

KADAR TESTOSTERON INTRATESTIKULAR TIKUS *Rattus novergicus* STRAIN *Sprague dawley* AKIBAT PEMBERIAN KURKUMIN SETELAH STIMULASI hCG

Husnul Khatimah

Bagian Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran
Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

Email korespondensi: khatynunul@gmail.com

ABSTRACT: Curcumin is an active agent on *Curcuma longa*. Curcumin had so many biologic activities; one of them is anti fertility. Curcumin research in male reproductive system had been done. Curcumin reduced testis weight and serum testosterone. This study is done to know curcumin effect on testosterone intratesticular level in rats. This study was conducted to 15 male *Sprague dawley* rats aged 90 days. Rats divided into 5 groups treatment : group 1 rats were given aquades, group 2 rats were given a single dose of 50 IU hCG, group 3 rats were given CMC, group 4 rats were given curcumin, group 5 rats were given hCG and curcumin. Rats were sacrificed on age 91 days. Testis was taken, homogenizer and sentrifuge. Supernatant was taken in order to measured intratesticular testosterone level. The result of this study show intratesticular testosterone level from 5 group treatment, each group are $n = 3$, are (1) 44.36 ± 1.30 (aquades), (2) 41.53 ± 16.44 (hCG), (3) 37.33 ± 9.05 (CMC), (4) 54.16 ± 29.82 (curcumin), (5) 49.36 ± 5.05 (hCG + curcumin). Statistic analytic with ANOVA showed there is no significant difference ($p > 0.05$). This study had a conclusion that curcumin not decreased testosterone intratestikular level in rats.

Keywords: curcumin, hCG, intratesticular testosterone

ABSTRAK: Kurkumin merupakan zat aktif yang terdapat dalam *Curcuma longa*. Kurkumin memiliki banyak aktivitas biologik, salah satunya adalah anti fertilitas. Penelitian kurkumin pada sistem reproduksi pria telah dilakukan. Kurkumin menurunkan berat testis dan testosteron darah. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek kurkumin terhadap kadar testosteron intratestikular tikus. Penelitian dilakukan pada 15 ekor tikus *Sprague dawley* jantan usia 90 hari. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok 1 diberi akuades, kelompok 2 diberi hCG, kelompok 3 diberi CMC, kelompok 4 diberi kurkumin, dan kelompok 5 diberi hCG, kurkumin. Tikus dikorbankan pada saat umur 91 hari. Testis diambil dan dihomogenizer lalu disentrifus. Supernatan diambil untuk diukur kadar testosteron intratestikular. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar testosteron intratestikular (ng/ml) dari 5 kelompok perlakuan, masing-masing $n = 3$, adalah (1) 44.36 ± 1.30 (akuades), (2) 41.53 ± 16.44 (hCG), (3) 37.33 ± 9.05 (CMC), (4) 54.16 ± 29.82 (kurkumin), (5) 49.36 ± 5.05 (hCG + kurkumin). Analisa statistik dengan ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah kurkumin tidak menurunkan kadar testosteron intratestikular tikus

Kata-kata kunci: kurkumin, hCG, testosteron intratestikular

PENDAHULUAN

Kurkumin merupakan zat aktif utama yang terdapat dalam *Curcuma longa* (*C.longa*) dan memberikan pigmen fenolik berwarna kuning. Selama ini kurkumin lebih dikenal sebagai bahan pewarna makanan dan pakaian serta bahan bumbu masakan¹. Beberapa penelitian tentang kurkumin menunjukkan sejumlah aktivitas farmakologik yaitu sebagai antioksidan², anti inflamasi³, anti parasitik^{4,5}, anti mutagenik⁶, anti kanker⁷, kemoprotektif⁸, hepatoprotektif⁹, anti bakterial¹⁰, anti viral dan anti fertilitas².

Penelitian kurkumin sebagai anti fertilitas telah banyak dilakukan dan terbukti mempunyai efek anti fertilitas pada sistem reproduksi wanita. Penelitian tentang efek kurkumin terhadap steroidogenesis di sel luteal ovarium sudah pernah dilakukan oleh Zulkhah *et al.* (2000) yang mendapatkan hasil bahwa pemberian kurkumin menurunkan produksi progesteron yang dihasilkan oleh kultur sel luteal tikus dengan perangsangan *Human chorionic gonadotrophin* (hCG) dan kombinasi hCG dengan PGF2 α ¹¹. Penelitian Soejono *et al.* (2001) menyebutkan bahwa kurkumin dan analognya menurunkan produksi progesteron dengan maupun tanpa pemberian teofilin¹². Penelitian Purwaningsih (2009) mendapatkan kurkumin berefek pada tingkat sebelum *cylic adenosine Monophosphat* (cAMP) yang dirangsang oleh *luteinizing hormone* (LH)¹³.

Penelitian oleh Amon (1991) *cit* Puspitasari (2000) melaporkan bahwa kurkumin menurunkan berat testis dan kadar testosteron darah tikus¹⁴. Penelitian oleh Ashok dan Meenakshi (2004) melaporkan

larutan ekstrak dan alkohol *C. longa* pada *Rattus novergicus* strain Wistar menyebabkan penurunan motilitas dan densitas sperma, penurunan berat testis dan perubahan morfologi normal sel Leydig¹⁵. Mishra dan Singh (2009) melaporkan pemberian ekstrak *C. longa* menyebabkan suppressi spermatogenesis dan fertilitas¹⁶.

Sel Leydig merupakan sel endokrin dalam testis yang berfungsi memproduksi testosteron dari kolesterol melalui serangkaian jalur enzimatik dan *intermediate steroidal* diatur oleh LH¹⁷. *Human chorionic gonadotrophin* merupakan analog LH yang mempunyai gambaran struktural yang homolog dengan LH, kedua hormon ini berikatan dengan reseptor yang sama. Karena kemiripannya dengan LH, hCG dapat digunakan untuk pengobatan infertilitas pada pria⁽¹⁸⁾. Respon steroidogenik sel Leydig di testis terhadap LH dan hCG telah diperlihatkan oleh berbagai penelitian baik *in vivo* dan *in vitro*. *Luteinizing hormone* dan hCG dapat meningkatkan pembentukan cAMP dan produksi testis di isolasi jaringan testis dan sel Leydig¹⁹.

Testosteron merupakan steroid intratestikular yang dominan di testis baik pada tikus maupun manusia. Testosteron sangat penting untuk proses spermatogenesis dalam testis. Penelitian oleh Zirkin *et al.* (1989) *cit* Jarow *et al.* (2005) menyatakan bahwa terdapat hubungan langsung antara konsentrasi testosteron intratestikular dengan produksi sperma²⁰. Penelitian pada tikus menunjukkan bahwa kadar total testosteron intratestikular yang normal adalah 50-70 ng/mL²⁰. Konsentrasi testosteron dalam testis

tikus berkisar 30–40 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dalam serum, dan kurang lebih 10 kali lipat lebih tinggi dibandingkan kadar serum normal untuk mempertahankan spermatogenesis yang normal²¹. Testosteron intratestikular sebagai parameter produksi hormon jarang dilakukan.

Penelitian tentang kurkumin pada sistem reproduksi pria di atas masih belum menjelaskan efek kurkumin pada produksi testosteron di sel Leydig. Oleh karena itu, penelitian ini akan menitikberatkan pada sel Leydig yang distimulasi dengan hCG dan diberi perlakuan kurkumin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kurkumin terhadap kadar testosteron intratestikular.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *post-test control group design*. Variabel penelitian terdiri dari variabel bebas yaitu pemberian kurkumin dan hCG dan variabel terikat yaitu kadar testosteron intratestikular. Bahan penelitian adalah 15 ekor tikus putih jantan jenis *Sprague dawley* berumur 90 hari dengan berat badan rata-rata $248,99 \pm 24,87$ gram yang diperoleh dari bagian LPPT (Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu) Universitas Gadjah Mada, hCG dari Sigma, St. Louis, MO, USA dosis 50 IU, kurkumin hasil sintesis oleh team Molnas Fakultas Farmasi UGM dosis 100 mg/kgbb, CMC (Carboxyl methyl cellulose) 2 ml, PBS (Phosphat buffer solution), Kit ELISA (*testosterone II from Roche*) untuk mengukur kadar hormon testosteron. Alat-alat yang dipakai dalam penelitian ini adalah kandang

dan timbangan tikus, spuit injeksi ukuran 3 ml dan kanula pencekok tikus, *homogenizer* dan sentrifus, tabung untuk cairan jaringan, set bedah laparotomi, seperangkat alat untuk analisis hormon testosteron, dan set *magnetic stirrer*.

Rattus novergicus strain *Sprague Dawley* jantan umur 90 hari dilakukan randomisasi dengan cara diundi untuk mendapatkan nomor urut dan dikelompokkan dalam 5 kelompok yaitu: kelompok 1 mendapat akuades; kelompok 2 mendapat hCG 50 IU; kelompok 3 mendapatkan CMC 2 ml; kelompok 4 mendapatkan Kurkumin 100 mg/kgbb dan CMC 2 ml; kelompok 5 : mendapatkan hCG 50 IU dan kurkumin 100 mg/kgbb. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor hewan coba.

Hewan coba kelompok 1 sampai 5 pada tikus umur 91 hari dihilangkan kesadarannya dengan eter sebelum dimatikan kemudian organ testis tikus diambil, ditimbang dan dipisahkan dari jaringan lemaknya. Organ testis dihancurkan secara mekanik menggunakan *homogenizer* kemudian disentrifus dengan kecepatan $10.000 \times g$ selama 10 menit pada suhu 4°C dan supernatan diambil dan disimpan dalam lemari es pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ sampai saat dilaksanakan pengukuran. Supernatan yang didapat merupakan sampel yang akan diukur kadar hormonnya menggunakan metode ELISA. Dua puluh μL sampel diinkubasi dengan *biotinylated monoclonal testosterone-specific antibody*. Daerah pengikatan pada antibodi yang dilabel ditempati oleh *analyte* sampel (tergantung konsentrasinya). Setelah penambahan *streptavidin-coated microparticles* dan derivat

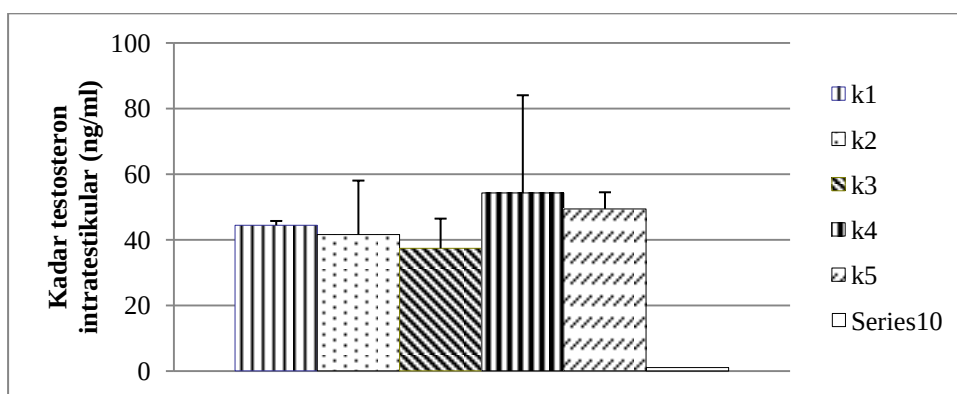
testosterone yang diberi label dengan kompleks ruthenium pada langkah kedua, kompleks menjadi terikat pada fase solid melalui interaksi biotin dan streptavidin. Campuran reaksi diaspirasi ke lubang kecil alat analisis dimana mikropartikel ditangkap pada permukaan elektroda secara magnetik. Substansi yang tidak terikat dihilangkan dengan *Procell*. Aplikasi voltage ke elektroda menginduksi *chemiluminescent emission* yang diukur dengan *photomultiplier*. Hasil ditentukan melalui kurva kalibrasi yang dihasilkan dari 2 titik kalibrasi dan kurva standar yang disajikan melalui *reagent barcode*. Alat analisis Elecsys 2010 mengkalkulasi konsentrasi *analyte* masing-masing sampel secara otomatis.

Analisis hasil untuk penelitian ini menggunakan program SPSS

versi 15. Uji *one way ANOVA* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan efek karena perlakuan yang berbeda antar 5 kelompok. Perbedaan dinyatakan signifikan apabila $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan pada 15 ekor tikus jantan galur *Sprague dawley* usia 90 hari dengan berat badan rata-rata $248,99 \pm 24,87$ gram. Dua puluh tujuh ekor tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus, yaitu kelompok yang diberi akuades (K1), hCG (K2), CMC (K3), kurkumin dan CMC (K4), hCG dan kurkumin (K5). Perbandingan rerata kadar testosteron intratestikular pada hewan coba disajikan pada gambar berikut.



Gambar 1. rerata kadar testosteron intratestikular pada hewan coba

Keterangan :

K1 : kelompok perlakuan dengan akuades

K2 : kelompok perlakuan dengan hCG

K3 : kelompok perlakuan dengan CMC

K4 : kelompok perlakuan dengan kurkumin dan CMC

K5 : kelompok perlakuan dengan hCG dan kurkumin

Pada penelitian ini digunakan analisis statistisik *one way ANOVA* untuk menguji perbedaan diantara kelompok perlakuan. Hasil *one way ANOVA* didapatkan tidak ada

perbedaan secara bermakna antara kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Pada penelitian ini, dapat dilihat variasi kadar testosteron intratestikular

dalam kelompok adalah tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan standar deviasi yang besar sehingga walaupun terdapat penurunan dan peningkatan akibat perlakuan, apabila dianalisis statistik dengan ANOVA tidak terlihat perbedaan bermakna. Standar deviasi mempengaruhi besar sampel, makin besar standar deviasi yang berarti variabilitas nilai numerik lebih besar, makin besar sampel yang diperlukan²². Hasil analisis statistik dengan ANOVA tidak bermakna dapat disebabkan karena jumlah sampel yang relatif sedikit walaupun masih dalam batas minimal sampel yang harus digunakan. Oleh karena itu, untuk penelitian yang akan datang diperlukan sampel yang besar. Besar sampel berhubungan langsung dengan kemampuan peneliti untuk menolak hipotesis null (*power*). Jumlah sampel yang sedikit menurunkan *power* dan meningkatkan *error* tipe II²³.

Roth *et al.* (2010) melakukan penelitian kadar testosteron intratestikular pada laki-laki dewasa didapatkan kadar testosteron intratestikular berkisar antara 119-1251 ng/mL, dengan rata-rata 635 ± 368 ng/mL. Kadar testosteron intratestikular berkorelasi tinggi dengan kadar testosteron serum dan konsentrasi LH serum. Variasi pada LH serum yang bertanggung jawab pada variasi kadar testosteron intratestikular antara laki-laki²⁴.

Kadar testosteron intratestikular dari kelompok tikus yang diberi kurkumin (K4) lebih tinggi dibandingkan dengan kadar pelarutnya (K3) testosteron intratestikular kelompok tikus yang diberi CMC sebagai pelarut kurkumin. Namun peningkatan ini tidak bermakna secara statistik

($p > 0,05$). Adanya kecenderungan kurkumin meningkatkan kadar testosteron adalah kurkumin memiliki aktivitas seperti indometasin yaitu dapat menghambat enzim *cyclooxygenase*. Mukhopadyay *et al.* (1982) dan Scherer (1974 cit Nurfina, 1994), menyebutkan antara fenilbutazon, kurkumin, prostaglandin dan indometasin memiliki struktur yang mirip dan diduga sebagai reseptor inflamasi²⁵. Fuchs dan Chantharaksri (1981) melakukan pemberian indometasin sebagai inhibitor *cyclooxygenase* yang merupakan enzim yang mengkonversi asam arakidonat (AA) menjadi prostaglandin didapatkan pemberian indometasin dosis rendah yaitu 1 mg/kg/hari dan 2 mg/kg/hari selama 10 hari menyebabkan kadar testosteron plasma lebih tinggi dibandingkan kontrol²⁶. Penelitian mengenai indometasin secara *in vitro* dilaporkan bahwa indometasin konsentrasi rendah menghambat jalur *cyclooxygenase* sedangkan konsentrasi tinggi menghambat jalur *lipooxygenase*²⁷. Metabolit AA yang diproduksi jalur *cyclooxygenase* dan *lipooxygenase* terlibat dalam proses steroidogenesis. Penelitian Shea-Eaton *et al.* (2002) cit Stocco *et al.* (2005) melaporkan bahwa prostaglandin F2 α yang merupakan metabolit AA yang dihasilkan dari jalur *cyclooxygenase* menyebabkan penghambatan ekspresi gen StAR dengan jalan menginduksi faktor transkripsi negatif yang berikatan dengan promoter StAR sehingga mendeprisi transkripsi gen StAR²⁸. Penelitian Wang *et al.* (2003) mendapatkan stimulasi cAMP pada sel Leydig tikus meningkatkan sintesis metabolit AA yang dihasilkan oleh 5-*lipooxygenase* yaitu

5-hydroperoxyeicosatetraenoic acid (5-HPETE) and 5-hydroxyeicosatetraenoic acid (5-HETE), keduanya meningkatkan ekspresi StAR yang distimulasi cAMP²⁹. Inhibisi aktivitas 5-lipoxygenase menyebabkan penurunan protein StAR dan steroidogenesis. Inhibisi aktivitas COX2 menyebabkan peningkatan ekspresi StAR dan sintesis steroid yang distimulasi dbcAMP³⁰.

Kelompok K5 memperlihatkan adanya kadar testosteron intratestikular lebih tinggi apabila dibandingkan dengan pemberian hCG. Namun secara statistik tidak didapatkan adanya perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan Hu *et al.* (2010) dengan menggunakan stimulasi LH pada sel leydig invitro, didapatkan bahwa kurkumin dengan konsentrasi tinggi yaitu 10 μ M menghambat produksi testosteron yang distimulasi LH sampai 36% kadar control³¹. Pada penelitian ini tidak tampak efek hambatan kurkumin pada steroidogenesis di sel Leydig yang distimulasi hCG, hal ini dimungkinkan karena pemberian hCG sendiri tidak menyebabkan peningkatan kadar testosteron intratestikular sehingga tidak terlihat efek hambatan kurkumin pada steroidogenesis di sel Leydig yang distimulasi hCG. Ada dua hal yang bisa menjadi alasan pemberian hCG pada penelitian ini tidak menyebabkan kadar testosteron intratestikular lebih tinggi dibanding pemberian akuades. Pertama adalah desensitisasi akibat pemberian hCG itu sendiri. Desensitisasi yang diinduksi oleh gonadotropin pada sel Leydig tikus berhubungan dengan tiga modifikasi yaitu (1) kehilangan

reseptor hormon (*downregulation hormone*), (2) penurunan respon cAMP yang diinduksi hormon dan (3) penurunan kapasitas produksi androgen. Kedua adalah pada keadaan kadar testosteron intratestikular sangat tinggi, sebagian besar testosteron disekresi ke aliran darah tapi ketika kadar testosteron intratestikular mendekati normal (kadarnya sama dengan tikus kontrol), hanya sedikit testosteron yang disekresi ke aliran darah. Sehingga diperkirakan pada saat tikus dikorbankan dan testis diambil, testosteron intratestikular telah disekresikan ke aliran darah sehingga kadarnya lebih rendah dibandingkan dengan kadar testosteron intratestikular pada tikus yang diberi akuades.

Pemberian kurkumin tidak menyebabkan kadar testosteron intratestikular lebih rendah dibanding yang diberi akuades. Pemberian hCG dan kurkumin tidak menyebabkan kadar testosteron intratestikular lebih rendah dibanding yang diberi hCG. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesa yang diajukan sehingga dapat disimpulkan bahwa kurkumin tidak menurunkan kadar testosteron intratestikular tikus.

PENUTUP

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian kurkumin tidak menurunkan kadar testosteron intratestikular tikus.

Untuk mengembangkan dan menyempurnakan hasil-hasil yang didapat dari penelitian ini ada beberapa hal yang ingin disarankan yaitu perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan kurkumin dengan berbagai dosis untuk menentukan dosis yang

menyebabkan penurunan kadar testosteron baik intratestikular maupun serum dan pemberian kronis kurkumin terhadap proses spermatogenesis dan steroidogenesis tikus jantan dengan menggunakan jumlah yang banyak, untuk mengetahui pengaruh kurkumin pada reseptor LH/hCG di sel Leydig, kadar cAMP, kadar ATP dan enzim-enzim yang terlibat dalam steroidogenesis, untuk mengetahui pengaruh kurkumin pada enzim *cyclooxygenase* dan *lipooxygenase* yang juga berperan dalam proses steroidogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kohli, K.J., Ali, J., Ansari, M.J., Raheman, Z.. Curcumin: A natural antiinflammatory agent. *Indian J Pharmacol* 2005;37 (3):141-147.
2. Chattopadhyay, I, Biswas, K., Bandyopadhyay, U. and Banerjee, K.R. Turmeric and curcumin: biological actions and medicinal applications. *Curr sci* 2004;87(1): 44 –50.
3. Buadonpri, W., Wichitnithad, W., Rojsitthisak, P., Towiwat, P. Synthetic Curcumin Inhibits Carrageenan-Induced Paw Edema in Rats. *J Health Res* 2009; 23(1): 11-16.
4. Koide, T., Nose, M., Ogihara, Y., Yabu, Y. and Ohta, N. Leishmanicidal effect of curcumin in vitro. *Biol. Pharm. Bull* 2002;25 :131–133.
5. Cui, L., Miao, J., and Cui, L. Cytotoxic Effect of Curcumin on Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*: Inhibition of Histone Acetylation and Generation of Reactive Oxygen Species. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 51 (2) : 488–494.
6. Hassanane, M.M., Ahmed, E.S., Shoman, Th.M., and Ezz-Eldin, A. Evaluation of the Genotoxicity and Antigenotoxicity of Curcumin by Chromosomal Aberrations and Biochemical Studies in the Albino Rats Exposed to Methotrexate. *Glob Vet* 2010;4 (2) : 183 – 189.
7. Deeb, D., Xu, Y. X., Jiang, H., Gao, X., Janakiram, N., Chapman, R. A. and Gautam, S. C. Curcumin (diferuloylmethane) enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in LNCaP prostate cancer cells. *Mol. Cancer Ther* 2003;2 : 95–103.
8. Jee, S.H., Shen, S.C., Tseng, C.R., Chiu, H.C., and Kuo, M.L. Curcumin Induces a p53-Dependent Apoptosis in Human Basal Cell Carcinoma Cells. *J Invest Dermatol* 1998;111: 656–661.
9. Sohn, J.H., Han, K.L., Kim, J.H., Rukayadi, Y., and Hwang, J.K. Protective Effects of Macelignan on Cisplatin-Induced Hepatotoxicity Is Associated with JNK Activation. *Biol Pharm Bull* 2008;31(2) : 273-277.
10. Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J.M., Sakariah, K.K. Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends Food Sci Tech* 2005;16 : 533–548.
11. Zulkhah, N., Soejono, S.K., Suwono. Pengaruh Kurkumin sintetik terhadap Produksi Progesteron oleh Kultur Sel Tikus dengan Perangsangan hCG dan PGF2 α . *Sains Kedokteran* 2000;13 : 53 – 62.

12. Soejono S.K., Supardjan A.M., Nurcahyo, H. Peran Kurkumin Sintetis dan Analognya (Pentagamavunon-0) pada Produksi Progesteron oleh Kultur Sel Luteal Tikus (Sprague Dawley). *Mediagama* 2001;3 (3):42-49.
13. Purwaningsih, E.,. Sasaran Aksi Kurkumin dan Pentagamavunon-0 pada Steroidogenesis Kajian Kadar cAMP, Fosforilasi Extracellular Signal Regulated Kinase (ERK) dan Ekspresi Sitokrom P450scc pada Kultur Sel Luteal. Disertasi. Yogyakarta: Program Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Universitas Gadjah Mada, 2009.
14. Puspitasari, S. Uji sitotoksitas Curcumin pada Kultur Sel Luteal Tikus dengan Penambahan PGF2 α dan LH sebelumnya. Karya Tulis Ilmiah. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, 2000.
15. Ashok, P., Meenakshi, B. Contraceptive effect of Curcuma longa (L.) in male albino rat. *Asian J Androl* 2004; 6: 71-74.
16. Mishra, R.K. and Singh, S.K. Reversible antifertility effect of aqueous rhizome extract of Curcuma longa L. in male laboratory mice. *Contraception* 2009;79 (6):479-487
17. Sikka ,S.C., and Wang, R. Endocrine disruptors and estrogenic effects on male reproductive axis. *Asian J Androl* 2008;10 (1): 134–145.
18. Trinchar-Lugan, A.K., HC prochet, A Munafo. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human chorionic gonadotropin in healthy male and female volunteers. *Reproduc Biomed Onl* 2002;4(2) : 106-115.
19. Williams, C., and Catt, K. Actions of Chorionic Gonadotropin Upon Cyclic AMP and Cyclic GMP in Isolated Testicular Interstitial Cells. *FEBS Lett* 1976;69 (1): 186-190.
20. Jarow, J.P., Wright, W.W., Brown, T.R., Yan, Z., and Zirkin, B.R. Bioactivity of Androgens Within the Testes and Serum of Normal Men. *J Androl* 2005;26:343–348.
21. Jarow, J.P., Chen, H., Rosner, W., Trentacoste, S., and Zirkin, B.R. Assessment of the Androgen Environment Within the Human Testis: Minimally Invasive Method to Obtain Intratesticular Fluid. *J Androl* 2001;22:640–645.
22. Madiyono, B., Moeslischan, S., Sastroasmoro, S., Budiman, I., Purwanto, S.H. Perkiraan Besar Sampel. Dalam : Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. Jakarta : Binarupa Aksara, 1995
23. Tomkins, C.C. An Introduction to Non-parametric Statistics for Health Scientists. *University Alberta Health Sci J* 2006;3 : 20 – 26.
24. Roth, M.Y., Lin, K., Amory, J.K., Matsumoto, A.M., Anawalt, B.D., Snyder, C.N., Kalhorn,T.F., Bremner, W.J., Page, S.T. Serum LH correlates highly with intratesticular steroid levels in normal men. *J Androl* 2010; 31 (2) :138-145 .
25. Nurfina, A.N., Reksohadiprodjo, M.S., Timmerman, H., Jenie, U.A., Sugiyanto, D., and van der Goot, H. Synthesis of some symmetrical curcumin derivatives and their

- antiinflammatory activity. *Eur J Med Chem* 1997;32 : 321-328.
26. Fuchs, A.R. and Chantharaksri, U. Prostaglandin F₂ α regulation of LH-stimulated Testosterone Production in Rat Testis. *Biol Reprod* 1981;25: 492-501.
27. Conte, D., Romanelli. F., Fillo, S., Guidetti, L., Isidori, A., Franceschi, F., Latini, M., and Luigi, LG. Aspirin Inhibits Androgen Response to Chorionic Gonadotropin in Humans. *Am J Physiol* 1999; 277(40):1032-1037.
28. Stocco, D.M., Wang ,X., Jo, Y., and Manna, P.R. Multiple Signaling Pathways Regulating Steroidogenesis and Steroidogenic Acute Regulatory Protein Expression: More Complicated than We Thought. *Mol Endocrinol* 2005;19(11):2647–2659.
29. Wang, X.J., Dyson, M.T., Jo, Y., Eubank, D.W., Stocco, D.M. Involvement of 5-lipoxygenase metabolites of arachidonic acid in cyclic AMP-stimulated steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein gene expression. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;85:159–166.
30. Wang, X.J., Walsh, L.P., Reinhart, A.J., and Stocco, D.M. The role of arachidonic acid in steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory (StAR) gene and protein expression. *J Biol Chem* 2000;275: 20204–20209.
31. Hu, G.X., Liang, G., Chu, Y., Li, X., Lian Q.Q., Lin, H., He, Y., Huang, Y., Hardy, D.O., and Ge, R.S. Curcumin Derivates Inhibit testicular 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase 3. *Bioor Med Chem Lett* 2010;20 : 2549 – 2551.