

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM
(*Piper nigrum* L.) TERHADAP FUNGSI EREKSI DAN JUMLAH SEL
LEYDIG TIKUS PUTIH JANTAN MODEL HIPERGLIKEMIA**

Oleh

**FAZA HASBULLAH
2158011012**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM
(*Piper nigrum* L.) TERHADAP FUNGSI EREKSI DAN JUMLAH SEL
LEYDIG TIKUS PUTIH JANTAN MODEL HIPERGLIKEMIA**

Oleh

FAZA HASBULLAH

2158011012

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar

SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM (*Piper nigrum* L.) TERHADAP FUNGSI EREKSI DAN JUMLAH SEL LEYDIG TIKUS PUTIH JANTAN MODEL HIPERGLIKEMIA**

Nama Mahasiswa : **Faza Hasbullah**

No. Pokok Mahasiswa : **2158011012**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**




dr. Exsa Hadibrata, S.Ked., Sp. U
NIP. 198612082010121000


dr. Diana Mayasari, MKK., Sp. KKLP
NIP. 198409262009122002

2. Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

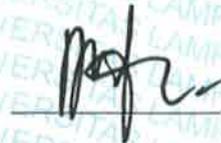
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. Exsa Hadibrata, S.Ked, Sp. U



**Sekretaris : dr. Diana Mayasari, MKK,
Sp. KKL**



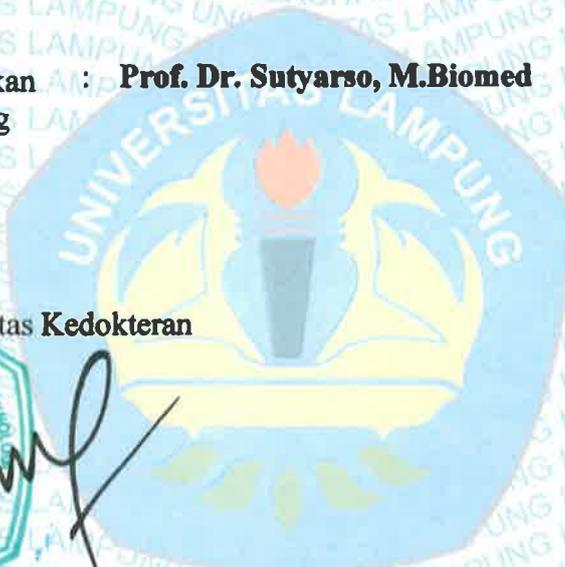
Penguji Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evl Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP. 197601202003122001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi 14 Januari 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul " **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM (*Piper nigrum* L.) TERHADAP FUNGSI EREKSI DAN JUMLAH SEL LEYDIG TIKUS PUTIH JANTAN MODEL HIPERGLIKEMIA**" adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiat.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 4 Januari 2025
Pembuat Pernyataan,

A handwritten signature in black ink is written over a yellow rectangular stamp. The stamp contains the text 'METERAI TEMPEL' and a serial number '05AMX071404425'. The signature is written in a cursive style.

Faza Hasbullah

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir dan besar di Kota Bandung, Jawa Barat pada tanggal 21 April 2003. Merupakan anak bungsu dari dua bersaudara dari Bapak Hasbullah dan Ibu Henny Indriani. Penulis mengenyam pendidikan Taman Kanan-kanak di TK Amalina dan melanjutkan sekolah dasar di SDN Andir Kidul kemudian lulus pada tahun 2015. Penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 5 Bandung dan lulus pada tahun 2018. Penulis lalu diterima di SMAN 3 Bandung dan lulus pada tahun 2021.

Penulis melanjutkan pendidikan di perguruan tinggi negeri Universitas Lampung pada Program Studi Pendidikan Dokter. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam lembaga kemasiswaan BEM FK Unila dan PMPATD PAKIS Rescue Team. Penulis juga diamahkan untuk menjadi sekretaris divisi Keuangan PMPATD PAKIS Rescue Team periode 2023-2024.

SANWACANA

Puji dan syukur senantiasa penulis ucapkan kepada Allah SWT atas berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Lada Hitam (*Piper Nigrum* L.) terhadap Fungsi Ereksi dan Jumlah Sel Leydig Tikus Putih Jantan Model Hiperglikemia” disusun sebagai pemenuh syarat guna mencapai gelar sarjana di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan atas motivasi, bantuan, bimbingan, kritik serta saran yang diberikan kepada penulis oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini, dengan segera kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. dr. Exsa Hadibrata, S. Ked., Sp. U., selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu dalam membantu, membimbing, dan memberikan saran yang membangun dalam pengerjaan skripsi ini. Terima kasih banyak atas segala ilmu, dukungan, bantuan, bimbingan, dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
4. dr. Diana Mayasari, S.Ked, MKK, Sp.KKLP., selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu dalam membantu, membimbing, dan memberikan saran yang membangun dalam pengerjaan skripsi ini. Terima kasih banyak atas segala ilmu, dukungan, bantuan, bimbingan, dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
5. Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed., selaku pembahas yang telah meluangkan waktu dan telah bersedia memberikan pembahasan, kritik, dan saran dalam pengerjaan skripsi ini. Terima kasih banyak atas segala ilmu, bimbingan, dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.

5. Seluruh dosen dan staf pengajar, staf dan karyawan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah mendidik penulis selama perkuliahan.
6. Henny Indriani selaku ibunda dari penulis, Hasbullah selaku ayahanda dari penulis, Salsabila selaku kakak, Helmi selaku nenek dari penulis, dan Arya Daru selaku sahabat serta teman seperjuangan, yang telah senantiasa memberikan harapan, dukungan, kebahagiaan, perjuangan, keberanian dan kasih sayang yang tiada henti dan tanpa pamrih kepada penulis. Terima kasih karena telah menjadi rumah terhangat dan keluarga terbaik dalam perjalanan penulis sampai ke tahap ini.
7. Rekan terhebat dan koki yang handal yaitu Shafana Azzahra. Terimakasih atas segala tawa, bantuan, pengalaman, dukungan, dan harapan yang diberikan kepada penulis serta menjadi pelipur lara di saat-saat sulit.
8. Sahabat HQ yaitu Fauzan, Ghaza, Reza, Akbar, Zakky, Agung, dan Reynaldi. Terimakasih teman-teman yang luar biasa yang telah senantiasa memberikan bantuan, dukungan, dan banyak cerita yang diberikan kepada penulis.
9. Sahabat Land of Dawn yaitu Fuad, Nazher, Manto, dan Galih yang senantiasa berkoordinasi, membantu, dan hadir saat diperlukan demi mencapai kemenangan.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dan memberi dukungan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak ketidaksempurnaan dalam penyusunan skripsi ini, akan tetapi penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan kebermanfaatan bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 4 Januari 2025

Penulis,

Faza Hasbullah

ABSTRACT

THE EFFECT OF BLACK PEPPER ETHANOL EXTRACT (*Piper nigrum* L.) ON ERECTILE FUNCTION AND AMOUNT OF LEYDIG CELLS OF HYPERGLYCEMIC MODEL MALE WHITE RATS

By

FAZA HASBULLAH

Background: Black pepper contains piperine, which can inhibit apoptosis of Leydig cells in individuals with diabetes mellitus, potentially preventing erectile dysfunction. This study aimed to determine the effect of administering ethanol extract of black pepper on erectile function and the number of Leydig cells in male white rats modeled with hyperglycemia.

Method: An experimental research post-test-only control group design was applied to 30 male white rats. The rats were divided into five groups: the zero control (K0), negative control (K-), positive control (K+) with Sildenafil, and two treatment groups of hyperglycemic rats receiving black pepper ethanol extract at doses of 122.5 mg/kgBW (P1) and 245 mg/kgBW (P2). The black pepper ethanol extract was administered for 8 days. Erectile function was observed by calculating the Total Penile Reflex (TPR) score, and the number of Leydig cells was assessed after the termination of all sample rats.

Results: Univariate analysis showed that groups P1 and P2 had higher mean TPR scores (P1: 9.33 ± 1.03 & P2: 8.00 ± 0.89) and Leydig cell counts (P1: 59.33 ± 4.08 & P2: 50.67 ± 2.73) compared to the K(-) group (TPR: 6.00 ± 1.26 & Leydig cells: 30.50 ± 3.86). Bivariate analysis using One-Way ANOVA indicated that the mean TPR scores and Leydig cell counts in groups P1 and P2 differed significantly ($p < 0.05$) from the K(-) group.

Conclusion: This study indicates that ethanol extract of black pepper, especially at a dose of 122.5 mg/kgBW, has the potential to increase the number of Leydig cells and improve erectile function in hyperglycemic male white rats, suggesting its potential as a standardized herbal medicine for erectile dysfunction in patients with diabetes mellitus.

Keywords: black pepper, diabetes mellitus, erectile dysfunction, leydig cells.

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM (*Piper nigrum L.*) TERHADAP FUNGSI EREKSI DAN JUMLAH SEL LEYDIG TIKUS PUTIH JANTAN MODEL HIPERGLIKEMIA

Oleh

FAZA HASBULLAH

Latar Belakang: Lada hitam memiliki kandungannya piperin yang dapat menghambat proses apoptosis sel Leydig pada penderita diabetes melitus yang dapat menyebabkan disfungsi ereksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam pada fungsi ereksi dan jumlah sel Leydig tikus putih jantan model hiperglikemia.

Metode: Desain penelitian eksperimental dengan grup kontrol *post-test-only* diterapkan pada 30 tikus jantan *Rattus norvegicus*. Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok: Kontrol nol/K0, kontrol negatif/K(-), kontrol positif/K(+) dengan Sildenafil serta kelompok perlakuan yakni tikus model hiperglikemia yang diberikan ekstrak etanol lada hitam dosis 122,5 mg/kgBB (P1) dan 245 mg/kgBB (P2). Pemberian ekstrak etanol lada hitam dilakukan selama 8 hari. Pengamatan fungsi ereksi dilakukan dengan penghitungan nilai *Total Penile Reflex* (TPR) dan jumlah sel Leydig dihitung setelah seluruh tikus sampel diterminasi.

Hasil: Analisis univariat menunjukkan bahwa kelompok P1 dan P2 memiliki rerata nilai TPR(P1; 9,33±1,03 & P2; 8,00±0,89) dan jumlah sel Leydig (P1; 59,33±4,08 & P2; 50,67±2,73) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K(-) (TPR; 6,00±1,26 & sel Leydig; 30,50±3,86). Analisis bivariat dengan *One Way ANOVA* kelompok P1 dan P2 memiliki rerata nilai TPR dan jumlah sel Leydig memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok K(-).

Simpulan: Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol lada hitam, terutama pada dosis 122,5 mg/kgBB, berpotensi meningkatkan jumlah sel Leydig dan fungsi pada tikus putih jantan model hiperglikemia, sehingga memiliki potensi sebagai salah satu bahan obat herbal terstandar untuk disfungsi ereksi pada pasien diabetes melitus.

Kata Kunci: diabetes melitus, disfungsi ereksi, lada hitam, sel leydig.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Bagi Peneliti.....	6
1.4.2 Bagi Masyarakat	6
1.4.3 Bagi Institusi	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Organ Genitalia Pria.....	8
2.1.1 Testis	8
2.1.2 Epididimis.....	13
2.1.3 Vas Deferens dan <i>Funiculus Spermaticus</i>	13
2.1.4 Penis, Uretra, dan Skrotum	14
2.2 Disfungsi Ereksi	15
2.2.1 Fisiologi Ereksi	15
2.2.2 Etiologi	19
2.2.3 Patofisiologi	20
2.2.4 Diagnosis.....	23
2.2.5 Tatalaksana	25
2.3 Diabetes Melitus.....	27

2.3.1 Definisi	27
2.3.2 Klasifikasi Diabetes Melitus	28
2.3.3 Komplikasi Diabetes Melitus	29
2.4 Lada Hitam.....	31
2.4.1 Klasifikasi Tanaman	31
2.4.2 Kandungan Kimia Lada Hitam.....	34
2.4.3 Ekstrak Etanol Lada Hitam.....	37
2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	38
2.6 Kerangka Teori.....	40
2.7 Kerangka Konsep	41
2.8 Hipotesis.....	41
BAB III METODE PENELITIAN	42
3.1 Desain Penelitian.....	42
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	42
3.3 Populasi dan Sampel	42
3.3.1 Populasi	42
3.3.2 Sampel	43
3.3.3 Kelompok Perlakuan	44
3.4 Kriteria Penelitian	45
3.4.1 Kriteria Inklusi	45
3.4.2 Kriteria Eksklusi	45
3.5 Identifikasi Variabel.....	45
3.5.1 Variabel Independen.....	45
3.5.2 Variabel Dependen.....	45
3.6 Definisi Operasional.....	46
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	47
3.8 Prosedur penelitian.....	48
3.8.1 Pengadaan Hewan	48
3.8.2 Pemeliharaan Hewan	48

3.8.3 Proses Ekstrak Etanol Lada Hitam	49
3.8.4 Induksi Aloksan	51
3.8.5 Pemberian <i>Sildenafil Citrate</i>	52
3.8.6 Penilaian Fungsi Ereksi Tikus dengan <i>Total Penile Reflex</i>	52
3.8.7 Pembedahan.....	52
3.8.8 Pembuatan Preparat Histologi.....	53
3.8.9 Penghitungan Jumlah Sel Leydig Tikus.....	54
3.9 Analisis Data	55
3.10 Alur Penelitian	56
3.11 Etik Penelitian	57
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	58
4.1 Hasil Penelitian	58
4.1.1 Penghitungan Nilai <i>Total Penile Reflex</i> (TPR).....	59
4.1.2 Penghitungan Jumlah Sel Leydig.....	62
4.2 Pembahasan.....	65
4.2.1 Gambaran Analisis Univariat Nilai <i>Total Penile Reflex</i> (TPR).....	65
4.2.2 Gambaran Analisis Univariat Jumlah Sel Leydig	66
4.2.3 Gambaran Analisis Perbandingan Rerata Nilai <i>Total Penile Reflex</i> (TPR).....	67
4.2.4 Gambaran Analisis Perbandingan Rerata Jumlah Sel Leydig	68
4.2.4 Potensi Lada Hitam Menjadi Fitofarmaka Disfungsi Ereksi	70
4.3 Keterbatasan Penelitian.....	71
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	72
5.1 Kesimpulan	72
5.2 Saran.....	72
5.2.1 Bagi Peneliti	72
5.2.2 Bagi Masyarakat	72
5.2.3 Bagi Institusi	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN.....	83

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional.....	46
2. Hasil Pemeriksaan LC-MS/MS Data Ekstrak Etanol Lada Hitam.....	50
3. Rerata Nilai TPR Tikus Putih Jantan Pada Tiap Kelompok	59
4. Analisis Perbedaan Rerata Nilai TPR Tikus Putih Jantan Tiap Kelompok	61
5. Rerata Jumlah Sel Leydig Tikus Putih Jantan Pada Tiap Kelompok.....	63
6. Analisis Perbedaan Rerata Jumlah Sel Leydig Tikus Putih Jantan Tiap Kelompok	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ilustrasi Organ Reproduksi Pria	8
2. Ilustrasi Anatomi Testis	9
3. Mekanisme Produksi Testosteron	10
4. Gambaran Histologi Sel Leydig 40x.....	12
5. Mekanisme Ereksi Penis	18
6. Diagram Patofisiologi Disfungsi Ereksi.....	22
7. Ilustrasi Keadaan Penis Tikus Saat Refleks Seksual.....	24
8. Tanaman Lada hitam.....	31
9. Buah Lada Hitam Yang Telah Dikeringkan.....	32
10. Struktur Kimia <i>Piperine</i>	35
11. <i>Rattus norvegicus</i>	38
12. Kerangka Teori.....	40
13. Kerangka Konsep	41
14. Sel Leydig Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Perbesaran 100x.....	55
15. Diagram Alur Penelitian	56
16. Gambaran Histologi Testis Tikus Putih Jantan pada Setiap Kelompok dengan Pembesaran 400x	62
17. Grafik Rerata Jumlah Sel Leydig Tikus Putih Perkelompok.....	63
18. Perbandingan Rerata Nilai TPR dan Jumlah Sel Leydig	69

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 2 Surat Persetujuan Etik
- Lampiran 3 Sertifikat Analisis Alokasan
- Lampiran 4 Analisis Data Nilai *Total Penile Reflex* (TPR)
- Lampiran 5 Analisis Jumlah Sel Leydig

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Testosteron ($C_{19}H_{28}O_2$) adalah hormon utama pria yang penting untuk diferensiasi jenis kelamin, karakteristik pria, spermatogenesis, ereksi, dan fertilitas (Nassar & Leslie, 2023). Testosteron berperan penting pada fungsi fisiologis ereksi pria karena testosteron meningkatkan kadar *Nitric Oxide* (NO) dengan meningkatkan ekspresi *Nitric Oxide Synthetase* (NOS), menghambat *Phosphodiesterase-5*, yang selanjutnya meningkatkan sinyal *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) sehingga terjadi relaksasi otot korpus kavernosum yang dimediasi NO dan kemudian terjadi ereksi (Gur *et al.*, 2020). Pada pria, testosteron terutama diproduksi oleh sel Leydig yang terletak di testis. Sel-sel ini mengeluarkan testosteron sebagai respons terhadap *Luteinizing Hormone* (LH) dari kelenjar hipofisis anterior (Zirkin & Papadopoulos, 2018). Sel Leydig pada testis berfungsi untuk mengubah kolesterol menjadi testosteron. Disfungsi pada sel Leydig dapat menyebabkan penurunan kadar testosteron yang berakhir pada disfungsi ereksi (Nassar & Leslie, 2023). Penurunan kadar testostosterone dan disfungsi sel Leydig dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti masalah pada testis, kelainan pada aksis *Hypothalamic–Pituitary–Gonadal* (HPG), obesitas, gaya hidup buruk, penuaan, dan kondisi kesehatan kronis seperti diabetes melitus (Huang *et al.*, 2024).

Diabetes melitus adalah penyakit metabolisme kronis yang ditandai oleh kondisi kadar gula darah lebih tinggi dari normal (hiperglikemia) secara persisten. Pada tahun 2021, *International Diabetes Federation* (IDF) mencatat bahwa 537 juta orang dewasa di seluruh dunia hidup dengan diabetes melitus dan menyebabkan 6,7 juta kematian tahunan. Indonesia merupakan salah satu negara dengan penderita

penyakit diabetes melitus terbanyak di dunia yang berada di posisi kelima setelah Tiongkok, India, Pakistan, dan Amerika Serikat dengan 19,47 juta pengidap diabetes, atau 10,6% dari populasi (IDF, 2021). Secara global, diabetes lebih sering terjadi pada pria daripada wanita. Angka prevalensi yang disesuaikan dengan usia menunjukkan bahwa 6,5% pria dan 5,8% wanita menderita diabetes. Dengan demikian, rasio pria terhadap wanita dalam hal prevalensi diabetes adalah 1,14 (Ong *et al.*, 2023).

Diabetes melitus dapat disebabkan oleh gangguan produksi insulin, resistensi terhadap insulin di jaringan tubuh, atau keduanya. Kondisi hiperglikemia kronis ini dapat berinteraksi dengan masalah metabolik lainnya dalam tubuh penderita diabetes melitus, menyebabkan kerusakan pada berbagai organ dan mengakibatkan munculnya komplikasi serius yang mengancam jiwa, terutama yang terkait dengan makrovaskular (stroke dan penyakit kardiovaskular) serta mikrovaskular (retinopati, nefropati, dan neuropati) (Goyal *et al.*, 2023). Endotel pembuluh darah seharusnya memproduksi *Nitric Oxide* (NO) untuk melebarkan pembuluh darah. Namun, defisiensi insulin menghambat aktivitas NO sehingga aliran darah yang diperlukan untuk fungsi fisiologis organ tidak memadai. Hal tersebut menyebabkan organ-organ pada tubuh tidak dapat bekerja secara normal. Hal ini terjadi pada keadaan ereksi dimana pelebaran pembuluh darah di penis dibutuhkan untuk mencapai keadaan ereksi yang adekuat. Defisiensi insulin menyebabkan peningkatan arginase II di korpus kavernosum menghambat aktivitas NO, sehingga aliran darah ke penis tidak memadai dan disfungsi ereksi dapat terjadi (Wowor *et al.*, 2021).

Selain peningkatan arginase II, defisiensi atau resistensi insulin dapat mengurangi stimulus insulin pada sel Leydig, menurunkan fungsi sel Leydig dan reseptor *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH), serta menurunkan kadar FSH dan LH sehingga produksi testosteron menurun yang menyebabkan penurunan kadar NO (Rachmadi, 2008). Hiperglikemia juga dapat mempengaruhi aksis HPG karena mengganggu respons hipofisis terhadap hormon pelepas gonadotropin (GnRH) yang menyebabkan kadar LH dan FSH menjadi tidak normal sehingga menurunkan

produksi hormon testosteron (Huang *et al.*, 2024). Keadaan hiperglikemia persisten juga telah diuji pada tikus percobaan dan ditemukan peningkatan rangsangan *Endoplasmic Reticulum Stress* (ERS) yang dapat memicu penghentian siklus sel dan apoptosis sel Leydig. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya disfungsi ereksi (Du *et al.*, 2018).

Disfungsi ereksi (DE) adalah ketidakmampuan pria untuk mencapai atau mempertahankan ereksi yang memadai untuk kepuasan seksual, yang dapat menurunkan kualitas hidup (Darmi *et al.*, 2020). DE dapat disebabkan oleh mekanisme psikogenik, neurogenik, vaskulogenik, serta endokrinologik terkait hipogonadisme dan kadar testosteron rendah yang dapat mengganggu ereksi malam hari (Dean, 2005). Secara global, prevalensi DE bervariasi antara 3% hingga 76,5%, dengan Eropa memiliki angka tertinggi, diikuti Asia, Oseania, Afrika, Amerika Utara, dan Amerika Selatan (Ikram *et al.*, 2022). Studi menunjukkan bahwa prevalensi DE meningkat seiring bertambahnya usia, dengan sekitar 40% pria usia 40 tahun dan 70% pria usia 70 tahun mengalami DE (Leslie & Sooriyamoorthy, 2024). Di Jakarta, prevalensi DE pada pria berusia 20-80 tahun adalah 36,5%, namun angka ini mungkin rendah karena faktor pelaporan dan budaya. DE sering terkait dengan usia serta kondisi kesehatan kronis seperti diabetes melitus dan penyakit kardiovaskular (Ikram *et al.*, 2022). DE memiliki prevalensi kejadian cukup tinggi di antara pria dengan diabetes melitus. Sebuah studi menunjukkan sekitar 59,38% pria dengan diabetes mengalami DE, dengan angka prevalensi yang bervariasi antara 20% hingga 85% tergantung pada studi dan metode penilaian yang digunakan. Prevalensi yang lebih tinggi terkait dengan usia yang lebih tua, durasi diabetes yang lebih lama, dan kontrol gula darah yang buruk. DE berdampak besar pada kualitas hidup dan sering kali tidak terdiagnosis dalam populasi ini (Parmar *et al.*, 2022).

Farmakoterapi yang dapat digunakan dalam pengobatan DE adalah *phosphodiesterase-5 inhibitor* (PDE-5 Inhibitor) seperti sildenafil dan tadalafil yang digunakan sebagai lini pertama disfungsi ereksi. Obat-obat ini berkerja dengan cara mengurangi degradasi cGMP melalui inhibisi *phosphodiesterase-5* sehingga meningkatkan relaksasi otot polos dan aliran darah arteri kavernosa.

Suplemen testosteron juga dapat diberikan pada pasien dengan rendah libido walaupun PDE-5 *inhibitor* tetap menjadi lini pertama (Sooriyamoorthy, 2023). Akan tetapi, farmakoterapi DE menggunakan PDE-5 *inhibitor* memiliki efek samping dan kontraindikasi pada pasien dengan penyakit kardiovaskular (Dhaliwal & Gupta, 2023). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menemukan pilihan farmakoterapi yang lebih aman untuk digunakan dengan menggunakan bahan alam. Tinjauan yang dilakukan oleh Sin *et al.* (2021) menyatakan bahwa beberapa tanaman yang paling banyak digunakan dalam penelitian untuk mengetahui pengaruhnya terhadap fungsi ereksi dan efek afrodisiak adalah *Pausinystalia johimbe*, *Lepidium meyenii* (maca), dan *Panax ginseng* dengan akar menjadi bagian yang paling umum digunakan. Kurang dari separuh tanaman yang digunakan secara tradisional telah dievaluasi secara ilmiah (Sin *et al.*, 2021). Lada hitam (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu bahan alam yang telah diteliti dan terbukti dapat meningkatkan fungsi ereksi dan kadar hormon testosteron hewan uji (Septiyorini *et al.*, 2020).

Indonesia dikenal sebagai negara dengan kayanya sumber daya alam yang ada di dalamnya, yang salah satu dari kekayaannya adalah rempah- rempah. Provinsi Lampung merupakan provinsi yang memiliki julukan Tanah Lado karena terkenal akan produksi lada hitam. Lada hitam (*Piper nigrum* L.) adalah tanaman rempah bernilai ekonomi tinggi dan penghasil devisa besar yang dibanggakan masyarakat Lampung karena lada hitam lampung memiliki karakteristik cita rasa dan aroma khas yang tidak dimiliki daerah lain di dunia dan memiliki sertifikat indikasi geografis. Berdasarkan data statistik tahun 2020 perkebunan lada di Provinsi Lampung, Kabupaten Lampung Utara memiliki lahan terluas dengan luas 11.588 hektar dan menghasilkan sebanyak 3.950 ton. Sedangkan Kabupaten Way Kanan menempati posisi kedua dengan luas 9.259 hektar dan produksi sebesar 1.625 ton. Lada hitam dari daerah lampung memiliki ciri berwarna hitam sampai kecoklat-coklatan dengan kadar air maksimal 13%, kadar *piperine* 3,29-4,7%, minyak atsiri 1,14-2,89%, dan oleoresin 12,8-15,20%. Kandungan lada hitam dari daerah lampung lebih unggul dibandingkan lada hitam dari daerah lain di Indonesia (Disbun, 2022).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa Lada hitam memiliki pengaruh terhadap peningkatan NO. *Piperine*, senyawa aktif dalam lada hitam, meningkatkan bioavailabilitas NO, yang penting untuk ereksi penis. *Piperine* juga dapat menghambat konversi testosteron menjadi dihidrotestosteron (DHT), menjaga kadar testosteron tinggi, yang penting untuk fungsi seksual dan ereksi serta terbukti telah meningkatkan *Total Penile Reflex* pada tikus. Manfaat lain *Piperine* dalam proses ereksi adalah dapat memodulasi aktivitas neurotransmitter seperti dopamin dan NO (Septiyorini *et al.*, 2020). *Piperine* juga telah terbukti meningkatkan kadar gonadotropin dalam serum dengan cara menghambat umpan balik negatif ke hipofisis pada tikus jantan. Gonadotropin yang diproduksi oleh hipofisis, terutama LH, akan merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron (D'Cruz & Mathur, 2005). Penelitian terkait *piperine* menunjukkan bahwa *piperine* dapat mendorong perkembangan sel Leydig dengan meningkatkan ukuran dan jumlahnya tanpa memengaruhi ukuran inti sel (Chen *et al.*, 2018).

Penelitian terkait sebelumnya telah dilakukan oleh Septiyorini *et al.*, pada 2020 dengan tujuannya untuk mengkaji fungsi ereksi, kadar hormon testosteron serum dan konsentrasi reseptor androgen pada tikus Wistar jantan dewasa sehat yang diberikan ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) dengan lima perlakuan berbeda dan menunjukkan peningkatan. Pada penelitian oleh Sutyarso *et al.* (2016) telah diteliti bahwa lada hitam dapat meningkatkan meningkatkan kinerja seksual, kadar testosteron, kadar hormon androgenik, dan potensi kesuburan pada tikus jantan. Akan tetapi, belum ada penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam terhadap jumlah sel penghasil hormon testosteron yakni sel Leydig dan fungsi ereksi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dalam keadaan hiperglikemia. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap fungsi ereksi dan jumlah sel Leydig tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah, “Apa pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap fungsi ereksi dan jumlah sel Leydig tikus putih jantan model hiperglikemia ?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap fungsi ereksi dan jumlah sel Leydig tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap fungsi ereksi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap jumlah sel Leydig tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan di bidang biologi medik mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap jumlah sel Leydig dan fungsi ereksi tikus putih jantan *Rattus norvegicus* model hiperglikemia.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat manfaat rempah-rempah di Indonesia terhadap kesehatan.

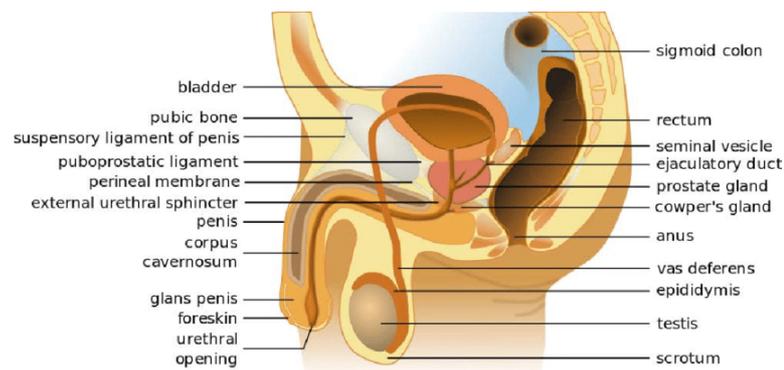
1.4.3 Bagi Institusi

Penelitian ini dapat menjadi masukan pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan hasilnya dapat dijadikan sebagai bahan referensi bagi peneliti selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Organ Genitalia Pria

Anatomi organ genitalia pria dibagi menjadi bagian eksternal dan internal. Organ genitalia interna terdiri atas testis, epididimis, vas deferens, *funiculus spermaticus* dan kelenjar seks tambahan. Sedangkan, organ genitalia eksterna terdiri atas penis, uretra, dan skrotum (Hartono, 2016).

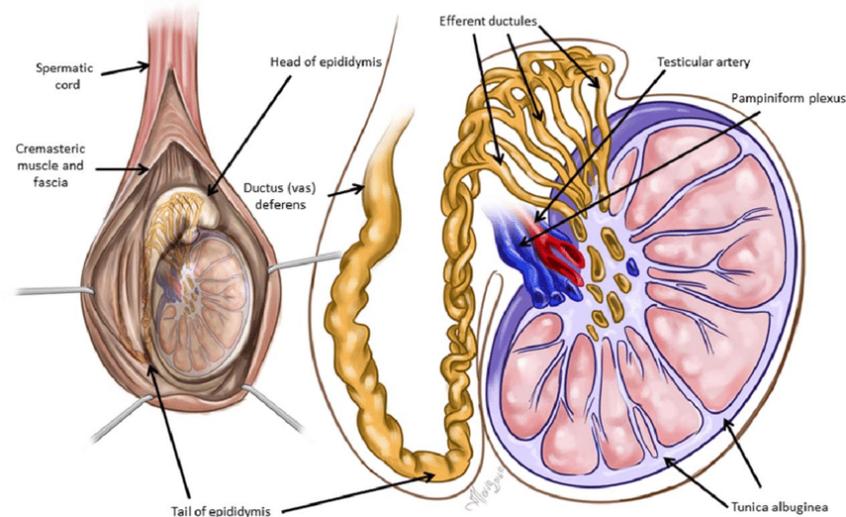


Gambar 1. Ilustrasi Organ Reproduksi Pria (Arango, 2017)

2.1.1 Testis

Testis adalah kelenjar seks pria yang berbentuk oval, terletak di dalam skrotum dan dipisahkan oleh septum skrotal. Ukuran setiap testis kira-kira 3 cm panjang, 5 cm lebar, dan 2 hingga 3 cm tebal, dan terasa halus serta lembut saat diraba. Testis digantung oleh kord spermatic dan dihubungkan ke skrotum oleh ligamen skrotal, dengan testis kiri biasanya berada sedikit lebih rendah dari testis kanan. Testis dilapisi oleh tunika vaginalis yang memiliki dua lapisan, kecuali di batas posterior dan superior tempat epididimis dan kord spermatic terhubung. Di bawah lapisan ini terdapat tunika albuginea, yaitu lapisan fibrosa yang keras. Testis adalah kelenjar

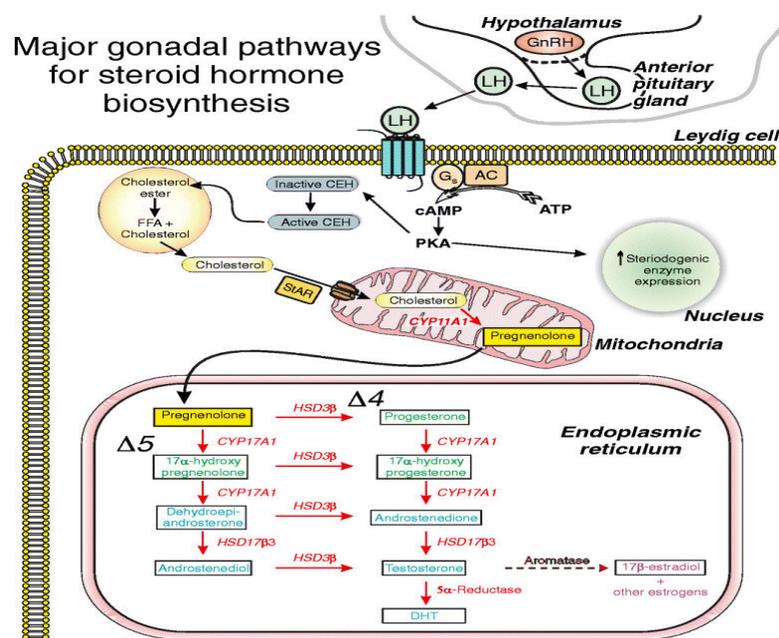
reproduksi pria yang terutama bertugas menghasilkan sperma dan hormon androgen. Produksi testosteron diatur oleh *Luteinizing Hormone* (LH) yang dikeluarkan oleh kelenjar hipofisis anterior, sementara produksi sperma dikendalikan oleh kadar *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) (Tiwana & Leslie, 2024).



Gambar 2. Ilustrasi Anatomi Testis (Secil *et al.*, 2017)

Testosteron (C₁₉H₂₈O₂) adalah hormon utama pria yang penting untuk diferensiasi jenis kelamin, karakteristik pria, spermatogenesis, dan fertilitas (Nassar & Leslie, 2023). Pada pria, testosteron terutama diproduksi oleh sel Leydig yang terletak di testis. Sel-sel ini mengeluarkan testosteron sebagai respons terhadap *Luteinizing Hormone* (LH) dari kelenjar hipofisis anterior (Zirkin & Papadopoulos, 2018). Proses produksi testosteron dimulai oleh hipotalamus yang melepaskan hormon pelepas gonadotropin (GnRH). Hal ini merangsang kelenjar hipofisis untuk melepaskan LH, yang mengikat reseptor LH pada sel Leydig di testis. Pengikatan LH pada reseptor ini menstimulasi Gs, dan mengaktifkan jalur *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP)/protein kinase A (PKA). PKA meningkatkan pengangkutan kolesterol ke dalam mitokondria dan meningkatkan transkripsi gen yang terlibat dalam biosintesis testosteron. Kolesterol diubah menjadi pregnenolon, yang berdifusi ke dalam retikulum endoplasma untuk biosintesis testosteron melalui jalur $\Delta 4$ dan $\Delta 5$. Testosteron dibentuk oleh *17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3* (HSD17 β 3) dalam jalur $\Delta 4$ dan oleh

3β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD3 β) dalam jalur $\Delta 5$. Testosteron diubah menjadi dihidrotestosteron (DHT) oleh 5α -reduktase, dan beberapa diaromatisasi oleh P450 *Aromatase* menjadi 17β -estradiol (Ayaz & Howlett, 2015). Testosteron disekresikan oleh testis dan berdifusi ke dalam aliran darah, tempat ia mengikat reseptor androgen di berbagai jaringan, seperti otot dan tulang, untuk memberikan efek biologisnya. Di beberapa jaringan, seperti prostat dan kulit, testosteron diubah menjadi DHT oleh enzim 5-alfa-reduktase untuk mengikat reseptor androgen (Nassar & Leslie, 2023).



Gambar 3. Mekanisme Produksi Testosteron (Ayaz & Howlett, 2015)

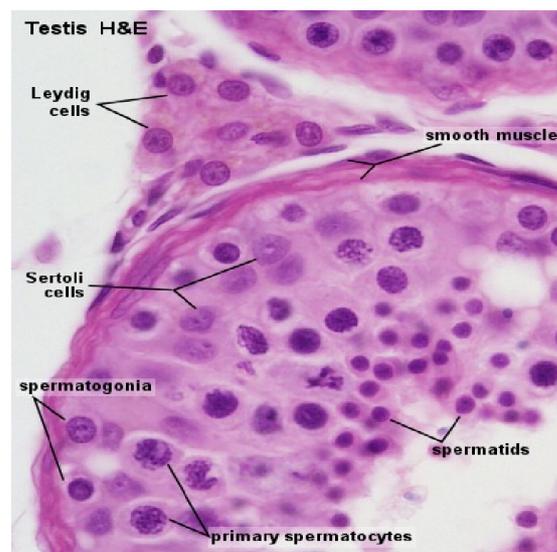
Tingkat testosteron pagi yang normal pada pria berkisar antara 300 hingga 1000 ng/dL. Hipotestosteron sering didiagnosis ketika kadar testosteron turun di bawah 300 ng/dL pada setidaknya dua tes. Pria lanjut usia sebaiknya memiliki kadar testosteron antara 500 dan 800 ng/dL, sementara pria muda seharusnya memiliki kadar antara 600 dan 900 ng/dL. Testosteron berperan penting pada fungsi fisiologis ereksi pria karena testosteron meningkatkan kadar NO dengan meningkatkan ekspresi NOS, menghambat *Phosphodiesterase-5*, yang selanjutnya meningkatkan sinyal *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) sehingga terjadi relaksasi otot korpus kavernosum yang dimediasi NO dan kemudian terjadi ereksi (Gur *et al.*,

2020). Kekurangan testosteron berhubungan dengan penurunan fungsi ereksi, dan kadar testosteron yang lebih rendah sering dikaitkan dengan disfungsi ereksi yang lebih parah. Pada pria dengan kadar testosteron rendah, terapi penggantian testosteron dapat mengembalikan fungsi ereksi. Banyak pria yang tidak merespons PDE-5 *inhibitor* memiliki kadar testosteron yang rendah, dan terapi testosteron dapat membantu meningkatkan respons terhadap pengobatan PDE-5 *inhibitor* (Blute *et al.*, 2009).

Aksis *Hypothalamic–Pituitary–Gonadal* (HPG) merupakan sistem penting yang mengatur hormon yang terlibat dalam perkembangan seksual dan reproduksi. Sumbu ini terdiri dari tiga komponen utama: hipotalamus, kelenjar hipofisis, dan gonad. Hipotalamus mengeluarkan GnRH, yang merangsang kelenjar Hipofosis. Kelenjar hipofisis, khususnya bagian anterior, menghasilkan LH dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) sebagai respons terhadap GnRH. LH dan FSH kemudian bekerja pada gonad (testis pada pria dan ovarium pada wanita). Pada pria, LH merangsang sel Leydig untuk memproduksi testosteron. Aksis ini beroperasi melalui siklus umpan balik, di mana gonad menghasilkan steroid seks yang menghambat produksi GnRH dan LH/FSH, sehingga menjaga keseimbangan kadar hormon. Aksis HPG sangat penting untuk perkembangan seksual, reproduksi, dan kesehatan secara keseluruhan, dan disfungsi dapat menyebabkan berbagai gangguan reproduksi (Janes, 2016).

Sel-sel fungsional dalam sistem reproduksi pria adalah sel Leydig dan sel Sertoli, yang keduanya ditemukan di testis. Sel Leydig terletak di jaringan interstisial yang berada di dekat tubulus seminiferus, sel Leydig memproduksi hormon testosteron. Sel-sel ini memiliki sitoplasma berwarna merah muda dan sering mengandung kristal Reinke. Testosteron mempengaruhi berbagai fungsi tubuh dengan mengikat reseptor di dalam sel (Stoddard & Leslie, 2023). Sel Leydig merupakan sel penting dalam testis pria, yang terletak di antara tubulus seminiferus tempat sel Sertoli dan

sel germinal ditemukan. Sel ini berperan penting dalam spermatogenesis, sintesis hormone testosteron, dan perkembangan karakteristik seksual sekunder. Sel Leydig berada di sekitar tubulus seminiferus, berbentuk poligonal besar dengan sitoplasma eosinofilik, non-granular, dan inti bulat besar dengan nukleolus yang menonjol. Lokasi inti sebagian besar berada di bagian tengah sitoplasma. Sitoplasma diisi dengan tetesan lipid yang melimpah yang memiliki refraksi kuat di bawah mikroskop cahaya. Sel ini memiliki ciri-ciri sel yang mensekresi testosteron, termasuk retikulum endoplasma yang berkembang dengan baik, banyak tetesan lipid, dan mitokondria dengan krista tubulovesikular. Sel ini juga mengandung lipofuscin, yang menunjukkan tetesan lipid yang terakumulasi dalam lisosom (Aladamat & Tadi, 2022). Disfungsi sel Leydig dapat menyebabkan penurunan kadar testosteron yang berakhir pada disfungsi ereksi (Nassar & Leslie, 2023)



Gambar 4. Gambaran Histologi Sel Leydig 40x (Fernando, 2007)

Sel Sertoli terletak di tepi tubulus seminiferus, sel Sertoli mendukung proses spermatogenesis dengan membentuk penghalang darah-testis dan menghubungkan satu sama lain melalui sambungan ketat. Sel Sertoli lebih besar dibandingkan sel germinal yang terdapat di bagian dalam tubulus seminiferus, yang berkembang menuju lumen seiring kematangan. Sel

Sertoli sangat penting untuk menciptakan lingkungan yang diperlukan bagi perkembangan sperma (Stoddard & Leslie, 2023).

2.1.2 Epididimis

Epididimis adalah saluran melingkar berbentuk bulan sabit sepanjang sekitar 3,8 cm yang menghubungkan testis dengan vas deferens, dan berperan penting dalam pematangan sperma. Terdiri dari empat bagian: segmen awal, *caput* (kepala), *corpus* (badan), dan *cauda* (ekor). Epididimis berperan dalam memindahkan sperma dari rete testis ke vas deferens dalam waktu 10–15 hari melalui kontraksi otot halus. Epididimis juga menyerap cairan pada segmen awal, meningkatkan konsentrasi sperma saat mereka bergerak melalui epididimis. Peran lain epididimis adalah melindungi sperma dari kerusakan lingkungan dengan enzim antioksidan. Sperma yang sudah matang di *cauda* epididimis sebelum ejakulasi disimpan didalam epididimis. Sperma memperoleh motilitas dan kemampuan fertilisasi melalui interaksi dengan lingkungan epididimis, termasuk perubahan struktur dan komposisi sperma. Secara keseluruhan, epididimis sangat penting untuk pematangan sperma dan kesuburan, mempengaruhi kemampuan sperma untuk membuahi sel telur dan mendukung perkembangan embrio awal (James *et al.*, 2020).

2.1.3 Vas Deferens dan *Funiculus Spermaticus*

Vas deferens atau saluran sperma (duktus deferens) merupakan saluran lurus yang mengarah ke atas dan merupakan lanjutan dari epididimis. Vas deferens tidak menempel pada testis dan ujung salurannya terdapat di dalam kelenjar prostat. Vas deferens berfungsi untuk mengangkut sperma dari epididimis ke uretra dan juga membantu sekresi cairan untuk transportasi sperma. Kontraksi ototnya saat ejakulasi mendorong sperma menuju uretra. Selain berfungsi sebagai saluran, vas deferens juga dapat membantu menyerap sisa-sisa sperma. Kontraksi vas deferens dipengaruhi oleh mekanisme adrenergik, tetapi berbagai zat dapat memengaruhi

kontraktilitasnya dengan memodifikasi pelepasan neurotransmitter atau tonus otot (Koslov & Andersson, 2013). *Funiculus spermaticus* adalah kumpulan struktur yang ditemukan pada pria yang membentang dari cauda epididimis di skrotum melalui kanalis inguinalis ke rongga perut. *Funiculus spermaticus* dibentuk oleh vas deferens (duktus deferens) dan jaringan di sekitarnya. *Funiculus spermaticus* merupakan saluran penting antara testis dan rongga perut, yang berisi struktur utama seperti vas deferens dan arteri testis (Labanca *et al.*, 2024).

2.1.4 Penis, Uretra, dan Skrotum

Penis adalah organ genitalia pria yang digunakan untuk reproduksi dan urinasi, terletak di segitiga urogenital. Penis terdiri dari tiga bagian utama: glans penis, badan penis, dan *root* penis. Badan penis mengandung dua korpus kavernosa dan satu korpus spongiosum, yang merupakan tempat uretra. Penis ditutupi oleh tunika albuginea dan fascia Buck. *Root* penis meliputi bulbus penis, krura penis, dan otot-otot terkait. Kepala penis, bagian distal, memiliki korona penis dan meatus penis. Fungsi penis meliputi ereksi, yang difasilitasi oleh stimulasi parasimpatis dan kontraksi otot untuk mempertahankan darah di badan kavernosa penis, ejakulasi, dan kemudian kembali ke keadaan lembek melalui stimulasi simpatis (Sam & LaGrange, 2023).

Uretra pria merupakan bagian penting dari sistem urinari dan reproduksi, memanjang sekitar 20 cm dari kandung kemih hingga kepala penis. Uretra ini terbagi menjadi empat bagian. Bagian pertama adalah uretra pars preprostatika. Segmen ini panjangnya 0,5 hingga 1,5 cm, tertanam di dinding kandung kemih, dan dilapisi epitel transisional. Bagian kedua adalah uretra prostatica. Uretra pars prostatica terletak di dalam prostat, panjangnya 3,0 hingga 4,0 cm, terlebar, dan dilapisi urothelium yang dikelilingi oleh jaringan prostat. Bagian ketiga adalah uretra pars membranosa. Uretra bagian ini berukuran 1 hingga 1,5 cm dan melewati kantung perineum dan sfingter eksternal, beralih dari urothelium menjadi epitel kolumnar berlapis

semu. Bagian keempat adalah uretra pars spongiosa. Uretra bagian ini memanjang sekitar 15 cm di sepanjang penis dan mulai melebar di bulbus dan menyempit di kepala penis, dilapisi epitel kolumnar berlapis semu dan epitel skuamosa berlapis di ujungnya. Uretra menerima suplai darah dari beberapa arteri dan dipersarafi oleh pleksus prostat (Stoddard & Leslie, 2023).

Skrotum adalah struktur berbentuk kantung yang terletak di bawah penis, terbagi menjadi dua kompartemen oleh septum. Di dalam skrotum terdapat fascia spermatikus eksternal, testis, epididimis, dan kordus spermatik. Skrotum berasal dari pembengkakan labioskrotal selama perkembangan embrio. Fungsi utama skrotum adalah melindungi testis dan mengatur suhunya. Dinding skrotum, yang memiliki ketebalan sekitar 8 mm, terdiri dari lapisan parietal yang melapisi bagian dalam dinding skrotum dan lapisan viseral yang menutupi testis dan epididimis. Skrotum menjaga suhu testis agar sedikit lebih rendah daripada suhu tubuh, yang penting untuk produksi sperma (Garcia & Sajjad, 2023).

2.2 Disfungsi Ereksi

Disfungsi ereksi (DE) didefinisikan sebagai kegagalan mencapai atau mempertahankan ereksi penis rigid yang sesuai untuk hubungan seksual yang memuaskan. Ereksi merupakan suatu keadaan neuro-vaskular yang dipengaruhi oleh hormon. Termasuk kedalamnya ialah dilatasi arteri, relaksasi dari otot halus trabekular, dan pengaktifan dari mekanisme *veno-occlusive corporeal*. Pada kejadian disfungsi ereksi, mekanisme untuk mencapainya ereksi mengalami gangguan sehingga tidak mampu untuk mencapai atau mempertahankan ereksi (Dahril, 2017).

2.2.1 Fisiologi Ereksi

Tarukallo (2020) menyatakan dalam literturnya bahwa mekanisme ereksi seksual pada pria fungsi mencakup 2 proses yaitu; terjadinya dilatasi arteriol dan terjadinya peningkatan aliran darah ke jaringan dan pembuluh darah

penis, tempat sistem persarafan itu yang berperan adalah persarafan otonom sistem dan persarafan sistem somatik. Mekanisme ereksi juga dipengaruhi oleh hormone androgen yaitu testosteron yang berperan dalam mengendalikan dan menjaga fungsi ereksi pada pria.

Panchatsaram *et al.* (2023) menjelaskan bahwa dalam proses ereksi ada beberapa mekanisme yang terjadi hingga tercapainya keadaan ereksi yang adekuat. Hal-hal tersebut meliputi:

a. Vaskularisasi Ereksi

Arteri pudenda interna, cabang dari arteri iliaka interna, merupakan sumber utama suplai darah ke penis. Di bagian distal, arteri ini membagi menjadi tiga cabang: dorsal, kavernosa, dan bulbourethral. Arteri dorsal menyuplai darah ke kelenjar penis saat ereksi, arteri bulbourethral memperdarahi korpus spongiosum dan bulbus penis, dan arteri kavernosa menyuplai corpora cavernosa serta bercabang menjadi arteri helikin yang memberi darah ke jaringan trabekuler dan sinusoid ruang ereksi. Selama ereksi, arteri helikin melebar untuk mengisi korpus kavernosum dengan darah.

Drainase vena penis terjadi terutama melalui vena pudenda interna, dengan darah dari sinusoid perifer mengalir melalui pleksus vena subtunis dan keluar melalui vena dorsalis penis. Vena dorsalis penis mengalir ke vena pudenda interna atau bergabung dengan vena dorsal dalam dan pleksus periprostatik. Selama ereksi, vena dorsalis penis terkompresi antara sinusoid dan tunika albuginea, membatasi drainase vena dan mempertahankan ereksi.

b. Neuroanatomi

Penis memiliki persarafan somatik dan otonom, yaitu simpatis dan parasimpatis. Saraf pudendal, yang mempersarafi persarafan somatik, bertanggung jawab atas sensasi dan kontraksi otot penis. Saraf dorsal penis, cabang dari saraf pudendal, menerima sinyal sentuhan, suhu, dan nyeri. Saraf somatomotor penis, berasal dari segmen S2 hingga S4, mengontrol kontraksi otot selama ereksi dan ejakulasi. Persarafan simpatis, melalui

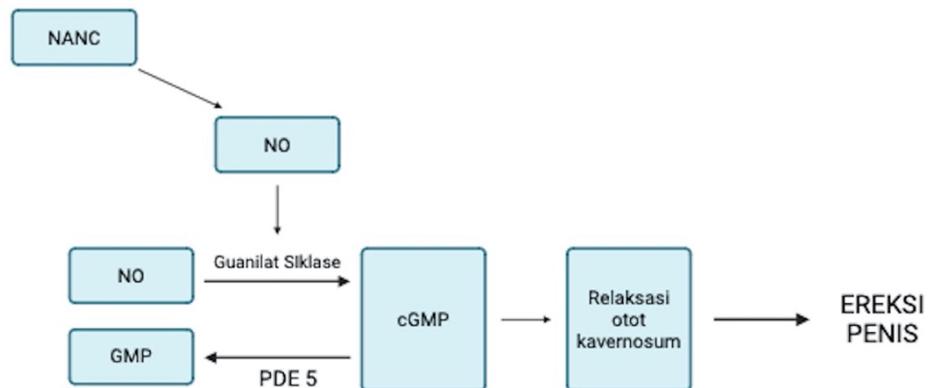
ganglia dari T11 hingga L2, mengontrol kontraksi otot polos pembuluh darah penis dan berakhir sebagai saraf kavernosa. Sebaliknya, persarafan parasimpatis, yang berasal dari nukleus sumsum tulang belakang sakral S4, memfasilitasi relaksasi otot polos pembuluh darah penis. Kerusakan pada saraf otonom, yang dekat dengan aorta, prostat, kandung kemih, dan rektum, dapat mengganggu ejakulasi dan menyebabkan disfungsi ereksi iatrogenik.

c. Mekanisme molekuler

Pengaturan otot polos penis penting untuk ereksi. Kalsium bebas sitosol mengontrol relaksasi dan kontraksi otot polos. Sinyal dari saraf simpatis, melalui norepinefrin yang dilepaskan dari saraf kavernosa, mengaktifkan otot polos dengan mengikat reseptor pada membran sel. Ini menyebabkan terbukanya saluran kalsium dan pelepasan kalsium intraseluler, yang kemudian berikatan dengan kalmodulin. Kompleks kalsium-kalmodulin memicu fosforilasi rantai ringan miosin, menghasilkan energi untuk kontraksi otot. Sebaliknya, penurunan ion kalsium intraseluler menyebabkan relaksasi otot polos. Sinyal dari saraf parasimpatis dan endotel mengaktifkan *second messenger* seperti *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) dan *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP), yang mengaktifkan protein kinase. Aktivasi ini menutup saluran kalsium, menyerap kalsium dalam retikulum sarkoplasma, dan mengeluarkan ion kalium, yang mengurangi konsentrasi kalsium intraseluler dan menyebabkan relaksasi otot polos (Davies, 2015).

Asetilkolin memediasi sinyal saraf parasimpatis yang menyebabkan relaksasi otot polos dengan mengikat reseptor muskarinik pada endotelium. Ini meningkatkan aktivitas endotelium *nitric oxide synthase* (eNOS) yang mengubah *L-arginine* menjadi *nitric oxide* (NO). *Nitric oxide* mengaktifkan guanylyl cyclase, yang mengubah *Guanosine-5'-triphosphate* (GTP) menjadi cGMP. cGMP kemudian mengaktifkan protein kinase, menutup saluran kalsium, dan menyerap ion kalsium, menyebabkan relaksasi otot polos. NO juga diproduksi oleh neuronal *nitric oxide synthase* (nNOS) di

saraf kavernosa non-adrenergik, berfungsi serupa dengan NO dari eNOS untuk relaksasi otot polos. (Panchatsaram *et al.*, 2023).



Gambar 5. Mekanisme Ereksi Penis (Panchatsaram *et al.*, 2023)

Hutagalung (2009), menjelaskan bahwa secara hemodinamik perubahan aliran darah pada penis dapat dibagi sebagai berikut:

1. *Flaccid phase*: Terjadi pada kondisi istirahat dimana otot polos trabekular kontraksi sehingga aliran darah arteri minimal dan aliran darah vena ke luar lebih cepat. Tekanan korpus cavernosum setara dengan tekanan vena yaitu sekitar 4-6 mmHg.
2. *Initial filling phase*: Stimulasi eferen parasimpatik menyebabkan relaksasi otot polos sehingga aliran arteri dapat meningkat 5-10 kali. Volume meningkat dan dimulai inisiasi vena karena stretching venula subtunica dengan sedikit perubahan pada tekanan di dalam korpora.
3. *Tumescence phase*: Volume meningkat dan tekanan dalam korpora juga meningkat. Penutupan vena meningkat seiring dengan kompresi tekanan pada venula subtunica. Aliran arteri mulai berkurang.
4. *Full erection phase*: Mekanisme veno-oklusi teraktivasi mengikuti relaksasi otot polos trabekula. Pada saat ini aliran darah arteri minimal, tetapi yang tampak adalah penis menjadi kaku (rigid) Tekanan di dalam korpora kavernosa biasanya setara dengan tekanan arteri yaitu sekitar 90 – 100 mmHg.

5. *Rigid erection phase*: Tekanan di dalam korpora cavernosa mungkin setara temporer meningkat sampai beberapa ratus mmHg sebagai akibat kontraksi dari muskulus iskhiaikavernosus. Pada kondisi ini aliran darah arteri benar-benar nol.

Testosteron berperan penting dalam proses terjadinya ereksi. Literatur yang ditulis oleh Rizal (2022), menyatakan bahwa studi pada hewan menunjukkan bahwa testosteron dapat bertindak sebagai vasodilator, termasuk pada penis dan arteri koroner, sebagian dengan mengaktifkan *nitric oxide synthase* (NOS). Penelitian menunjukkan bahwa penggantian testosteron pada tikus yang dikebiri mencegah penurunan aktivitas sintase NO. Testosteron juga dapat mengurangi efek vasokonstriksi noradrenalin, sehingga meningkatkan ereksi. Selain itu, testosteron dapat memengaruhi ereksi penis melalui mekanisme sentral di otak, khususnya di area dopamin mesolimbik.

Literatur tersebut juga menyatakan bahwa pada manusia, bukti tidak langsung menunjukkan bahwa testosteron juga dapat memengaruhi sirkulasi arteri penis, karena penelitian telah menemukan korelasi antara kadar testosteron dan vasodilatasi kavernosa, dan peningkatan aliran darah ke penis dengan suplementasi testosteron. Namun, bukti langsung untuk efek testosteron pada pembuluh darah penis terbatas, dan penelitian tentang pengaruhnya terhadap fungsi seksual di tingkat sistem saraf pusat masih terus berkembang.

2.2.2 Etiologi

Disfungsi ereksi adalah gangguan multifaktorial yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor yang memengaruhi mekanisme ereksi, mulai dari hipotalamus dan kelenjar pinealis hingga organ penis. Penyebabnya dibagi menjadi dua kelompok utama: organik dan psikogenik. Organik meliputi masalah vaskular, sedangkan psikogenik dan neurogenik berkaitan dengan faktor mental dan saraf. Seringkali, penyebab organik dan psikogenik saling terkait, di mana faktor psikogenik dapat memperburuk disfungsi ereksi yang disebabkan oleh faktor organik, dan sebaliknya. Keadaan ini dapat dibuktikan dengan adanya kasus-kasus disfungsi ereksi organik yang manifestasinya

lebih berat dari pada kenyataan sebenarnya akibat peranan faktor psikogenik yang menyertainya. Selain pembagian tersebut ada juga yang membaginya ke dalam tipe vaskulogenik dan nonvaskulogenik. Tipe vaskulogenik dihubungkan dengan penyebab organik (vaskular) sedangkan tipe non vaskulogenik dikaitkan dengan penyebab psikogenik dan neurogenik. (Hutagalung, 2009). Disfungsi ereksi sering kali dapat menjadi indikator penyakit sistemik yang mendasarinya. Faktor risiko DE meliputi penyakit kardiovaskular, diabetes melitus, merokok, hipertensi, dislipidemia, kadar testosteron rendah, sindrom metabolik, dan depresi (DeLay *et al.*, 2016).

2.2.3 Patofisiologi

Literatur yang ditulis oleh Dean (2005) menyatakan proses patologi pada keadaan fisiologi ereksi dapat disebabkan oleh beberapa mekanisme yaitu;

a. Psikogenik

Perilaku seksual dan ereksi penis dikendalikan oleh hipotalamus, sistem limbik, dan korteks serebral, yang mempengaruhi pusat ereksi di tulang belakang. Pada disfungsi ereksi psikogenik, penghambatan ereksi bisa disebabkan oleh penghambatan langsung pusat ereksi oleh otak atau aliran simpatis berlebihan yang meningkatkan nada otot polos penis. Penelitian menunjukkan bahwa stimulasi saraf simpatis atau infus epinefrin dapat menyebabkan *detumescence*, dan kadar norepinefrin serum yang lebih tinggi ditemukan pada pasien dengan disfungsi ereksi psikogenik dibandingkan kontrol normal. Disfungsi ereksi psikogenik sering dikaitkan dengan ketakutan, kecemasan, perasaan bersalah, atau tekanan dan biasanya muncul tiba-tiba dan situasional, dengan ereksi pagi hari sering tetap keras.

b. Neurogenik

Medial Preoptic Area (MPOA), nukleus paraventricular, dan hipokampus merupakan pusat penting untuk dorongan seksual dan ereksi penis. Gangguan pada area ini, seperti penyakit Parkinson, stroke,

ensefalitis, atau epilepsi lobus temporal, sering dikaitkan dengan disfungsi ereksi. Parkinsonisme mungkin disebabkan oleh ketidakseimbangan jalur dopaminergik, sementara lesi lain seperti tumor, demensia, penyakit Alzheimer, sindrom *Shy-Drager*, dan trauma juga dapat berkontribusi pada disfungsi ereksi.

Pada pria dengan cedera tulang belakang, fungsi ereksi tergantung pada sifat, lokasi, dan tingkat lesi. Ereksi refleksogenik dapat dipertahankan pada 95% pasien dengan lesi lengkap pada sumsum tulang atas, tetapi hanya 25% pasien dengan lesi lengkap pada sumsum tulang bawah. Neuron parasimpatis sakralis penting untuk ereksi refleksogenik, namun jalur torakolumbal dapat mengkompensasi hilangnya lesi sakral. Cedera tulang belakang lainnya, seperti spina bifida dan herniasi diskus, dapat mempengaruhi jalur saraf dengan cara serupa.

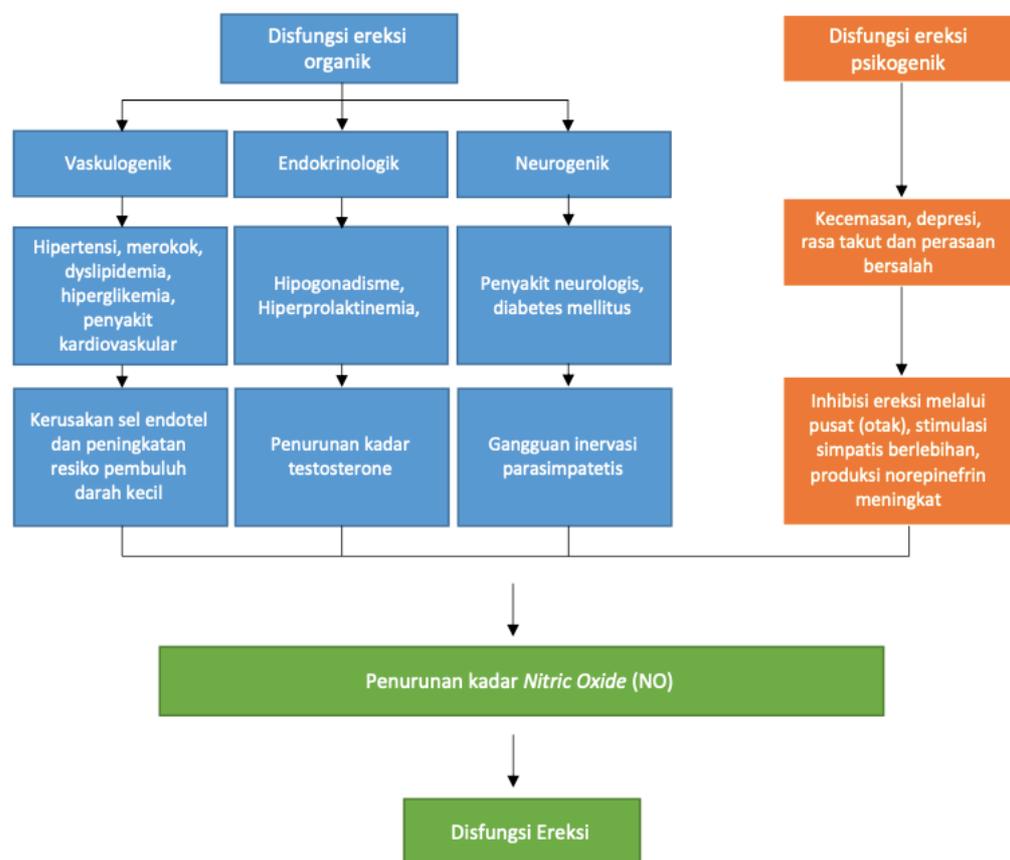
c. Endokrinologik

Hipogonadisme sering ditemukan pada pasien dengan disfungsi ereksi. Androgen berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan saluran reproduksi pria serta ciri-ciri seks sekunder. Testosteron dapat meningkatkan minat seksual, frekuensi hubungan seksual, dan frekuensi ereksi malam hari, meskipun pengaruhnya terhadap ereksi yang dipicu oleh fantasi dan rangsangan visual cenderung kecil atau tidak ada. Pria dengan kadar testosteron serum rendah sering mengalami gangguan ereksi malam hari dibandingkan pria dengan kadar testosteron normal.

Hiperprolaktinemia, yang bisa disebabkan oleh adenoma hipofisis atau obat-obatan, dapat menyebabkan masalah reproduksi dan seksual seperti hilangnya libido, disfungsi ereksi, galaktorea, ginekomastia, dan infertilitas. Kondisi ini dikaitkan dengan rendahnya kadar testosteron sirkulasi, yang disebabkan oleh penghambatan sekresi hormon pelepas gonadotropin akibat tingginya kadar prolaktin.

d. Vaskulogenik

Penyakit oklusi arteri aterosklerotik maupun traumatis pada percabangan arteri hipigastrik-kavernosa-heliks dapat menurunkan tekanan perfusi dan aliran darah pada arteri ke ruang sinusoidal, yang bisa menyebabkan peningkatan waktu ereksi maksimal dan juga menurunkan rigiditas penis yang ereksi. Faktor resiko umum yang terkait dengan insufisiensi arteri meliputi hipertensi, hiperlipidemia, merokok, diabetes melitus, trauma tumpul pada perineum atau panggul, dan radiasi pelvis. Bersepeda jarak jauh juga merupakan faktor resiko disfungsi ereksi vaskulogenik dan neurogenik.



Gambar 6. Diagram Patofisiologi Disfungsi Ereksi (Calgary Guide, 2018; Dean 2005)

2.2.4 Diagnosis

Evaluasi yang perlu dilakukan pada pasien yang datang dengan keluhan disfungsi ereksi meliputi riwayat seksual, evaluasi medik, dan evaluasi psikologik. Evaluasi dilakukan untuk memastikan bahwa pasien benar mengalami disfungsi ereksi atau mengalami disfungsi seksual lainnya seperti ejakulasi dini, penurunan libido, ejakulasi retrograd, anorgasmus, dan lain-lain. Penegakkan diagnosis dibantu dengan Indeks Internasional untuk Fungsi Ereksi ke-5 atau *International Index of Erectile Dysfunction –5* (IIEF-5) (Purnomo, 2011).

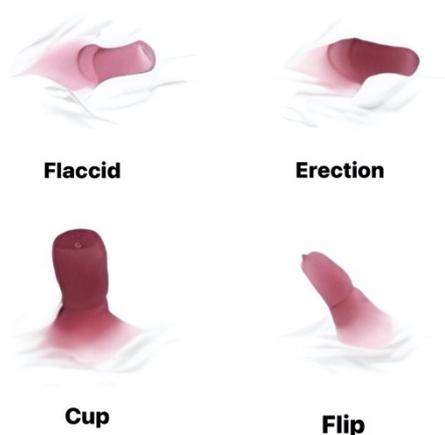
Tang *et al.* (2014) menyatakan bahwa dari keseluruhan jawaban dari indeks pertanyaan, semua skornya akan dikumpulkan lalu dijumlahkan. Dari total skor yang didapatkan oleh pasien, pemeriksa dapat menentukan tingkat keparahan dari disfungsi ereksi yang dialami oleh pasien. Berikut pembagian dari total skor dan tingkat keparahan dari disfungsi ereksi:

- 22-25: *No erectile dysfunction*
- 17-21: *Mild erectile dysfunction*
- 12-16: *Mild to moderate erectile dysfunction*
- 8-11: *Moderate erectile dysfunction*
- 5-7: *Severe erectile dysfunction*

Dalam anamnesis disfungsi ereksi, penting untuk menggali faktor neurologis seperti riwayat diabetes melitus, konsumsi alkohol, cedera kepala atau tulang belakang, dan penyakit saraf lainnya. Pasien dengan kelainan hormonal umumnya melaporkan penurunan libido lebih sering daripada penurunan ketegangan penis. Untuk disfungsi ereksi vaskulogenik, perlu ditanyakan riwayat kelainan vaskular dan operasi koroner atau vaskuler karena dapat mempengaruhi pembuluh darah yang menyuplai penis. Pemeriksaan fisik dan tes penunjang dilakukan untuk mengonfirmasi disfungsi ereksi dan menentukan penyebabnya, termasuk tes struktur dan fungsi pembuluh darah untuk mengidentifikasi disfungsi vaskulogenik dan faktor risiko kardiovaskular yang mungkin terlibat (Ma *et al.*, 2020). Uji

diagnostik khusus untuk disfungsi ereksi meliputi NPT (*Nocturnal Penile Tumescence*) untuk memeriksa ereksi malam hari. Pada disfungsi ereksi psikogenik, ereksi nokturnal biasanya tetap ada, sedangkan pada disfungsi ereksi organik, ada kelainan pada ereksi malam hari. Injeksi intrakavernosa dengan obat vasoaktif seperti papaverin digunakan untuk uji diagnosis dan terapi disfungsi ereksi, dengan penilaian dilakukan terhadap rigiditas penis dari tidak ada respon hingga sepenuhnya keras (Purnomo, 2011).

Uji diagnostik lainnya yang dapat dilakukan untuk menguji fungsi ereksi terutama pada hewan percobaan adalah *Total Penile Reflex* (TPR). TPR adalah indikator disfungsi seksual pada tikus jantan. Penelitian telah dilakukan pada tikus jantan yang mengalami cedera tulang belakang. Penelitian ini memberikan cara yang lebih konsisten dan terukur untuk mengevaluasi dampak keparahan cedera pada refleks seksual tikus (Steadman *et al.*, 2021). Refleks penis pada tikus biasanya dimulai dengan ereksi, ditandai dengan distensi dan kemerahan pada penis, sering diikuti oleh “*cup*”, pembengkakan penuh yang melebar dengan darah sehingga bagian distal penis lebih lebar dari bagian pangkalnya, dan seringkali terjadi “*flip*”, dorsofleksi singkat pada penis (Qi *et al.*, 2023).



Gambar 7. Ilustrasi Keadaan Penis Tikus Saat Refleks Seksual (Qi *et al.*, 2023)

Untuk menghitung TPR, penjumlahan komponen ereksi penis diperlukan (Besong *et al.*, 2023) yang meliputi:

Ereksi (E) : Distensi dan kemerahan pada penis

Long flips (LF) : Dorsofleksi badan penis 90° (*flips* dalam sudut lancip ke tegak lurus yang dihasilkan antara glans dan ventrum)

Quick flips (QF) : Dorsofleksi badan penis <90° (sudut melebihi tegak lurus glans relatif terhadap ventrum)

Rumus untuk menghitung TPR adalah:

$$\text{TPR} = \text{E} + \text{LF} + \text{QF}$$

2.2.5 Tatalaksana

Penatalaksanaan disfungsi ereksi dilakukan dari berbagai aspek dan cara; modifikasi gaya hidup, pelayanan kesehatan emosional, farmakoterapi, dan terapi non farmakologi. Gaya hidup yang perlu diperhatikan adalah kesehatan pembuluh darah dengan berbagai cara seperti meningkatkan kualitas makanan (meningkatkan konsumsi sayur dan membatasi makanan tinggi lemak atau cepat saji), berhenti merokok, menjaga atau mencapai berat badan ideal, meningkatkan rutinitas berolahraga, dan pola tidur yang teratur tiap malamnya. Pasien yang memiliki penyebab psikologis harus ditawarkan konseling psikoseksual. Dengan persetujuan pasien, hal ini juga harus ditawarkan kepada pasangannya (Sooriyamoorthy, 2023).

Farmakoterapi pertama yang dapat digunakan yakni adalah *L-Arginine* yang mana adalah suplemen asam amino penting dalam sintesis *Nitric Oxide* (NO) untuk memperbaiki fungsi ereksi (Rhim *et al.*, 2019). Golongan obat lainnya yang dapat digunakan dalam pengobatan disfungsi ereksi adalah *phosphodiesterase-5 inhibitor* (PDE-5 *Inhibitor*) seperti sildenafil dan tadalafil yang digunakan sebagai lini pertama disfungsi ereksi. Obat-obat ini berkerja dengan cara mengurangi degradasi *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) melalui inhibisi *phosphodiesterase* sehingga meningkatkan relaksasi otot polos dan aliran darah arteri kavernosa. Suplemen testosteron juga dapat diberikan pada pasien dengan rendah libido walaupun PDE-5 *inhibitor*

tetap menjadi lini pertama. Suplemen akan diberikan pada pasien disfungsi ereksi dengan hipogonadisme atau yang tidak merespon pada pengobatan menggunakan PDE-5 *inhibitor* (Sooriyamoorthy, 2023).

PDE-5 *inhibitor*, dengan menghalangi PDE5 dan meningkatkan kadar cGMP, dapat memengaruhi berbagai fungsi intraseluler dan berpotensi meningkatkan steroidogenesis dan produksi testosteron. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh sel Leydig yang diobati dengan sildenafil menunjukkan perbedaan yang mencolok, seperti retikulum endoplasma halus (SER) vesikuler dengan diameter bervariasi dan vakuola besar di sitoplasma perifer, kemungkinan membuka ke ruang ekstraseluler. Mitokondria membesar dengan krista tidak beraturan, dan terlihat vesikel di dekat lingkaran membran, kemungkinan terlibat dalam sekresi prekursor hormon. Perubahan ini menunjukkan peningkatan aktivitas steroidogenik. PDE-5 *inhibitor* yang bekerja pada sel Leydig dapat meningkatkan sekresi testosteron. Studi menunjukkan bahwa hCG merangsang produksi testosteron melalui peningkatan cGMP, sementara sildenafil, yang juga meningkatkan cGMP dengan menghambat PDE5, dapat bekerja bersama hCG untuk lebih meningkatkan kadar cGMP melalui jalur yang berbeda (Saraiva *et al.*, 2009).

Suntikan intrakavernosa dengan prostaglandin E1 (alprostadil) sering kali menjadi pilihan terapi berikutnya jika PDE-5 *inhibitor* oral tidak berhasil. Beberapa agen telah teruji klinis mampu menyebabkan relaksasi otot polos, vasodilatasi, dan ereksi bila disuntikkan, sendiri atau dalam kombinasi, ke (alprostadil), fentolamin, dan atropin (Duncan, 2019). Terapi kombinasi dengan suntikan intrakavernosa (atau pelet prostaglandin intraurethral) ditambah penambahan PDE-5 *inhibitor* bisa sangat efektif jika pengobatan tunggal tidak berhasil. Kedua perlakuan tersebut menggunakan mediator kimia yang berbeda (cAMP untuk injeksi, cGMP untuk PDE-5 *inhibitor*) yang secara sinergis meningkatkan aktivitas gabungan keduanya. Meskipun efektif, risiko priapisme juga meningkat dan pengalaman dengan terapi kombinasi jenis ini terbatas (Monicada *et al.*, 2018).

Penggunaan PDE-5 *inhibitor* dalam farmakoterapi DE) dapat menyebabkan efek samping hipotensi dan kontraindikasi pada pasien dengan penyakit kardiovaskular seperti infark miokardium dan aritmia (Dhaliwal & Gupta, 2023). Oleh karena itu, alternatif yang lebih aman dengan bahan alami sedang dicari. Tinjauan Sin *et al.* (2020) mencatat bahwa ada 718 tanaman dari 145 famili dan 499 genus yang digunakan dalam pengobatan tradisional untuk DE dan efek afrodisiak, dengan tanaman seperti *Pausinystalia johimbe*, *Lepidium meyenii* (maca), dan *Panax ginseng* sering diteliti (Sin *et al.*, 2021). Lada hitam (*Piper nigrum* L.) telah terbukti meningkatkan fungsi ereksi dan kadar testosteron pada hewan percobaan, dengan piperine sebagai senyawa aktif yang meningkatkan bioavailabilitas *Nitric Oxide* (NO), menghambat konversi testosteron menjadi dihidrotestosteron (DHT), dan meningkatkan Total Penile Reflex pada tikus (Septiyorini *et al.*, 2020).

2.3 Diabetes Melitus

2.3.1 Definisi

Diabetes melitus diambil dari bahasa Yunani *diabetes* yang berarti pancuran dan *melitus* yang berarti manis. Diabetes melitus adalah penyakit metabolisme kronis yang ditandai oleh kondisi hiperglikemia secara persisten (Sapra & Bhandari, 2023). Menurut data dari Riset Kesehatan Dasar tahun 2018, prevalensi diabetes melitus di Indonesia adalah 1,5%. Prevalensi tertinggi terjadi pada kelompok usia 55-64 tahun, mencapai 6,3% (Riskesdas, 2018). Diabetes melitus bisa disebabkan oleh gangguan produksi insulin, resistensi terhadap insulin di jaringan tubuh, atau keduanya. Kondisi hiperglikemia kronis ini dapat berinteraksi dengan masalah metabolik lainnya dalam tubuh penderita diabetes melitus, menyebabkan kerusakan pada berbagai organ dan mengakibatkan munculnya komplikasi serius yang mengancam jiwa, terutama yang terkait dengan pembuluh darah kecil (seperti retinopati, nefropati, dan neuropati) serta komplikasi pada pembuluh darah besar (Goyal *et al.*, 2023).

Diagnosis diabetes melitus biasanya melibatkan pengukuran kadar glukosa plasma, baik saat puasa atau setelah makan, dan/atau menggunakan tes hemoglobin terglikasi (HbA1C) (American Diabetes Association, 2021). Kriteria diagnostik oleh American Diabetes Association (2021) meliputi:

- Glukosa Darah Puasa (GDP): ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L).
- Glukosa Plasma 2 Jam : ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) setelah tes toleransi glukosa oral (TTGO) 75 g.
- HbA1C: $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol).

Deteksi dan diagnosis dini sangat penting untuk manajemen dan pencegahan komplikasi yang terkait dengan diabetes melitus secara efektif.

2.3.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Diabetes melitus diklasifikasikan menjadi beberapa jenis berdasarkan patofisiologi dan presentasi klinis yang mendasarinya. Diabetes Melitus Tipe 1 ditandai dengan kerusakan autoimun pada sel-sel beta di pankreas, yang menyebabkan defisiensi insulin. Diabetes tipe ini sering didiagnosis pada anak-anak dan dewasa muda, dan timbulnya biasanya tiba-tiba dan akut (American Diabetes Association, 2021). Diabetes Melitus Tipe 2 ditandai dengan resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Diabetes tipe ini merupakan bentuk diabetes yang paling umum dan biasanya berkembang pada orang dewasa, sering kali secara bertahap dan tidak disadari (Solis-Herrera *et al.*, 2018).

Tipe lainnya adalah Diabetes Melitus Gestasional yang terjadi selama kehamilan, biasanya pada trimester kedua atau ketiga. Diabetes tipe ini ditandai dengan resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin, mirip dengan diabetes tipe 2. LADA (*Latent Autoimmune Diabetes in Adults*) merupakan suatu bentuk diabetes tipe 1 yang berkembang pada orang dewasa, sering kali dengan perkembangan yang lebih lambat daripada diabetes tipe 1 pada umumnya. Diabetes Melitus Sekunder Disebabkan oleh kondisi lain seperti pankreatitis, operasi pankreas, atau obat-obatan tertentu (WHO, 2019).

2.3.3 Komplikasi Diabetes Melitus

a. Komplikasi makrovaskular

Diabetes melitus secara signifikan meningkatkan risiko komplikasi makrovaskular, yaitu masalah yang melibatkan pembuluh darah besar. Huang *et al.* (2017) menjelaskan bahwa beberapa komplikasi makrovaskular utama dari diabetes melitus meliputi:

- Penyakit arteri koroner

Diabetes melitus mempercepat aterosklerosis, yaitu kondisi di mana arteri koroner menjadi menyempit dan mengeras akibat penumpukan plak. Ini dapat menyebabkan angina (nyeri dada), infark miokard (serangan jantung), dan gagal jantung.

- Penyakit arteri perifer

Aterosklerosis serupa mempengaruhi arteri yang menyuplai darah ke kaki dan lengan, menyebabkan aliran darah berkurang. Ini dapat mengakibatkan nyeri saat berjalan (klaudikasio) dan risiko amputasi anggota tubuh yang lebih tinggi.

- Stroke

Diabetes meningkatkan kemungkinan stroke iskemik (disebabkan oleh aliran darah yang terhambat ke otak) akibat aterosklerosis pada arteri otak. Ini juga meningkatkan risiko stroke hemoragik (disebabkan oleh pendarahan di otak).

b. Komplikasi mikrovaskular

Diabetes mellitus dapat menyebabkan komplikasi mikrovaskular yang signifikan, terutama mempengaruhi pembuluh darah kecil. Beberapa komplikasi mikrovaskular pada penderita diabetes melitus meliputi:

- Retinopati diabetik

Retinopati diabetik adalah komplikasi mikrovaskular yang paling umum. Kondisi ini berkembang akibat hiperglikemia (gula darah tinggi) yang berkepanjangan, yang menyebabkan kerusakan pada retina dan pembentukan pembuluh darah baru yang tidak normal. Komplikasi ini menyebabkan gangguan pada penglihatan penderita (Shillah *et al.*, 2024).

- Nefropati diabetik

Kondisi ini merupakan penyebab utama gagal ginjal, ditandai dengan adanya proteinuria (protein dalam urin). Biasanya, mikroalbuminuria (tingginya kadar albumin dalam urin) terjadi lebih awal sebagai tanda kerusakan ginjal awal (Huang *et al.* 2017)

- Neuropati diabetik

Mengaruhi saraf perifer dan otonom, menyebabkan gejala seperti nyeri, kesemutan, dan masalah pencernaan. Risiko mengalami neuropati diabetes meningkat seiring dengan lamanya durasi diabetes dan pengendalian gula darah yang buruk (Fowler, 2008)

- Disfungsi Ereksi

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa keadaan hiperglikemia persisten pada diabetes mellitus dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah. Normalnya, endotel pembuluh darah mampu menghasilkan *Nitric Oxide* (NO) yang berfungsi untuk melebarkan pembuluh darah, termasuk yang terdapat di penis. Peningkatan sekresi arginase II yang berlebihan pada korpus kavernosum akibat defisiensi insulin menyebabkan NO tidak dapat beraktivitas dengan baik sehingga aliran darah ke penis tidak adekuat. Hal ini dapat memicu terjadinya disfungsi ereksi (Wowor *et al.*, 2021).

- Penurunan kadar hormon testosteron

Diabetes melitus diyakini memiliki kaitan erat dengan penurunan kadar testostosterone yang dapat menyebabkan disfungsi ereksi pada pria karena insulin berfungsi untuk mengatur LH melalui reseptor insulin di otak, yang mempengaruhi FSH secara tidak langsung. Resistensi atau defisiensi insulin dapat mengurangi stimulus insulin pada sel Leydig, menurunkan fungsi sel Leydig dan reseptor FSH, serta menurunkan kadar FSH dan LH sehingga produksi testosteron menurun (Rachmadi, 2008). Hiperglikemia juga dapat mempengaruhi aksis HPG karena mengganggu respons hipofisis terhadap GnRH yang menyebabkan kadar LH dan FSH menjadi tidak normal sehingga menurunkan produksi hormon testosteron (Huang *et al.*, 2024). Penelitian terkait mengatakan bahwa pada kondisi diabetes, kadar glukosa darah tinggi persisten memicu *Endoplasmic Reticulum Stress* (ERS) pada sel Leydig

testis, yang menyebabkan peningkatan ekspresi faktor terkait ERS seperti Caspase12, Grp78, dan CHOP. Stres ini dapat menyebabkan apoptosis sel Leydig, mengganggu produksi testosteron, dan mengganggu spermatogenesis. Hiperglikemia juga mengurangi kadar *Colony Stimulating Factor-1* (CSF1), sitokin yang penting untuk pembaruan diri *Spermatogonia Stem Cell* (SSC), dengan merusak sel Leydig. Penelitian morfologi testis menggunakan mikroskop menunjukkan hilangnya sel Leydig dan SSC serta penebalan membran dasar tubulus seminiferus (Du *et al.*, 2018).

2.4 Lada Hitam

2.4.1 Klasifikasi Tanaman



Gambar 8. Tanaman Lada hitam (Saenong, 2017)

Plantamor (2016) menyatakan bahwa taksonomi tanaman lada adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae (Suku sirih-sirihan)
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper nigrum</i> L.

Morfologi tanaman lada hitam (*Piper nigrum* L.) meliputi batang pokok berkayu, beruas-ruas, dan tumbuh merambat dengan menggunakan akar pelekat pada tiang panjat atau menjalar di atas permukaan tanah. Daun tanaman lada hitam berbentuk daun tunggal, berseling, dan tersebar, berbentuk bulat telur sampai memanjang dengan ujung meruncing. Bunga lada hitam berbentuk bulat, berbiji keras, dan berkulit buah yang lunak. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau, sedangkan yang tua berwarna kuning. Buah yang sudah masak berwarna merah, berlendir dengan rasa manis. Buah lada hitam diperoleh dari buah lada yang belum masak, dikeringkan bersama kulitnya hingga kulitnya berkeriput dan berwarna hitam (Ditjenbun, 2012). Kulit buah lada terdiri dari tiga bagian: epicarp (kulit luar), mesocarp (kulit tengah), dan endocarp (kulit dalam). Tanaman lada memiliki akar tunggang, namun akar jenis ini tidak ditemukan pada tanaman lada saat ini karena kebanyakan lada dilaksanakan dengan stek sehingga yang ada hanya akar lateral. Lada hitam tumbuh baik pada daerah antara 20°LU-20°LS, dan pada ketinggian sampai 1500 m di atas permukaan laut. Suhu yang dikehendaki antara 10°C-40°C, dan tanah yang memiliki pH 4,5-6,5 (Tjitrosoepomo, 2004).



Gambar 9. Buah Lada Hitam Yang Telah Dikeringkan (Srinath & Thangavelu, 2014)

Produksi lada hitam di Indonesia memiliki arti penting karena negara ini adalah salah satu produsen terkemuka lada hitam global. Tanaman ini tumbuh subur di berbagai wilayah Indonesia dengan iklim tropis, seperti Sumatera, Jawa, Kalimantan, dan Sulawesi. Keberhasilan produksi lada hitam di Indonesia juga didorong oleh kondisi geografis yang mendukung pertumbuhan tanaman ini

serta keahlian petani lokal dalam budidaya dan pengolahan lada hitam. Pada tahun 2011, menurut Dirjen Perkebunan, produksi lada hitam di Indonesia berada di posisi keempat. Ekspor lada hitam dari perkebunan Indonesia menempati urutan keenam setelah kakao, kelapa, karet, kelapa sawit, dan kopi.

Provinsi Lampung merupakan provinsi yang memiliki julukan Tanah Lado karena terkenal akan produksi lada hitam. Lada hitam (*Piper nigrum* L.) adalah tanaman rempah bernilai ekonomi tinggi dan penghasil devisa besar yang dibanggakan masyarakat Lampung karena lada hitam Lampung memiliki karakteristik cita rasa dan aroma khas yang tidak dimiliki daerah lain di dunia dan memiliki sertifikat indikasi geografis. Data statistik perkebunan lada hitam Provinsi Lampung tahun 2020 menunjukkan bahwa Kabupaten Lampung Utara memiliki luas areal 11.588 ha dengan produksi sebesar 3.950 ton, sedangkan Kabupaten Way Kanan memiliki luas areal 9.259 ha dengan produksi sebesar 1.625 ton. Lada hitam dari daerah Lampung berbeda dari lada hitam lainnya karena memiliki karakteristik cita rasa dan aroma khas yang tidak dimiliki daerah lain di dunia. Lada hitam dari daerah Lampung memiliki ciri berwarna hitam sampai kecoklat-coklatan dengan kadar air maksimal 13 persen, kadar *piperine* 3,29-4,7 persen, minyak atsiri 1,14-2,89 persen, dan oleoresin 12,8-15,20 persen. Bentuknya kecil dan padat, tetapi memiliki tingkat kepedasan yang dapat bertahan lama dengan aroma yang sangat kuat (Disbun, 2020). Lada hitam dari daerah Lampung yang berasal dari Kabupaten Tanggamus, Lampung memiliki kandungan *piperine* lebih tinggi (4,71%) dibandingkan lada hitam dari Kabupaten Way Kanan dan Lampung Timur (Arief *et al.*, 2020).

Lada hitam, yang dikenal dengan nama Latin *Piper nigrum* L., sering ditemukan tumbuh subur di daerah tropis yang memiliki kelembaban yang mencukupi. Bagian tanaman yang umumnya dimanfaatkan adalah buahnya yang telah dikeringkan. Buah lada hitam mengandung berbagai senyawa metabolit seperti asam askorbat, asam palmitat, asam miristat, champene, carvacrol, metil eugenol, alkohol, *piperine*, minyak atsiri, resin, piperidin, dan

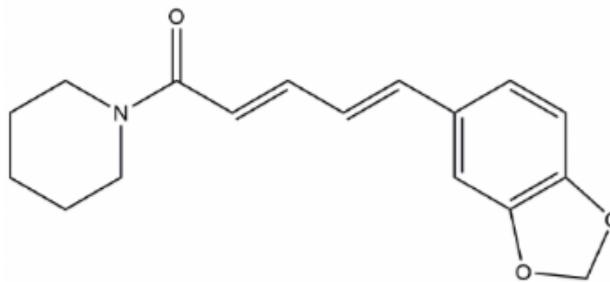
pati. Komponen terbesar yang terdapat dalam lada hitam adalah *piperine* (Meghwal & Goshwami, 2012).

2.4.2 Kandungan Kimia Lada Hitam

Kandungan kimia lada dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok utama yakni senyawa yang berkontribusi terhadap rasa pedas lada hitam, senyawa yang memberikan aroma khas, dan senyawa yang membuat bahan utama (pati). Aroma lada berasal dari minyak atsiri yang ada dalam buah, sedangkan keberadaan alkaloid, terutama *piperine*, penting untuk rasa pedasnya. Ekstrak lada dalam bentuk oleoresin, yang juga mengandung senyawa fenolik, juga dapat ditemukan secara komersial (Milenkovic, 2021). Pati dapat berkontribusi terhadap kualitas pemasakan dan gizi lada hitam. Kualitas tanaman merupakan kriteria terpenting dalam budidaya dalam hal rempah-rempah, dan lada tidak terkecuali. Kualitas lada terutama ditentukan oleh jumlah *piperine*, minyak atsiri, atau oleoresin (Nair, 2020).

Piperine

Piperine, komponen utama yang memberi rasa tajam pada lada hitam, memiliki aroma khas dan sifat pedas. *Piperine*, sebuah alkaloid utama yang terdapat dalam biji lada, jumlahnya dapat bervariasi tergantung pada kondisi pertumbuhan seperti iklim, pengeringan, dan asal tanaman. Buah lada hitam mengandung *piperine* sekitar 2-9% (Gorgani *et al.*, 2017). Ada beberapa teknik untuk mengisolasi *piperine*, yaitu dengan menggunakan pelarut organik polar seperti etanol melalui proses maserasi atau ekstraksi Soxhlet dari buah lada hitam, yang menghasilkan kristal zat berwarna kuning kecokelatan (Tiwari *et al.*, 2020).



Gambar 10. Struktur Kimia Piperine (Milenković & Stanojević, 2021)

Lada hitam telah lama digunakan di berbagai negara sebagai obat untuk meredakan rasa sakit, mengatasi kecemasan, mengobati flu, meredakan nyeri otot, dan menurunkan demam. Selain itu, lada hitam sering dicampurkan dalam tehuntuk mengobati migrain, gangguan suara, dan masalah pencernaan. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa piperin, senyawa utama dalam lada hitam, memiliki potensi sebagai agen antikanker, antioksidan, hepatoprotektif, modulator imun, antiinflamasi, antimikroba, dan antiulser (Gorgani *et al.*, 2017). *Piperine*, diketahui memiliki efek afrodisiak karena dapat meningkatkan aktivitas endotel oksida nitrat yang penting dalam mekanisme ereksi. *Piperine* juga ditemukan memiliki potensi melindungi oksida nitrat dari radikal bebas dan meningkatkan produksi hormon testosteron, yang dapat meningkatkan libido dan ereksi. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *piperine* dapat meningkatkan perilaku seksual dan kadar testosteron pada tikus jantan. Namun, efek afrodisiak *piperine* masih perlu diuji lebih lanjut untuk memastikan hasilnya (Kusumawati *et al.*, 2021)

Piperine, sebagai komponen utama dari lada hitam, telah ditemukan memiliki dampak menguntungkan pada fungsi ereksi. Studi menunjukkan bahwa *piperine* meningkatkan fungsi ereksi penis dengan meningkatkan ketersediaan dopamine dan NO serta meningkatkan kadar testosteron. *Piperine* juga menghambat aktivitas enzim 5α -reduktase, yang membantu dalam mempertahankan tingkat testosteron yang tinggi. Penelitian juga menunjukkan bahwa *piperine* meningkatkan ekspresi gen StAR, yang terlibat dalam transportasi kolesterol dan produksi testosteron. Efek ini berkontribusi pada peningkatan performa seksual serta peningkatan kadar testosteron dalam

percobaan pada hewan. *Piperine* juga dapat menghambat konversi testosteron menjadi dihidrotestosteron (DHT), menjaga kadar testosteron tinggi, yang penting untuk fungsi seksual dan ereksi dan terbukti telah meningkatkan *Total Penile Reflex* pada tikus (Septiyorini, 2020). Ekstrak lada hitam telah terbukti meningkatkan fungsi ereksi pada penelitian pada hewan dengan meningkatkan kinerja seksual, kadar testosteron, kadar hormon androgenik, dan potensi kesuburan pada tikus jantan (Sutyarso *et al.*, 2016).

Penelitian telah dilakukan terkait pengaruh *piperine* terhadap sel Leydig sebagai sel penghasil testosteron. *Piperine* mendorong perkembangan sel Leydig dengan meningkatkan ukuran dan jumlahnya tanpa memengaruhi ukuran inti sel. Perawatan menggunakan *piperine* menghasilkan sel Leydig yang lebih besar dengan peningkatan volume sitoplasma, yang menunjukkan peningkatan pematangan. *Piperine* juga meningkatkan produksi androgen dengan meningkatkan jumlah sel Leydig, meningkatkan ekspresi enzim utama seperti CYP11A1, dan meningkatkan kematangan sel Leydig. Dampak langsung *piperine* pada sel Leydig, termasuk peningkatan aktivitas CYP11A1 dan CYP17A1, menunjukkan mekanisme yang mendorong perkembangan sel Leydig dan produksi androgen. Mekanisme pasti bagaimana *piperine* mempengaruhi perkembangan sel Leydig masih belum jelas, namun Jalur ERK1/2 dan AKT mungkin terlibat dalam stimulasi perkembangan sel Leydig yang dimediasi *piperine* (Chen *et al.*, 2018). *Piperine* telah terbukti meningkatkan kadar gonadotropin dalam serum dengan cara menghambat umpan balik negatif ke hipofisis pada tikus jantan. Gonadotropin yang diproduksi oleh hipofisis, terutama LH, akan merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron (D'Cruz & Mathur, 2005).

Oleoresin

Oleoresin rempah-rempah berkisar dari minyak kental hingga pasta kental dan lengket. Oleoresin ini terdiri dari berbagai komponen seperti minyak atsiri, minyak terfiksasi, pigmen, dan bahan penyedap seperti alkaloid, dll. Komponen oleoresin, masing-masing secara khusus, tidak dapat ditambahkan langsung ke makanan. Oleoresin memiliki stabilitas tinggi dan dapat disimpan

minimal selama satu tahun, tanpa kehilangan kualitas. Penyimpanan pada atmosfer terkendali (suhu dan kelembaban) tidak diperlukan (Milenkovic, 2021).

Minyak atsiri

Lada hitam mengandung sekitar 1%-3% minyak atsiri, tetapi beberapa penelitian menunjukkan nilai 9%. Minyak atsiri lada hitam adalah cairan tak berwarna hingga kuning kehijauan, dengan aroma pedas dan bau khas. Minyak atsiri diperoleh dengan penyulingan buah kering yang belum matang. Minyak atsiri ini memiliki berat jenis 0,860-0,884 dan indeks bias 1,478-1,488 pada suhu 20°C, dan rentang rotasi optik antara -1° hingga -23° sehingga dicirikan sebagai levorotator. Senyawa yang paling melimpah dalam minyak atsiri lada hitam adalah hidrokarbon monoterpena, kemudian hidrokarbon seskuiterpena, dan juga sejumlah kecil monoterpenoid teroksigenasi dan seskuiterpenoid teroksigenasi (Dosoky *et al.*, 2019)

2.4.3 Ekstrak Etanol Lada Hitam

Ekstrak etanol adalah hasil pemisahan senyawa bioaktif dari bahan nabati menggunakan etanol sebagai pelarut. Proses ekstraksi ini sering dilakukan dengan metode maserasi, di mana bahan yang dihaluskan direndam dalam etanol untuk mengeluarkan komponen seperti flavonoid, fenol, dan saponin. Ekstrak etanol dikenal memiliki aktivitas biologis yang tinggi, termasuk sifat antioksidan dan antimikroba, serta lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa polar dibandingkan pelarut non-polar seperti heksana (Prawira *et al.*, 2015). Etanol adalah pelarut polar yang dapat mengekstrak senyawa resin, lemak, karbohidrat, dan komponen aktif lainnya, sedangkan n-heksana adalah pelarut nonpolar yang hanya dapat mengekstrak minyak. Kepolaran pelarut mempengaruhi hasil ekstraksi dan kualitas ekstrak (Hastuti, 2015). Penggunaan ekstrak etanol dalam penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol jahe merah dapat meningkatkan gairah seksual pada tikus jantan yang mengalami gangguan ereksi. Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak yang berbeda dan menunjukkan hasil yang signifikan dalam meningkatkan

fungsi ereksi (Wardani & Santoso, 2017). Ekstrak etanol buah lada hitam telah digunakan pada penelitian lain untuk mengetahui pengaruhnya terhadap efek afrodisiak pada tikus jantan sehat dan hasilnya menunjukkan pengaruh yang signifikan (Sunaryo *et al.*, 2015)

2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)



Gambar 11. *Rattus norvegicus* (Al-Hajj *et al.*, 2016)

Akbar (2010) menyatakan bahwa taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

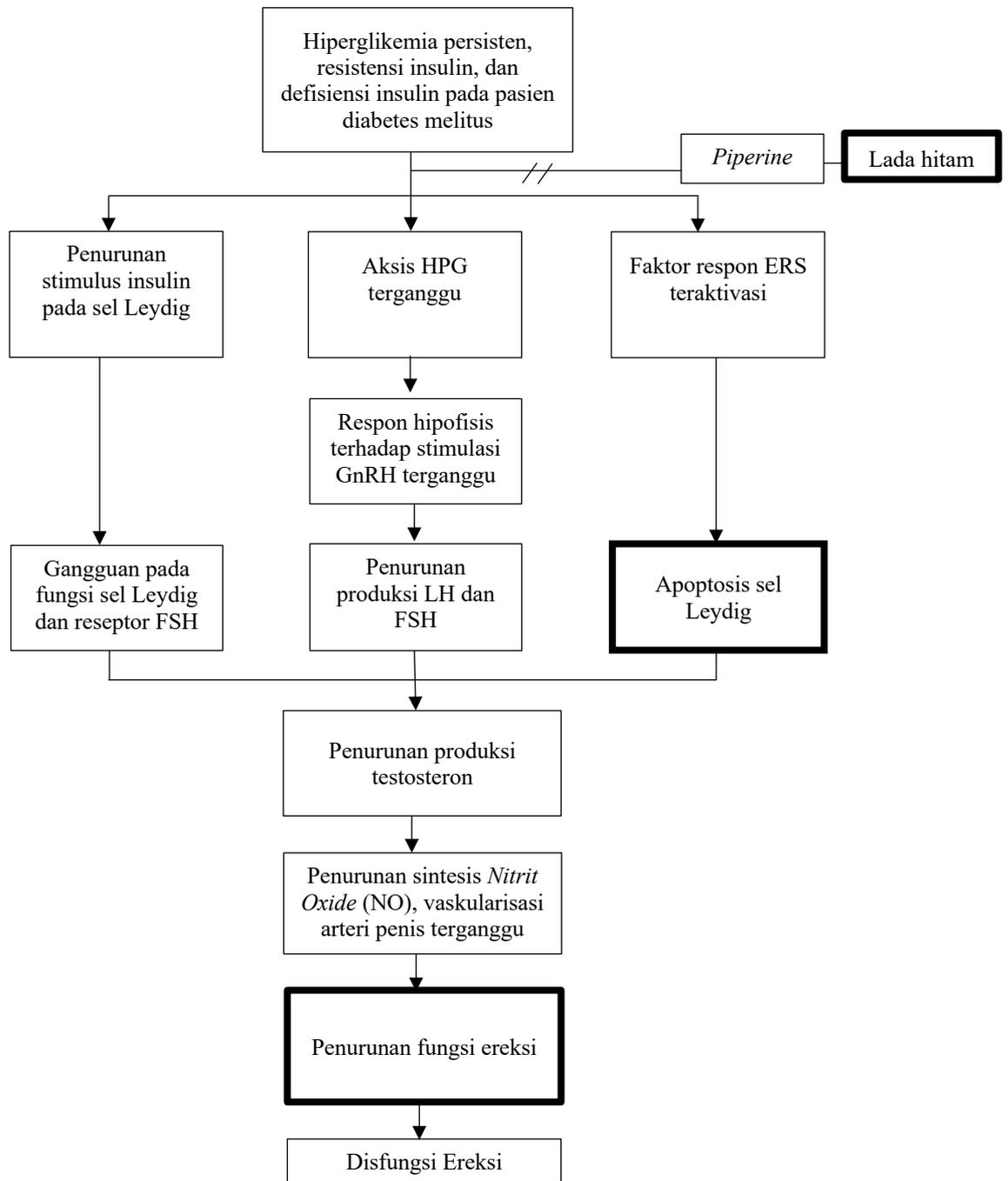
Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering digunakan dalam penelitian karena responsnya yang cepat dan kemampuannya memberikan gambaran ilmiah yang relevan bagi manusia dan hewan lainnya. Prinsip etik dalam riset kesehatan menegaskan bahwa penggunaan manusia sebagai subjek harus mematuhi prinsip-prinsip ilmiah yang diakui dan didasarkan pada eksperimen laboratorium serta penggunaan hewan percobaan yang memadai, dengan dasar pengetahuan yang komprehensif dari literatur ilmiah. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah hewan nokturnal dan sosial. Faktor penting yang mendukung kelangsungan hidup mereka

adalah suhu dan kelembaban lingkungan. Suhu yang optimal untuk tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah antara 19°C hingga 23°C, dengan kelembaban ideal berkisar 40-70% (Wolfenshon & Lloyd, 2013).

Kelebihan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan percobaan termasuk kemampuannya sebagai omnivora (memakan berbagai jenis makanan), memiliki jaringan tubuh yang mirip dengan manusia, serta kebutuhan gizi yang hampir serupa dengan manusia. Secara ekonomis, tikus putih relatif murah, berukuran kecil, dan memiliki tingkat reproduksi yang cepat. Galur percobaan seperti Wistar dari tikus putih juga mudah beradaptasi dengan lingkungan. Pola makan tikus putih bervariasi, dengan komposisi nutrisi yang mencakup sekitar 20-25% protein, 45-50% karbohidrat, dan 5% serat. Secara harian, tikus putih dewasa membutuhkan sekitar 12-20 gram makanan dan 20-45 ml air minum, serta kebutuhan mineral seperti besi sekitar 35 mg/kg (Smith & Mangkoewidjojo, 1998).

2.6 Kerangka Teori



Gambar 12. Kerangka Teori (Huang *et al.*, 2024; Du *et al.*, 2018; Mikhail, 2017; Rachmadi, 2008)

Keterangan:

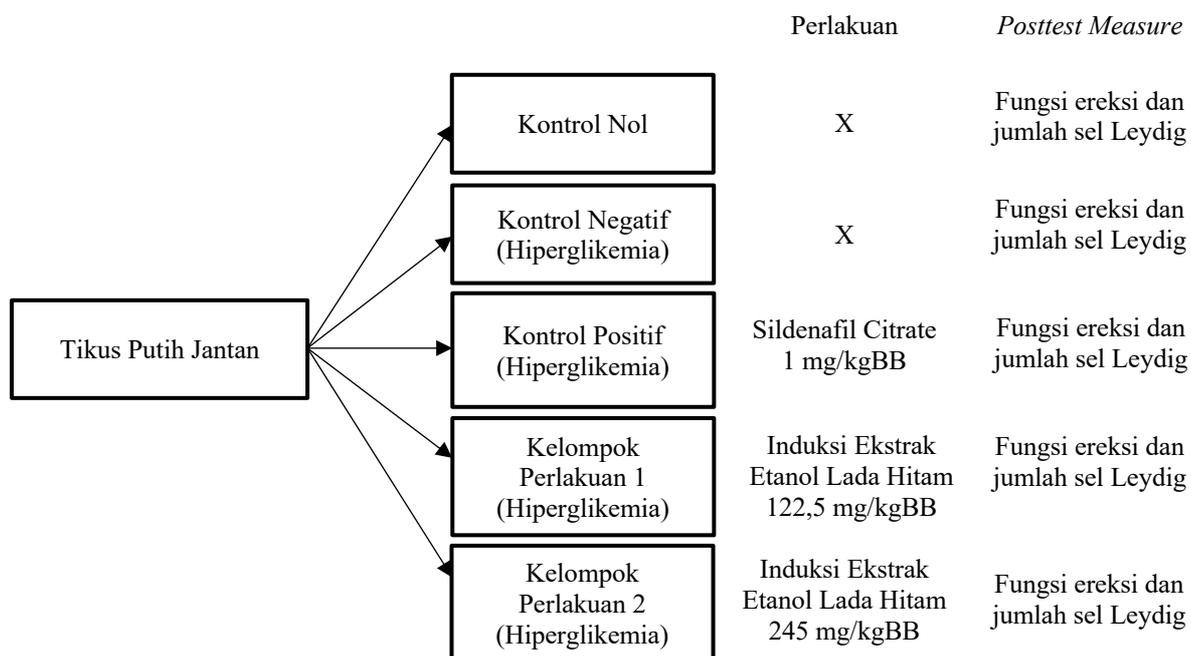


: Diteliti

→ : Menginduksi

—//— : Menghambat

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 13. Kerangka Konsep

Keterangan:

- : Dikelompokkan secara acak
 X : Tidak diberikan perlakuan

2.8 Hipotesis

- Ha: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap fungsi ereksi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.

H₀: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap fungsi ereksi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sehat dan tikus putih jantan model hiperglikemia.
- Ha: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap jumlah sel Leydig tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.

H₀: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap jumlah sel Leydig tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sehat dan tikus putih jantan model hiperglikemia.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Untuk meneliti pengaruh variabel independen terhadap variabel dependen, peneliti menggunakan metode rancangan *post-test-only* dengan desain grup kontrol yang diterapkan pada 30 tikus jantan *Rattus norvegicus*. Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok yang ditentukan dengan perlakuan yang berbeda kemudian diteliti secara eksperimental pada laboratorium. Pengambilan data akan dilakukan pada minggu akhir sebelum terminasi dan setelah terminasi hewan uji untuk mengetahui perbedaan jumlah sel Leydig dan fungsi ereksi tikus putih jantan pada tiap kelompok kemudian perbedaan signifikansi masing-masing kelompok diuji dengan *one way ANOVA*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di INA Lab DNA Lampung dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sejak bulan Oktober hingga November 2024.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang berumur 2,5-3 bulan dengan berat rerata 125 gram.

3.3.2 Sampel

Penentuan jumlah sampel dari 5 kelompok yang sudah ditentukan akan dihitung menggunakan rumus Federer (1967). Perhitungan:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times 4 \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5 \text{ (Pembulatan ke atas)}$$

Keterangan:

n = jumlah sampel perkelompok

t = jumlah kelompok

Walaupun diketahui jumlah sampel perkelompok sampel adalah 5 ekor, jumlah ini perlu diperkirakan angkanya sebagai antisipasi apabila terjadi *drop out* atau hilangnya hewan eksperimen (Lwanga & Lemeshow, 1991) dengan rumus:

$$n' = \frac{n}{1-f}$$

Keterangan:

n' = jumlah sampel perkelompok setelah dikoreksi

n = jumlah sampel berdasarkan estimasi sebelumnya

f = nilai perkiraan *drop out* (10%)

$$n' = \frac{5}{1-10\%}$$

$$n' = \frac{5}{1-0,1}$$

$$n' = \frac{5}{0,9}$$

$n' = 6$ (Pembulatan ke atas)

Dari perhitungan di atas, diketahui bahwa jumlah sampel tiap kelompok yang diperlukan adalah 6. Jumlah sampel total pada penelitian adalah 30 dari total 5 kelompok.

3.3.3 Kelompok Perlakuan

1. Kelompok 1
Tikus sehat yang hanya diberi pakan (Kontrol Nol).
2. Kelompok 2
Tikus model hiperglikemia yang diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan hanya diberi pakan (Kontrol Negatif).
3. Kelompok 3
Tikus model hiperglikemia yang diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan terapi Sildenafil 1 mg/kgBB (Kontrol Positif).
4. Kelompok 4
Tikus model hiperglikemia yang diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak etanol lada hitam 122,5 mg/kgBB (Kelompok Perlakuan 1).
5. Kelompok 5
Tikus model hiperglikemia yang diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak etanol lada hitam 245 mg/kgBB (Kelompok Perlakuan 2).

3.4 Kriteria Penelitian

3.4.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley*
2. Tikus dengan kondisi sehat tanpa ada gangguan pada perilaku maupun tampilan
3. Berat tikus 100-150 gram
4. Berusia 2,5-3 bulan

3.4.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus mati pada masa penelitian dan perlakuan
2. Penurunan kondisi kesehatan tikus selama penelitian (berat badan turun >10%, gerakan tidak aktif, dan rambut rontok)

3.5 Identifikasi Variabel

3.5.1 Variabel Independen

Variabel independen adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya dan timbulnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2012). Variabel independen pada penelitian ini adalah ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.).

3.5.2 Variabel Dependen

Menurut (Sugiyono, 2012), variabel dependen sering disebut sebagai variabel output, kriteria, konsekuen atau variabel terikat. Variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel independen. Variabel dependen pada penelitian ini adalah jumlah sel Leydig dan fungsi ereksi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala	Cara Ukur
1	Ekstrak etanol lada hitam	Buah lada hitam yang telah dikeringkan dihaluskan kemudian melalui proses maserasi bertingkat pelarut etanol, kemudian filtrat dievaporasi hingga terbentuk kristal ekstrak etanol lada hitam.	Sonde lambung dan neraca elektronik	Kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak lada hitam 122,5 mg/kgBB/hari. Kelompok perlakuan 2 diberikan 245 mg/kgBB/hari. Keduanya diberikan secara oral dengan pelarut etanol selama 8 hari.	Numerik	Ekstrak etanol lada hitam berupa kristal ditimbang menggunakan neraca elektronik kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur dan dicampurkan dengan NaCl 0,9% 1 ml. Campuran kemudian dimasukkan ke dalam sonde lambung dengan spuit 10cc.
2	Sildenafil	Obat golongan <i>phosphodiesterase-5 inhibitor</i> (PDE-5 <i>Inhibitor</i>) yang digunakan sebagai lini pertama disfungsi ereksi.	Sonde lambung dan neraca elektronik	Kelompok kontrol positif diberikan Sildenafil dengan dosis 1mg/kgBB secara oral.	Numerik	Sildenafil dihaluskan dengan mortar dan alu kemudian dicampurkan dengan cairan NaCl 0,9 % 1 ml Sildenafil diberikan 1 jam sebelum pengamatan fungsi ereksi
3	Fungsi ereksi (<i>Total Penile Reflex</i>)	Indikator fungsi ereksi pada hewan uji dilakukan melalui analisis <i>Total Penile Reflex</i> (TPR), yang mencakup total jumlah frekuensi terjadinya <i>quick flips</i> (QF), <i>long flips</i> (LF), dan keadaan penis saat ereksi (E).	Lup & Counter	Jumlah frekuensi <i>quick flips</i> (QF), <i>long flips</i> (LF), dan keadaan ereksi (E) dijumlahkan.	Numerik	Tikus diposisikan dalam posisi supinasi selama 15 menit kemudian preputium tikus diretraksikan dan dilakukan pencatatan QF, LF, dan E

4	Jumlah sel leydig	Banyaknya sel penghasil hormon testosteron yang berada di sekitar tubulus seminiferus yang berbentuk poligonal besar dengan sitoplasma eosinofilik, non- granular, dan inti bulat besar dengan nukleolus yang menonjol.	Mikroskop	Jumlah sel	Numerik	Jumlah sel Leydig dihitung pada 5 lapang pandan.
---	----------------------	---	-----------	------------	---------	--

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang dibutuhkan berupa:

1. 10 buah kandang tikus
2. Timbangan
3. Neraca elektronik
4. Tempat pemberian makan dan minum tikus
5. Sonde lambung
6. Wadah plastik dengan tutup
7. Mortar dan alu
8. *Handscoen* lateks
9. *Object glass*
10. *Cover glass*
11. Cawan petri
12. *Spuut* 1 cc dengan ukuran 26
13. Masker
14. Gelas ukur
15. *Counter*
16. Alat bedah
17. Mikroskop computer
18. Lup

19. *Tissue Cassette*

20. Pot urin

Bahan-bahan yang dibutuhkan berupa:

1. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*
2. Pelarut etanol
3. Aquades
4. Lada hitam 400 gram
5. *Sildenafil Citrate*
6. Pakan tikus
7. Air minum
8. Sekam
9. Buffered Formalin
10. Alkohol absolut
11. Hematoxylin Eosin
12. Aloksan
13. Xylol

3.8 Prosedur penelitian

3.8.1 Pengadaan Hewan

Hewan uji yang disiapkan pada penelitian ini berupa tikus putih jantan *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* berusia antara 2,5 dan 3 bulan dengan berat 100-150 gram sebanyak 30 ekor. Tikus ini didapat dari *Animal Vet* di Bogor yang bekerjasama dengan Institut Pertanian Bogor (IPB) *University*.

3.8.2 Pemeliharaan Hewan

Hewan uji mengalami aklimatisasi selama seminggu di kandang pemeliharaan untuk beradaptasi dengan lingkungan dan pola makan sebelum dimulainya penelitian dan perlakuan. Tikus ditempatkan dalam kandang yang tertutup kawat dan alas sekam kayu setebal 0,5-1 cm yang diganti setiap tiga hari untuk mencegah infeksi. Setiap kandang berisi 3 ekor

tikus dan dipertahankan pada suhu 25°C dengan kelembaban yang terkendali serta pencahayaan yang memadai. Makanan dan minuman disediakan secara *ad libitum*, dengan makanan berupa pelet yang diberikan dalam wadah terpisah dan diganti setiap hari untuk menjaga kesehatan tikus agar tetap sehat dan hidup (Absari, 2018).

3.8.3 Proses Ekstrak Etanol Lada Hitam

Buah lada hitam yang diperoleh dari petani lada di Kecamatan Gisting Tanggamus, Lampung, Indonesia, dikeringkan dengan cara dijemur untuk menghilangkan kadar air dalam buah. Buah lada hitam yang telah kering mengalami proses penghalusan sehingga menjadi bubuk seberat. Bubuk tersebut diekstrak dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut etanol 60% selama 24 jam, dengan proses pengocokan dilakukan sebanyak tiga kali hingga homogen. Setelah proses ini, diperoleh filtrat dan residu. Filtrat tersebut kemudian diuapkan pada suhu 40° C dan tekanan 60 mbar sehingga menghasilkan ekstrak etanol lada hitam (Hasrawati, 2022). Selanjutnya, identifikasi senyawa dari ekstrak etanol lada hitam yang diperoleh dianalisis menggunakan LC-MS/MS *Positive Mode*. Fraksi aktif dilarutkan dalam metanol pada konsentrasi 1 mg/mL, dan 12 µL sampel diinjeksi kedalam HPLC. Analisis dilakukan menggunakan ACQUITY UPLC® H-Class System (Waters, Beverly, MA, AS), dilengkapi dengan kolom ACQUITY UPLC® HSS C18 (1,8 µm, 2,1 × 100 mm) (Waters, Beverly, MA, AS) dan dideteksi dengan Xevo G2-S QToF *Mass Spectrometer* (Waters, Beverly, MA, AS). File data mentah (.raw) yang diperoleh dari analisis diproses lebih lanjut menggunakan perangkat lunak MassLynx (Waters, Beverly, MA, AS) untuk menginterpretasikan informasi spektrum massa. Analisis *Base Peak Intensity* (BPI) dilakukan pada energi ionisasi rendah, dengan fokus pada peningkatan sensitivitas dan akurasi deteksi senyawa. Untuk pembuatan profil senyawa, komposisi unsur dari setiap puncak yang terdeteksi dianalisis menggunakan alat bantu *elemental composition* pada Masslynx (Quinn *et al.*, 2024). Penjelasan struktur dilakukan berdasarkan pola fragmentasi yang diamati dalam data

MS/MS. Komposisi dan struktur senyawa yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan literatur yang relevan dan basis data akses terbuka seperti PubChem untuk mengidentifikasi dan mengonfirmasi senyawa dari sampel (Aguilar-Alarcón *et al.*, 2024).

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan LC-MS/MS Data Ekstrak Etanol Lada Hitam

No	RT	m/z	Nama Senyawa	Rumus Molekul
1	4.20	342,1698	Piperonaline	C ₂₁ H ₂₇ NO ₃
2	4.82	356,1855	Retrofractamide B	C ₂₂ H ₂₉ NO ₃
3	6.91	314,14	(E)-Piperolein A	C ₁₉ H ₂₅ NO ₃
4	7.48	302,1383	(E,E)-Futoamide	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃
5	8.14	274,1443	Piperamine	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃
6	8.84	258,1495	Pinocembrine	C ₁₅ H ₁₂ O ₄
7	9.02	328,1538	Retrofractamide C	C ₂₀ H ₂₇ NO ₃
8	9.56	272,1286	Piperyline	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃
9	10.42	286, 145	Piperine	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃
10	12.35	340,1908	Dehydropiperonaline	C ₂₁ H ₂₅ NO ₃
11	12.55	571,2779	Nigramide-F	C ₃₄ H ₄₀ N ₂ O ₆
12	13.08	344,2221	Piperolein B	C ₂₁ H ₂₉ NO ₃
13	14.02	384,2537	Guineesine	C ₂₄ H ₃₃ NO ₃
14	14.64	396,2533	Piperchabamide C	C ₂₅ H ₃₃ NO ₃
15	14.88	452,2688	hentriacontan-16-ol	C ₃₁ H ₆₄ O
16	16.20	334,311	Pipyequbine	C ₂₂ H ₃₉ NO
17	17.87	374,3435	Pipereicosalidine	C ₂₅ H ₄₃ NO
18	18.22	364,3563	N-Isobutyl-2,4-eicosadienamide	C ₂₄ H ₄₅ NO
19	18.74	350,3423	1-(9-Octadecenoyl)piperidine	C ₂₃ H ₄₃ NO

Berdasarkan data LC-QTOF MS/MS lada hitam pada Tabel 2, terdapat sejumlah metabolit bioaktif yang terdiri dari golongan alkaloid, amida, flavonoid, dan turunan asam lemak. Pada hasil MS ini, senyawa piperonalin, piperin, dan piperolein A & B merupakan alkaloid utama. Rasa pedas utamanya disebabkan oleh piperin, yang menunjukkan aktivitas antiinflamasi, antioksidan, dan bioenhancing. Alkaloid telah menarik banyak perhatian akhir-akhir ini karena secara selektif bekerja melawan sel kanker melalui induksi stres oksidatif.

Penelitian Mbongue *et al.* (2005), Kesuma (2013), dan Sayoeti (2013) menentukan dosis pemberian sebesar 122,5 mg/kgBB dan 245mg/kgBB selama 8 hari. Dosis perlakuan untuk kelompok tikus percobaan, dengan rerata berat sekitar 125 gram, adalah $122,5 \text{ mg/kgBB} \times 0,125 \text{ Kg (berat tikus)} = 15,31 \text{ mg}$ dan dibulatkan menjadi 15 mg untuk kelompok perlakuan satu (P1) dan $245 \text{ mg/kgBB} \times 0,125 \text{ kg (berat tikus)} = 30,62 \text{ mg}$ dan dibulatkan menjadi 31 mg untuk kelompok perlakuan dua (P2).

3.8.4 Induksi Aloksan

Pengujian efek farmakologi ekstrak lada hitam dimulai dengan menciptakan model hiperglikemia pada tikus. Tikus percobaan menerima aloksan melalui suntikan intraperitoneal tunggal dari larutan yang baru disiapkan dalam larutan saline normal, dengan dosis 150 mg/kg berat badan. Aloksan menyebabkan kerusakan pada kelenjar pankreas karena pelepasan insulin berlebihan. Untuk mengatasi potensi hipoglikemia fatal yang disebabkan oleh insulin berlebihan, tikus diberi larutan glukosa 20% (5-10 ml) secara oral setelah 6 jam. Selanjutnya, tikus dipelihara selama 24 jam dengan pemberian larutan glukosa 5% untuk mencegah terjadinya hipoglikemia (Sheriff *et al.*, 2020).

Studi eksperimental dilakukan pada tikus yang mengalami diabetes ringan, ditandai dengan glikosuria dan hiperglikemia, dengan kadar glukosa darah berkisar antara 200 hingga 300 mg/dL. Kadar glukosa darah diukur menggunakan metode enzimatik dengan mengambil sampel darah sebanyak 10 μL dari vena ekor tikus dan dianalisis menggunakan glukometer *Auto Check*. Evaluasi dilakukan pada hari terakhir aklimatisasi dan tiga hari setelah aloksan diinduksi, dengan rerata kadar glukosa darah tikus adalah 115 - 169 mg/dL (Sharma *et al.*, 2014).

3.8.5 Pemberian *Sildenafil Citrate*

Kelompok kontrol positif diberikan *Sildenafil Citrate*, obat golongan *phosphodiesterase-5 inhibitor* (PDE-5 *Inhibitor*) yang digunakan sebagai lini pertama disfungsi ereksi, dengan dosis 1 mg/kgBB satu jam sebelum dilakukan pengamatan fungsi ereksi. Waktu pemberian *Sildenafil Citrate* hanya dilakukan pada hari pengamatan. Perlakuan ini diterapkan dengan tujuan membandingkan efektivitas pengaruh perlakuan ekstrak etanol lada hitam dengan terapi konvensional.

3.8.6 Penilaian Fungsi Ereksi Tikus dengan *Total Penile Reflex*

Fungsi ereksi hewan percobaan dinilai melalui hasil *Total Penile Reflex* (TPR) yang mencakup jumlah frekuensi dari keadaan penis saat ereksi/ E, *Long flips/ LF* (Dorsofleksi badan penis 90°), dan *Quick flips/ QF* (Dorsofleksi badan penis <90°). Sebelum terminasi pada hari ke-9, Setiap tikus jantan ditahan dalam posisi supinasi, kemudian preputium ditarik ke belakang glans penis dengan jari telunjuk dan ibu jari kemudian dipertahankan dalam posisi ini selama sekitar 15 menit untuk menimbulkan refleksi genital kemudian frekuensi ketiga komponen (E, LF, dan QF) diamati dan dihitung.

Rumus untuk menghitung TPR adalah:

$$\text{TPR} = \text{E} + \text{LF} + \text{QF}$$

Indeks ini memberikan ukuran keseluruhan ereksi dan refleksi penis (Besong *et al.*, 2023).

3.8.7 Pembedahan

Setelah 8 hari perlakuan, semua hewan uji diterminasi dengan cara dibius menggunakan larutan eter lalu dilakukan metode dislokasi servikal. Pembedahan dilakukan menggunakan alat bedah minor kemudian dilakukan pengambilan organ testis menggunakan pinset. Lalu, testis dipisahkan dengan epididimis. Selanjutnya, testis tikus disimpan pada pot urin berisi buffered formalin 10% (Salsabila, 2018).

3.8.8. Pembuatan Preparat Histologi

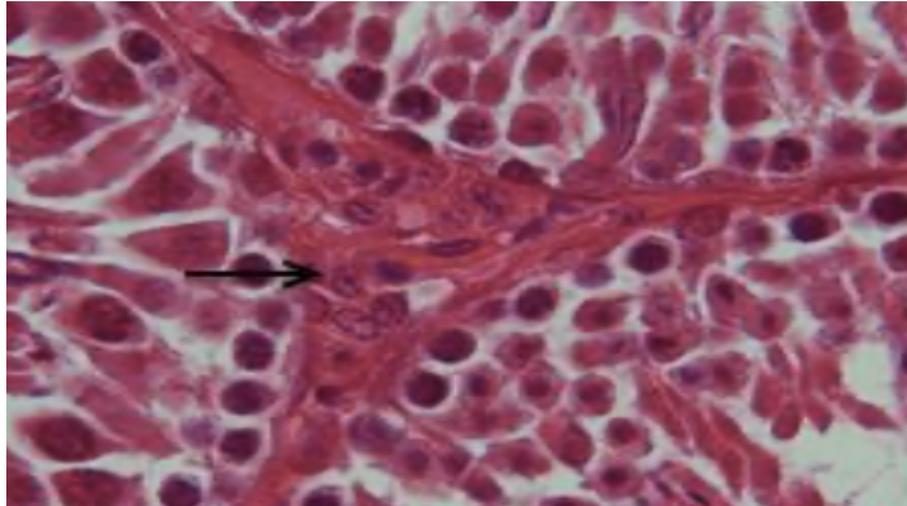
Pembuatan preparat histologi untuk penilaian jumlah sel Leydig menurut Dina (2017) dilakukan melalui beberapa tahap yaitu:

1. Proses pelapisan dimulai dengan menandai objek kaca yang akan digunakan menggunakan kikir kaca pada tepiannya. Kemudian, objek tersebut direndam dalam alkohol 70% selama minimal satu malam, dikeringkan dengan tisu, dan direndam dalam larutan gelatin 0,5% selama 30-40 detik per *slide*. Setelah itu, objek kaca dikeringkan dengan posisi miring untuk memastikan gelatin merata di permukaan kaca.
2. Organ testis yang telah disimpan dalam larutan buffered formalin 10% dicuci dengan alkohol selama 2 jam, diikuti dengan pencucian bertahap menggunakan alkohol dengan konsentrasi 90%, 95%, etanol absolut (3 kali), dan xylol (3 kali), masing-masing selama 20 menit.
3. Infiltrasi dilakukan dengan menambahkan parafin sebanyak 3 kali selama 30 menit setiap kali.
4. Untuk *embedding*, bahan dan parafin dituangkan ke dalam kotak karton atau wadah yang telah disiapkan dan diatur untuk menghindari adanya udara yang terperangkap. Blok parafin disimpan semalaman pada suhu ruang, kemudian diinkubasi dalam *freezer* hingga benar-benar mengeras.
5. Pemotongan dilakukan dengan mikrotom, di mana *cutter* dipanaskan dan ditempelkan pada dasar blok parafin sehingga parafin sedikit meleleh. Holder dijepit pada mikrotom putar dan diselaraskan dengan pisau mikrotom. Pemotongan dimulai dengan mengatur ketebalan, untuk testis, potongan dibuat dengan ketebalan 5 μm . Kemudian, pita hasil potongan diambil menggunakan kuas, direndam dalam air dingin untuk membuka lipatan, lalu dipindahkan ke air hangat untuk memilih potongan terbaik. Potongan yang terpilih diambil dengan objek kaca yang telah dilapisi, kemudian dikeringkan di atas plat panas.

6. Deparanisasi dilakukan dengan merendam preparat dalam xylol sebanyak 2 kali selama 5 menit masing-masing.
7. Rehidrasi dilakukan dengan merendam preparat dalam larutan etanol bertahap: etanol absolut (2 kali), etanol 95%, 90%, 80%, dan 70%, masing-masing selama 5 menit. Setelah itu, preparat direndam dalam aquades selama 10 menit.
8. Pewarnaan dilakukan dengan meneteskan hematoxylin pada preparat selama 3 menit atau hingga warna yang diinginkan tercapai. Setelah itu, preparat dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan dibilas dengan aquades selama 5 menit. Selanjutnya, preparat direndam dalam pewarna eosin alkohol selama 30 menit dan dibilas kembali dengan aquades selama 5 menit.
9. Dehidrasi dilakukan dengan merendam preparat dalam etanol 80%, 90%, 95%, dan etanol absolut (2 kali), masing-masing selama 5 menit.
10. *Clearing* dilakukan dengan merendam preparat dalam larutan xylol sebanyak 2 kali selama 5 menit, kemudian dibiarkan mengering.
11. *Mounting* dilakukan dengan etilen, dan hasil akhirnya diamati menggunakan mikroskop, dipotret, dan datanya dicatat.

3.8.9 Penghitungan Jumlah Sel Leydig Tikus

Sel Leydig normal berada di sekitar tubulus seminiferus, berbentuk poligonal besar dengan sitoplasma eosinofilik, non-granular, dan inti bulat besar dengan nukleolus yang menonjol. Lokasi inti sebagian besar berada di bagian tengah sitoplasma. Sitoplasma diisi dengan tetesan lipid yang melimpah yang memiliki refraksi kuat di bawah mikroskop cahaya. Sel ini memiliki ciri-ciri sel yang mensekresi steroid, termasuk retikulum endoplasma yang berkembang dengan baik, banyak tetesan lipid, dan mitokondria dengan krista tubulovesikular. Sel ini juga mengandung lipofuscin, yang menunjukkan tetesan lipid yang terakumulasi dalam lisosom (Aladamat & Tadi, 2022).



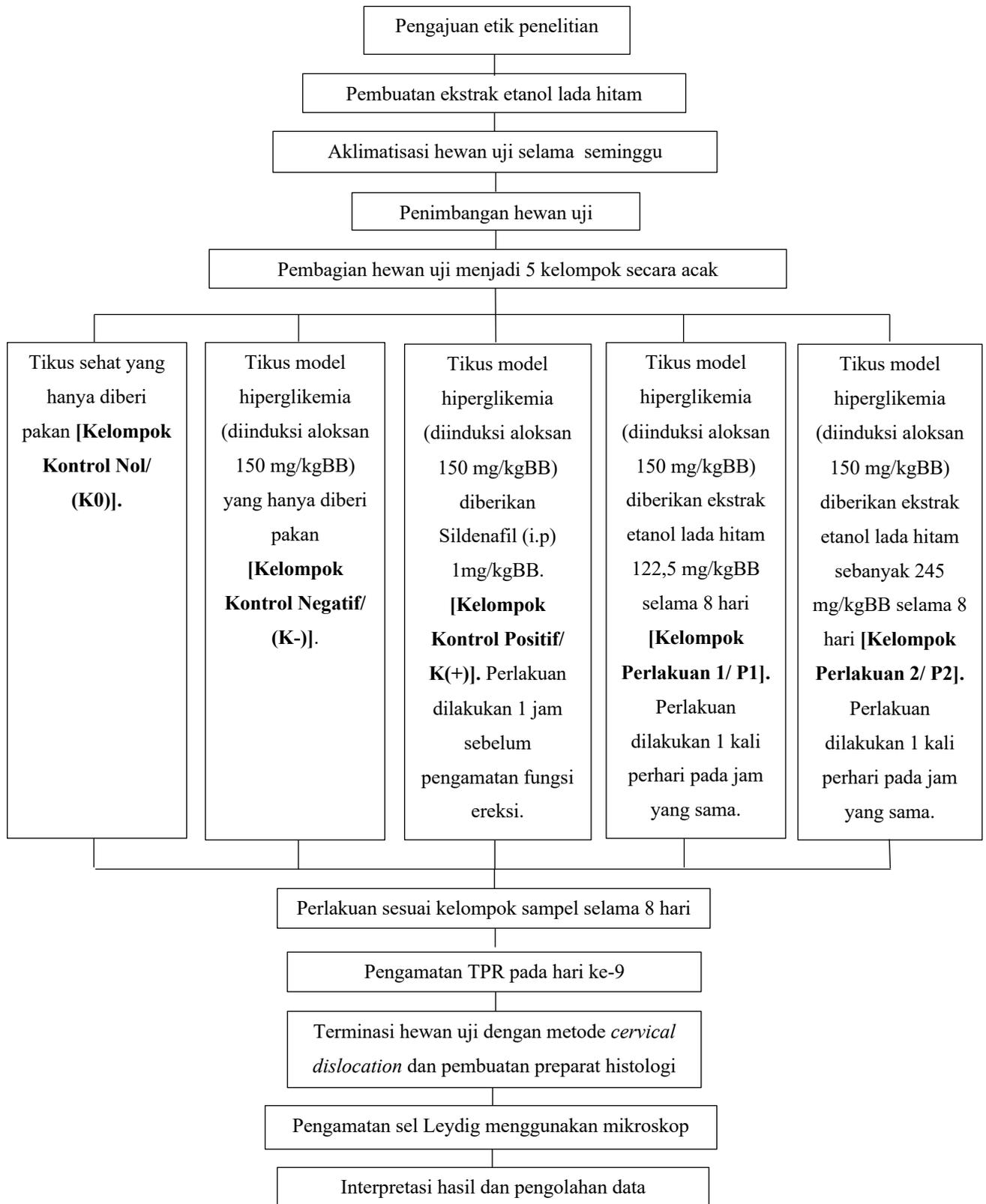
Gambar 14. Sel Leydig Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Perbesaran 100x (Dina *et al.*, 2017)

Pada hari ke-9 setelah pemeriksaan fungsi ereksi selesai, seluruh mencit diterminasi menggunakan metode dislokasi leher kemudian dibedah dan diambil salah satu testisnya untuk dibuat preparat mikroanatomi. Sediaan testis mencit diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali (40 X 10). Jumlah sel Leydig dihitung pada 5 lapang pandang (Harahap, 2023).

3.9 Analisis Data

Uji homogenitas varians data dari 5 kelompok dilakukan menggunakan *Levene's Test* dan dikatakan homogen apabila nilai *Sig. Based on Mean* > 0,05. Jika data homogen akan dilakukan analisis parametrik. Analisis statistik parametrik dalam penelitian ini menggunakan analisis bivariat untuk mengeksplorasi hubungan antara variabel bebas dan terikat. Analisis bivariat yang digunakan adalah *One Way ANOVA*. Jika perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada uji *One Way ANOVA*, analisis *Post Hoc* digunakan untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 15. Diagram Alur Penelitian

3.11 Etik Penelitian

Penelitian ini mengikuti prinsip *Replacement, Reduction, and Refinement* (3R) dan telah melalui proses peninjauan oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung serta mendapatkan persetujuan etik (*Ethical clearance*) dengan nomor 5116/UN26.18/PP.05.02.00/2024.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) berpengaruh terhadap fungsi ereksi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.
2. Pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) berpengaruh terhadap jumlah sel Leydig tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model hiperglikemia.

5.2 Saran

5.2.1 Bagi Peneliti

1. Penelitian selanjutnya dapat melibatkan variasi dosis yang lebih beragam untuk memungkinkan pengamatan mekanisme yang lebih komprehensif serta penilaian yang lebih mendetail mengenai pengaruh peningkatan dosis dan dosis ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.) yang paling efektif dalam meningkatkan jumlah sel Leydig dan fungsi ereksi pada keadaan hiperglikemia.
2. Studi lanjutan dapat membandingkan jumlah sel Leydig pada kelompok tikus yang diberikan ekstrak etanol lada hitam dengan kelompok tikus yang diberikan terapi konvensional yang terbukti dapat meningkatkan jumlah sel Leydig.

5.2.2 Bagi Masyarakat

Dapat dijadikan salah satu sumber informasi mengenai manfaat rempah-rempah di Indonesia terhadap kesehatan terutama kejadian disfungsi ereksi pada pasien diabetes melitus.

5.2.3 Bagi Institusi

Dapat dijadikan masukan pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan referensi bagi peneliti selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, I. 2010. Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Perlakuan Dengan Boraks. *Bios J.* 1 (2): 1–9.
- Aladamat, N. and Tadi, P. 2022. Histology, Leydig Cells. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556007/>. diakses pada 2 September 2024
- Al-Hajj, D.N., Algabr, M., Rizwan Sharif, H., Aboshora, W., Qaid Al-Hajj, N.M., Algabr, M., Wang, H., 2016. In Vitro and in Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of Pulicaria inuloides-Asteraceae. *J Food Nutr Res.* 4(7): 461–470.
- American Diabetes Association. 2021. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes-2021*. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>. diakses pada 1 September 2024
- Arango, J.D.O. 2017. *Predictive Models For Side Effects Following Radiotherapy For Prostate Cancer*. [Thesis]. L'Université de Rennes, Rennes. 186 p.
- Ayaz, O., Howlett, S.E. 2015. Testosterone modulates cardiac contraction and calcium homeostasis: cellular and molecular mechanisms. *Biol Sex Differ.* 6(2): 9–24.
- Besong, E.E., Akhigbe, T.M., Ashonibare, P.J., Oladipo, A.A., Obimma, J.N., Hamed, M.A., Adeyemi, D.H., Akhigbe, R.E., 2023. Zinc Improves Sexual Performance And Erectile Function By Preventing Penile Oxidative Injury And Upregulating Circulating Testosterone In Lead-Exposed Rats. *Redox Rep.* 28(1): 22–56.
- Blute, M., Hakimian, P., Kashanian, J., Shteynshlyuger, A., Lee, M., & Shabsigh, R. 2009. Erectile Dysfunction and Testosterone Deficiency. *Front Horm Res.* 37(3):108–122.
- Chen, X., *et al.* 2018. Diverged Effects of Piperine on Testicular Development: Stimulating Leydig Cell Development But Inhibiting Spermatogenesis In Rats. *Front Pharmacol.* 9(244):1–13.

- Cheng, H., Niu, Z., Xin, F., Yang, L., & Ruan, L. 2020. A New Method To Quantify Penile Erection Hardness: Real-Time Ultrasonic Shear Wave Elastography. *Transl Androl Urol.* 9(4): 1735–1742.
- Dahril, 2017. Disfungsi Ereksi In: *National Symposium dan Workshop Aceh Surgery Update 2*. Universitas Syah Kuala, Banda Aceh. Pp. 63-79.
- Darmi, P. G., Negara, M., dan Kurniawan, Y. 2020. Hubungan Merokok Dengan Kejadian Disfungsi Ereksi Pada Pegawai Laki-Laki Di Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. *E-Jur Med Udayana.* 9(1): 66–70.
- D’Cruz, S.C., and Mathur, P.P. 2005. Effect of Piperine on The Epididymis of Adult Male Rats. *Asian J Androl.* 7(4): 363–368.
- Dean, R. C., and Lue, T. F. 2005. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am.* 32(4): 379–395.
- DeLay, K. J., Haney, N., and Hellstrom, W. J. 2016. Modifying Risk Factors in the Management of Erectile Dysfunction: A Review. *World J Mens Health.* 34(2): 89–100.
- Dhaliwal, A. and Gupta, M. 2023. PDE5 Inhibitors. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549843/> diakses pada 3 September 2024
- Dina, M., Wahyuni, S., & Armansyah, T.T., 2017. Penurunan Jumlah Sel Leydig dan Sel Sertoli Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Setelah Pemberian Formalin. *JIMVET.* 1(2): 203–209.
- Dinas Perkebunan Provinsi Lampung. 2022. Penyajian Data Statistik Persebaran Luas Areal Dan Produksi Komoditas Lada Dinas Perkebunan Di Provinsi Lampung Tahun 2020 Melalui Peta Gis (*Geographic Information System*). <https://disbun.lampungprov.go.id>. Diakses pada tanggal 30 Agustus 2024
- Dosoky, N.S., Satyal, P., Barata, L.M., Da Silva, J.K.R., & Setzer, W.N. 2019. Volatiles of black pepper fruits (*Piper nigrum* L.). *Molecules.* 24(23): 42–44.
- Duncan, C., Omran, G. J., Teh, J., Davis, N. F., Bolton, D. M., & Lawrentschuk, N. 2019. Erectile Dysfunction: A Global Review of Intracavernosal Injectables. *World J Urol.* 37(6): 1007–1014.
- Du, Z., *et al.* 2018. Melatonin Attenuates Detrimental Effects of Diabetes on The Niche of Mouse Spermatogonial Stem Cells by Maintaining Leydig Cells. *Cell Death Dis.* 9(10):1–15.

- Eardley, I. 2002. Pathophysiology of erectile dysfunction. *Br J Diabetes Vasc Dis.* 2(4): 272–276.
- Fowler, M.J. 2008. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Clinical Diabetes Journal.* 26(2): 77–82.
- Garcia, R.A., and Sajjad, H. 2024. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Scrotum. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549893/> diakses pada 27 Agustus 2024
- Ghliissi, Z., *et al.* 2013. Antioxidant and androgenic effects of dietary ginger on reproductive function of male diabetic rats. *Int J Food Sci Nutr.* 64(8): 974–978.
- Gorgani, L., Mohammadi, M., Najafpour, G.D., & Nikzad, M. 2017. Piperine-The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 16(1):124-140.
- Goyal, R., Singhal, M., & Jialal, I. 2023. Type 2 Diabetes. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513253/> diakses pada 25 Agustus 2024
- Gur, S., *et al.* 2020. Testosterone positively regulates functional responses and nitric oxide expression in the isolated human corpus cavernosum. *Andrology* 8(6): 1824–1833.
- Hartono, K.M. 2016. Pengaruh Pemberian Kopi Terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Wistar Yang Dipapar Sinar Ultraviolet. *Diponegoro Med J.* 5(4): 1161-1170.
- Harahap, E.D. 2023. Pengaruh Lama Paparan Merkuri Peroral Terhadap Jumlah Sel Leydig. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
- Hasrawati, H., 2022. Pemberian ekstrak lada hitam (*Piper nigrum* L.) untuk menekan laju pertumbuhan kontaminan pada kultur *in vitro* tanaman kentang (*Solanum tuberosum*). *Filogeni Jurnal Mahasiswa Biologi.* 2(1): 15-20.
- Hastuti, S. 2015. Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Sligi (*Phyllanthus Buxifolius* Muell .Arg) terhadap Mencit Galur Balb/C (Analgesic Activity Of Ethanol Extract Seligi Leaves (*Phyllanthus Buxifolius* Muell .Arg) to Mice Balb/C), *Ind Jour Med Sci.* 2(1):15-22.
- Hatzimouratidis, K., *et al.* 2010. Guidelines On Male Sexual Dysfunction: Erectile Dysfunction And Premature Ejaculation. *Eur Urol.* 57(5): 804–814.

- Huang, D., Refaat, M., Mohammedi, K., Jayyousi, A., Al Suwaidi, J., & Abi Khalil, C. 2017. Macrovascular Complications in Patients with Diabetes and Prediabetes. *Biomed Res Int.* 10(11): 55–62.
- Huang, R., Chen, J., Guo, B., Jiang, C., & Sun, W., 2024. Diabetes-induced male infertility: potential mechanisms and treatment options. *Mol Med.* 30(1):1–15.
- Hutagalung, A.M.P., Elim, C., & Munayang, H. 2009. Pengaruh Sindroma Depresi Terhadap Disfungsi Ereksi. *Jurnal Biomed UNSRAT.* 1(2): 96–106.
- HZ, T. W. E. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Terhadap Sistem Reproduksi Tikus Wistar Jantan Dewasa: Kajian Pada Hormon FSH, LH, Testosteron dan Sel-sel Spermatogenik. [Tesis]. Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Ikram, M.F., Warli M.S., Prapiska F.F., dan Kadar D.D. 2022. Prevalensi Disfungsi Ereksi Pada Pesepeda Usia 25-55 Tahun Di Kota Medan. *Syn L: J Ilm Indo.* 7(1): 1192–1202.
- International Diabetes Federation. 2021. *IDF Diabetes Atlas 10th edition.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581934/> diakses pada 30 Agustus 2024
- James, E.R., Carrell, D.T., Aston, K.I., Jenkins, T.G., Yeste, M., & Salas-Huetos, A., 2020. The Role of The Epididymis and The Contribution of Epididymosomes to Mammalian Reproduction. *Int J Mol Sci.* 21(15): 53–77.
- Janes, L. 2016. Hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis In: *Encyclopedia of Personality and Individual Differences*, Springer International Publishing, New York.
- Kaplan-Marans, E., Sandozi, A., Martinez, M., Lee, J., Schulman, A., & Khurgin, J. 2022. Medications Most Commonly Associated With Erectile Dysfunction: Evaluation of the Food and Drug Administration National Pharmacovigilance Database. *Sex Med.* 10(5): 100–143.
- Koslov, D.S., Andersson, K.E., 2013. Physiological and Pharmacological Aspects of The Vas Deferens-An Update. *Front Pharmacol* 4(101): 12–26.
- Kusumawati, I., Mahatmaputra, S., Hadi, R., Rullyansyah, S., Yusuf, H., & Rahman, A. 2021. Aphrodisiac Activity of Ethanolic Extracts from the Fruits of Three Pepper Plants from Piperaceae Family. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 8(194):76–87.

- Labanca, P.D.C., Porto, M., Resende, F.C., Abidu-Figueiredo, M., & Pissinatti, A. 2024. Observations on the anatomy of the funiculus spermaticus and the testis in *Brachyteles* sp. (SPIX, 1823) primates - Atelidae. *J Med Primatol.* 53(3):14–23.
- Leslie, S.W., and Sooriyamoorthy, T. 2024. Erectile Dysfunction. In: StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562253/> diakses pada 25 Agustus 2024
- Lwanga, S.K., and Lemeshow, S. 1991. *Sample Size Determination In Health Studies: A Practical Manual*. World Health Organization, Geneva. 80pp.
- Ma, M., Yu, B., Qin, F., & Yuan, J. 2020. Current Approaches to The Diagnosis of Vascular Erectile Dysfunction. *Transl Androl Urol.* 9(2): 709–721.
- Meghwal, M. and Goswami, T.K. 2012. Chemical Composition, Nutritional, Medicinal and Functional Properties of Black Pepper, A Review. *Journal of Nutrition & Food Sciences.* 1(5): 11–25.
- Moncada, I., Martinez-Salamanca, J., Ruiz-Castañe, E., & Romero, J. 2018. Combination therapy for erectile dysfunction involving a PDE5 inhibitor and alprostadil. *Int J Impot Res.* 30(5): 203–208.
- Milenković, A., and Stanojević, L. 2021. Black pepper: Chemical composition and biological activities. *Adv Tech.* 10(1):40–50.
- Nassar, G.N., and Leslie, S.W. 2023. Physiology, Testosterone. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526128/> diakses pada 29 Agustus 2024
- Ong, K.L., Stafford, L.K., McLaughlin, S.A., & Boyko, E.J. 2023. Global, Regional, and National Burden of Diabetes From 1990 to 2021, With Projections of Prevalence to 2050: A Systematic Analysis for The Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet.* 40(2): 203–234.
- Parmar, R., Verma, S., Neelkamal, Pathak, V., & Bhadoria, A., 2022. Prevalence of Erectile Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) and Its Predictors Among Diabetic Men. *J Family Med Prim Care.* (11)7: 38-75.
- Plantamor. 2016. Lada. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=1011>. Diakses pada 30 Agustus 2024
- Tjitrosoepomo, G. 2004. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)* Cetakan ke-8. UGM Press. Yogyakarta. 244 hlm.

- Prawira, J.A.W., Momuat, L.I., & Kamu, V.S., 2015. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Heksana dari Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot*), *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 4(1): 5–9.
- Purnomo, B.B. 2011. *Dasar-Dasar Urologi Edisi Ketiga*. CV Sagung Seto, Jakarta. 382 hlm. ISBN: 978-602-8674-43-0
- Qi, L., *et al.* 2023. Krause Corpuscles of The Genitalia Are Vibrotactile Sensors Required for Normal Sexual Behavior. *J Biorxiv*. 6(30): 926–934.
- Rew, K.T., and Heidelbaugh, J. J. 2016. Erectile Dysfunction. *J Am fam physician*. 94(10): 820–827.
- Rizal, D.M. 2022. Diabetes Mellitus Dan Gangguan Fungsi Seksual. Medika Kartika. *Jurnal Medika Kartika*. 4(5): 507–520.
- Saenong, M.S. 2017. Tumbuhan Indonesia Potensial sebagai Insektisida Nabati untuk Mengendalikan Hama Kumbang Bubuk Jagung (*Sitophilus spp.*). *Jurnal Litbang Pertanian*. 35(3): 131–142.
- Sam, P., and LaGrange, C.A. 2023. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Penis. In: StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482236/> diakses pada 25 Agustus 2024
- Sapra, A, and Bhandari, P. 2023. Diabetes. In: StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551501/> diakses pada 26 Agustus 2024
- Saraiva, K.L.A., Silva, A.K.S.E, Wanderley, M.I, De Araújo, A.A, De Souza, J.R.B, & Peixoto, C.A. 2009. Chronic Treatment With Sildenafil Stimulates Leydig Cell And Testosterone Secretion. *J Exp Pathol*. 90(4): 454–462.
- Secil, M., *et al.* 2017. Imaging features of paratesticular masses. *J Ultrasound Med*. 36(7): 1487–1509 .
- Septiyorini, N., dan Purwono, S.. 2020. The Effect of Black Pepper Fruits (*Piper nigrum L.*) on the Increase of Erection. *J Atlantis Press*. 20(2): 251–255.
- Sharma, B., Singh, S., & Siddiqi, N.J. 2014. Biomedical Implications of Heavy Metals Induced Imbalances In Redox Systems. *BioMed Res Int*. 20(4):1–26.
- Sheriff, O.L., Olayemi, O., Taofeeq, A.O., Riskat, K.E., Ojochebo, D.E., Ibukunoluwa, A.O., 2020. A New model for Alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *J Bangladesh Soc Physiol*. 14(2): 56–62.

- Shillah, W.B., Yahaya, J.J., Morgan, E.D., & Bintabara, D. 2024. Predictors of microvascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus at regional referral hospitals in the central zone, Tanzania: a cross-sectional study. *J Sci Rep.* 14(1): 1–10.
- Sin, V.J., Anand, G.S., Koh, H.L. 2021. Botanical Medicine and Natural Products Used for Erectile Dysfunction. *Sex Med Rev.* 9(4):568–592.
- Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo, S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis.* UI Press. Jakarta. Hlm. 37–57.
- Solis-Herrera, C., Triplitt, C., Reasner, C., DeFronzo, R.A., Cersosimo, E. 2018. Classification of Diabetes Mellitus. In: Endotext <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279119/> diakses pada 2 September 2024
- Srinath, J and Thangavelu, L. 2014. Application of Spices in Dentistry- A Literature Review. *Int J Drug Dev & Embase.* 6(2): 1–9.
- Stoddard, N., and Leslie, S.W. 2024 Histology, Male Urethra. In: StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542238/> diakses pada 30 Agustus 2024
- Sugiyono. 2012. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D.* Alfabeta, Bandung. 346 hlm.
- Sunaryo, H., Nurlaily, 2015. Efek Imunomodulator Fraksi Etanol Dari Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Berdasarkan Peningkatan Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Mencit Secara In Vitro. *Pharmacy.* 12(1):58–69.
- Sutyarso, Muhartono, Kanedi, M. 2016. The Effect of Fruit Extracts of Black Pepper on the Fertility Potential of Male Albino Mice. *J SciEp.* 4(1): 1–4.
- Tang, Z., Li, D., & Zhang, X. 2014. Comparison of the simplified International Index of Erectile Function (IIEF-5) in patients of erectile dysfunction with different pathophysiologies. *BMC Urol.* 14(52): 1-6.
- Tiwana, M.S., and Leslie, S.W. 2024. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Testes. In: StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470201/> diakses pada 31 Agustus
- Tiwari, A., Mahadik, K.R., & Gabhe, S.Y. 2020. Piperine: A Comprehensive Review of Methods of Isolation, Purification, and Biological Properties. *Med in Drug Dis.* 7(10): 1-21.

- Wardani, I., dan Santoso, P. 2017. Efektivitas Afrodisiaka Dari Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Roscoe) Pada Tikus (*Rattus Norvegicus* L.) Putih Jantan. *JINTO*. 3(1): 22–28.
- Wolfensohn, S., and Lloyd, M. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 4th ed.*, Wiley-Blackwell. West Sussex. 400 pp.
- Wowor, A. J., Tendean, L. E. N., & Rumbajan, J. M. 2021. Pengaruh Diabetes Mellitus Terhadap Kejadian Disfungsi Ereksi. *e-Biomedik*. 9(2): 222–228.
- Zirkin, B.R., and Papadopoulos, V. 2018. Leydig cells: Formation, Function, and Regulation. *J Biol Reprod*. 99(1): 101–111.