

Potensi Afrodisiak *Lunasia amara* ke atas Tikus Jantan Teraruh Diabetes (Aphrodisiac Potential of *Lunasia amara* on Diabetic-Induced Male Rats)

NOR-RAIDAH RAHMAT, AMIRA KAMALRUDIN, SHAZRUL FAZRY & MAHANEM MAT NOOR*

ABSTRAK

Diabetes melitus telah terbukti mengganggu penghasilan testosteron dan menyebabkan masalah libido dalam kalangan lelaki. Sehingga kini, tiada kajian mengenai potensi Lunasia amara dalam memperbaiki aktiviti seksual tikus jantan teraruh diabetes. Oleh itu, kajian ini dijalankan untuk mengenal pasti potensi afrodisiak L. amara ke atas tikus jantan teraruh diabetes. Empat kumpulan tikus teraruh diabetes masing-masing diberi perlakuan ekstrak L. amara (250 dan 500 mg/kg berat tubuh), 500 mg/kg metformin dan air suling. Tikus kumpulan kawalan normal tanpa aruhan diabetes menerima perlakuan air suling. Perlakuan diberikan secara suap paksa selama 30 hari untuk melihat kesan L. amara ke atas status libido, aras testosteron serum, berat tubuh tikus, morfometri testis dan epididimis kauda serta aktiviti enzim antioksidasi testis tikus teraruh diabetes berbanding kawalan. Keputusan kajian menunjukkan berlaku penurunan libido, aras testosteron dan aktiviti khusus enzim antioksidasi (glutathion peroksidase, katalase dan superoksida dismutase) testis tikus teraruh diabetes secara signifikan ($p < 0.05$) pada kedua-dua dos tersebut berbanding kawalan normal. Sementara itu, perlakuan L. amara didapati tidak menjejaskan morfometri testis, epididimis kauda dan berat tubuh tikus yang menerima perlakuan L. amara berbanding kawalan normal. Kajian ini membuktikan bahawa ekstrak akuas batang L. amara pada dos 250 dan 500 mg/kg berat tubuh tidak berupaya memperbaiki aktiviti seksual tikus jantan teraruh diabetes.

Kata kunci: Afrodisiak; diabetes melitus; libido; Lunasia amara

ABSTRACT

Accumulating evidence shows that diabetes mellitus alters the production of testosterone and contributes to the reduction of libido in male. Formerly, no study has been conducted on the effect of Lunasia amara on sexual activity in diabetic-induced male rats. Therefore, present study looked into the aphrodisiac potential of L. amara on diabetic-induced male rats. Four groups of diabetic-induced male rats were given L. amara aqueous extract (250 and 500 mg/kg body weight), 500 mg/kg metformin and distilled water, respectively. A group of control rats was given distilled water. Treatments were given for 30 days to investigate the effect of L. amara aqueous extract on libido, serum testosterone level, body weight, morphometry of testis, cauda epididymis and antioxidant enzymes activity in diabetic-induced rats in comparison to control. The result showed diabetic-induced rats treated with both doses of L. amara extract exhibit significant reduction ($p < 0.05$) in libido, testosterone level, testis antioxidant enzymes activity (glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase) compared to control. On the other hand, the administration of L. amara did not affect body weight, morphometry of testis and cauda epididymis of diabetic-induced rats compared to normal control. This findings suggested that L. amara at doses 250 and 500 mg/kg body weight is incapable of improving sexual activity in diabetic-induced male rats.

Keywords: Aphrodisiac; diabetes mellitus; libido; Lunasia amara

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan salah satu faktor yang menjejaskan aktiviti seksual lelaki. Giugliano et al. (2010) melaporkan bahawa penghidap diabetik adalah tiga kali ganda lebih berisiko untuk mengalami mati pucuk. Kajian terdahulu oleh Adewole et al. (2007) turut membuktikan bahawa tikus jantan teraruh diabetes mengalami kemerosotan libido yang signifikan berbanding kawalan. Tikus diaruh diabetes melalui suntikan streptozotocin (STZ). STZ yang disuntik secara intravena memasuki sel β melalui GLUT2, merencat aktiviti akonitase serta terlibat dalam kerosakan DNA. Akibat daripada tindakan STZ ini, sel β mengalami kemusnahan melalui apoptosis seterusnya menyebabkan peningkatan aras glukosa darah (Bathina

et al. 2017). Hiperglisemia dan penurunan kepekatan insulin serum mengakibatkan penurunan aktiviti enzim antioksidasi yang penting seperti superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx) dan katalase (CAT) di dalam testis. Selain itu, tekanan oksidatif yang tinggi turut mengurangkan pembebasan nitrik oksida yang penting untuk fungsi korpus kaverosum. Kekurangan nitrik oksida ini akhirnya membawa kepada kegagalan ereksi (Tostes et al. 2008). Diabetes juga dilaporkan menjejaskan penghasilan testosteron. Hal ini mungkin disebabkan oleh berkurangnya jumlah sel Leydig dan gangguan penghasilan androgen dalam pesakit diabetes lelaki (Al-Kuraishy & Al-Gareeb 2016). Terdapat pelbagai tumbuhan herba yang digunakan dalam perubatan tradisional sebagai afrodisiak

untuk mengatasi masalah libido rendah. Agen afrodisiak didefinisikan sebagai bahan yang meningkatkan keinginan dan keupayaan seksual (Sandroni 2001). *Lunasia amara* dilaporkan berupaya membaiki libido dan kualiti sperma tikus normal pada dos 60 mg/kg berat tubuh (Nor-Raidah & Mahanem 2015). Melalui kajian proteomik dos 60 mg/kg *L. amara* didapati meningkatkan pengekspresan pelbagai protein sperma yang terlibat dalam pergerakan sperma, metabolisme tenaga dan pengisyratan sel yang menyumbang kepada peningkatan kesuburan tikus normal (Ja'far et al. 2017). Walau bagaimanapun, tiada kajian terdahulu yang mengkaji kesan *L. amara* ke atas libido tikus teraruh diabetes. Oleh itu, kajian ini dijalankan untuk mengenal pasti potensi *L. amara* sebagai agen afrodisiak dalam membaikpulih libido dan aktiviti seksual tikus teraruh diabetes.

BAHAN DAN KAEDAH

PENYEDIAAN EKSTRAK AKUAS *L. AMARA*

Batang *L. amara* diperolehi daripada Universiti Gadjah Mada, Indonesia. Spesies ini telah disahkan oleh Joko Santosa, ahli botani Universiti Gadjah Mada dengan nombor baucer spesimen 53/BFAR/020307. Ekstrak akuas batang *L. amara* disediakan berdasarkan kaedah Gonzales et al. (2006) dengan sedikit pengubahsuaian. Sebanyak 200 g batang *L. amara* dicampur dengan 1000 mL air suling dengan nisbah 1:5 dan dipanaskan pada suhu 80°C selama satu jam sebelum dituras menggunakan kertas Whatman 3.0. Hasil turas disejukkan pada suhu -20°C sebelum melalui kaedah pengeringan beku-kering (LabConco Corporation, Amerika Syarikat). Sampel beku-kering disimpan pada suhu 4°C. Serbuk batang *L. amara* ditimbang mengikut dos dan dilarutkan di dalam air suling sebelum digunakan.

HAIWAN KAJIAN

Sebanyak 25 ekor tikus Sprague-Dawley jantan (250-300 g) berumur 12 minggu diperolehi daripada Rumah Haiwan, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM). Minuman dan pelet makanan (Barastock Rat and Mouse Pelleted Feed, Australia) diberikan secara *ad libitum* setiap hari. Tikus menerima cahaya selama 12 jam sehari pada suhu 27-32°C. Tikus yang telah dipuaskan semalaman diaruh diabetes dengan suntikan intravena 55 mg/kg berat tubuh streptozotocin (STZ) yang telah dilarutkan dalam larutan penimbal natrium sitrat (pH4.5). Aras glukosa darah tikus puasa diukur menggunakan glukometer (Accu-check Performa, Roche) selepas lima hari suntikan STZ. Tikus yang mempunyai aras glukosa melebihi 13 mmol/L dikategorikan sebagai diabetes dan digunakan di dalam kajian. Sejumlah 20 ekor tikus teraruh diabetes dibahagikan kepada empat kumpulan iaitu kumpulan perlakuan ekstrak akuas *L. amara* dengan dos 250 mg/kg ($n=5$) dan dos 500 mg/kg ($n=5$), kumpulan kawalan positif ($n=5$) yang menerima 500 mg/kg berat tubuh metformin dan kumpulan

kawalan negatif ($n=5$) yang menerima air suling. Kumpulan kelima ialah kumpulan kawalan normal ($n=5$). Tikus diberikan perlakuan selama 30 hari secara suap paksa. Kajian ini mendapat kelulusan daripada Jawatankuasa Etika Haiwan Universiti Kebangsaan Malaysia (Nombor kelulusan UKMAEC: FST/2013/MAHANEM/31-JAN./492-FEB.-2013-FEB.-2015).

UJIAN LIBIDO

Tikus betina diaruh supaya berada dalam keadaan bersedia mengawan dengan diberi suntikan estradiol benzoat dan progesteron secara subkutan di bahagian dorsal tikus. Sebanyak 20 µg estradiol benzoat disuntik 48 jam sebelum suntikan 1 mg progesteron dilakukan. Selepas 4 jam suntikan progesteron dilakukan, tikus betina disahkan bersedia untuk mengawan dengan menggunakan teknik calitan faraj (Agmo 1997). Ujian libido dilakukan dengan membiarkan tikus jantan selama 5 min di dalam sangkar gelap bersaiz 60 × 40 × 20 cm untuk penyesuaian diri sebelum tikus betina yang berada dalam fasa estrus dimasukkan (nisbah 1:1). Jumlah pemanjatan tikus jantan ke atas tikus betina dicatatkan dalam tempoh masa 10 min pemerhatian.

ANALISIS ARAS TESTOSTERON

Selepas tikus dikorbankan, 4 mL darah diambil daripada jantung tikus dengan menggunakan jarum picagari pada jam 10 pagi. Darah kemudiannya diempar dengan kelajuan 2500 rpm selama 15 min. Serum yang berada di lapisan atas diasingkan dan disimpan pada suhu -20°C sehingga digunakan. Aras testosteron ditentukan dengan menggunakan kit diagnostik Testosterone EIA (Cayman Chemical, Michigan, USA) berdasarkan kaedah Maclouf et al. (1987) dan Pradelles et al. (1985).

ANALISIS BERAT TUBUH TIKUS SERTA MORFOMETRI TESTIS DAN EPIDIDIMIS KAUDA

Testis dan epididimis kauda ditimbang menggunakan penimbang digital sebelum dilakukan pengukuran panjang dan lebar dengan menggunakan angkup Vernier digital.

PENGASAAN ENZIM ANTIOKSIDA TESTIS

Hemogenat testis disediakan mengikut kaedah Choi et al. (2007). Sebanyak 200 mg hemogenat testis dicampur ke dalam 1 mL PBS (pH7.4) dan diempar selama 15 min pada suhu 4°C dengan kelajuan 10,000 × g. Supernatan diasingkan untuk analisis aktiviti spesifik enzim antioksidasi testis iaitu superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx) dan katalase (CAT).

Jumlah aktiviti spesifik enzim superoksida dismutase ditentukan berdasarkan kit pengasaan Superoksida Dismutase (Cayman Chemical, Michigan, USA). Sebanyak 200 µL pengesan radikal dipipetkan ke dalam telaga mikroplat. Kemudian, 10 µL SOD piawai (0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 U/mL) dan sampel dipipetkan ke dalam telaga masing-masing yang berisi pengesan radikal. Tindak

balas reaksi dimulakan dengan menambah 20 μL Xanthine Oxidase ke dalam semua telaga yang digunakan. Nilai penyerapan asai diukur pada jarak gelombang 440-460 nm (Bio-Rad Model 680 Microplate Reader, Jepun). Satu unit SOD ditakrifkan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk 50% dismutasi radikal superoksida (U/mL).

Jumlah aktiviti spesifik enzim glutation peroksidase (GPx) ditentukan berdasarkan kit pengasaian Glutathione Peroxidase (Cayman Chemical, Michigan, USA) mengikut kaedah Paglia dan Valentine (1967). Asai dijalankan menggunakan mikroplat dan kawalan kosong disediakan dengan mencampurkan 120 μL penimbal asai dan 50 μL campuran ko-substrat ke dalam telaga. Sebanyak 20 μL GPx piawai (kawalan positif) dan sampel dimasukkan ke dalam telaga masing-masing yang telah sedia ada 100 μL penimbal asai dan 50 μL campuran ko-substrat. Tindak balas reaksi dimulakan dengan menambah 20 μL Cumene hidroperoksida ke dalam semua telaga. Bacaan diambil pada jarak penyerapan gelombang 340 nm (Bio-Rad Model 680 Microplate Reader, Jepun).

Kit pengasaian Katalase (Cayman Chemical, Michigan, USA) menggunakan fungsi peroksidatif katalase untuk menentukan aktiviti enzim. Sebanyak 100 μL penimbal asai dan 30 μL metanol dipipetkan ke dalam telaga mikroplat. Kemudian, formaldehid piawai (kepekatan 0, 5, 15, 30, 45, 60 dan 75 μM), katalase piawai dan sampel masing-masing sebanyak 20 μL dipipetkan ke dalam telaga mikroplat yang telah sedia penimbal asai dan metanol. Sebanyak 20 μL hidrogen peroksida ditambah kepada semua telaga untuk memulakan tindak balas diikuti oleh 30 μL katalase purpald (kromagen) selepas 20 min untuk menghentikan tindak balas. Selepas 10 minit, 10 μL katalase potassium periodate ditambah ke dalam setiap telaga dan bacaan penyerapan diukur pada jarak gelombang 540 nm (Bio-Rad Model 680 Microplate Reader, Jepun). Satu unit CAT ditakrifkan sebagai jumlah enzim yang akan menyebabkan pembentukan 1.0 nmol formaldehid per minit pada suhu 25°C.

ANALISIS STATISTIK

Analisis statistik dijalankan menggunakan perisian SPSS versi 22. Data dianalisis dengan menggunakan ujian t. Perbezaan data antara kumpulan kawalan dan perlakuan dianggap signifikan apabila nilai $p < 0.05$.

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

AKTIVITI LIBIDO

Kajian ini merupakan kajian saintifik pertama dalam mengkaji keupayaan ekstrak akuas batang *L. amara* sebagai agen afrodisiak pada tikus jantan teraruh diabetes. Walaupun *L. amara* pada dos rendah (60 mg/kg berat tubuh) berupaya membaiki libido dan kualiti sperma tikus normal (Nor-Raidah & Mahanem 2015), namun dos ini tidak berjaya menurunkan aras glukosa tikus teraruh diabetes. Keputusan daripada kajian antihiperghlisemia *L. amara*, dos tinggi iaitu 250 dan 500 mg/kg *L. amara* dipilih untuk kajian afrodisiak kerana berupaya menurunkan aras glukosa darah tikus teraruh diabetes secara signifikan (Nor-Raidah 2016). Jadual 1 menunjukkan kesan ekstrak akuas batang *L. amara* ke atas kelakuan seksual tikus jantan teraruh diabetes berbanding tikus kawalan. Tikus teraruh diabetes yang diberi dos perlakuan 500 mg/kg berat tubuh *L. amara* tidak menunjukkan sebarang aktiviti pemanjatan ke atas tikus betina manakala tikus teraruh diabetes yang diberi dos perlakuan 250 mg/kg berat tubuh *L. amara* mencatatkan purata bilangan kekerapan pemanjatan yang rendah ($p < 0.05$) iaitu sebanyak 0.5 ± 0.29 berbanding tikus kawalan normal (2.75 ± 0.48). Penurunan libido tikus teraruh diabetes ini berpunca daripada masalah kerintangan insulin. Hal ini mengakibatkan gangguan pada paksi hipotalamik-pituitari-gonadal yang seterusnya membawa kepada masalah penghasilan atau fungsi hormon testosteron (Rehman et al. 2001). Walaupun perlakuan *L. amara* berupaya meningkatkan libido pada tikus normal (Nor-Raidah & Mahanem 2015), tetapi herba ini didapati tidak membaiki masalah libido tikus teraruh diabetes apabila dos ditingkatkan. Peningkatan dos perlakuan *L. amara* terhadap tikus teraruh diabetes sebaliknya dilihat menyumbang kepada penurunan libido pada tikus teraruh diabetes.

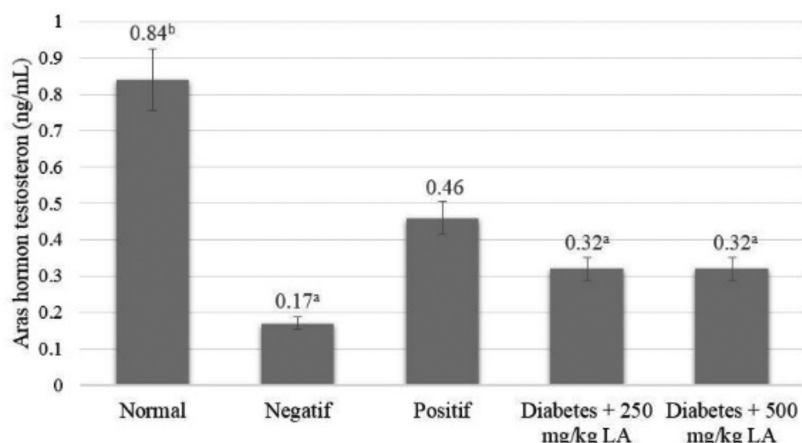
ARAS TESTOSTERON

Aras testosteron ditentukan bagi mengkaji korelasi antara aras testosteron dengan kelakuan seksual tikus teraruh diabetes yang diberi perlakuan *L. amara*. Rajah 1 menunjukkan perbandingan aras testosteron tikus teraruh diabetes yang menerima perlakuan *L. amara* berbanding tikus kawalan. Keputusan kajian mendapati bahawa

JADUAL 1. Kesan perlakuan *L. amara* ke atas libido tikus teraruh diabetes berbanding kumpulan kawalan (^a $p < 0.05$ berbanding kawalan normal, ^b $p < 0.05$ berbanding kawalan negatif & ^c $p < 0.05$ berbanding kawalan positif)

Kumpulan	Purata kekerapan pemanjatan tikus jantan (10 min)
Kawalan normal	3.00 ± 0.48
Kawalan negatif (Diabetes)	TA ^a
Kawalan positif (Diabetes + metformin)	1.00 ± 0.41 ^{a,b}
Diabetes + 250 mg/kg <i>L. amara</i>	0 ± 0.29 ^a
Diabetes + 500 mg/kg <i>L. amara</i>	TA ^{a,c}

TA = Tiada aktiviti



RAJAH 1. Kesan perlakuan *L. amara* ke atas aras testosteron tikus teraruh diabetes berbanding kumpulan kawalan (^a $p < 0.05$ berbanding kawalan normal, ^b $p < 0.05$ berbanding kawalan negatif). (LA = *L. amara*)

aruhan STZ telah menurunkan aras testosteron secara signifikan ($p < 0.05$) sebanyak 80% iaitu 0.17 ± 0.02 ng/mL berbanding tikus kawalan normal iaitu 0.84 ± 0.09 ng/mL. Perlakuan *L. amara* terhadap tikus teraruh diabetes berjaya meningkatkan aras testosteron pada kedua-dua dos perlakuan iaitu masing-masing 0.32 ± 0.05 ng/mL (dos 250 mg/kg) dan 0.32 ± 0.04 ng/mL (dos 500 mg/kg) berbanding tikus kawalan negatif (0.17 ± 0.07 ng/mL). Menurut Subash-Babu et al. (2014) aruhan STZ menyebabkan tekanan oksidatif pada organ testis dengan peningkatan aras asid reaktif tiobarbiturik (TBARS), hidropoksida dan spesies oksigen reaktif (ROS) secara signifikan berbanding tikus normal. Keadaan ini mengakibatkan perubahan struktur dan fungsi sel Leydig yang menyebabkan gangguan dalam penghasilan hormon testosteron (Zhao et al. 2016). Walaupun perlakuan *L. amara* meningkatkan penghasilan hormon testosteron tikus teraruh diabetes, tetapi peningkatan tersebut adalah tidak signifikan jika dibandingkan dengan kawalan negatif (Rajah 1).

BERAT TUBUH TIKUS SERTA MORFOMETRI TESTIS DAN EPIDIDIMIS KAUDA

Perubahan aras testosteron yang ketara pada tikus teraruh diabetes berkemungkinan mengganggu perkembangan organ reproduktif seperti testis dan epididimis. Oleh yang demikian, analisis perubahan berat dan morfometri testis

serta epididimis kauda tikus teraruh diabetes dilakukan. Perubahan berat tubuh dan morfometri organ testis pada tikus teraruh diabetes yang diberi perlakuan *L. amara* ditunjukkan dalam Jadual 2. Aruhan STZ telah menurunkan berat tubuh tikus secara signifikan ($p < 0.05$) sebanyak 28.55% iaitu 212.00 ± 14.39 g berbanding kawalan normal iaitu 296.70 ± 12.67 g. Berat tubuh tikus teraruh diabetes yang diberi perlakuan *L. amara* turut menurun iaitu 196.15 ± 24.03 g (perlakuan 250 mg/kg *L. amara*) dan 203.15 ± 8.65 g (perlakuan 500 mg/kg *L. amara*) berbanding tikus kawalan normal. Pemberian dos perlakuan 250 dan 500 mg/kg pada tikus teraruh diabetes masing-masing telah meningkatkan berat relatif testis secara tidak signifikan ($p > 0.05$) berbanding kesemua tikus kumpulan kawalan. Manakala, panjang testis tikus teraruh diabetes yang diberi dos perlakuan 250 mg/kg telah menunjukkan peningkatan berbanding kumpulan perlakuan 500 mg/kg dan kesemua kumpulan kawalan. Hasil cerapan lebar testis tikus teraruh diabetes pada ke dua-dua kumpulan yang diberi dos perlakuan *L. amara* tidak menunjukkan perbezaan bacaan yang signifikan ($p > 0.05$) berbanding tikus kawalan negatif.

Perbandingan purata berat relatif dan morfometri epididimis kauda tikus kajian ditunjukkan pada Jadual 3. Berat relatif epididimis kauda tikus teraruh diabetes dengan perlakuan 250 dan 500 mg/kg menunjukkan peningkatan

JADUAL 2. Berat relatif per 100 g BT serta panjang dan lebar testis tikus teraruh diabetes dengan perlakuan *L. amara* berbanding kumpulan kawalan (^{*} $p < 0.05$ berbanding kawalan normal)

Kumpulan	Berat tubuh (g)	Berat relatif testis per 100 g BT (g)	Panjang (mm)	Lebar (mm)
Kawalan normal	296.70 ± 12.67	0.53 ± 0.03	19.04 ± 0.08	11.78 ± 0.38
Kawalan negatif (Diabetes)	$212.00 \pm 14.39^*$	0.51 ± 0.09	18.31 ± 0.51	10.37 ± 0.43
Kawalan positif (Diabetes + metformin)	$191.10 \pm 15.05^*$	0.49 ± 0.05	19.06 ± 0.64	$9.95 \pm 0.46^*$
Diabetes + 250 mg/kg LA	$196.15 \pm 24.03^*$	0.59 ± 0.03	19.15 ± 0.76	10.21 ± 0.41
Diabetes + 500 mg/kg LA	$205.13 \pm 8.65^*$	0.54 ± 0.04	18.77 ± 0.46	10.23 ± 0.32

BT = Berat tubuh; LA = *L. amara*

JADUAL 3. Berat relatif per 100g BT serta panjang dan lebar epididimis kauda tikus teraruh diabetes dengan perlakuan *L. amara* berbanding tikus kawalan (* $p < 0.05$ berbanding kawalan normal)

Kumpulan	Berat relatif epididimis kauda per 100g BT (g)	Panjang (mm)	Lebar (mm)
Kawalan normal	0.067 ± 0.004	9.90 ± 0.39	6.61 ± 0.08
Kawalan negatif (Diabetes)	0.051 ± 0.0015	8.82 ± 0.81	5.34 ± 0.35
Kawalan positif (Diabetes + metformin)	0.047 ± 0.0033*	8.24 ± 0.27	4.99 ± 0.27*
Diabetes + 250 mg/kg LA	0.062 ± 0.003	8.00 ± 0.71	5.33 ± 0.32
Diabetes + 500 mg/kg LA	0.054 ± 0.003	8.41 ± 0.30	5.35 ± 0.15*

LA= *L. amara*

berat yang tidak signifikan ($p > 0.05$) berbanding tikus kawalan negatif dan positif. Nilai bacaan panjang dan lebar epididimis kauda tikus teraruh diabetes perlakuan *L. amara* pada ke dua-dua dos menunjukkan perbezaan yang tidak signifikan ($p > 0.05$) berbanding tikus kumpulan kawalan. Penurunan berat badan tikus teraruh diabetes berbanding tikus normal turut dilaporkan oleh Chaudhry et al. (2016) selepas suntikan STZ diberikan. Secara keseluruhannya, aruhan diabetes hanya menurunkan berat tubuh tikus secara signifikan tetapi tidak menjejaskan purata pengukuran berat relatif, panjang dan lebar testis serta epididimis kauda tikus diabetes berbanding kawalan normal. Perlakuan *L. amara* didapati tidak membantu meningkatkan berat tubuh tikus diabetes kepada normal. Keputusan kajian ini turut mendapati bahawa ekstrak akuas batang *L. amara* pada dos 250 dan 500 mg/kg masing-masing tidak memberikan perubahan ketara pada berat dan morfometri organ reproduktif tikus jantan teraruh diabetes. Ciri fizikal seperti morfologi dan anatomi ke dua-dua organ ini adalah normal sebagaimana kawalan normal. Oleh itu pengambilan *L. amara* sebagai ubatan didapati tidak mengganggu perkembangan ke dua-dua organ pembiakan jantan ini.

AKTIVITI ENZIM ANTIOKSIDA TESTIS

Aruhan STZ menurunkan aras aktiviti spesifik enzim GPx, CAT dan SOD testis tikus kawalan negatif secara tidak signifikan ($p > 0.05$) berbanding tikus kawalan normal (Jadual 4). Diabetes sering dikaitkan dengan gangguan terhadap sistem pertahanan antioksidan dan peningkatan radikal bebas (Maritim et al. 2003). Tekanan oksidatif berlaku apabila spesies oksigen reaktif (ROS) mendorong pengoksidaan β asid lemak yang akhirnya menyebabkan berlaku pengoksidaan lipid. Pengoksidaan lipid yang tinggi boleh merosakkan fungsi membran dengan menurunkan kebendaliran membran dan mengubah aktiviti membran berikat enzim reseptor. Peningkatan ROS di dalam mitokondria sperma juga disumbangkan oleh oksidatif fosforilasi dan oksidasi auto dalam keadaan hiperglisemia (Giaccio & Brownlee 2010). Aras aktiviti spesifik enzim GPx tikus teraruh diabetes perlakuan 250 dan 500 mg/kg menunjukkan penurunan signifikan ($p < 0.05$) iaitu masing-masing sebanyak 46.37% (22.18 ± 0.12 U/mg) dan 57% (17.76 ± 0.44 U/mg) berbanding kawalan normal (53.64 ± 6.77 U/mg). Aras aktiviti spesifik enzim CAT pada tikus

teraruh diabetes kedua-dua dos perlakuan *L. amara* turut berlaku penurunan signifikan ($p < 0.05$) iaitu sebanyak 48.77% (1.25 ± 0.41 U/mg) pada dos perlakuan 250 mg/kg dan 45.9% (1.32 ± 0.23 U/mg) pada dos perlakuan 500 mg/kg berbanding kawalan normal (2.54 ± 0.20 U/mg). Perlakuan 250 mg/kg *L. amara* pada tikus teraruh diabetes juga menurunkan aras aktiviti spesifik enzim SOD ($p > 0.05$) sebanyak 36% (14.87 ± 1.05 U/mg) manakala dos perlakuan 500 mg/kg menurun ($p < 0.05$) sebanyak 49.79% (11.68 ± 2.47 U/mg) berbanding kawalan normal (41.36 ± 7.65 U/mg).

Secara umumnya, berlaku penurunan aktiviti ketiga-tiga enzim antioksidan pada serum kumpulan tikus teraruh diabetes berbanding kawalan normal. Ini mungkin disebabkan oleh peningkatan tekanan oksidatif yang menindas sistem pertahanan antioksidan di dalam sel testis. Keadaan hiperglisemia meningkatkan produk akhir proses glikasi lanjut (AGE) di dalam tikus teraruh diabetes (Vlassara & Striker 2013). Zhao et al. (2016) mendapati pembentukan produk AGE telah meningkatkan tekanan oksidatif di dalam sel Leydig. Keadaan ini seterusnya menjejaskan struktur dan fungsi sel Leydig yang akhirnya merencatkan penghasilan testosteron yang penting untuk libido. Keputusan kajian aras enzim antioksidan testis ini selari dengan keputusan kajian aras testosteron yang turut merosot pada semua kumpulan tikus teraruh diabetes berbanding kumpulan normal. Gangguan pada fungsi sel testis ini boleh mengakibatkan libido dan kualiti sperma yang dihasilkan oleh pesakit diabetes menurun (Amaral et al. 2008). Perlakuan *L. amara* pada dos 250 dan 500 mg/kg masing-masing didapati tidak mampu mengatasi masalah libido yang merupakan kesan sampingan akibat diabetes.

Kandungan bioaktif tumbuhan memainkan peranan penting dalam mengaruh pembaikan libido jantan. Kandungan alkaloid *L. amara* yang tinggi seperti quinoline, 3-dimethylallyl-2-quinolone, furokuinolin, 2-arilkuinolin dan 4-kuinolon (Sharma et al. 2010; Zubair et al. 2016) didapati tidak berkesan dalam membaiki libido tikus diabetes walaupun berjaya menurunkan aras glukosa darah. *L. amara* juga dikenal pasti tidak berupaya meningkatkan aktiviti enzim antioksidan (SOD, CAT dan GPx) untuk menurunkan tekanan oksidatif di dalam testis tikus diabetes. Pemulihan pada sistem endokrin dan sistem pertahanan antioksidan adalah penting untuk kesihatan seksual.

JADUAL 4. Kesan perlakuan *L. amara* ke atas aktiviti spesifik enzim glutation peroksidase (GPx), katalase (CAT), dan superoksida dismutase (SOD) tikus teraruh diabetes berbanding kumpulan kawalan. (* $p < 0.05$ berbanding kawalan normal)

Kumpulan	Aktiviti spesifik enzim (U/mg)		
	Glutation peroksidase (GPx)	Katalase (CAT)	Superoksida dismutase (SOD)
Kawalan normal	53.64 ± 6.77	2.54 ± 0.2	25.85 ± 4.28
Kawalan negatif (Diabetes)	41.36 ± 7.65	2.44 ± 0.17	23.26 ± 3.58
Kawalan positif (Diabetes + metformin)	37.43 ± 2.91	1.66 ± 0.32	25.65 ± 4.15
Diabetes + 250 mg/kg <i>L. amara</i>	22.18 ± 0.12*	1.25 ± 0.41*	14.87 ± 1.05
Diabetes + 500 mg/kg <i>L. amara</i>	17.76 ± 0.44*	1.32 ± 0.23*	11.68 ± 2.47*

KESIMPULAN

Secara ringkas dapat disimpulkan bahawa ekstrak akus batang *L. amara* menunjukkan kesan antihiperghlisemia pada dos tinggi (250 dan 500 mg/kg berat tubuh) tetapi merencatkan libido tikus jantan teraruh diabetes. Sebaliknya pada dos rendah (60 mg/kg) *L. amara* berupaya meningkatkan libido tikus jantan normal, namun tidak membantu menurunkan aras glukosa darah tikus teraruh diabetes secara signifikan. Tidak seperti herba lain seperti *Gynura procumbens* yang menunjukkan kesan pro-libido di samping menurunkan aras glukosa darah tikus teraruh diabetes pada dos rendah (50 mg/kg berat tubuh) berbanding kawalan normal (Mahanem & Nani Rahayu 2012), *L. amara* didapati tidak berupaya merawat kedua-dua masalah tersebut pada masa yang sama. Oleh itu, pemilihan dos memainkan peranan penting untuk mengatasi kedua-dua masalah libido dan hiperghlisemia tikus teraruh diabetes.

PENGHARGAAN

Penulis berterima kasih kepada Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia atas kemudahan penyelidikan yang disediakan serta geran penyelidikan STGL-006-2007.

RUJUKAN

- Adewole, S.O., Caxton-Martins, E.A., Salako, A.A., Dohertu, O.W. & Naicker, T. 2007. Effects of oxidative stress induced by streptozotocin on the morphology and trace minerals of the testes of diabetic Wistar rats. *Pharmacologyonline* 2: 478-497.
- Agmo, A. 1997. Male rat sexual behavior. *Brain Research Protocol* 1: 203-209.
- Al-Kuraishy, H.M. & Al-Gareeb, A.I. 2016. Erectile dysfunction and low sex drive in men with type 2 DM: The potential role of diabetic pharmacotherapy. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 10(12): FC21-FC26.
- Amaral, S., Oliveira, P.J. & Ramalho-Santos, J. 2008. Diabetes and the impairment of reproductive function: Possible role of mitochondria and reactive oxygen. *Current Diabetes Reviews* 4(1): 46-54.
- Bathina, S., Srinivas, N. & Das, U.N. 2017. Streptozotocin produces oxidative stress, inflammation and decreases BDNF concentrations to induce apoptosis of RIN5F cells and type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 486(2): 406-413.
- Chaudhry, Z.R., Naseer, A., Chaudhry, S.R., Chaudhry, E.R. & Chaudhry, F.R. 2016. Comparison of extracts of *Syzygium aromaticum* on the weight of STZ induced diabetic rats. *Journal of Islamic International Medical College* 11(1): 24-28.
- Choi, J.S., Kim, I.W., Hwang, S.Y., Shin, B.J. & Kim, S.K. 2007. Effect of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on testicular spermatogenesis-related panels and serum sex hormone levels in rats. *BJU International* 101: 250-255.
- Giacco, F. & Brownlee, M. 2010. Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation Research* 107: 1058-1070.
- Giugliano, F., Maiorino, M., Bellastella, G., Gicchino, M., Giugliano, D. & Esposito, K. 2010. Determinants of erectile dysfunction in type 2 diabetes. *International Journal of Impotence Research* 22: 204-209.
- Gonzales, C., Rubio, J., Gasco, M., Nieto, J., Yucra, S. & Gonzales, G.F. 2006. Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii* (MACA) on spermatogenesis in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 103: 448-454.
- Ja'far, M.L., Amira, K. & Mahanem, M.N. 2017. Effects of *Lunasia amara* blanco (Sanrego) on male fertility: A preliminary study on sperm proteomic analysis. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 7(8): 85-91.
- Maclouf, J., Grassi, J. & Pradelles, P. 1987. Development of enzyme-immunoassay techniques for the measurement of eicosanoids. Dlm *Prostaglandin and Lipid Metabolism in Radiation Injury* disunting oleh Walden, T.L., Jr. & Hughes, H.N. Rockville: Plenum Press. hlm. 355-364.
- Mahanem, M.N. & Nani Rahayu, M.R. 2012. Kesan anti-hiperghlisemia ekstrak metanol *Gynura procumbens* terhadap kesuburan dan libido tikus jantan teraruh diabetes. *Sains Malaysiana* 41(12): 1549-1556.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A. & Watkins, J.B. 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 17(1): 24-38.
- Nor-Raidah, R. 2016. Kesan ekstrak akus batang *Lunasia amara* terhadap libido dan kesuburan tikus jantan teraruh diabetes. Tesis Sarjana Sains, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, Malaysia (tidak diterbitkan).
- Nor-Raidah, R. & Mahanem, M.N. 2015. Enhancement of fertility and libido in male Sprague Dawley rats following the administration of aqueous extract of *Lunasia amara*. *Malaysian Applied Biology* 44(1): 125-131.
- Paglia, D.E. & Valentine, W.N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of

- erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 70: 158-169.
- Pradelles, P., Grassi, J. & Maclouf, J.A. 1985. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: An alternative to radioimmunoassay. *Analytical Chemistry* 57: 1170-1173.
- Rehman, K., Beshay, E. & Carrier, S. 2001. Diabetes and male sexual function. *Journal of Sexual Reproductive Medicine* 1: 29-33.
- Sandroni, P. 2001. Aphrodisiacs past and present: A historical review. *Clinical Autonomic Research* 1: 303-307.
- Sharma, B., Salunke, R., Balomajumder, C., Daniel, S. & Roy, P. 2010. Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology* 127: 457-462.
- Subash-Babu, P., Alshatwil, A.A. & Ignacimuthu, S. 2014. Beneficial antioxidative and antiperoxidative effect of cinnamaldehyde protect streptozotocin-induced pancreatic β -cells damage in Wistar rats. *Biomolecules & Therapeutics* 22(1): 47-54.
- Tostes, R.C., Carneiro, F.S., Lee, A.J., Giachini, F.R.C., Leite, R., Osawa Y. & Webb, R.C. 2008. Cigarette smoking and erectile dysfunction: Focus on NO bioavailability and ROS generation. *The Journal of Sexual Medicine* 5(6): 1284-1295.
- Vlassara, H. & Striker, E.G. 2013. Advanced glycation end products in diabetes and diabetic complications. *Endocrinology and Metabolism Clinics* 42(4): 697-719.
- Zhao, Y.T., Qi, Y.W., Hu, C.Y., Chen, S.H. & Liu, Y. 2016. Advanced glycation end products inhibit testosterone secretion by rat Leydig cells by inducing oxidative stress and endoplasmic reticulum stress. *International Journal of Molecular Medicine* 38: 659-665.
- Zubair, M.S., Anam, S. & Lallo, S. 2016. Cytotoxic activity and phytochemical standardization of *Lunasia amara* blanco wood extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(11): 962-966.

Pusat Pengajian Biosains dan Bioteknologi
Fakulti Sains dan Teknologi
Universiti Kebangsaan Malaysia
43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan
Malaysia

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: mahanem@ukm.edu.my

Diserahkan: 21 September 2017
Diterima : 8 Februari 2018