotubulus luar terdiri atas subfibril A dan subfibril B. Pada subfibril A dilengkapi dua lengan, masing-masing kearah luar dan kedalam yang disusun oleh protein dinein yang berguna dalam motilitas spermatozoa karena mempunyai aktivitas ATP ase yang dapat menghidrolisis ATP sebagai sumber energi dari motilitas spermatozoa (Gavella *et al.*, 1992; Sikka, 1996; Twigg *et al.*, 1998).

Pemberian *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB pada tikus yang mengalami stress menunjukkan adanya peningkatan kecepatan pergerakan spermatozoa bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (tikus stress). Pada uji LSD terdapat perbedaan yang bermakna antara kecepatan pergerakan spermatozoa tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 400 mg/kg BB dengan kelompok kontrol positif tetapi pemberian *curcumine* dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB tidak berbeda bermakna pada  $p < 0.05$ . Sedangkan pada kelompok kontrol negatif (tikus yang tidak stress atau tidak direnangkan) memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kelompok tikus stress yang diberi *curcumine* dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB pada  $p < 0.05$ . Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian *curcumine* dosis 400 mg/kg BB mempunyai efek untuk meningkatkan kecepatan pergerakan spermatozoa pada tikus yang mengalami stress. Hal ini karena pemberian *curcumine* dapat menghambat terbentuknya radikal bebas pada tikus stres sehingga dapat menyebabkan terjadinya hambatan kerusakan struktur aksonema dan protein dinein, dengan demikian tidak terdapat gangguan kecepatan pergerakan spermatozoa dari tikus yang mengalami stress. Telah dilaporkan bahwa pemberian antioksidan vitamin E mempunyai peran yang sangat penting dalam meningkatkan motilitas spermatozoa (Kessopoulou *et al.*, 1995; Suleiman *et al.*, 1996)

Pada uji LSD juga terdapat perbedaan antara *curcumine* probukol dosis 100 mg/kg BB dengan dosis 400 mg/kg BB sedangkan antara dosis 200 mg/kg BB dengan dosis 400 mg/kg BB tidak bermakna pada  $p < 0.05$ . Hasil ini menunjukkan bahwa besarnya dosis dari probukol yang diberikan berpengaruh terhadap meningkatnya kecepatan pergerakan spermatozoa pada tikus yang mengalami stress dan efek

maksimal dapat dicapai *curcumine* pada dosis 200 mg/kg BB seperti terlihat pada gambar 6.



Gambar 6. Efek *curcumine* terhadap kecepatan pergerakan spermatozoa tikus. Kontrol negatif (A), kontrol positif (B), *Curcumine* dosis 100 mg/kg BB (C), *Curcumine* dosis 200 mg/kg BB (D) dan *Curcumine* dosis 400 mg/kg BB (E).

Pada gambar 6 menunjukkan bahwa semakin besar dosis *curcumine* yang diberikan semakin kuat peningkatan kecepatan pergerakan spermatozoa pada tikus yang mengalami stress. Hal ini karena semakin besar dosis *curcumine* yang diberikan semakin kuat pula khasiat antioksidannya sehingga semakin kuat efeknya dalam menghambat kerusakan aksonema dan protein dinein dari spermatozoa tikus yang mengalami stress.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan :

1. Pada tikus yang diberi stresor dapat terjadi peningkatan kadar MDA, penurunan kuantitas maupun kualitas sel spermatozoa
2. Pemberian *curcumine* dosis 400 mg/kg BB dapat menurunkan kadar MDA secara bermakna pada tikus yang diberi stresor
3. Pemberian *curcumine* dosis 400 mg/kg BB dapat meningkatkan kuantitas (jumlah) spermatozoa secara bermakna pada tikus yang diberi stresor
4. Pemberian *curcumine* dosis 400 mg/kg BB dapat meningkatkan kualitas spermatozoa secara bermakna pada tikus yang diberi stresor

#### **6.2. Saran**

Berdasarkan penelitian diatas disarankan untuk :

- a. Melakukan penelitian lanjutan dengan pemeriksaan histopatologi testis pada perlakuan yang sama
- b. Menggunakan *curcumine* lebih lanjut dalam mengatasi kasus infertilitas akibat adanya stress

## DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez JG and Storey BT. 1997.** Oxygen as ultimate spermicide: implications for male infertility. Oxidants, antioxidant and oxidative injury. In Ochsendorf FR, Fuchs J. Oxidative stress in male infertility, Gardez, Verlag, St Agustin, 57-84
- Brouet I and Ohshima H. 1995.** Curcumine, an anti tumour promoter and anti inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 206: 533-540
- Brady PS., Bady LJ and Ulrey DE. 1979.** Selenium, Vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *J. Nutr.* 109: 1103-1109
- Coveli V. 1992.** What is stress. How does it correlate with the immune system in stress and the immune system. *J. Sciencis.* 309: 212-215
- Davies KJ., Becker WM and Barne JA. 1982.** Free radicals and tissue damage produced by exercise. *J. Exp. Biol.* 99: 310-315
- Evans CR and Bruckdorfer KR. 1992.** Free Radicals, Lipoprotein and Cardiovascular Dysfunction. *Am.J. Hipertension.* 8: 28-41
- Freisleben HF. 2000.** Free radical and ROS in biological system. Radikal bebas dan antioksidan dalam kesehatan, aplikasi dan pemanfaatan alam. Bagian Biokimia FKUI, Jakarta 1-21
- Fuchs J, Thiele JJ and Ochsendorf FR. 1997.** Oxidants, antioxidant and oxidative injury. In Ochsendorf FR, Fuchs J. Oxidative stress in male infertility, Gardez, Verlag, St Agustin, 21-40
- Gavella M., Lipovac V and Rocic B. 1996.** Superoxide anion scavenging capacity of human plasma sperm. *Int.J. Androl.* 19:62-90
- Gopalkrishnan K, Padwal VD, Souza S and Shah R. 1995.** Severe asthenozoospermia: a structural and functional study: *Int J Androl.* 18: 67-74
- Hadi S. 1995.** Manfaat temulawak ditinjau dari segi kedokteran. Proceeding symposium nasional temulawak. UNPAD. Bandung
- Halliwell B. 1994.** Free radical, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence ?. *The lancet.* 10: 721-724

- Hsu PC, Liu MYChen LY and Guo YL. 1998.** Effect of vitamin E and vitamin C reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm. *Toxicology* . 128: 169-179
- Huszar G and Vigue L. 1994.** Correlation between the rate of lipid peroxidation and cellular maturity as measured by creatinine kinase activity in human spermatozoa. *Journal of Andrology*. 15: 71-77
- Iwasaki A and Gagnon C. 1992.** Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertile Steril.*57: 499-416
- Kessopoolou E, Powers HJ and Sharma KK. 1995.** A double blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertility and Sterility*. 64: 825-831.
- Lamirande and Gagnon.1997.** Biological significance of reactive oxygen species. Oxidant, antioxidant and oxidative injury. In Ochsendorf FR, Fuchs J. *Oxidative stress in male infertility*, Gardez, Verlag, St Agustin, 141-158
- Maslachah L , Sudjarwo SA dan Rahmi S. 2001.** Efek perlindungan disfungsi sel endothel pembuluh darah oleh antioksidan probukol pada tikus yang menerima stressor. *J.Kedokteran. YARSI*.9: 63-71
- Osawa T., Sugiyama Y and Kawakishi S. 1995.** Antioxidative activity of Curcumine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59: 1609-1612.
- Piyachaturawat P and Suksamran A. 1997.** Hypolipidemic effect of curcuma comosa in mice. *Artery*.22: 233-241
- Priyadarsini KT. 1997.** Free radical reactions of curcumin in membrane model. *Free. Radic. Biol. Med.* 23: 838-843.
- Potts RJ., Jefferies TM and Notarianni I.J.1999.**Antioxidant capacity of the epididymis *Human Reprod.* 14: 2513-2516.
- Rajakumar DV and Rao MN. 1994.** Antioxidant properties of dehydrozingerrone and curcumin in rat brain homogenates. *Mol.Cell.Biochem.*140: 73-79
- Sikka S.1996.** Oxidative stress and role of antioxidant in normal and abnormal sperm function. *Frontiers in Bioscience.* 1: 78-86
- Sperelakis N. 1998.** *Cell physiology*. 2<sup>nd</sup> edition. London. Academic Press. 791-805

- Stecher PG.** 1978. The merck index: an encyclopedia of chemicals and drugs. Merck and Co. Inc. USA. 305
- Sudjarwo SA.** 2002. Efek proteksi curcumine terhadap sel endothelium pada hiperkholesterolemia. Lembaga Penelitian UNAIR.
- Sudjarwo, Zaini NC and Hinting A.** 2000. Correlation between reactive oxygen species and quality of human semen. Maj. Ked. Ind. 50: 456-459
- Suleiman SA, Elamin M and Nasr MA.** 1996. Lipid peroxidation and human sperm motility: Protective role of vitamine E. J Androl. 17: 530-537
- Twigg J, Fulton N, Irvine DT and Aitken RJ.** 1998. Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on structural and functional integrity of human spermatozoa. lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. Human reproduction. 13: 1429-1436
- Verma A and Kanwar KC.** 1999. Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation *in vitro*. Asian J Androl 1999 Sep; 1: 151-154

**Lampiran 1. Kadar MDA dari berbagai kelompok.**

Ulangan	Kadar MDA ( $\mu\text{M}/\text{ml}$ )				
	Kontrol -	Kontrol +	Curcumine 100 mg/kg	Curcumine 200 mg/kg	Curcumine 400 mg/kg
1	4.30	7.20	7.30	7.20	5.20
2	4.70	6.70	7.90	6.30	4.90
3	3.30	7.10	6.80	6.70	5.10
4	4.90	7.50	7.40	7.80	4.60
5	3.80	6.90	7.10	6.40	4.80
6	4.10	6.50	6.40	6.50	5.80
7	3.20	7.40	7.30	6.90	4.70
8	4.60	8.20	6.50	6.20	4.40



**Lampiran 2. Analisis statistik kadar MDA dari berbagai kelompok**

**ANOVA**

DATA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.766	4	15.691	55.559	.000
Within Groups	9.885	35	.282		
Total	72.651	39			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: DATA

LSD

(I) PERLAKUA	(J) PERLAKUA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (-)	Kontrol (+)	-3.0750*	.2657	.000	-3.6144	-2.5356
	Curcumin 100	-2.9750*	.2657	.000	-3.5144	-2.4356
	Curcumin 200	-2.6375*	.2657	.000	-3.1769	-2.0981
	Curcumin 400	-.8250*	.2657	.004	-1.3644	-.2856
Kontrol (+)	Kontrol (-)	3.0750*	.2657	.000	2.5356	3.6144
	Curcumin 100	.1000	.2657	.709	-.4394	.6394
	Curcumin 200	.4375	.2657	.109	-.1019	.9769
	Curcumin 400	2.2500*	.2657	.000	1.7106	2.7894
Curcumin 100	Kontrol (-)	2.9750*	.2657	.000	2.4356	3.5144
	Kontrol (+)	-.1000	.2657	.709	-.6394	.4394
	Curcumin 200	.3375	.2657	.212	-.2019	.8769
	Curcumin 400	2.1500*	.2657	.000	1.6106	2.6894
Curcumin 200	Kontrol (-)	2.6375*	.2657	.000	2.0981	3.1769
	Kontrol (+)	-.4375	.2657	.109	-.9769	.1019
	Curcumin 100	-.3375	.2657	.212	-.8769	.2019
	Curcumin 400	1.8125*	.2657	.000	1.2731	2.3519
Curcumin 400	Kontrol (-)	.8250*	.2657	.004	.2856	1.3644
	Kontrol (+)	-2.2500*	.2657	.000	-2.7894	-1.7106
	Curcumin 100	-2.1500*	.2657	.000	-2.6894	-1.6106
	Curcumin 200	-1.8125*	.2657	.000	-2.3519	-1.2731

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**Lampiran 3. Kuantitas spermatozoa dari berbagai kelompok.**

Ulangan	Jumlah Spermatozoa				
	Kontrol -	Kontrol +	Curcumine 100 mg/kg	Curcumine 200 mg/kg	Curcumine 400 mg/kg
1	145.00	126.00	118.00	121.00	131.00
2	166.00	131.00	127.00	130.00	123.00
3	143.00	115.00	134.00	135.00	147.00
4	151.00	123.00	120.00	115.00	139.00
5	139.00	110.00	119.00	119.00	143.00
6	164.00	128.00	123.00	126.00	139.00
7	149.00	118.00	117.00	117.00	132.00
8	135.00	121.00	129.00	132.00	141.00

## Lampiran 4. Analisis statistik kuantitas spermatozoa dari berbagai kelompok

## ANOVA

DATA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4406.350	4	1101.588	16.980	.000
Within Groups	2270.625	35	64.875		
Total	6676.975	39			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: DATA

LSD

(I) PERLAK	(J) PERLAK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konneg	konpos	27.5000*	4.0273	.000	19.3242	35.6758
	perl1	25.6250*	4.0273	.000	17.4492	33.8008
	perl2	24.6250*	4.0273	.000	16.4492	32.8008
	perl3	12.1250*	4.0273	.005	3.9492	20.3008
konpos	konneg	-27.5000*	4.0273	.000	-35.6758	-19.3242
	perl1	-1.8750	4.0273	.644	-10.0508	6.3008
	perl2	-2.8750	4.0273	.480	-11.0508	5.3008
	perl3	-15.3750*	4.0273	.001	-23.5508	-7.1992
perl1	konneg	-25.6250*	4.0273	.000	-33.8008	-17.4492
	konpos	1.8750	4.0273	.644	-6.3008	10.0508
	perl2	-1.0000	4.0273	.805	-9.1758	7.1758
	perl3	-13.5000*	4.0273	.002	-21.6758	-5.3242
perl2	konneg	-24.6250*	4.0273	.000	-32.8008	-16.4492
	konpos	2.8750	4.0273	.480	-5.3008	11.0508
	perl1	1.0000	4.0273	.805	-7.1758	9.1758
	perl3	-12.5000*	4.0273	.004	-20.6758	-4.3242
perl3	konneg	-12.1250*	4.0273	.005	-20.3008	-3.9492
	konpos	15.3750*	4.0273	.001	7.1992	23.5508
	perl1	13.5000*	4.0273	.002	5.3242	21.6758
	perl2	12.5000*	4.0273	.004	4.3242	20.6758

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**Lampiran 5. Jumlah spermatozoa yang abnormal dari berbagai kelompok.**

Ulangan	Jumlah Spermatozoa yang Abnormal (%)				
	Kontrol -	Kontrol +	Curcumine 100 mg/kg	Curcumine 200 mg/kg	Curcumine 400 mg/kg
1	11.00	21.00	26.00	18.00	19.00
2	13.00	29.00	29.00	26.00	11.00
3	8.00	31.00	38.00	32.00	16.00
4	9.00	25.00	34.00	35.00	18.00
5	9.00	22.00	20.00	15.00	17.00
6	12.00	27.00	17.00	37.00	21.00
7	15.00	32.00	31.00	17.00	13.00
8	7.00	35.00	27.00	33.00	23.00

**Lampiran 6. Analisis statistik jumlah spermatozoa yang abnormal dari berbagai kelompok.**

## ANOVA

DATA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1938.600	4	484.650	13.945	.000
Within Groups	1216.375	35	34.754		
Total	3154.975	39			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: DATA

LSD

(I) PERLAK	(J) PERLAK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konneg	konpos	-17.2500*	2.9476	.000	-23.2340	-11.2660
	per1	-17.2500*	2.9476	.000	-23.2340	-11.2660
	per2	-16.1250*	2.9476	.000	-22.1090	-10.1410
	per3	-6.7500*	2.9476	.028	-12.7340	-.7660
konpos	konneg	17.2500*	2.9476	.000	11.2660	23.2340
	per1	.0000	2.9476	1.000	-5.9840	5.9840
	per2	1.1250	2.9476	.705	-4.8590	7.1090
	per3	10.5000*	2.9476	.001	4.5160	16.4840
per1	konneg	17.2500*	2.9476	.000	11.2660	23.2340
	konpos	.0000	2.9476	1.000	-5.9840	5.9840
	per2	1.1250	2.9476	.705	-4.8590	7.1090
	per3	10.5000*	2.9476	.001	4.5160	16.4840
per2	konneg	16.1250*	2.9476	.000	10.1410	22.1090
	konpos	-1.1250	2.9476	.705	-7.1090	4.8590
	per1	-1.1250	2.9476	.705	-7.1090	4.8590
	per3	9.3750*	2.9476	.003	3.3910	15.3590
per3	konneg	6.7500*	2.9476	.028	.7660	12.7340
	konpos	-10.5000*	2.9476	.001	-16.4840	-4.5160
	per1	-10.5000*	2.9476	.001	-16.4840	-4.5160
	per2	-9.3750*	2.9476	.003	-15.3590	-3.3910

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**Lampiran 7. Kecepatan pergerakan spermatozoa dari berbagai kelompok.**

Ulangan	Kecepatan Pergerakan Spermatozoa (detik/0.25 mm)				
	Kontrol -	Kontrol +	Curcumine 100 mg/kg	Curcumine 200 mg/kg	Curcumine 400 mg/kg
1	20.00	38.00	41.00	31.00	25.00
2	21.00	29.00	33.00	38.00	31.00
3	23.00	33.00	37.00	31.00	23.00
4	19.00	34.00	29.00	38.00	21.00
5	25.00	27.00	31.00	27.00	26.00
6	27.00	35.00	39.00	21.00	31.00
7	21.00	36.00	37.00	29.00	27.00
8	26.00	31.00	35.00	37.00	36.00

**Lampiran 8. Analisis statistik kecepatan pergerakan spermatozoa dari berbagai kelompok**

**ANOVA**

DATA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	679.600	4	169.900	7.989	.000
Within Groups	744.375	35	21.268		
Total	1423.975	39			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: DATA

LSD

(I) PERLAK	(J) PERLAK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konneg	konpos	-10.1250*	2.3059	.000	-14.8061	-5.4439
	per1	-11.2500*	2.3059	.000	-15.9311	-6.5689
	per2	-8.7500*	2.3059	.001	-13.4311	-4.0689
	per3	-4.7500*	2.3059	.047	-9.4311	-6.8867E-02
konpos	konneg	10.1250*	2.3059	.000	5.4439	14.8061
	per1	-1.1250	2.3059	.629	-5.8061	3.5581
	per2	1.3750	2.3059	.555	-3.3061	6.0561
	per3	5.3750*	2.3059	.026	.6939	10.0561
per1	konneg	11.2500*	2.3059	.000	6.5689	15.9311
	konpos	1.1250	2.3059	.629	-3.5561	5.8061
	per2	2.5000	2.3059	.286	-2.1811	7.1811
	per3	6.5000*	2.3059	.008	1.8189	11.1811
per2	konneg	8.7500*	2.3059	.001	4.0689	13.4311
	konpos	-1.3750	2.3059	.555	-6.0561	3.3061
	per1	-2.5000	2.3059	.286	-7.1811	2.1811
	per3	4.0000	2.3059	.092	-.6811	8.6811
per3	konneg	4.7500*	2.3059	.047	6.887E-02	9.4311
	konpos	-5.3750*	2.3059	.026	-10.0561	-.6939
	per1	-6.5000*	2.3059	.008	-11.1811	-1.8189
	per2	-4.0000	2.3059	.092	-8.6811	.6811

\*. The mean difference is significant at the .05 level.