

Analysis of The Effectiveness of Nanocurcumin on TNF- α Expression and Lesion Diameter in Mice (*Mus musculus*) Induced with Endometriosis

Analisis Efektivitas *Nanocurcumin* Terhadap Ekspresi TNF- α Dan Diameter Lesi Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Endometriosis

Komang Ayu Vanessa Dharma ^{a*}, Florence Pribadi ^a and Irwin Priyatna Kusumah ^a

^a Faculty of Medicine, Ciputra University, Surabaya, East Java, Indonesia

*Corresponding Authors: koanessa@student.ciputra.ac.id

Abstract

Endometriosis is a chronic gynecological disease characterized by the growth of endometrial-like tissue outside the uterus, which triggers local inflammation and lesion progression. The pathological process involves increased proinflammatory cytokines, including TNF- α , and activation of proliferative and angiogenic pathways. Nanocurcumin, with higher bioavailability compared to conventional curcumin, is known to have the potential to modulate inflammation and inhibit ectopic tissue growth. This study aimed to analyze the effect of nanocurcumin at a dose of 10 mg/kgBW on TNF- α expression and endometriosis lesion diameter in endometriosis-induced mice. The laboratory experimental study used a post-test only control group design with three treatment groups (control, nanocurcumin after induction, and nanocurcumin before induction), each consisting of 10 mice. TNF- α expression was measured using the ELISA method, while lesion diameter was assessed macroscopically. Data analysis was performed using the Shapiro-Wilk normality test, Levene's homogeneity test, ANOVA, and Tukey's extended test. The results showed no significant difference in TNF- α levels between groups ($p = 0.933$). However, there was a significant difference in endometriosis lesion diameter ($p < 0.001$), with the nanocurcumin group showing the greatest lesion shrinkage compared to the control and other treatment groups. Nanocurcumin significantly reduced the diameter of endometriosis lesions in mice, although it did not significantly reduce serum TNF- α levels. These findings suggest that the therapeutic effects of nanocurcumin may be mediated through local mechanisms that are not fully reflected in serum biomarkers.

Keywords: Nanocurcumin, Endometriosis, TNF- α , Inflammation, Lesion Diameter.

Abstrak

Endometriosis merupakan penyakit ginekologi kronis yang ditandai oleh pertumbuhan jaringan mirip endometrium di luar uterus, yang memicu inflamasi lokal dan progresi lesi. Proses patologisnya melibatkan peningkatan sitokin proinflamasi, termasuk TNF- α , serta aktivasi jalur proliferasi dan angiogenik. *Nanocurcumin*, dengan bioavailabilitas yang lebih tinggi dibandingkan kurkumin konvensional, diketahui memiliki potensi modulasi inflamasi dan penghambatan pertumbuhan jaringan ektopik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh *nanocurcumin* dosis 10 mg/kgBB terhadap ekspresi TNF- α dan diameter lesi endometriosis pada mencit yang diinduksi endometriosis. Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain *post-test only control group* dengan tiga kelompok perlakuan (kontrol, *nanocurcumin* setelah induksi, dan *nanocurcumin* sebelum induksi), masing-masing terdiri dari 10 mencit. Ekspresi TNF- α diukur menggunakan metode ELISA, sedangkan diameter lesi dinilai secara makroskopis. Analisis data dilakukan menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk, homogenitas Levene, ANOVA, dan uji lanjut Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna kadar TNF- α antar kelompok ($p = 0,933$). Namun, terdapat perbedaan signifikan pada diameter lesi endometriosis ($p < 0,001$), di

mana kelompok *nanocurcumin* menunjukkan penyusutan lesi paling besar dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya. *Nanocurcumin* secara signifikan mengurangi diameter lesi endometriosis pada mencit, meskipun tidak menurunkan kadar TNF- α serum secara signifikan. Temuan ini menunjukkan bahwa efek terapeutik *nanocurcumin* mungkin dimediasi melalui mekanisme lokal yang tidak sepenuhnya tercermin dalam biomarker serum.

Kata kunci: *Nanocurcumin, Endometriosis, TNF- α , Inflamasi, Diameter Lesi.*



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 10/09/2025,
Revised: 02/01/2026
Accepted: 02/01/2026,
Available Online : 06/01/2026.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i1.1249>

Pendahuluan

Endometriosis merupakan penyakit ginekologi yang ditandai dengan terbentuknya jaringan mirip endometrium atau stroma endometrium diluar cavum uteri. Lesi endometriosis dapat tumbuh secara ektopik dan menyebabkan inflamasi kronis [1]. Menurut penelitian, endometriosis merupakan penyakit kronik yang sering menyerang perempuan usia produktif [2]. Berdasarkan data *World Health Organization* pada tahun 2023, endometriosis setidaknya menyerang 10% atau sekitar 190 juta populasi perempuan usia produktif di seluruh dunia. Karena sifatnya yang kronis, endometriosis sering menyebabkan gejala nyeri hebat yang dapat mengganggu kualitas hidup pasien. Gejala utama penyakit ini adalah infertilitas dan nyeri panggul. Gejala lainnya meliputi dismenore, perdarahan rahim tidak teratur, dispareunia, dan disuria [3]. *Guideline European Society of Human Reproduction and Embryology* menyatakan, endometriosis harus dicurigai jika terdapat gejala *dysmenorrhoea, dyspareunia, dyschezia*, hematuria, nyeri panggul, dan gejala sistemik seperti infertilitas. WHO melaporkan saat ini belum ada obat yang menyembuhkan, dan pengobatan hanya bertujuan untuk mengendalikan gejala, dan tentunya belum ada strategi pencegahan dari endometriosis. Akses terhadap diagnosis dini dan pengobatan efektif masih terbatas, terutama di negara berpenghasilan rendah dan menengah [4].

Endometriosis berkembang melalui interaksi kompleks antara faktor endokrin, imunologis, pro-inflamasi, dan proangiogenik. Secara patogenetik, tiga mekanisme utama berperan yaitu (1) menstruasi retrograd dimana sel endometrium mengalir balik ke rongga panggul, (2) metaplasia selomik yang mengubah sel peritoneum menjadi jaringan endometriotik, serta (3) penyebaran limfovaskular yang menjelaskan lesi ekstrapelvik. Ketiga proses ini memicu kaskade inflamasi kronis melalui aktivasi *innate immune system* [5]. Penelitian mengungkapkan bahwa makrofag yang teraktivasi akan mensekresi sitokin proinflamasi (IL-1 β , IL-8, TNF- α) secara berlebihan, menstimulasi proliferasi sel, angiogenesis melalui VEGF, dan resistensi apoptosis [6]. Endometriosis merupakan salah satu penyakit inflamasi kronis yang ditandai dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi, salah satunya TNF- α . Tingkat TNF- α yang tidak terkendali atau berlebihan, seperti yang terjadi pada endometriosis, dapat menyebabkan peradangan jangka panjang yang merusak jaringan sehat [7].

Nanocurcumin tidak hanya meningkatkan distribusi jaringan [8], tetapi juga efektif memodulasi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , yang krusial dalam patogenesis endometriosis [9]. Formulasi *nanocurcumin* menjadi solusi inovatif untuk mengatasi keterbatasan farmakokinetik kurkuminoid (kelarutan rendah, metabolisme cepat, dan bioavailabilitas sistemik yang buruk). Nanoteknologi terbukti meningkatkan bioavailabilitas kurkumin hingga 50 kali lipat [10], memungkinkan dosis lebih rendah dengan efek terapeutik optimal dan minim efek samping. Solusi unggulan yang diajukan adalah *nanocurcumin* berbasis *micelle* (lapis

lemak) untuk pencegahan primer lesi endometriosis. Inovasi ini membuka peluang baru dalam pengembangan dan pemanfaatan kurkumin, tidak hanya sebagai agen terapi, tetapi juga sebagai agen pencegahan penyakit. Bioaktivitas kurkuminoid tidak hanya mengatasi peradangan, tetapi juga berfungsi sebagai pelindung (*protective agent*) yang mencegah penyakit berkembang ke tahap lebih parah [11]. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek pemberian *nanocurcumin* sebelum dan sesudah induksi endometriosis terhadap kadar TNF- α serum dan diameter lesi pada mencit model endometriosis. Hipotesis pada penelitian ini adalah *nanocurcumin* mampu mengurangi ukuran lesi melalui mekanisme yang mungkin tidak secara langsung menurunkan TNF- α sistemik.

Metode Penelitian

Desain penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan mencit (*Mus musculus*) betina yang diinduksi endometriosis, dengan pengecekan *post-test only control group design*. Penelitian ini juga telah disetujui melalui Keterangan *Ethical Clearance* Nomor 005/EC/KEP-UC/XI/2025 yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Ciputra.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan digital (Ohaus) untuk pengukuran berat badan, spektrofotometer mikropate reader (BioTek ELx808) untuk pembacaan hasil uji ELISA, jangka sorong digital (Mitutoyo) untuk pengukuran diameter lesi, serta peralatan bedah dan sonde oral standar. Bahan utama terdiri dari 30 ekor mencit (*Mus musculus*) betina galur Swiss Webster, *nanocurcumin* hasil sintesis dari kurkumin murni (Merck), kit ELISA TNF- α (ELK Biotechnology), reagen anestesi (ketamin dan xilazin), larutan NaCl fisiologis 0,9%, serta pakan dan air minum standar untuk pemeliharaan hewan coba.

Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik *random sampling* untuk pengambilan sampel. *Random sampling* atau pengambilan sampel acak adalah teknik pemilihan sampel dari suatu populasi di mana setiap individu dalam populasi tersebut memiliki kesempatan yang sama atau probabilitas yang setara untuk terpilih menjadi anggota sampel. Metode ini merupakan salah satu jenis dari *probability sampling*, yang sangat disarankan dalam penelitian kuantitatif karena mampu mengurangi bias dan menghasilkan sampel yang representatif terhadap populasi [12]. Jumlah sampel yang akan digunakan pada penelitian dihitung berdasarkan jumlah kelompok penelitian. Perhitungan besar jumlah sampel menggunakan rumus Federer [13], Dengan tiga kelompok perlakuan, perhitungan besar sampel menggunakan rumus $(n-1)(t-1) \geq 15$ diperoleh nilai $n \geq 8,5$, sehingga digunakan 9 ekor mencit per kelompok. Setelah penambahan faktor koreksi 10%, jumlah sampel menjadi 10 ekor mencit per kelompok, sehingga total mencit yang digunakan adalah 30 ekor.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan Hewan Coba

Tahapan awal melibatkan pemilihan dan aklimatisasi hewan coba berupa mencit betina (*Mus musculus*) berusia 2-3 bulan dengan berat badan berkisar 20–30 gram. Mencit yang sehat dan tidak menunjukkan tanda-tanda stres atau penyakit dipelihara dalam kandang ber-AC (*air conditioner*) atau suhu cukup dingin dengan siklus terang-gelap 12 jam, diberi pakan standar dan air ad libitum. Masa aklimatisasi dilakukan selama 7 hari sebelum penelitian untuk menyesuaikan mencit terhadap lingkungan laboratorium.

2. Pembagian Kelompok Sampel

Setelah proses aklimatisasi, mencit dibagi secara acak ke dalam beberapa kelompok menggunakan metode *random sampling*. Kelompok tersebut terdiri dari Kelompok K (Kontrol), Kelompok N1 (*Nanocurcumin* Pasca-Induksi), Kelompok N2 (*Nanocurcumin* Pra-Induksi).

3. Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Mencit dalam kelompok perlakuan akan diberikan ekstrak kurkuminoid sesuai dosis yang ditentukan. Pemberian dilakukan secara oral menggunakan sonde selama periode tertentu, khusus kelompok perlakuan 2 diberikan sebelum induksi endometriosis, dan kelompok kontrol diberikan larutan CMC kemudian bersama kelompok 1 yang diberikan *nanocurcumin* akan diberikan hari ke 15 hingga hari ke-28 setelah proses induksi endometriosis selesai. Kelompok kontrol hanya diberikan aquades steril sebagai pelarut.

4. Pembuatan *Nanocurcumin*

Pembuatan nanokurkumin dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode gelasi ionik, dan tidak menggunakan metode nano misel. Metode gelasi ionik dipilih karena mampu menghasilkan nanopartikel yang stabil, biokompatibel, serta sesuai untuk sistem penghantaran senyawa hidrofobik seperti kurkumin. Seluruh proses sintesis nanokurkumin dikerjakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Proses pembuatan *nanocurcumin* menggunakan protokol gelasi ionik kurkumin dengan menggunakan komposisi konsentrasi chitosan, tripoliphospat (TPP), dan kurkumin (Merck no. 8.20354.0010) menggunakan perbandingan 5:1:1. Pada tahap awal adalah menyiapkan preparasi 60 mL, kemudian melarutkan masing-masing chitosan dalam 60 mL larutan asam asetat 1%, kemudian diaduk dengan kecepatan 1.000 rpm selama 30 menit. Setelah itu dilakukan sonifikasi selama 10 menit dan terakhir filtrasi dengan saring. Lalu untuk preparasi larutan TPP dimulai dengan menimbang sesuai perbandingan yang sama dengan larutan chitosan dan dilarutkan masing-masing dalam 5 mL aquadest.

Kemudian untuk preparasi larutan kurkumin adalah dengan cara menimbang sesuai perbandingan, lalu melarutkan masing-masing ke dalam 3 mL etanol 97% dan terakhir dilakukan sonifikasi selama 5 menit. Kemudian dilakukan sintesis nanopartikel kurkumin dengan cara melarutkan chitosan lalu dimasukkan ke dalam beaker glass dan dimulai pengadukan menggunakan magnetic stirrer. Kemudian larutan kurkumin dan larutan chitosan diaduk dengan kecepatan 1.000 rpm selama 30 menit dan terakhir ditambahkan larutan TPP dan diaduk sampai 3 jam dengan kecepatan 1.000 rpm. Langkah terakhir adalah membuat preparasi 20 mL larutan kurkumin kemudian dilarutkan dalam 5 mL etanol dan ditambahkan aquadest sebanyak 20 mL serta terakhir dilakukan sonikasi selama 75 menit. Terakhir dilakukan uji Particle Size Analysis (PSA).

Karakterisasi nanokurkumin dilakukan menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa nanokurkumin memiliki ukuran partikel dominan sekitar 310–313 nm, baik berdasarkan distribusi intensitas, jumlah, maupun volume partikel. Nilai $D_n(50)$ sebesar 310,7 nm mengindikasikan bahwa ukuran median partikel berada pada rentang nanometer. Namun demikian, nilai Polydispersity Index (PDI) sebesar 1,0 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang sangat heterogen, yang mengindikasikan adanya variasi ukuran partikel yang cukup besar dalam sistem.

5. Metode Induksi endometriosis

Induksi endometriosis pada mencit dilakukan menggunakan metode autotransplantasi jaringan uterus yang dimodifikasi dari metode yang dikemukakan oleh Vernon dan Wilson serta Cummings dan Metcalf. Mencit betina (*Mus musculus*) berusia 2–3 bulan dengan bobot badan ± 20 –30 gram terlebih dahulu diaklimatisasi selama minimal tujuh hari dalam kondisi lingkungan terkontrol. Jaringan endometrium diperoleh dari mencit donor yang dianestesi menggunakan kombinasi ketamin (80–100 mg/kgBB) dan xylazine (5–10 mg/kgBB) secara intraperitoneal, kemudian dilakukan eutanasia sesuai dengan kaidah etik penelitian hewan. Rongga abdomen dibuka secara aseptik dan uterus diambil secara utuh, dibersihkan dari jaringan lemak dan jaringan ikat sekitarnya, lalu dicuci menggunakan larutan NaCl 0,9% steril untuk menghilangkan sisa darah.

Uterus yang telah dibersihkan kemudian dibelah memanjang, dan jaringan endometrium dipisahkan secara hati-hati dari lapisan miometrium. Jaringan endometrium selanjutnya dicacah menjadi fragmen kecil berukuran $\pm 1 \text{ mm}^3$ dan disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9% steril sebagai media transplantasi. Mencit resipien dianestesi menggunakan protokol yang sama, kemudian dilakukan sayatan kecil pada dinding abdomen untuk membuka rongga peritoneum. Suspensi jaringan endometrium ditransplantasikan ke dalam rongga peritoneum, khususnya pada permukaan peritoneum atau mesenterium, sebelum rongga abdomen ditutup kembali secara berlapis.

Setelah prosedur transplantasi, mencit dipelihara tanpa perlakuan tambahan selama periode pembentukan lesi endometriosis. Lesi dibiarkan berkembang dan distabilkan selama kurang lebih 14 hari. Pada hari ke-15, mencit dirandomisasi ke dalam kelompok perlakuan dan mulai diberikan intervensi sesuai desain penelitian. Pemberian perlakuan dilakukan hingga hari ke-28, kemudian pada hari ke-29 seluruh mencit diterminasi untuk dilakukan pengambilan sampel darah serta evaluasi makroskopis diameter lesi endometriosis. Model induksi ini dipilih karena mampu menghasilkan lesi endometriosis yang stabil dan menyerupai karakteristik biologis endometriosis pada manusia, sehingga sesuai digunakan untuk evaluasi efektivitas terapi.

6. Pengambilan Sampel

Pada akhir periode perlakuan, semua mencit dianestesi dan dieutanasia secara etis. Dilakukan pembedahan untuk mengakses rongga abdominal dan mengidentifikasi serta mengukur lesi endometriosis secara makroskopis menggunakan kertas millimeter block atau mikroskop stereo. Lesi yang ditemukan

kemudian difiksasi dalam formalin 10% untuk analisis makroskopis. Selanjutnya, ekspresi TNF- α dievaluasi melalui metode ELISA (Merk ELK Biotechnology) dengan menggunakan antibodi spesifik terhadap TNF- α .

Analisis Data

Semua data yang diperoleh dalam penelitian ini akan dianalisis menggunakan program SPSS Windows 27.0. Tahap pertama analisis dilakukan melalui uji deskriptif, yang mencakup perhitungan nilai mean, median, standar deviasi (SD), serta penyajian boxplot untuk menggambarkan karakteristik distribusi pada masing-masing kelompok. Selanjutnya, dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk guna menentukan apakah data dalam setiap kelompok berdistribusi normal. Setelah itu, dilakukan uji homogenitas varians menggunakan Levene's Test untuk mengetahui apakah varians antar kelompok bersifat homogen. Berdasarkan hasil kedua uji tersebut, analisis perbandingan antar tiga kelompok dilakukan dengan menggunakan uji parametrik One-Way ANOVA apabila data berdistribusi normal dan memenuhi asumsi homogenitas; sebaliknya, apabila data tidak berdistribusi normal atau varians tidak homogen, maka digunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis sebagai alternatif analisis.

Hasil Dan Pembahasan

Setiap hasil pengukuran kemudian dikategorikan sesuai kelompok perlakuan dan dianalisis untuk melihat adanya perbedaan pola ekspresi TNF- α serta perubahan ukuran lesi antar kelompok. Secara umum, hasil penelitian menunjukkan adanya kecenderungan penurunan kadar TNF- α serta penyusutan diameter lesi pada kelompok yang menerima nanocurcumin, baik sebagai terapi setelah induksi maupun sebagai perlakuan sebelum induksi endometriosis. Pola perubahan ini selanjutnya dianalisis lebih lanjut untuk menentukan ada tidaknya perbedaan bermakna antar kelompok serta melihat potensi nanocurcumin sebagai agen antiinflamasi dan penghambat progresi endometriosis.

Statistik Deskriptif Parameter Penelitian

Tabel 1. Statistik Deskriptif

| Parameter | Kelompok | Mean | Median | Std. Deviation | Min | Max |
|---------------|----------|-------|--------|----------------|-------|-------|
| Tnf- α | K | 9.64 | 9.80 | 3.21 | 4.67 | 13.88 |
| | N1 | 9.00 | 7.41 | 3.91 | 4.67 | 14.81 |
| | N2 | 9.51 | 8.51 | 4.01 | 4.32 | 15.51 |
| Diameter | K | 32.89 | 33.23 | 13.42 | 14.17 | 58.75 |
| Lesi | N1 | 7.19 | 7.36 | 4.33 | 0.00 | 13.13 |
| | N2 | 20.32 | 19.20 | 6.92 | 12.01 | 32.08 |

Keterangan:

Kelompok K (Kontrol)

Kelompok N1 (Nanocurcumin Pasca-Induksi)

Kelompok N2 (Nanocurcumin Pra-Induksi)

Berdasarkan tabel 1 pada uji statistik deskriptif diketahui bahwa nilai rata-rata TNF- α pada ketiga kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang jauh. Kelompok kontrol negatif memiliki rerata TNF- α sebesar 9,64 pg/mL dengan nilai minimum 4,67 dan maksimum 13,88 serta standar deviasi 3,21. Pada kelompok *nanocurcumin*, nilai rata-rata TNF- α sedikit lebih rendah yaitu 9,00 pg/mL dengan rentang 4,67–14,81 dan standar deviasi 3,91. Sementara itu, kelompok perlakuan menunjukkan rerata 9,51 pg/mL, median 8,51, rentang 4,32–15,51, dan standar deviasi 4,01. Data ini menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α cenderung relatif mirip antar kelompok, tanpa perbedaan mencolok pada nilai rata-rata maupun rentangnya. Pada parameter diameter lesi perbedaan antar kelompok terlihat jauh lebih jelas. Kelompok kontrol negatif memiliki diameter lesi yang paling besar dengan rerata 32,89 mm, median 33,23 mm, rentang 14,17–58,75 mm, dan standar deviasi 13,42. Kelompok *nanocurcumin* menunjukkan diameter lesi yang jauh lebih kecil dengan rerata hanya 7,19 mm, median 7,36 mm, rentang 0,00–13,13 mm, dan standar deviasi 4,33, sehingga merupakan kelompok dengan lesi paling kecil. Kelompok perlakuan berada di posisi tengah dengan rerata diameter lesi 20,32 mm, median 19,20 mm, rentang 12,01–32,08 mm, dan standar deviasi 6,92. Hasil deskriptif ini menunjukkan bahwa pemberian *nanocurcumin* memiliki efek yang jauh lebih kuat terhadap penyusutan diameter lesi dibandingkan pengaruhnya terhadap kadar TNF- α .

Uji Prasyarat

1. Uji Normalitas

Uji Shapiro Wilk adalah sebuah metode atau rumus perhitungan sebaran data yang dibuat oleh shapiro dan wilk. Metode shapiro wilk adalah metode uji Normalitas yang efektif dan valid digunakan untuk sampel berjumlah kecil. Dasar pengambilan keputusan uji normalitas menggunakan shapiro-wilk ialah jika nilai Sig. $< (0,05)$, maka data tidak berdistribusi normal, apabila nilai Sig. $> (0,05)$, maka data berdistribusi normal

Tabel 2. Uji Normalitas

| Parameter | Kelompok | Shapiro Wilk | | |
|---------------|----------|--------------|----|-------|
| | | Statistic | df | Sig. |
| Tnf- α | K | 0.956 | 9 | 0.759 |
| | N1 | 0.870 | 8 | 0.152 |
| | N2 | 0.910 | 9 | 0.318 |
| Diameter | K | 0.936 | 10 | 0.512 |
| Lesi | N1 | 0.969 | 10 | 0.883 |
| | N2 | 0.941 | 10 | 0.565 |

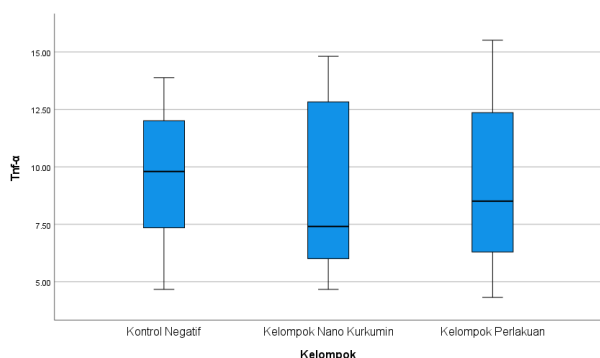
Keterangan:

Kelompok K (Kontrol)

Kelompok N1 (*Nanocurcumin* Pasca-Induksi)

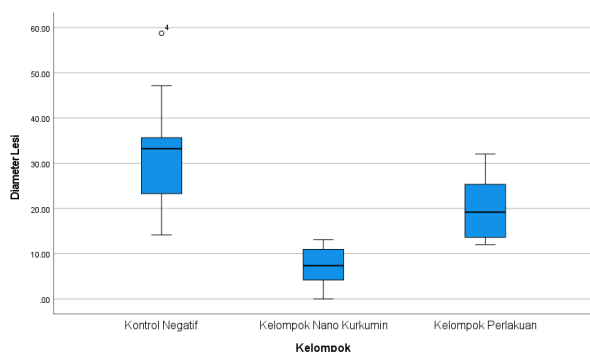
Kelompok N2 (*Nanocurcumin* Pra-Induksi)

Berdasarkan tabel 5.2 pada uji normalitas Shapiro-Wilk diketahui bahwa seluruh parameter baik TNF- α maupun diameter lesi pada ketiga kelompok menunjukkan nilai signifikansi (p-value) lebih besar dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data pada masing-masing kelompok berdistribusi normal. Distribusi data yang normal menandakan bahwa penyebaran nilai dalam tiap kelompok bersifat wajar dan tidak terdapat penyimpangan ekstrem yang dapat mengganggu analisis lanjutan. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas ini, maka uji parametrik seperti One-Way ANOVA dapat digunakan untuk membandingkan perbedaan rata-rata antar kelompok.



Gambar 1. Boxplot Normalitas TNF- α

Berdasarkan boxplot pada parameter TNF- α diketahui bahwa ketiga kelompok memiliki pola distribusi nilai yang relatif mirip dan tidak menunjukkan perbedaan mencolok. Pada kelompok kontrol negatif, nilai tengah (median) berada di sekitar 10 pg/mL dengan sebaran data dari sekitar 5 pg/mL hingga mendekati 14 pg/mL. Kelompok *nanocurcumin* menunjukkan median sedikit lebih rendah, sekitar 7–8 pg/mL dengan rentang nilai mulai dari 5 pg/mL hingga 15 pg/mL. Sementara itu, kelompok perlakuan memiliki median sekitar 9 pg/mL dengan sebaran antara 4–15 pg/mL. Pola persebaran yang cukup tumpang-tindih antar kelompok ini menggambarkan bahwa ekspresi TNF- α tidak banyak berubah meskipun diberikan *nanocurcumin*, dan hal ini konsisten dengan hasil ANOVA yang tidak menemukan perbedaan signifikan antar kelompok.



Gambar 2. Boxplot Normalitas Diameter Lesi.

Berdasarkan boxplot pada parameter diameter lesi diketahui adanya perbedaan distribusi yang jelas antar kelompok. Pada kelompok kontrol negatif, median diameter lesi berada di sekitar 33 mm dengan persebaran yang cukup luas dari 15 mm hingga lebih dari 45 mm, bahkan tampak satu titik outlier mendekati 60 mm. Kelompok *nanocurcumin* menunjukkan hasil yang jauh lebih rendah dengan median hanya sekitar 7 mm, dan sebaran yang sempit dari 0–13 mm, menandakan bahwa pemberian *nanocurcumin* efektif menurunkan ukuran lesi secara konsisten. Kelompok perlakuan memiliki median sekitar 19 mm dengan rentang 12–32 mm, menunjukkan penurunan lesi namun tidak sebesar pada kelompok *nanocurcumin*. Hasil boxplot ini menggambarkan bahwa efek *nanocurcumin* sangat nyata terhadap penyusutan diameter lesi endometriosis, sesuai dengan hasil ANOVA dan uji post-hoc yang menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok.

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas adalah pengujian mengenai sama tidaknya variansi-variansi dua buah distribusi atau lebih. Dasar pengambilan keputusan jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka distribusi data adalah homogen, apabila nilai signifikansi $< 0,05$ maka distribusi data adalah tidak homogen

Tabel 3. Uji Homogenitas

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | p-value |
|---------------|---------------|------------------|-----|-----|---------|
| TNF- α | Based on Mean | 0.094 | 2 | 27 | 0.910 |
| Diameter Lesi | Based on Mean | 2.564 | 2 | 27 | 0.599 |

Berdasarkan tabel 3 pada uji homogenitas diketahui bahwa seluruh parameter penelitian memiliki nilai p-value lebih besar dari 0,05, baik pada parameter TNF- α maupun diameter lesi. Hal ini berarti varian antar kelompok bersifat homogen atau seragam. Homogenitas varian merupakan salah satu prasyarat penting dalam uji ANOVA, sehingga hasil ini menunjukkan bahwa ketiga kelompok memiliki tingkat keragaman yang tidak berbeda secara signifikan. Dengan demikian, analisis perbedaan rata-rata antar kelompok dapat dilanjutkan menggunakan uji One-Way ANOVA secara valid.

Perbandingan TNF- α dan Diameter Lesi Antar Kelompok

Tabel 4. One Way Anova

| Parameter | Kelompok | Mean \pm SD | F hitung | p-value |
|---------------|----------|-------------------|----------|---------|
| Tnf- α | K | 9.64 \pm 3,21 | 0,070 | 0,933 |
| | N1 | 9.00 \pm 3,91 | | |
| | N2 | 9.51 \pm 4,01 | | |
| Diameter Lesi | K | 32.89 \pm 13,42 | 20,066 | 0,000 |
| | N1 | 7.19 \pm 4,33 | | |
| | N2 | 20.32 \pm 6,92 | | |

Keterangan:

Kelompok K (Kontrol)

Kelompok N1 (*Nanocurcumin* Pasca-Induksi)

Kelompok N2 (*Nanocurcumin* Pra-Induksi)

Berdasarkan tabel 4 pada uji One-Way ANOVA diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar TNF- α antar ketiga kelompok, ditunjukkan oleh nilai p-value sebesar 0,933 atau $> 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *nanocurcumin*, baik sebelum maupun setelah induksi endometriosis tidak memberikan pengaruh nyata terhadap perubahan kadar TNF- α . Selanjutnya pada parameter diameter

lesi ditemukan perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan nilai p-value 0,000 atau $< 0,05$. Hasil ini menunjukkan bahwa *nanocurcumin* memberikan efek nyata dalam mengurangi ukuran lesi endometriosis, di mana kelompok perlakuan menunjukkan diameter lesi lebih kecil dibanding kelompok kontrol dan kelompok *nanocurcumin* menunjukkan pengurangan lesi paling besar.

Pos Hoc Tukey

Tabel 5. Pos Hoc Tukey

| Kelompok | Kontrol Negatif | Kelompok Nano Kurkumin | Kelompok Perlakuan |
|---------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Tnf- α | 9.64 \pm 3,21 ^a | 9.00 \pm 7,90 ^a | 9.51 \pm 4,01 ^a |
| Diameter Lesi | 32.89 \pm 13,42 ^c | 7.19 \pm 4,33 ^a | 20.32 \pm 6,92 ^b |

Berdasarkan tabel 5 pada uji Post Hoc Tukey diketahui bahwa nilai rata-rata TNF- α pada masing-masing kelompok, yaitu 9,64 pg/mL pada kelompok kontrol negatif, 9,00 pg/mL pada kelompok *nanocurcumin*, dan 9,51 pg/mL pada kelompok perlakuan, menunjukkan huruf superscript yang sama (a). Kesamaan kode ini menandakan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar ketiga kelompok dalam hal kadar TNF- α . Dengan demikian, pemberian *nanocurcumin*, baik sebelum maupun sesudah induksi endometriosis, tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap variasi nilai TNF- α .

Pada parameter diameter lesi terlihat perbedaan yang jauh lebih jelas antar kelompok. Kelompok kontrol negatif memiliki rata-rata diameter lesi sebesar 32,89 mm dan dikategorikan dengan huruf “c”, menunjukkan ukuran lesi yang paling besar. Kelompok *nanocurcumin* memiliki rata-rata diameter lesi paling kecil, yaitu 7,19 mm, dan masuk kategori huruf “a”, menandakan penurunan lesi yang signifikan dibanding kelompok lainnya. Sementara itu, kelompok perlakuan berada di posisi tengah dengan rata-rata diameter lesi 20,32 mm dan diberi huruf “b”. Perbedaan notasi ini menunjukkan bahwa ketiga kelompok memiliki perbedaan diameter lesi yang signifikan satu sama lain. Hasil ini menjelaskan bahwa *nanocurcumin* memiliki efektivitas yang kuat dalam mengurangi ukuran lesi endometriosis.

Pembahasan

Perbedaan ekspresi TNF- α antar kelompok

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar TNF- α serum pada ketiga kelompok berada pada rentang yang relatif serupa, yaitu 9,64 pg/mL pada kelompok kontrol, 9,00 pg/mL pada kelompok *nanocurcumin*, dan 9,51 pg/mL pada kelompok perlakuan II. Uji statistik ANOVA mengonfirmasi bahwa perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik. Temuan ini mengindikasikan bahwa pemberian *nanocurcumin* dosis 10 mg/kgBB selama durasi penelitian belum mampu menurunkan kadar TNF- α pada sirkulasi sistemik secara signifikan.

Hasil non-signifikan ini perlu dikaji secara kritis. Salah satu kemungkinan penyebabnya adalah sensitivitas biomarker yang digunakan. TNF- α pada endometriosis diketahui lebih dominan diekspresikan secara lokal di lingkungan lesi, terutama pada cairan peritoneum dan jaringan endometrium ektopik, dibandingkan pada serum. Proses inflamasi pada endometriosis bersifat *site-specific*, sehingga perubahan biologis yang terjadi di tingkat jaringan belum tentu tercermin secara langsung pada sirkulasi sistemik [14]. Oleh karena itu, pengukuran TNF- α serum tunggal mungkin kurang sensitif untuk menangkap efek modulasi inflamasi oleh *nanocurcumin*.

Selain itu, dosis dan durasi pemberian *nanocurcumin* juga berpotensi memengaruhi hasil. Beberapa studi menunjukkan bahwa efek kurkumin terhadap penurunan TNF- α sangat bergantung pada konsentrasi, lama paparan, serta waktu pengambilan sampel. Dinamika TNF- α yang fluktuatif, dipengaruhi oleh fase siklus estrus mencit dan respons imun individual, juga dapat menjadi faktor pembaur yang menyebabkan variasi hasil. Dengan demikian, tidak tertutup kemungkinan bahwa dosis 10 mg/kgBB atau waktu terminasi penelitian belum optimal untuk menimbulkan perubahan TNF- α serum yang terdeteksi secara statistik.

Meskipun secara statistik tidak signifikan, rerata kadar TNF- α pada kelompok *nanocurcumin* cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Arah perubahan ini tetap konsisten dengan sifat antiinflamasi kurkuminoid, namun dalam konteks penelitian ini, temuan tersebut belum dapat dijadikan dasar kesimpulan kausal. Oleh karena itu, hasil ini sebaiknya dipandang sebagai indikasi biologis awal yang memerlukan konfirmasi lebih lanjut melalui pengukuran parameter inflamasi lokal, seperti ekspresi TNF- α jaringan lesi atau cairan peritoneum.

Perbedaan Diameter Lesi Endometriosis Antar Kelompok

Berbeda dengan hasil TNF- α serum, penelitian ini menunjukkan perbedaan yang sangat jelas pada diameter lesi endometriosis antar kelompok. Kelompok kontrol memiliki rerata diameter lesi terbesar (32,89 mm), sedangkan kelompok *nanocurcumin* menunjukkan penurunan diameter lesi yang sangat signifikan dengan rerata 7,19 mm. Kelompok perlakuan II berada di antara keduanya dengan rerata 20,32 mm. Hasil uji ANOVA ($p < 0,001$) dan uji lanjut Tukey mengonfirmasi bahwa seluruh kelompok berbeda secara bermakna.

Temuan ini menegaskan bahwa *nanocurcumin* memiliki efek nyata dalam menghambat perkembangan lesi endometriosis, meskipun tidak disertai penurunan TNF- α serum yang signifikan. Perbedaan ini menunjukkan bahwa efek utama *nanocurcumin* dalam penelitian ini kemungkinan bekerja melalui mekanisme lokal pada jaringan lesi, bukan melalui perubahan inflamasi sistemik yang terukur di serum.

Secara biologis, penyusutan diameter lesi dapat dijelaskan melalui beberapa mekanisme potensial. Kurkuminoid diketahui memiliki aktivitas anti-angiogenik dengan menekan ekspresi faktor pro-angiogenik seperti VEGF dan HIF-1 α , yang berperan penting dalam mempertahankan suplai vaskular lesi endometriosis [15]. Selain itu, kurkumin juga dilaporkan mampu menghambat proliferasi sel endometrium ektopik serta meningkatkan apoptosis melalui aktivasi jalur caspase dan modulasi jalur inflamasi [14]. Kombinasi penghambatan angiogenesis, penurunan proliferasi, dan peningkatan apoptosis dapat menjelaskan mengapa lesi mengalami penyusutan yang signifikan meskipun kadar TNF- α serum relatif tidak berubah. Namun demikian, mekanisme-mekanisme tersebut belum diukur secara langsung dalam penelitian ini dan oleh karena itu tidak dapat disimpulkan secara definitif. Hasil penelitian ini hanya menunjukkan efek akhir berupa penurunan diameter lesi, sementara jalur molekuler yang mendasarinya masih bersifat hipotesis dan memerlukan investigasi lanjutan.

Mekanisme Kurkuminoid dalam Modulasi Inflamasi, Proliferasi, Angiogenesis, dan Apoptosis pada Endometriosis

Kurkuminoid bekerja melalui berbagai jalur biologis yang saling berhubungan. Kurkuminoid sebagai agen anti-inflamasi menghambat aktivasi jalur NF- κ B yang merupakan regulator utama ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-8, chemokine, dan molekul adhesi sel [14]. Jalur ini berperan besar dalam memicu rekrutmen sel imun serta mempertahankan lingkungan peradangan kronis pada endometriosis. Inhibisi NF- κ B oleh kurkumin diteliti oleh Kim et al. yang menunjukkan bahwa modulasi jalur tersebut dapat menurunkan produksi berbagai mediator inflamasi [16]. Adanya hal tersebut kurkumin mampu mereduksi rangsangan inflamasi lokal yang menopang kelangsungan lesi endometriosis. Selain mengatur proses inflamasi, kurkumin juga memengaruhi kemampuan lesi untuk berkembang melalui hambatan terhadap angiogenesis.

Pada beberapa penelitian kurkumin terbukti menurunkan ekspresi faktor pertumbuhan pembuluh darah seperti VEGF dan HIF-1 α yang merupakan mediator penting dalam pembentukan suplai darah baru bagi jaringan ektopik. Efek ini mengakibatkan berkurangnya dukungan vaskular yang dibutuhkan lesi untuk mempertahankan pertumbuhan. Mekanisme ini sejalan dengan hasil penelitian Ding yang menunjukkan bahwa hambatan terhadap jalur angiogenik berkontribusi pada penyusutan ukuran lesi [15]. Kurkuminoid juga berperan dalam mendorong apoptosis sel endometrium ektopik. Mekanisme ini berlangsung melalui jalur intrinsik mitokondria, ditandai dengan peningkatan aktivitas caspase serta penurunan ekspresi protein anti-apoptosis seperti Bcl-2 [14]. Efek pro-apoptosis ini telah dijelaskan oleh Vallée dan dikonfirmasi lagi dalam model hewan melalui penelitian yang dilakukan oleh Jana dan Swarnakar yang menunjukkan bahwa kurkumin mampu mengarahkan sel abnormal menuju kematian terprogram sehingga lesi mengalami regresi struktural.

Pada penelitian ini meskipun tidak ditemukan penurunan signifikan kadar TNF- α serum, Hasil berupa penyusutan diameter lesi memberikan bukti kuat bahwa kurkuminoid telah bekerja pada proses lokal yang relevan. Sejalan dengan penjelasan Vallée, perubahan biologis pada endometriosis lebih dominan terjadi pada jaringan lokal dibandingkan tercermin pada biomarker serum [14]. Oleh karena itu, penurunan diameter lesi pada penelitian ini selaras dengan mekanisme kurkuminoid yang bekerja terutama pada tingkat jaringan.

Implikasi Terhadap Terapi Endometriosis dan Potensi Klinis

Berdasarkan hasil penelitian ini, bahwa *nanocurcumin* efektif dalam menurunkan diameter lesi endometriosis, tetapi tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap TNF- α serum. Hal ini menegaskan bahwa evaluasi efek terapi endometriosis sebaiknya tidak hanya bergantung pada biomarker sistemik, melainkan juga pada parameter lokal jaringan lesi.

Keterbatasan utama penelitian ini adalah penggunaan TNF- α serum sebagai satu-satunya indikator inflamasi serta tidak dilakukannya pemeriksaan molekuler atau histologis pada jaringan lesi. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengukuran langsung pada jaringan endometriosis, seperti imunohistokimia TNF- α , VEGF, atau caspase, serta analisis cairan peritoneum, guna memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai mekanisme kerja *nanocurcumin*. Dengan demikian, penelitian ini memberikan bukti awal bahwa *nanocurcumin* berpotensi menekan progresivitas lesi endometriosis, namun mekanisme biologis yang mendasarinya masih memerlukan eksplorasi lebih lanjut melalui pendekatan eksperimental yang lebih mendalam.

Kesimpulan

Pemberian nanocurcumin dosis 10 mg/kgBB terbukti efektif mengurangi ukuran lesi endometriosis pada mencit, namun tidak menurunkan kadar TNF- α serum secara signifikan. Efek terapeutik ini diduga bekerja melalui mekanisme lokal di jaringan, bukan melalui pengaturan peradangan sistemik. Hasil penelitian membuka peluang penggunaan nanocurcumin sebagai agen antilesi endometriosis, meski mekanisme pastinya perlu dikaji lebih lanjut.

Referensi

- [1] C. M. Becker *et al.*, 'ESHRE guideline: endometriosis', *Human Reproduction*, vol. 1, no. 1, 1–26, pp. 1–6.
- [2] B. Smolarz, K. Szyłło, and H. Romanowicz, 'Endometriosis: Epidemiology, classification, pathogenesis, treatment and genetics (review of literature)', *Int J Mol Sci* 22., 2021.
- [3] F. G. Martire *et al.*, 'Endometriosis and Adenomyosis : From Pathogenesis to Follow-Up', *Curr Issues Mol Biol*, vol. 47, pp. 1–8, 2025.
- [4] WHO, 'Endometriosis [WWW Document]', 2023.
- [5] D. Khairani, S. Ilyas, and Yurnadi, *PRINSIP DAN PRAKTIK HEWAN PERCOBAAN MENCIT (Mus musculus)*. Medan: USU Press, 2024.
- [6] R. Kapoor, C. A. Stratopoulou, and M. M. Dolmans, 'Pathogenesis of endometriosis: New insights into prospective therapies', *Int J Mol Sci*, vol. 22, pp. 1–14, 2021.
- [7] P. K. Wardani, D. R. Gunarti, and Y. Wulandari, 'Peran Flavonoid Terhadap Tnf Alpha Pada Endometriosis', *Jurnal Darma Agung*, vol. 31, p. 241, 2023.
- [8] A. Karthikeyan, N. Senthil, and T. Min, 'Nanocurcumin: A Promising Candidate for Therapeutic Applications', *Front Pharmacol*, vol. 11, 2020.
- [9] E. P. Hestianah, W. Widjati, J. M. Ntoruru, and M. Y. A. Widyanugraha, 'Administration of Nanocurcumin in Mice Models of Endometriosis as an Effort to Improve Folliculogenesis', *Biomedical and Pharmacology Journal*, vol. 17, pp. 939–947, 2024.
- [10] Z. Liu, J. D. Smart, and A. S. Pannala, 'Recent developments in formulation design for improving oral bioavailability of curcumin: A review', *J Drug Deliv Sci Technol*, 2020.
- [11] F. Sharifipour, S. F. Siahkal, K. Qaderi, Z. Mohaghegh, M. Zahedian, and F. Azizi, 'Effect of Curcumin on Dysmenorrhea and Symptoms of Premenstrual Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis', *Korean J Fam Med*, vol. 96, pp. 96–104, 2024.
- [12] D. Firmansyah and Dede, 'Teknik Pengambilan Sampel Umum dalam Metodologi', *Jurnal Ilmiah Pendidikan Holistik (JIPH)*, vol. 1, pp. 85–114, 2022.
- [13] M. D. T. Lala and D. R. Sari, 'Perbandingan Gambaran Histologis Lapisan Piramidalis Area Ca1 Hipokampus Mus Musculus yang Dipapar Radiasi Gelombang Elektromagnetik Telepon Seluler 3G dan 4G', *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, vol. 5, pp. 1279–1290, 2023.
- [14] A. Vallée and Y. Lecarpentier, 'Curcumin and endometriosis', *Int J Mol Sci*, vol. 21, pp. 1–18, 2020.
- [15] J. Ding, S. Mei, W. Cheng, Z. Ni, and C. Yu, 'Curcumin treats endometriosis in mice by the HIF signaling pathway', *Am J Transl Res*, vol. 14, pp. 2184–2198, 2022.
- [16] S. Y. Kim, Y. Y. Kyaw, M. S. Seong, K. H. Kim, and J. Cheong, 'Curcumin suppresses an endometrial cell inflammation through inhibition of SREBP-1', *Integr Mol Med*, vol. 6, pp. 1–6, 2019.