

## Pengaruh Campuran Ekstrak Etanol Buah Pare dan Biji Pinang Terhadap Kadar Testosteron Tikus dengan Menggunakan Metoda ELISA

Vivi Sofia<sup>1,\*</sup>, Salsabila Rahmawanti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Prodi Profesi Apoteker, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia  
Jalan Gatot Subroto Gg. Rasmi no. 28 Sei Sekaming, Medan, Indonesia

<sup>2</sup> Fakultas Farmasi, Prodi S1 Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

Jalan Prof. Soepomo, SH, Janturan, Yogyakarta, Indonesia

Email: <sup>1,\*</sup>sofiavivi396@gmail.com, <sup>2</sup>salsabilarahmawanti0@gmail.com

Email Penulis Korespondensi: sofiavivi396@gmail.com

**Abstrak**-Testosteron adalah hormon yang berperan penting dalam perkembangan seksual dan fungsi reproduksi. Masalah Infertilitas, penurunan libido dan disfungsi ereksi berkaitan erat dengan turunnya kadar testosteron dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh dari campuran ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) dan biji pinang (*Areca catechu* L) terhadap kadar testosteron tikus putih jantan. Penelitian ini menggunakan metode *Sexual Behaviour*. 30 ekor tikus galur Wistar dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kontrol aquades, kontrol positif (X-Gra®) 45 mg/kg BB, ekstrak etanol buah pare (EEBP) dosis 100 mg/kg BB, ekstrak etanol pinang (EEP) dosis 50 mg/kg BB dan kelompok campuran EEBP:EEP (1:1). Sampel darah diambil pada hari ke-15 dan dilakukan pemeriksaan kadar testosteron. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan Uji ANOVA satu jalur dan dilanjutkan dengan Uji *Tukey's HSD* dengan taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) menggunakan *software* SPSS ver.20. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar testosteron pada kelompok EEBP dosis 100 mg/kg BB dan campuran EEBP : EEP (1:1) sebesar  $2,31 \pm 0,84$  ng/ml dan  $1,65 \pm 0,54$  ng/ml, berbeda tidak signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol aquades ( $p < 0,05$ ). Kadar testosteron pada kelompok EEP dosis 50 mg/kg BB sebesar  $3,43 \pm 0,98$  ng/ml menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol aquades ( $p < 0,05$ ). Campuran ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg/kg BB dan biji pinang dosis 50 mg/kg BB tidak mampu menaikkan kadar testosteron, sedangkan ekstrak etanol biji pinang yang diberikan secara tunggal pada dosis 50 mg/kg BB dapat menaikkan kadar testosteron pada tikus putih jantan. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa campuran ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg/kg BB dan biji pinang dosis 50 mg/kg BB tidak mampu menaikkan kadar testosteron, sedangkan ekstrak etanol biji pinang yang diberikan secara tunggal pada dosis 50 mg/kg BB dapat menaikkan kadar testosteron pada tikus putih jantan.

**Kata Kunci:** Buah Pare; Biji Pinang; Testosteron; Tikus Putih Jantan; Disfungsi Ereksi

**Abstract**-Testosterone is a hormone that plays an important role in sexual development and reproductive function. Infertility problems, decreased libido and erectile dysfunction are closely related to decreased testosterone levels in the blood. This study aims to see the effect of a mixture of ethanol extracts of bitter melon (*Momordica charantia* L.) and areca nut (*Areca catechu* L) on testosterone levels in male white rats. This study used the Sexual Behavior method. 30 Wistar rats were divided into 5 groups consisting of distilled water control, positive control (X-Gra®) 45 mg/kg BW, ethanol extract of bitter melon (EEBP) dose of 100 mg/kg BW, ethanol extract of areca nut (EEP) dose of 50 mg/kg BW and mixed group of EEBP:EEP (1:1), after 15 days, blood samples were taken and testosterone levels were analyzed. The data obtained were statistically analyzed with one-way ANOVA test and continued with Tukey's HSD test with 95% confidence level ( $p < 0.05$ ) using SPSS ver.20 software. The results showed that testosterone levels in the EEBP group at a dose of 100 mg / kg BW and a mixture of EEBP: EEP (1: 1) of  $2.31 \pm 0.84$  ng/ml and  $1.65 \pm 0.54$  ng/ml were not significantly different when compared to the distilled water control group ( $p < 0.05$ ). Testosterone levels in the EEP group at a dose of 50 mg/kg BW of  $3.43 \pm 0.98$  ng/ml showed a significant difference with the aquades control group ( $p < 0.05$ ). The mixture of bitter melon ethanol extract at a dose of 100 mg/kg BW and areca nut seeds at a dose of 50 mg/kg BW was not able to increase testosterone levels, while the ethanol extract of areca nut seeds given singly at a dose of 50 mg/kg BW could increase testosterone hormone levels in male white rats. Based on the results obtained in this study, it can be concluded that a mixture of bitter melon ethanol extract at a dose of 100 mg / kg BW and areca nut seeds at a dose of 50 mg / kg BW is not able to increase testosterone levels, while areca nut ethanol extract given singly at a dose of 50 mg / kg BW can increase testosterone levels in male white rats.

**Keywords:** Bitter Melon; Areca Nut Seeds; Testosterone; Male White Rat; Erectile Dysfunction

### 1. PENDAHULUAN

Disfungsi ereksi (DE) adalah ketidakmampuan yang terus menerus untuk mencapai dan mempertahankan ereksi dalam jumlah yang cukup untuk melakukan hubungan seksual yang memuaskan. DE adalah masalah yang umum pada pria di segala usia dan berdampak signifikan pada kualitas hidup penderita dan pasangan mereka (Barone et al., 2022). Berdasarkan *Global Study of Sexual Attitudes and Behaviors* yang melibatkan populasi 29 negara pada 5 benua, prevalensi disfungsi ereksi pada usia 40-80 tahun adalah 20,6%. Prevalensi disfungsi ereksi di Asia adalah 7-15% pada usia 40-49 tahun dan 39-49% pada usia 60-70 tahun. Studi prevalensi DE di Indonesia pada tahun 2005 adalah sebesar 11%, sedangkan pada tahun 2019 studi pada 255 pria usia 20-80 tahun menunjukkan prevalensi DE sebesar 35.6 % (22.3% ringan, 13.7% ringan-sedang, 3.1% sedang, dan 0.8% berat). Prevalensi DE berkisar antara 6,5% pada kelompok berusia 20-29 tahun, hingga setinggi 88% pada responden berusia 60 tahun ke atas. Rentang ini sangat bergantung terhadap faktor risiko seperti usia, penyakit komorbid hingga masalah interpersonal. Kondisi DE berkaitan dengan peningkatan risiko kejadian kardiovaskular di kemudian hari. Oleh karena itu, DE dapat menjadi manifestasi awal penyakit kardiovaskular dan tidak boleh dianggap hanya sebagai masalah kualitas hidup (Birowo et al., 2019). Testosteron adalah hormon androgen yang berperan penting dalam perkembangan seksual dan fungsi reproduksi pada pria. Berbagai masalah kesehatan seperti mudah lelah, osteoporosis, sulit berkonsentrasi, infertilitas, penurunan libido dan disfungsi ereksi

berkaitan erat dengan turunnya kadar testosteron dalam darah. Berbagai faktor dapat mempengaruhi kadar hormon testosteron, termasuk usia, gaya hidup dan pola makan (Barone et al., 2022). Oleh karena itu pencarian sumber bahan alami dapat membantu meningkatkan kadar testosteron menjadi sangat relevan.

Beberapa tanaman herbal seperti buah pare dan biji pinang dilaporkan mempunyai beberapa pengaruh pada fungsi reproduksi, baik pada pria maupun wanita. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa buah pare dapat meningkatkan kadar testosteron pada tikus jantan. Buah pare mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Michaelle et al., 2020; Svobodova et al., 2017). Secara *in vitro*, bioaktivitas afrodisiaka buah pare ditunjukkan oleh isolat triterpen 13,13-epoksioleanan-3-olasetat dari fraksi n-heksana (Adedokun et al., 2022). Pemberian ekstrak etanol buah pare memiliki aktivitas farmakologi yang dapat meningkatkan dan memulihkan kadar testosteron bebas dan dapat digunakan sebagai produk alami yang menjanjikan untuk mengurangi sindrom defisiensi testosteron (Lee et al., 2020). Buah pinang juga diidentifikasi memiliki efek positif terhadap hormon reproduksi. Di Asia Tenggara dan Pasifik Selatan, biji pinang dikonsumsi dengan cara dikunyah dan biasa digunakan oleh penduduk setempat untuk mendapatkan efek euphoria dan meningkatkan libido (Brunetti et al., 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Sarapi *et al.*, (2019) diketahui bahwa setelah pemberian campuran ekstrak air biji pinang (*Areca catechu* L.), ginseng (*Javanese som*) dan purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) dosis 50 mg/kg BB tikus, secara signifikan dapat meningkatkan kadar *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Lutenizing Hormone* (LH) yang sebanding dengan sildenafil sitrat (Sarapi et al., 2015). Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan pada biji pinang diketahui bahwa pinang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan terpenoid dengan berbagai aktivitas farmakologi (Djohari et al., 2020).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh campuran ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) dan ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) terhadap kadar hormon testosteron pada tikus putih galur Wistar. Buah pare dan biji pinang merupakan bahan alam yang berpotensi mempengaruhi kadar testosteron, namun efektivitas kombinasi kedua ekstrak tersebut belum banyak diteliti. Permasalahan utama dalam penelitian ini adalah apakah kombinasi ekstrak etanol buah pare dan biji pinang mampu meningkatkan kadar testosteron secara signifikan pada tikus, serta bagaimana mekanisme kerjanya dalam memodulasi kadar hormon tersebut. Selain itu, diperlukan penentuan dosis optimal dari kombinasi ekstrak tersebut untuk menghasilkan efek yang diinginkan, sekaligus mengevaluasi potensinya sebagai terapi pendukung untuk kondisi disfungsi ereksi terkait defisiensi androgen. Validasi metode ELISA juga menjadi aspek penting untuk memastikan akurasi pengukuran kadar testosteron setelah pemberian ekstrak herbal pada model hewan coba. Pada penelitian ini, peneliti ingin mengembangkan kombinasi dua jenis herbal yang akan diuji secara eksperimental. Keterbaruan penelitian ini terletak pada kombinasi ekstrak buah pare dan biji pinang untuk mengatasi disfungsi ereksi melalui pendekatan kadar testosteron, penelitian sebelumnya hanya menguji efek dari masing-masing ekstrak (buah pare atau biji pinang) pada kadar testosteron, tetapi belum ada penelitian yang secara spesifik menguji efek kombinasi ekstrak buah pare dan biji pinang pada dosis dan konsentrasi tertentu. Penelitian ini dapat menambah wawasan dalam literatur ilmiah tentang pemanfaatan bahan alami dalam regulasi hormon, terutama testosteron. Dengan menyajikan bukti yang lebih meyakinkan mengenai potensi manfaat dari buah pare dan biji pinang, penelitian ini diharapkan berpotensi memberikan sumbangan terhadap pengembangan terapi alternatif yang lebih efisien dan didukung oleh bukti ilmiah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) dan ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap kadar hormon testosteron tikus jantan galur Wistar.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

#### 2.1.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ELISA Reader (ASYS Expert Plus Standalone®), rotary evaporator (Heidolph®), timbangan analitik (OHAUS®), timbangan hewan, blood tube EDTA K3 (GD®), mixer VM-300 (Gemmy®), micropipet (SOCOREX®) dan tabung *Eppendorf*.

#### 2.1.2 Bahan

Sampel yang digunakan adalah buah pare (*Momordica charantia* L.) dan biji pinang (*Areca catechu* L.). Buah pare berasal dari Sragen, Jawa Tengah dan buah pinang dari Bantul, Yogyakarta, ELISA Kit testosteron (Calbiotech®), etanol 70%, aquades, estradiol valerat (Bayer®), X-Gra® (Pfizer), pakan standar (AD-II). Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, tiap kelompok percobaan sebanyak 6 ekor yang terdiri dari 3 ekor tikus jantan dan 3 ekor tikus betina dengan jumlah kelompok perlakuan sebanyak 5 kelompok, sehingga jumlah keseluruhan hewan uji pada penelitian ini sebanyak 30 ekor tikus (*Rattus norvegicus* L.).

### 2.2 Prosedur Penelitian

#### 2.2.1 Pembuatan ekstrak buah pare dan biji buah pinang

Pembuatan ekstrak etanol buah pare dan biji buah pinang dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 700 gram serbuk simplisia kering buah pare dan 500 gram serbuk simplisia kering buah pare direndam dengan pelarut etanol 70%

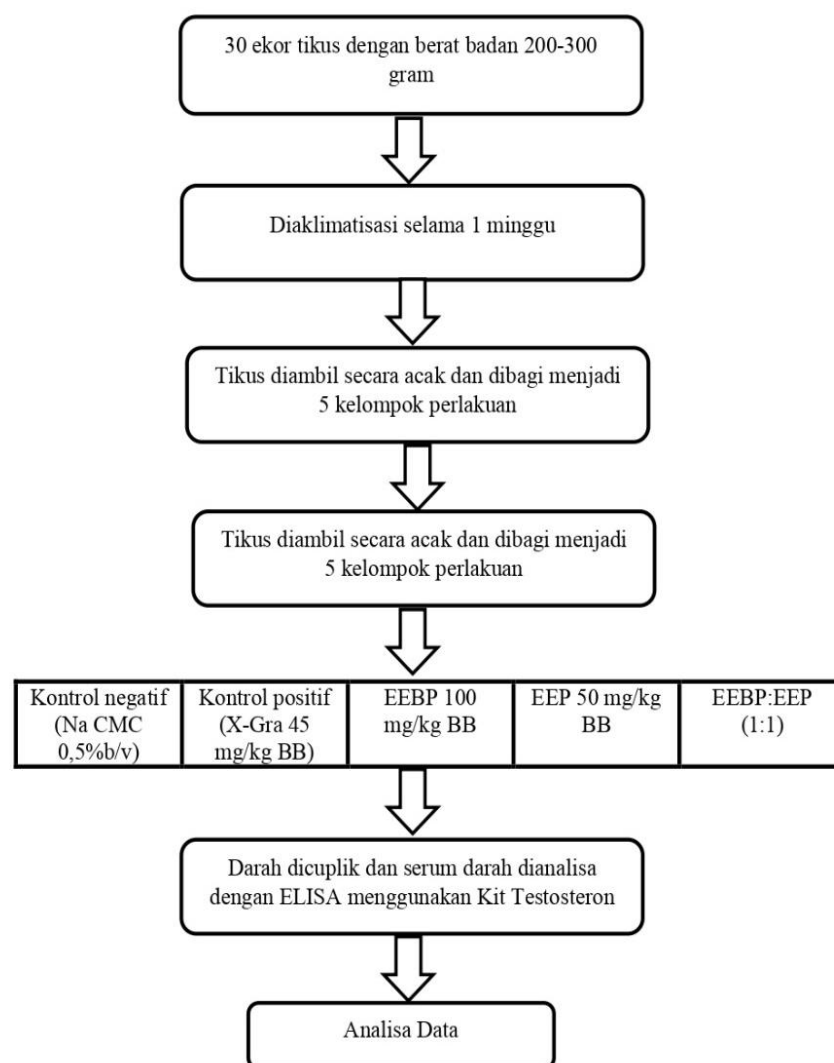
di dalam maserator. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan pengaturan suhu 400C dan dilanjutkan dengan bantuan waterbath hingga didapatkan ekstrak kental. Setelah itu, ekstrak kental dihitung persentase rendemennya terhadap simplisia yang diekstraksi.

## 2.2.2 Pengelompokan hewan uji

Pada penelitian sebelumnya, dosis ekstrak biji pinang ditetapkan pada 100 mg/kg BB tikus yang dapat berefek sebagai afrodisiaka (Anthikat et.al., 2013) dan dosis ekstrak buah pare adalah 50 mg/kg BB (Parisa et.al, 2019). Pada penelitian ini terdapat lima kelompok uji: kelompok I menggunakan Na CMC 0,5% b/v sebagai kontrol negatif, kelompok II menggunakan X-gra® dosis 45 mg/kg BB tikus sebagai kontrol positif, kelompok III menggunakan ekstrak etanol buah pare (EEBP) dosis 100 mg/kg BB, kelompok IV menggunakan ekstrak etanol pinang (EEP) dosis 50 mg/kg BB, dan kelompok V menggunakan campuran ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg/kg BB dan ekstrak etanol biji pinang dosis 50 mg/kg BB dalam perbandingan 1:1.

## 2.3 Kerangka Penelitian

Berikut Gambar 1 merupakan kerangka dari penelitian yang dilakukan.



**Gambar 1.** Kerangka Penelitian

Sebanyak 30 ekor tikus putih diaklimatisasi selama 1 minggu dan dikelompokkan secara acak. Pada penelitian ini, tikus betina yang digunakan diberikan estradiol valerat (Progynova®) dalam dosis 0,25 mg/kg tikus secara oral, 48 jam sebelum uji afrodisiaka dilakukan (Rusdi et.al., 2018). Setelah pemberian ekstrak etanol buah pare dan biji pinang selama 15 hari berturut-turut sesuai dosis, dilakukan pengambilan darah melalui vena orbitalis. Darah ditampung dalam tabung Eppendorf yang telah diisi dengan antikoagulan ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA). Darah kemudian disentrifus dengan kecepatan 5000 rotation per minute (rpm) selama 5 menit. Cairan plasma dipisahkan dengan menggunakan spuit 1 ml dan dimasukkan dalam tabung Eppendorf baru dan disimpan di lemari pendingin dengan suhu minus (-) 20° C, kemudian dilakukan pemeriksaan konsentrasi testosteron dengan metode enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) (Akmal et al., 2015). Untuk penetapan kadar hormon testosteron (ELISA), masing-masing well dimasukkan 50 µl larutan

standar, sampel dan kontrol yang dicampur dengan 100 µl reagen konjugat testosteron. Selanjutnya, larutan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruangan. Dikocok dengan cepat untuk dikeluarkan isi well, well dibilas sebanyak 3 kali dengan menambahkan larutan pencuci sebanyak 300 µl pada setiap well. Pada masing-masing well dimasukkan sebanyak 100 µl larutan substrate solution dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan. Reaksi enzimatik dihentikan dengan menambahkan 50 µl stop solution ke masing-masing well. Nilai absorbansi dibaca pada ELISA reader setelah 15 menit dengan absorbansi pada panjang gelombang 450 nm (ELISA Kit Testosteron Calbiotech®). Cara kerja skematis dari penelitian ini ditampilkan pada gambar 1.

### 2.3.1 Analisis Data

Data hasil penghitungan konsentrasi testosteron dianalisis dengan menggunakan Software SPSS 20.0. Dari data yang diperoleh dilakukan uji pendahuluan yang terdiri dari Uji Saphiro Wilk untuk mengetahui normalitas data dan Uji Levene untuk homogenitas data, dilanjutkan dengan Uji parametrik One Way ANOVA dan uji Tukey’s HSD dengan tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ).

### 2.3.2 Ethical Clearance

Untuk kelayakan etik, penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Ahmad Dahlan Nomor : 012010053/2020.

### 2.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dan biji pinang (*Areca catechu*) dapat meningkatkan kadar testosteron pada tikus secara signifikan melalui mekanisme sinergistik kandungan bioaktifnya. Pare diduga berperan sebagai antioksidan dan modulator endokrin, sedangkan biji pinang mungkin merangsang sekresi hormon reproduksi melalui senyawa alkaloidnya. Kombinasi kedua ekstrak ini diperkirakan memiliki dosis optimal tertentu yang mampu memaksimalkan peningkatan kadar testosteron, yang berpotensi menjadi terapi pendukung untuk disfungsi ereksi terkait defisiensi androgen. Metode ELISA diharapkan dapat mengkonfirmasi peningkatan kadar testosteron ini secara akurat setelah pemberian ekstrak.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar hormon testosteron serum tikus pada berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2.

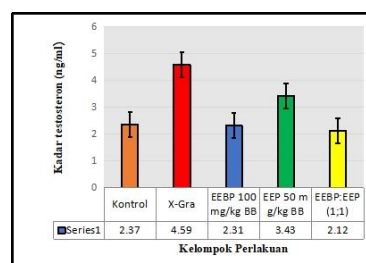
**Tabel 1.** Kadar hormon testosteron (ng/ml) pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Kadar testosteron (ng/ml) ± SE
Kontrol	2,37±0,45 <sup>a</sup>
X-Gra®	4,59±0,21 <sup>b</sup>
EEBP 100 mg/kg BB	2,31±0,84 <sup>a</sup>
EEP 50 mg/kg BB	3,43±0,98 <sup>c</sup>
EEBP:EEP (1:1)	2,12±0,54 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> signifikan dengan kelompok kontrol

<sup>b</sup> signifikan dengan kelompok X-Gra

Dari hasil penelitian yang tertera pada Tabel 1 dan Gambar 2, didapatkan kadar testosteron terendah terdapat pada kelompok campuran ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg/kg BB dan ekstrak etanol biji pinang dosis 50 mg/kg BB (1:1) sebesar 2,12±0,54 ng/ml, diikuti oleh kelompok ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg/kg BB sebesar 2,31±0,84 ng/ml. Hasil ini berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol yang mempunyai kadar testosteron sebesar 2,37±0,45 ng/ml. Pada kelompok ekstrak etanol biji pinang dosis 50 mg/kg BB didapatkan kadar testosteron sebesar 3,43±0,98 ng/ml, dimana hasil ini berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif (Na CMC 0,5% b/v) dan kelompok X-Gra® sebagai kontrol positif. Kadar testosteron tertinggi ditunjukkan oleh kelompok X-Gra® sebesar 4,59±0,21 ng/ml. Notasi yang sama antar kelompok menunjukkan hasil uji statistik yang sama atau terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan notasi yang berbeda menunjukkan hasil uji statistik yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ).



**Gambar 2.** Kadar hormon testosteron (ng/ml) pada berbagai kelompok perlakuan

Berdasarkan hasil Uji Saphiro-Wilk dan Uji Levene dari masing-masing parameter menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen ( $\text{sig} > 0.05$ ), kemudian dilanjutkan dengan uji statistik parametrik One Way ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan hasil signifikan 0,31 ( $\text{sig} < 0,05$ ), setelah itu dilanjutkan dengan Uji Tukey's HSD. Dari hasil Uji Tukey's HSD didapatkan bahwa antara kelompok kontrol (aquades) dengan kelompok EEBP dosis 100 mg/kg BB tikus dan kelompok campuran EEBP:EEP (1:1) terdapat perbedaan yang tidak signifikan artinya bahwa ekstrak etanol buah pare dan campuran ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg dan biji pinang dosis 50 mg/kg BB tidak dapat menaikkan kadar hormon testosteron. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tumkiratiwong et.al pada tahun 2014 yang menunjukkan bahwa ekstrak kering simplisia biji pare (*Momordica charantia* L.) dosis 400 dan 800 mg/kg BB yang diberikan selama 42 hari berturut-turut dapat menyebabkan terjadinya infertilitas pada tikus jantan galur Wistar. Kesuburan dikaitkan dengan efek toksik langsung pada tubulus seminiferus, epididimis, pengurangan mani dan kadar testosteron plasma yang secara signifikan berdampak pada motilitas sperma, morfologi normal spermatozoa dan keutuhan membran akrosom (Tumkiratiwong et al., 2014).

Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah pare berdampak pada morfologi, motilitas, viabilitas, dan jumlah spermatozoa pada epididimis. Dosis ekstrak etanol buah pare 100 mg/100 g BB memiliki efek paling nyata. Selain itu, diketahui bahwa peningkatan dosis sebanding dengan penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa (Hendry & Fahmi, 2023). Pemberian ekstrak etanol buah pare dapat menurunkan jumlah, motilitas dan viabilitas spermatozoa pada tikus jantan galur Wistar. Senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak buah pare berpengaruh terhadap keseimbangan hormonal, khususnya yang bertanggung jawab dalam menstimulasi proses spermatogenesis yaitu testosteron, estrogen, *Luteinizing Hormone* (LH), *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Growth Hormone* (GH) (Belanita, 2023). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam buah pare akan memberikan umpan balik negatif terhadap poros hipotalamus hipofisis testis, sehingga akan menurunkan sekresi *Luteinizing hormone* (LH) maupun *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Penurunan LH dapat menekan pembentukan testosteron secara langsung pada sel Leydig, sehingga terjadi gangguan keseimbangan hormonal (Setiawan & Subagja, 2023). Kandungan kimia buah pare yang bermanfaat untuk pengobatan termasuk saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid, triterpenoid, momordisin, glikosida cucurbitacin, charantin, asam butiric, asam palmitat, asam stearat dan asam linoleat, ekstrak etanol buah pare meningkatkan libido tikus, dan dosis terbaik adalah 0,28 g/200 g BB (Santoso & Zen, 2023)

Pada kelompok campuran ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg/kg BB dan ekstrak etanol biji pinang dosis 50 mg/kg BB (1:1) dan kelompok ekstrak etanol buah pare dosis 100 mg/kg BB terjadi penurunan kadar testosteron pada tikus. Hasil ini didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Soliman et.al pada tahun 2020 yang mempelajari efek *Momordica charantia* (MC) dengan memperkirakan kadar insulin, glukosa, hemoglobin terglukosilasi (HbA1c), testosteron (TST), hormon perangsang folikel (FSH), dan hormon luteinizing (LH) dalam darah pada tikus diabetes yang diberi ekstrak MC dengan dosis 250 dan 500 mg / kg BB. Karakteristik sperma epididimis, histopatologi testis, dan penilaian lesi juga diteliti. Ekspresi mRNA testis dari penanda terkait apoptosis seperti limfoma sel B antiapoptosis-2 (Bcl-2) dan protein X terkait proapoptosis Bcl-2 (Bax) dievaluasi dengan real time PCR. Selanjutnya, ekspresi protein caspase-3 dievaluasi dengan imunohistokimia. Pemberian MC menghasilkan penurunan yang signifikan dalam glukosa darah dan HbA1c dan peningkatan kadar serum insulin, testosteron dan gonadotropin pada tikus diabetes. MC secara efektif menghambat apoptosis testis melalui regulasi Bcl-2 dan penurunan regulasi Bax dan caspase-3 (Soliman et al., 2020).

Hasil Uji Tukey's HSD antara kelompok kontrol (aquades) dengan kelompok X-Gra® dan EEP dosis 50 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti bahwa kelompok X-Gra® dan EEP dosis 50 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar hormon testosteron pada tikus putih jantan galur Wistar yang diberikan selama 15 hari berturut-turut. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pinang dosis 50 mg/kg BB dapat menaikkan kadar testosteron pada tikus, namun berbeda signifikan dengan kelompok X-Gra® yang dapat menaikkan kadar testosteron lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol biji pinang dosis 50 mg/kg BB tikus. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) secara oral dengan dosis 150 mg/kg BB menunjukkan peningkatan aktivitas seksual yang signifikan pada tikus jantan. Ekstrak etanol biji pinang menunjukkan peningkatan jumlah sperma yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Aktivitas seksual tikus jantan terus meningkat tanpa menunjukkan efek samping yang nyata yang menandakan bahwa ekstrak etanol biji pinang memiliki potensi afrodisiak (Medicina et al., 2019). Buah pinang mengandung berbagai alkaloid aktif yaitu arecolin arekolidin, arekain, guvakolin, guvasin dan isoguvasin, tanin terkondensasi, tannin terhidrolisis, flavan, senyawa fenolik, asam galat, getah, lignin, minyak menguap dan tidak menguap dan kandungan 39,8% polifenol (Soliman et al., 2020). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa biji pinang merupakan salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan berbagai etnis di Indonesia sebagai afrodisiak (Santoso et.al, 2023). Pemberian campuran ekstrak etanol biji pinang dosis 50 mg/kg BB dan ekstrak etanol buah pare 100 mg/kg BB dengan perbandingan 1:1 dapat meningkatkan kadar plasma dari endothelial Nitric Oxyde Synthase (eNOS) pada tikus jantan dan berpotensi sebagai afrodisiaka (Sofia & Saiful Bachri, 2023). Pemberian oral ekstrak *Areca.catechu* L. dan *Pedalium murex* L. dengan dosis 150 mg / kg berat badan menunjukkan peningkatan yang signifikan aktivitas seksual pada tikus jantan. Kelompok pinang menunjukkan signifikan peningkatan jumlah sperma dibandingkan dengan kelompok kontrol. Ada peningkatan aktivitas seksual tikus jantan normal yang berkelanjutan tanpa menunjukkan efek samping yang nyata yang menandakan bahwa *A. catechu* memiliki potensi afrodisiak. *Areca catechu* merangsang produksi testosteron, mengaktifkan kanal kalsium (tipe-L), meningkatkan aktivitas dari 17-hidroksisteroid dehidrogenase dan meningkatkan ekspresi dari steroidogenik (Ansari et al., 2021).

Peneliti lain mempelajari efek *Momordica charantia* (MC) dengan memperkirakan kadar insulin, glukosa, hemoglobin terglikosilasi (HbA1c), testosteron (TST), hormon perangsang folikel (FSH), dan hormon luteinizing (LH) dalam darah pada tikus diabetes yang diberi ekstrak MC dengan dosis 250 dan 500 mg / kg BB. Karakteristik sperma epididimis, histopatologi testis, dan penilaian lesi juga diteliti. Ekspresi mRNA testis dari penanda terkait apoptosis seperti limfoma sel B antiapoptosis-2 (Bcl-2) dan protein X terkait proapoptosis Bcl-2 (Bax) dievaluasi dengan real time PCR. Selanjutnya, ekspresi protein caspase-3 dievaluasi dengan imunohistokimia. Pemberian MC menghasilkan penurunan yang signifikan dalam glukosa darah dan HbA1c dan peningkatan kadar serum insulin, testosteron dan gonadotropin pada tikus diabetes. MC secara efektif menghambat apoptosis testis melalui regulasi Bcl-2 dan penurunan regulasi Bax dan caspase-3 (Soliman et al., 2020). Testosteron merupakan hormon steroid yang memainkan peran penting dalam mengatur proses fisiologis dan meningkatkan sintesis protein dalam tubuh. Hal ini penting untuk menjaga kekuatan dan massa otot, menjaga kepadatan dan kekuatan tulang, meningkatkan metabolisme, dan meningkatkan kinerja fisik secara keseluruhan (Ide, 2023). Penyimpangan dalam kadar testosteron telah secara konsisten dikaitkan dengan berbagai kondisi patologis, seperti sindrom ovarium polikistik, tumor sel steroid ovarium dan hiperplasia korteks adrenal. Testosteron berfungsi sebagai biomarker yang mencerminkan kemampuan atletik dan metabolisme anabolik atlet, karena potensinya untuk meningkatkan kinerja, testosteron telah dilarang sebagai zat terlarang dalam kompetisi olahraga. Oleh karena itu, deteksi testosteron sangat penting untuk tujuan diagnostik dalam klinis, serta untuk memantau kinerja atlet dan memastikan integritas kompetisi olahraga (Wang et al., 2024).

Salah satu metodologi yang digunakan untuk mendeteksi hormon adalah metode Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yang merupakan metode imunologi berbasis reaksi antigen-antibodi yang banyak digunakan untuk deteksi dan kuantifikasi molekul biologis, termasuk hormon testosteron dalam serum atau plasma. Prinsip dasar dari ELISA untuk penentuan testosteron adalah pengikatan spesifik antara antigen (testosteron) dengan antibodi yang dilabeli dengan enzim, diikuti dengan deteksi berbasis reaksi enzimatik yang menghasilkan perubahan warna yang dapat diukur secara spektrofotometrik (Zhao et al., 2025). Penggunaan metode ELISA untuk testosteron biasanya mengadopsi format kompetitif. Pada tahap awal, mikroplat dengan permukaan polistirena dilapisi dengan antibodi spesifik terhadap testosteron. Sampel yang mengandung testosteron bebas kemudian ditambahkan ke dalam sumur, bersamaan dengan testosteron berlabel enzim sebagai kompetitor. Kedua bentuk testosteron, baik yang ada dalam sampel maupun yang terkonjugasi dengan enzim, akan bersaing untuk berikatan dengan situs aktif antibodi yang terbatas jumlahnya. Semakin tinggi konsentrasi testosteron dalam sampel, semakin sedikit testosteron berlabel enzim yang dapat berikatan. Setelah tahap inkubasi untuk memungkinkan ikatan antigen-antibodi terjadi secara optimal, sumur dicuci untuk menghilangkan komponen yang tidak berikatan, kemudian ditambahkan substrat spesifik untuk enzim, seperti 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). Enzim yang terikat pada antibodi akan mengkatalisis perubahan substrat menjadi produk berwarna. Intensitas warna yang dihasilkan berbanding terbalik dengan konsentrasi testosteron dalam sampel karena prinsip kompetisi: semakin banyak testosteron dalam sampel, semakin sedikit enzim yang berikatan dan semakin rendah sinyal warna yang terbentuk. Hasil absorbansi kemudian dibaca menggunakan spektrofotometer mikroplat pada panjang gelombang tertentu, biasanya sekitar 450 nm, dan kadar testosteron dihitung berdasarkan kurva standar yang dibuat dari serangkaian konsentrasi testosteron diketahui. Penggunaan ELISA untuk penentuan testosteron menawarkan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, sekaligus memungkinkan analisis dalam throughput yang besar dan biaya yang relatif lebih rendah dibandingkan metode lain seperti LC-MS/MS. Namun, akurasi ELISA sangat bergantung pada kualitas antibodi yang digunakan, kondisi reaksi, serta validasi kurva standar. Selain itu, pengaruh faktor interferensi seperti komponen serum lain atau reaktivitas silang dengan hormon steroid serupa perlu diperhitungkan untuk menghindari hasil positif palsu (Verma et al., 2022).

## 4. KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) yang diberikan sendiri pada dosis 50 mg/kg berat badan mampu meningkatkan kadar hormon testosteron secara signifikan pada tikus jantan. Ini menjadi temuan penting karena memperkuat bukti bahwa biji pinang punya potensi sebagai bahan alami untuk membantu mengatasi masalah yang berkaitan dengan hormon testosteron, seperti disfungsi ereksi. Sebaliknya, campuran antara ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) dan biji pinang dalam rasio 1:1 ternyata tidak memberikan efek yang diharapkan. Bahkan, kadar testosteron justru cenderung lebih rendah dibandingkan pemberian biji pinang saja. Ini menunjukkan bahwa gabungan dua tanaman ini tidak saling mendukung dalam meningkatkan kadar hormon tersebut. Salah satu keterbatasan dari penelitian ini adalah belum dicobanya variasi dosis yang lebih luas, serta belum ditelitinya lebih dalam bagaimana sebenarnya mekanisme kerja dari masing-masing ekstrak. Penelitian ini berhasil menjawab pertanyaan utama bahwa kombinasi pare dan pinang tidak efektif meningkatkan testosteron, sementara ekstrak pinang sendiri justru menjanjikan. Temuan ini bisa menjadi langkah awal untuk mengembangkan obat herbal yang lebih aman dan berbasis bukti untuk membantu pria yang mengalami gangguan hormonal.

## REFERENCES

- Adedokun, O., Gbolade, A., & Ayinde, B. (2022). 13, 14-Epoxyoleanan-3-ol-acetate: A Male Fertility-Enhancing Constituent from Hexane Fraction of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(2), 180–186. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2021.48264>

- Akmal, M., Adam, M., Toras, M., & Triva Murtina Lubis (2015). The Effect of Pegagan Leaf Extract (*Centella asiatica* (L.) Urban) Administration on Testosterone Concentration of Male White Rats (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(1); 40–43.
- Ansari, A., Mahmood, T., Bagga, P., Ahsan, F., Shamim, A., Ahmad, S., Shariq, M., & Parveen, S. (2021). *Areca catechu*: A phytopharmacological legwork. In *Food Frontiers* (Vol. 2, Issue 2, pp. 163–183). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/fft2.70>
- Barone, B., Napolitano, L., Abate, M., Cirillo, L., Reccia, P., Passaro, F., Turco, C., Morra, S., Mastrangelo, F., Scarpato, A., Amicuzi, U., Morgera, V., Romano, L., Calace, F. P., Pandolfo, S. D., De Luca, L., Aveta, A., Sicignano, E., Trivellato, M., Crocetto, F. (2022). The Role of Testosterone in the Elderly: What Do We Know? In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23073535>
- Birowo, P., Deswanto, I. A., & Rasyid, N. (2019). Epidemiology of erectile dysfunction: A cross-sectional web-based survey conducted in an Indonesian national referral hospital. *F1000Research*, 8, 817. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18930.1>
- Brunetti, P., Lo Faro, A. F., Tini, A., Busardò, F. P., & Carlier, J. (2020). Pharmacology of herbal sexual enhancers: A review of psychiatric and neurological adverse effects. In *Pharmaceuticals* (Vol. 13, Issue 10, pp. 1–52). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ph13100309>
- Djohari, M., Fernando, A., SAFITRI Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, A., Kamboja, J., & Baru Panam, S. (2020). Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap Isolat Bakteri Gigi (Inhibition Activity Of Ethanol Extract Of *Areca catechu* L. Against Isolation Of Tooth's Bacteria). *JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, 18(1), 81–87.
- Hendry, Z., & Fahmi, R. (2023). Effect of giving Extract Ethanol from Bitter Gourd Fruit (*Momordica Charantia* L) on the Quality and Quantity of Mouse Spermatozoa (*Mus Musculus*). *International Journal of Medicine and Health (IJMH)*, 2(3). <https://doi.org/10.55606/ijmh.v2i2.2195>
- Ide, H. (2023). *State-of-the-Art Review in Endocrinology* (Vol. 2023, Issue 7).
- Lee, K. S., Kim, H. P., Park, H. J., Young & Yoon, G. (2021). *Improvement of testosterone deficiency by fermented Momordica charantia extracts in aging male rats*. <https://doi.org/10.1007/s10068>
- Maidy Belanita, P. (2023). PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH PARE (*Momordica charantia* L.) MENURUNKAN KUALITAS SPERMATOZOA PADA TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Keperawatan Suaka Insan (JKSI)*, 8(2).
- Medicina, B., Totong Kamaluddin, M., & Parisa, N. (2019). Aphrodisiac Effects of Areca Fruit in Erectile Dysfunction Rat Model. In *Bioscientia Medicina* (Vol. 3, Issue 3). [www.biosmed.com](http://www.biosmed.com)
- Michaëlle, C., Cheikna, Z., Durand, D.-N., Mihaëla, C., Pacôme, N., Ioana, O. G., Bianca, F., Aly, S., Rodica, M. D., Lamine, B.-M., & Farid, B.-M. (2020). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Momordica charantia* L. and *Morinda lucida* Benth extracts from Benin. *African Journal of Microbiology Research*, 14(8), 426–435. <https://doi.org/10.5897/ajmr2020.9347>
- Santoso, H., & Zen, S. (2023). *PROSIDING SNPPM-5 (Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat) Tahun 2023 Universitas Muhammadiyah Metro Halaman | 64 BIOPROSPEKSI TANAMAN APHRODISIAK INDONESIA*. <https://prosiding.ummetro.ac.id/index.php/snppm>
- Sarapi, V. A., Bodhi, W., & Citraningtyas, G. (2015). UJI EFEK AFRODISIAK EKSTRAK ETANOL BUAH PARE (*Momordica charantia* L.) TERHADAP LIBIDO TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*). In *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(3).
- Setiawan, H., & Subagja, R. A. (2023). Pengaruh Pemberian Jus Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Kualitas Sperma dan Histologi Testis Tikus Wistar. *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 17(1), 10–20. <https://doi.org/10.15408/kaunyah.v16i2.1.23216>
- Sofia, V., & Saiful Bachri, M. (2023). Pengaruh Campuran Ekstrak Etanol Pare (*Momordica charantia* L.) dan Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap Kadar e-NOS Tikus Putih. *Jurnal Farmasi Higea*, 15(1). [www.jurnalfarmasihigea.org](http://www.jurnalfarmasihigea.org)
- Soliman, G. A., Abdel-Rahman, R. F., Ogaly, H. A., Althurwi, H. N., Abd-Elsalam, R. M., Albaqami, F. F., & Abdel-Kader, M. S. (2020). *Momordica charantia* Extract Protects against Diabetes-Related Spermatogenic Dysfunction in Male Rats: Molecular and Biochemical Study. *Molecules*, 25(12). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25225255>
- Svobodova, B., Barros, L., Calhelha, R. C., Heleno, S., Alves, M. J., Walcott, S., Bittova, M., Kuban, V., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Bioactive properties and phenolic profile of *Momordica charantia* L. medicinal plant growing wild in Trinidad and Tobago. *Industrial Crops and Products*, 95, 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.046>
- Tumkiratiwong, P., Ploypattarapinyo, R., Pongchairerk, U., & Thong-asa, W. (2014). Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. In *Iran J Reprod Med*, 12(10)
- Verma, D., Shrivastav, T. G., & Thakur, S. C. (2022). Homologous ELISA for detection of 17 $\alpha$ -methyltestosterone in serum. *International Journal of Health Sciences*, 6(6), 6457–6474. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns6.11036>
- Wang, X., Huang, L., Zhao, D., Qiu, J., & Ma, Y. (2024). *Research on the Changes in Catecholamine and Other Indicators during Different Training Phases in Female Volleyball Players*. *ORIGINAL RESEARCH*, 30(7)
- Zhao, G., Zhang, S., Zou, Y., Jia, N., Zheng, L., & Dong, J. (2025). Detection of testosterone based on the interaction between variable regions of antibody heavy chain and light chain. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2025.1499164>