

**PERBAIKAN KUALITAS MORFOLOGI SPERMATOZOA TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) JANTAN DIABETIK DENGAN PEMBERIAN
EKSTRAK DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.)**

Delta Aulia Afifah^{1*}, Cut Fauziah², Kristina Simanjuntak³, Muttia Amalia⁴

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, UPN “Veteran” Jakarta

²Departemen Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, UPN “Veteran” Jakarta

³Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, UPN “Veteran” Jakarta

⁴Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, UPN “Veteran” Jakarta

*Email: 2110211047@mahasiswa.upnvj.ac.id

Artikel diterima: 17 Januari 2025; Disetujui: 17 Maret 2025

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v10i1.2394>

Diabetes melitus (DM) meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menyebabkan komplikasi berbagai organ, termasuk organ reproduksi sehingga dapat menimbulkan abnormalitas pada morfologi sperma. Kerusakan akibat ROS dapat ditangani dengan senyawa antioksidan yang banyak terdapat pada tanaman, termasuk daun asam jawa. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perbaikan morfologi sperma tikus diabetik yang diberi ekstrak daun asam jawa. Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* dengan *post-test only control group design*. Sampel berupa 30 ekor tikus putih galur Wistar jantan yang berusia 10-12 minggu dan memiliki berat 150-200 gram. Tikus dipilih melalui metode *simple randomization* dan dibagi menjadi 5 kelompok. K1 diberi pakan dan minum standar, K2 diinjeksi aloksan dengan dosis sebesar 125 mg/kgBB, P1, P2, dan P3 diberi aloksan serta ekstrak masing-masing sebesar 75, 150, dan 300 mg/kgBB. Tikus diberi perlakuan selama 38 hari lalu diterminasi dan diambil organ epididimisnya. Hasil penelitian dengan *One Way Anova* menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak daun asam jawa terhadap morfologi sperma tikus putih jantan diabetik ($p=0.000$). Uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan dosis 150 mg/kgBB tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol normal ($p=0.420$) dan menghasilkan persentase morfologi sperma normal paling tinggi.

Kata kunci: Antioksidan, Diabetes Melitus, Ekstrak Daun Asam Jawa, Morfologi Spermatozoa

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) increases free radicals that can cause complications of several organs, including reproductive organ that cause abnormalities in sperm morphology. Damage caused by ROS can be treated with antioxidant compounds that are widely found in plants, including tamarind leaves. This study was aimed to

see the improvement in sperm morphology of diabetic rats given tamarind leaf extract. This experimental study used a true experimental method with post-test only control group design. The samples were 30 male Wistar strain white rats aged 10-12 weeks, weighing 150-200 grams. Rats were selected through simple randomization method and divided into 5 groups. K1 was given standard drinking food, K2 was induced with alloxan dose of 125 mg/kgBW, P1, P2, and P3 were given alloxan and extracts of 75, 150, and 300 mg/kgBW respectively. Rats were treated for 38 days and then terminated and epididymis were dissected. The results of the study with One Way Anova showed that there is an of administering tamarind leaf extract on the sperm morphology of diabetic male rats ($p=0.000$). Post Hoc Bonferroni test showed that the 150 mg/kgBW dose did not significantly different with the normal control ($p=0.420$) and produced the highest percentage of normal sperm morphology.

Keywords: Antioxidant, Diabetes Mellitus, Sperm Morphology, Tamarind Leaf Extract

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolik akibat sekresi atau kerja insulin yang tidak normal dan ditandai dengan hiperglikemia kronis serta gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (WHO, 2023). International Diabetes Federation (IDF) melaporkan bahwa total 537 juta orang di seluruh dunia dan 19,5 juta orang di Indonesia menderita DM pada tahun 2021 (Magliano & Boyko, 2021). DM dapat menimbulkan komplikasi berupa infertilitas pada pria akibat gangguan pada *Hypothalamus Pituitary Gonadal Axis* (HPG axis), spermatogenesis, dan disfungsi ereksi (Huang *et al.*, 2024). Sebuah

penelitian menunjukkan bahwa 35,1% pria dengan infertilitas menderita DM tipe 2 (Imani *et al.*, 2021). Pria yang menderita DM memiliki perbedaan parameter sperma, meliputi morfologi, motilitas, dan konsentrasi jika dibandingkan dengan pria yang sehat (Condorelli *et al.*, 2018). Morfologi sperma termasuk salah satu faktor penting untuk keberhasilan fertilisasi. Sperma memerlukan morfologi yang sempurna agar bisa membentuk ikatan dengan zona pelusida dan melakukan fusi dengan oosit (Aitken & Baker, 2020). Sebuah studi menunjukkan bahwa pria berusia 25 hingga 55 tahun yang menderita DM

selama 10 tahun atau lebih terbukti mengalami penurunan morfologi sperma yang normal (Shingne *et al.*, 2019). Hal ini diakibatkan karena DM dapat menyebabkan gangguan spermatogenesis akibat disfungsi pada HPG *axis* yang menyebabkan abnormalitas dari sekresi hormon-hormon reproduksi, seperti FSH, LH dan testoteron (Dhindsa *et al.*, 2018). DM juga menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menginduksi peroksidasi lipid sehingga terjadi kerusakan pada sel sperma, termasuk struktur dan morfologinya (Aitken *et al.*, 2016).

Beberapa tanaman dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk berbagai masalah kesehatan, termasuk risiko infertilitas yang disebabkan oleh DM. Tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L.) diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang mampu berperan sebagai penangkal radikal bebas (Saikh *et al.*, 2017). Daun asam jawa mengandung senyawa flavonoid, seperti luteolin dan turunannya, orientin, quercetin, apigenin, vitexin, isorhamnetin, katekin, dan epikatekin yang merupakan antioksidan (Sookying *et al.*, 2022). Aktivitas

antioksidan pada daun asam jawa juga diketahui jauh lebih tinggi dibandingkan buahnya (Mbunde *et al.*, 2018). Senyawa antioksidan yang ada pada daun asam jawa dapat melindungi membran plasma spermatozoa dari ROS. Antioksidan mampu memutus reaksi berantai oksidatif dan mencegah fragmentasi DNA sperma sehingga meminimalisasi kerusakan pada sperma termasuk terjadinya defek morfologi (Qamar *et al.*, 2023). Penelitian oleh Maiti *et al.* (2017) melaporkan bahwa biji asam jawa dapat meningkatkan kualitas parameter sperma, meliputi jumlah, motilitas, dan viabilitas sperma, Penelitian lain oleh Saleh *et al.* (2021) menunjukkan adanya perbaikan pada morfologi sperma tikus putih diabetik yang diberi ekstrak buah asam jawa.

Sejauh ini penelitian tentang efek daun asam jawa terhadap perbaikan morfologi sperma tikus diabetik belum dilakukan sehingga peneliti tertarik melakukan penelitian untuk melihat ada atau tidaknya perbaikan kualitas morfologi sperma tikus (*Rattus norvegicus*) jantan diabetik setelah diberi ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.)

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan instrumen berupa kandang hewan coba, peralatan makan dan minum hewan coba, timbangan, spuit 10cc, sonde lambung, papan bedah, alat bedah minor, pipet, mikroskop, *object glass* dan *cover glass*, *hand counter*, serta alat tulis.

Bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan berusia 10-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram, pakan tikus standar, ekstrak daun asam jawa, aloksan, NaCl 0,9%, etanol, metanol, larutan giemsa, aquades, CMC 1%, dan ketamin.

Kode Etik Hewan Coba

Surat persetujuan etik (*ethical approval*) untuk hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta dengan nomor sertifikasi 367/IX/2024/KEP.

Pembuatan Ekstrak

Daun asam jawa didapatkan dari perkebunan di Ciparange, Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat.

Daun dipisahkan dari tangkainya, kemudian dicuci dan ditiriskan. Daun dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi bubuk. Setiap 100 gram bubuk daun asam jawa dilarutkan dalam 500 ml pelarut etanol selama tujuh hari dan diaduk terus menerus hingga terlarut sepenuhnya. Larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman hingga menghasilkan filtrat. Filtrat diekstraksi sekali lagi dengan prosedur yang sama lalu dikondensasikan menggunakan evaporator pada suhu 60°C. Ekstrak selanjutnya dikeringkan menggunakan vakum dan dimasukkan ke dalam lemari es pada suhu -4°C (Kuddus *et al.*, 2020).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan berupa uji kualitatif dengan metode tabung terhadap beberapa senyawa, meliputi flavonoid, tanin, saponin, steroid, alkaloid, triterfenoid, dan glikosida.

Perawatan Hewan Coba

Aklimatisasi dilakukan pada 30 ekor tikus galur Wistar jantan selama 7 hari. Aklimatisasi bertujuan agar tikus dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Tikus diletakkan pada kandang plastik dengan masing-masing kandang berisi 6 ekor tikus. Suhu ruangan berkisar antara 23-27°C dengan 12 jam pencahayaan terang dan 12 jam pencahayaan gelap. Tikus diberikan pakan dan minum standar sebanyak 1 kali sehari di pagi hari.

Induksi Aloksan

Tikus pada kelompok K2 dan kelompok perlakuan diinjeksi aloksan dengan dosis sebesar 125 mg/kgBB secara intraperitoneal (Delfita, 2024). Tikus dibiarkan selama 72 jam terlebih dahulu sebelum diperiksa kadar glukosanya melalui pembuluh vena pada ekor (tabel 1) (Elgazar, Aml F, 2019). Tikus dinyatakan diabetik apabila memiliki kadar gula darah ≥ 200 mg/dl (Alipin *et al.*, 2017).

Perlakuan Hewan Coba

Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan metode *simple randomization*. Setiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus. K1 hanya

diberikan pakan dan minum standar. K2 diinduksi aloksan dosis 125 mg/kgBB dan selanjutnya hanya diberi pakan dan minum standar. Kelompok P1, P2, dan P3 diinduksi aloksan 125 mg/kgBB kemudian diberi ekstrak daun asam jawa sebesar 75, 150, dan 300 mg/kgBB. Pemberian ekstrak daun asam jawa dilakukan selama 38 hari.

Penilaian Morfologi Spermatozoa

Tikus dibedah kemudian diambil organ epididimisnya. Epididimis dicacah dan dicampur dengan NaCl 0,9% lalu dimasukkan ke dalam tabung. Suspensi sperma ditetaskan pada *object glass* lalu dikeringkan di udara. Apusan selanjutnya difiksasi menggunakan metanol kemudian ditetesi giemsa dan ditunggu selama 20 menit. Apusan dibilas dengan air lalu ditutup *cover glass*. Preparat selanjutnya diamati dengan mikroskop perbesaran 1000x. Perhitungan morfologi spermatozoa dilakukan dengan menghitung jumlah morfologi normal pada setiap 200 sperma lalu hasil perhitungan diubah dalam bentuk persentase untuk selanjutnya dilakukan analisis data (WHO, 2021).

Tabel 1. Rerata Gula Darah Sebelum dan Sesudah Perlakuan

| Kelompok | Gula Darah Sebelum | Gula Darah Sesudah | Gula Darah Sesudah |
|----------|----------------------------|----------------------------|--------------------|
| | Induksi Aloksan (mg/dl) | Induksi Aloksan (mg/dl) | Perlakuan (mg/dl) |
| K1 | 84 | - | 109 |
| K2 | 92 | 245 | 102 |
| P1 | 92 | 252 | 112 |
| P2 | 112 | 262 | 116 |
| P3 | 101 | 341 | 103 |

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *software* SPSS dengan uji *One Way Anova* kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Fitokimia

Tabel 2. Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

| Kandungan Fitokimia | Hasil |
|------------------------|-------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | + |
| Saponin | + |
| Tanin | + |
| Fenolik | + |
| Glikosida | + |
| Steroid | + |
| Triterfenoid | + |

Keterangan :

Tanda (+) menunjukkan hasil positif

Penelitian oleh Senthilkumar *et al.* (2021) menunjukkan hasil serupa di mana tanaman asam jawa terbukti mengandung flavonoid, alkaloid,

fenol, tanin, dan terpenoid yang memiliki sifat antioksidan serta antidiabetik.

Morfologi Spermatozoa

Hasil menunjukkan rerata yang bervariasi antar setiap kelompok penelitian setelah diberikan ekstrak daun asam jawa selama 38 hari (tabel 2).

Tabel 3. Rerata Persentase Morfologi Normal Spermatozoa

| Kelompok | Mean (%) ± SD |
|-------------|---------------|
| Kontrol 1 | 67.17 ± 7 |
| Kontrol 2 | 40.80 ± 9,39 |
| Perlakuan 1 | 55.40 ± 6,07 |
| Perlakuan 2 | 58.83 ± 2,93 |
| Perlakuan 3 | 55.72 ± 7 |

Hasil selanjutnya dianalisis dengan uji statistik *One Way Anova* (tabel 3).

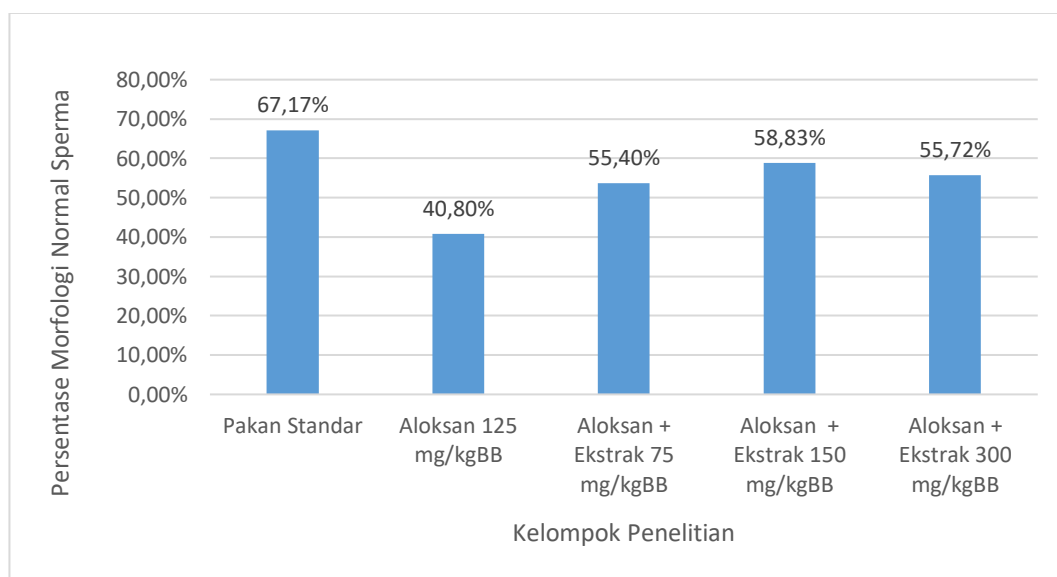
Tabel 4. Hasil Uji *One Way Anova*

| Uji Data | F | df | Sig. |
|----------------------|--------|----|------|
| <i>One Way ANOVA</i> | 10.875 | 4 | .000 |

Hasil *One Way Anova* menunjukkan nilai $p=0.000$ ($p>0.05$) yang berarti terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun asam jawa terhadap morfologi sperma tikus diabetik. Selanjutnya, uji *Post Hoc Bonferroni* dilakukan untuk melihat perbedaan signifikan dari masing-masing kelompok (tabel 4).

Uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan K2 yang hanya diinduksi aloksan. Hal ini berarti tikus yang diberi ekstrak daun asam jawa akan menunjukkan persentase morfologi normal sperma yang berbeda dengan tikus yang hanya diinduksi aloksan. Pemberian ekstrak memberikan hasil berupa peningkatan persentase morfologi

sperma normal dibandingkan K2 (gambar 1). Hal ini menerangkan bahwa ekstrak daun asam jawa dapat memperbaiki morfologi sperma tikus diabetik. Kelompok perlakuan tidak berbeda bermakna dengan K1 yang dianggap normal sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun asam jawa pada tikus diabetik akan menghasilkan persentase morfologi yang mirip dengan tikus normal. Kelompok P2 (150 mg/kgBB) memiliki rerata persentase tertinggi (58,83%) dan nilai signifikansi terhadap K1 paling tinggi ($p=0.420$) dibandingkan 2 dosis lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa dosis 150 mg/kgBB merupakan dosis yang paling optimal untuk memperbaiki morfologi sperma tikus diabetik.



Gambar 1. Rerata Persentase Morfologi Normal Spermatozoa

Tabel 5. Hasil Uji *Post Hoc* Bonferroni

| Kelompok | Kelompok | | | | |
|----------|----------|--------|--------|--------|--------|
| | K1 | K2 | P1 | P2 | P3 |
| K1 | - | 0.000* | 0.081* | 0.420 | 0.068 |
| K2 | 0.000* | - | 0.022* | 0.002* | 0.013* |
| P1 | 0.081 | 0.022* | - | 1.000 | 1.000 |
| P2 | 0.420 | 0.002* | 1.000 | - | 1.000 |
| P3 | 0.068 | 0.013* | 1.000 | 1.000 | - |

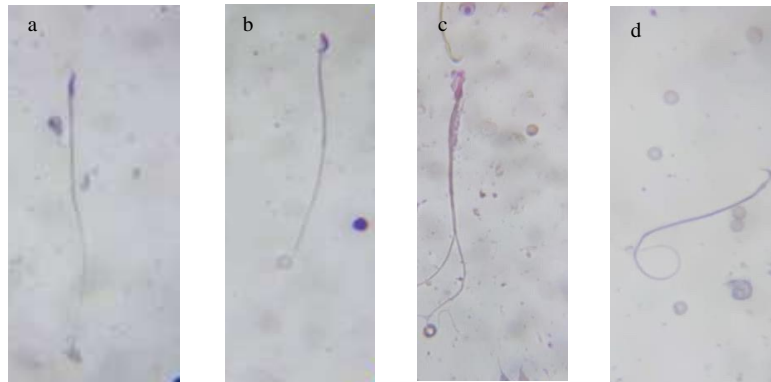
Keterangan : *Bermakna $p < 0.05$

Terdapat dua jenis abnormalitas yang dapat terjadi pada morfologi sperma, yakni abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer merujuk pada ketidaknormalan morfologi yang terjadi saat sperma masih dalam tahap spermatogenesis di tubulus seminiferus sedangkan abnormalitas sekunder terjadi pada saat sperma bergerak melewati saluran reproduksi dan dimatangkan di epididimis (Ariantie *et al.*, 2014). Gambaran abnormalitas morfologi sperma yang ditemukan pada penelitian ini mencakup kedua jenis abnormalitas, baik abnormalitas primer maupun sekunder.

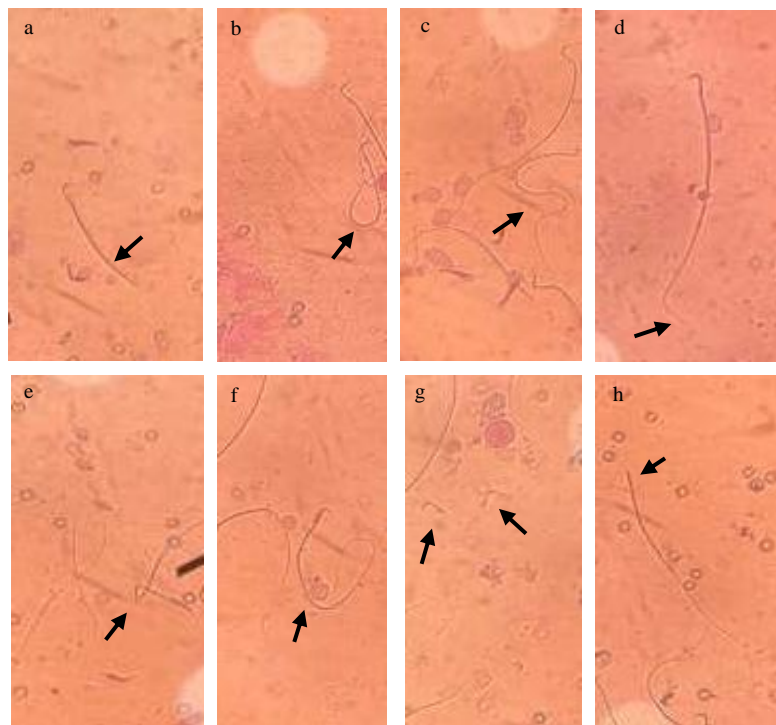
Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu, yakni oleh Sharma *et al.* (2018) yang melaporkan adanya perbaikan morfologi pada sperma mencit yang dipapar fluorida setelah diberi ekstrak

buah asam jawa. Penelitian oleh Maiti *et al.* (2017) juga menunjukkan hal serupa di mana ekstrak biji asam jawa dapat memperbaiki kualitas sperma, meliputi motilitas, jumlah, dan viabilitas sperma tikus diabetik.

Perbaikan morfologi sperma dapat diakibatkan oleh kandungan antioksidan yang terdapat pada daun asam jawa. Daun asam jawa terbukti mengandung berbagai senyawa antioksidan, termasuk flavonoid. Flavonoid dapat menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut menjadi lebih stabil dan mengurangi stress oksidatif (Hasan *et al.*, 2022). Flavonoid juga diketahui mampu menghambat enzim yang berperan dalam pembentukan radikal bebas (Lv *et al.*, 2021) serta meningkatkan enzim antioksidan dalam tubuh, seperti *superoxide dismutase* (SOD) dan *catalase* (CAT) (Deepika &



Gambar 2. Abnormalitas Morfologi Primer Spermatozoa Tikus
Keterangan : a) kepala lurus b) *detached head* c) ekor ganda d) ekor melingkar



Gambar 3. Abnormalitas Morfologi Sekunder Spermatozoa Tikus
Keterangan : a) ekor putus b) ekor melipat c) ekor bergelombang d) ekor bengkok e) bagian tengah melipat f) bagian utama melingkar g) kepala tanpa ekor h) tidak memiliki kepala

Maurya, 2022). Disfungsi spermatogenesis yang terjadi akibat DM juga dapat diperbaiki oleh flavonoid karena flavonoid mampu meningkatkan proliferasi dan mencegah apoptosis sel Sertoli

sehingga dapat mendukung proses spermatogenesis (Amidi *et al.*, 2016). Flavonoid juga mampu meningkatkan kadar testoteron karena dapat memicu terjadinya steroidogenesis dan memperbaiki fungsi sel *Leydig*

lewat jalur persinyalan *cAMP-dependent Protein Kinase-A* (cAMP/PKA) dengan cara menghambat transduksi sinyal *Cyclooxygenase-2* (COX-2) (Couture *et al.*, 2020).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian adalah ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dapat memperbaiki morfologi sperma tikus diabetik dengan dosis paling optimal adalah 150 mg/kgBB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran UPN “Veteran” Jakarta dan Laboratorium Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjajaran yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aitken, R. J., & Baker, M. A. (2020). The Role of Genetics and Oxidative Stress in the Etiology of Male Infertility—A Unifying Hypothesis? *Frontiers in Endocrinology*, 11, 581838. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.581838>
- Aitken, R. J., Gibb, Z., Baker, M. A., Drevet, J., & Gharagozloo, P. (2016). Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*, 28(2), 1. <https://doi.org/10.1071/RD15325>
- Alipin, K., Sari, E. P., Madihah, M., Setiawati, T., Ratningsih, N., & Malini, D. M. (2017). Kidney histology in streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats treated with combined extract of temulawak rhizome and belimbing wuluh fruit. *Nusantara Bioscience*, 9(3), 312–317. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n090312>
- Amidi, F., Pazhohan, A., Shabani Nashtaei, M., Khodarahmian, M., & Nekoonam, S. (2016). The role of antioxidants in sperm freezing: A review. *Cell and Tissue Banking*, 17(4), 745–756. <https://doi.org/10.1007/s10561-016-9566-5>
- Ariantje, O. S., Yusuf, T. L., Sajuthi, D., & Arifiantini, R. I. (2014). Kualitas Semen Cair Kambing Peranakan Etawah dalam Modifikasi Pengencer Tris dengan Trehalosa dan Rafinosa. *Indonesia Veterinary Journal*, Vol 15 No 1.
- Condorelli, R. A., La Vignera, S., Mongioì, L. M., Alamo, A., & Calogero, A. E. (2018). Diabetes Mellitus and Infertility: Different Pathophysiological Effects in Type 1 and Type 2 on Sperm Function. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 268. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00268>

- Couture, R., Mora, N., Al Bittar, S., Najih, M., Touaibia, M., & Martin, L. J. (2020). Luteolin modulates gene expression related to steroidogenesis, apoptosis, and stress response in rat LC540 tumor Leydig cells. *Cell Biology and Toxicology*, 36(1), 31–49. <https://doi.org/10.1007/s10565-019-09481-9>
- Deepika, & Maurya, P. K. (2022). Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules*, 27(8), 2498. <https://doi.org/10.3390/molecules27082498>
- Delfita, R. (2024). Optimization of Glucose Loading Time and Alloxan Dosage for Inducing Stable Diabetes. *Universitas Islam Negeri Mahmud Yunus Batusangkar*.
- Dhindsa, S., Ghanim, H., Batra, M., & Dandona, P. (2018). Hypogonadotropic Hypogonadism in Men With Diabetes. *Diabetes Care*, 41(7), 1516–1525. <https://doi.org/10.2337/dc17-2510>
- Elgazar, Aml F. (2019). The Potential Protective Roles of Tamarind Fruit Pulp Aqueous Extract Against Hyperglycemic and Testicular Toxicity in Alloxan Induced-Diabetic Male Rats. *Journal of the College of Specific Education for Educational and Specific Studies*, 10(2), 35–58. <https://doi.org/10.21608/sjse.2022.120347.1140>
- Hasan, A. A., Tatarskiy, V., & Kalinina, E. (2022). Synthetic Pathways and the Therapeutic Potential of Quercetin and Curcumin. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14413. <https://doi.org/10.3390/ijms232214413>
- Huang, R., Chen, J., Guo, B., Jiang, C., & Sun, W. (2024). Diabetes-induced male infertility: Potential mechanisms and treatment options. *Molecular Medicine*, 30(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s10020-023-00771-x>
- Imani, M., Talebi, A. R., Fesahat, F., Rahiminia, T., Seifati, S. M., & Dehghanpour, F. (2021). Sperm parameters, DNA integrity, and protamine expression in patients with type II diabetes mellitus. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 41(3), 439–446. <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1744114>
- Kuddus, S. A., Bhuiyan, M. I., Subhan, N., Shohag, M. H., Rahman, A., Hossain, M. M., Alam, M. A., & Khan, F. (2020). Antioxidant-rich Tamarindus indica L. leaf extract reduced high-fat diet-induced obesity in rat through modulation of gene expression. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 68. <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00213-9>
- Lv, Q., Long, J., Gong, Z., Nong, K., Liang, X., Qin, T., Huang, W., & Yang, L. (2021). Current State of Knowledge on the Antioxidant Effects and Mechanisms of Action of Polyphenolic Compounds. *Natural Product Communications*, 16(7), 1934578X211027745.

- <https://doi.org/10.1177/1934578X211027745>
- Magliano, D., & Boyko, E. J. (2021). *IDF diabetes atlas* (10th edition). International Diabetes Federation.
- Maiti, R., Karak, P., & Ghosh, D. (2017). Diabetes-Induced Testicular Dysfunction Correction by Hydromethanolic Extract of *Tamarindus indica* Linn Seed in Male Albino Rat. *International Journal of Green Pharmacy*, 11(4).
- Mbunde, M., Mdegela, R. H., Laswai, H. S., & Mabiki, F. P. (2018). Quantification of phenolics, flavonoids and antioxidant activity of *Tamarindus indica* from selected areas in Tanzania. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 16(1), 22–28. <https://doi.org/10.13057/biofarm/f160103>
- Qamar, A. Y., Naveed, M. I., Raza, S., Fang, X., Roy, P. K., Bang, S., Tanga, B. M., Saadeldin, I. M., Lee, S., & Cho, J. (2023). Role of antioxidants in fertility preservation of sperm—A narrative review. *Animal Bioscience*, 36(3), 385–403. <https://doi.org/10.5713/ab.22.0325>
- Saikh, Z., Mujahid, M., Khalid, M., Noorul, H., Naesar, A., & Saba, P. (2017). Medicinal uses & pharmacological activity of *Tamarindus indica*. *Atom and Cell Publishers*. <http://www.wjpsonline.org/>
- Saleh, B., Mohammed, A. A., Yusuf, Z., & Musa, M. B. (2021). Effect of aqueous tamarind pulp extract on semen quality and testicular morphometry of Noiler Cocks in a hot dry environment. *Nigerian J. Anim. Sci.*
- Senthilkumar, N., Sumathi, R., Lenora, L. M. D., & Divya, G. (2021). Phytochemical properties and antioxidant activity of natural colourant extracted from Red tamarind *Tamarindus indica* var. *Rhodocarpa* in Tamilnadu. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 25 (3).
- Sharma, D., Sharma, S., Yadav, N., Sharma, S., & Sharma, K. P. (2018). Protective Role of Spirulina and Tamarind Fruit Pulp on Sperms of Flouride Exposed Swiss Albino Mice. *Indian Journal of Environmental Sciences*.
- Shingne, R. C., Naghate, G. R., Afroz, S., & Baig, A. (2019). Cross-Sectional Study of Semen Analysis in Type 2 Diabetic Men. *Medpulse - Research & Publication*, 9(1).
- Sookying, S., Duangjai, A., Saokaew, S., & Phisalprapa, P. (2022). Botanical aspects, phytochemicals, and toxicity of *Tamarindus indica* leaf and a systematic review of antioxidant capacities of *T. indica* leaf extracts. *Frontiers in Nutrition*, 9, 977015. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.977015>
- WHO. (2021). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Sixth Edition*. World Health Organization.