

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM
(*Piper nigrum L*) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN
JUMLAH SPERMATOGONIA MODEL DIABETES
TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*)
GALUR *Sprague Dawley***

(Skripsi)

Oleh:

JINAN NAURA TALIN

2158011006



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2025

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM
(*Piper nigrum L*) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN
JUMLAH SPERMATOGONIA MODEL DIABETES
TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*)
GALUR *Sprague Dawley***

**Oleh:
JINAN NAURA TALIN
2158011006**

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada
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 KADAR GULA DARAH DAN JUMLAH SPERMATOGONIA MODEL DIABETES TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novvergicus*) GALUR *Sprague Dawley***

Nama Mahasiswa : **Jinan Naura Talin**

No. Pokok Mahasiswa : **2158011006**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


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

NIP. 198612082010121006


**dr. Wahyu Rudyanto, S.Ked, M.Kes.,
Sp.KKLP**

NIP. 197610292003121002

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. Waluyo Rudlyanto, M.Kes., Sp.KKLP



Penguji : Dr. dr. Indri Windarti, Sp.PA



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Em Kurniawaty, M.Sc

NIP. 197601202003122001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 23 Januari 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Drgngan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM (*Piper nigrum* L) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN JUMLAH SPERMATOGONIA MODEL DIABETES TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR Sprague Dawley”** 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 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, 23 Januari 2025

Pembuat Pernyataan,



Jinan Naura Talin

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kalianda Lampung Selatan pada tanggal 08 Maret 2003, sebagai anak pertama dari 2 bersaudara dari Bapak Mursalin Syam dan Ibu Rita Mailini.

Pendidikan pertama Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Masjid Agung Kalianda Lampung Selatan pada tahun 2009, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SDN 1 Way Urang Kalianda Lampung Selatan pada tahun 2015, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 1 Kalianda pada tahun 2018, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 1 Kalianda pada tahun 2021.

Tahun 2021 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Universitas Lampung (SIMANILA) Tertulis.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif pada organisasi PMPATD PAKIS Rescue Team sebagai anggota Divisi Pecinta Alam tahun 2023-2024 dan aktif pada UFO Paduan Suara Mahasiswa (PSM) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai Kepala Bidang PSDM tahun 2023-2024.

SANWACANA

Alhamdulillah rabbil'alamin Penulis ucapkan kehadiran Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas segala Rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita baginda Nabi Muhammad SAW yang Insya Allah syafa'atnya selalu dinantikan di yaumul akhir kelak.

Skripsi dengan judul :Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Lada hitam (*Piper nigrum* L) Terhadap Kadar Gula Darah dan Jumlah Spermatogonia Model Diabetes Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley adalah salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Sehubungan dengan tersusunnya skripsi ini bukan semata-mata dari buah pikiran penulis, tetapi juga atas partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini saya selaku peneliti menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan membimbing dalam penyusunan skripsi ini. Dalam proses ini, Penulis mendapatkan banyak bantuan, bimbingan, dukungan, serta inspirasi dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

3. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng. Selaku Rektor beserta jajaran Wakil Rektor Universitas Lampung.
4. Dr. dr, Evi Kurniawaty, S.Ked., M.sc., selaku Dekan beserta jajaran Wakil Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
5. dr. Exsa Hadibrata, S.Ked., Sp.U., selaku Pembimbing I yang telah meluangkan waktu dalam membantu, membimbing, mendoakan, dan senantiasa sabar dalam memberikan saran dan arahan dalam penyusunan skripsi ini. Terimakasih dokter atas segala ilmu yang diberikan kepada penulis;
6. dr. Waluyo Rudiyanto, M.Kes., Sp.KKLP., selaku Pembimbing II yang telah meluangkan waktu dalam membimbing, memberikan saran, ilmu, kritik, arahan serta motivasi dalam penyelesaian skripsi ini;
7. Dr. dr. Indri Windarti, Sp. PA., selaku Pembahas yang telah meluangkan waktu dalam membantu mengarahkan, memberikan feedback positif, kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini;

8. dr. Risti Graharti, M.Ling., selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan saran, motivasi dan ilmu selama perkuliahan;
9. Bapak Wawan A. Setiawan, S. Si., M.Si. dan keluarga, Ibu Adinda, Mas Jevi yang telah membantu penulis dalam mengarahkan dari sebelum penelitian sampai setelah penelitian. Terima kasih atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis;
10. Ibu Nuriyah yang telah meluangkan waktunya dalam mengarahkan, membantu, mengajarkan kami dari sebelum penelitian. Terima kasih banyak atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis;
11. Ayahanda Peltu Mursalin Syam dan Ibunda Rita Mailini, SE., MM., terimakasih atas doa yang selalu dipanjatkan, kasih sayang, dukungan, bimbingan, dan motivasi selama perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini;
12. Adik tercinta Nafah Sari Talin yang telah membantu, menemani, mendukung dan mendengarkan keluh kesah penulis selama perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini;
13. Seluruh Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu yang diberikan dalam menambah wawasan yang menjadi landasan untuk menggapai cita-cita;
14. Teman-teman satu bimbingan dan penelitian skripsi Ayu, Faza, dan Mayang, yang telah berjuang bersama-sama menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini, serta teman-teman tersayang Assyfa Salsa Yulpani dan Hana Muthi'a Putri yang selalu membantu, menemani, mendukung, dan memotivasi penulis selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini;
15. Teman sejak SMP Nabila, Tiara, Ajeng, Diva yang selalu menemani, mendukung, dan mendengarkan keluh kesah penulis selama perkuliahan dan penyusunan skripsi;
16. Teman-teman DPA 1 (Atlas) yang telah kebersamai penulis sejak pertama di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
17. Keluarga besar SC16 PMPATD PAKIS Rescue Team dan Divisi Pecinta Alam (PA) sebagai tempat berbagi canda, tawa dan penghilang penat selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini;
18. Kepada diri saya sendiri, Jinan Naura Talin, terima kasih sudah bertahan hingga di titik ini, terimakasih atas usaha mu dalam perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini;

19. Teman-teman Angkatan 2021, Purin Pirimidin, yang Namanya tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas perjuangan dan kebersamaan yang sudah dilewati selama lebih dari 3 tahun ini dan akan terus berlanjut;

Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa memberikan rahmat dan balasan yang berlipat atas segala bantuan dan kebaikan yang selama ini telah diberikan kepada penulis dalam perkuliahan dan penyusunan skripsi. Penulis berharap semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua. Jazakumullah Khairan Katsiran.

Bandar Lampung, 23 Januari 2025

Penulis

Jinan Naura Talin

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL LADA HITAM (*Piper nigrum L*) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN JUMLAH SPERMATOGONIA MODEL DIABETES TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague Dawley*

Oleh

JINAN NAURA TALIN

Latar Belakang: Diabetes melitus yang tidak ditangani dengan baik dapat mengakibatkan infertilitas. Kandungan piperin yang terdapat di dalam lada hitam dapat membantu dalam kualitas proses spermatogenesis dan kadar gula darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum L*) terhadap kadar gula darah dan jumlah spermatogonia model diabetes tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

Metode: Penelitian menggunakan *Posttest-only Randomized Control Group* pada tikus sebanyak 24 ekor yang terbagi menjadi 4 kelompok. Semua kelompok di induksi aloksan 150 mg/kgBB kecuali pada KN. P1 dan P2 diberikan ekstrak etanol lada hitam 122,5 mg/kgBB dan 245 mg/kgBB. Dilakukan pengecekan kadar gula darah menggunakan Easy Touch Glucose dengan batas normal 50-135 mg/dL. Jumlah spermatogonia dihitung menggunakan alat bantuan yaitu ImageJ. Data dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas, dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan uji *Pos Hoc*

Hasil: Hasil statistik kadar gula darah didapatkan data terdistribusi normal yaitu $p > 0,05$, data tidak homogen $p < 0,05$, hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil yang bermakna dan dilanjutkan uji *Pos Hoc* didapatkan hasil bermakna pada P2 dan K-. Jumlah spermatogonia didapatkan data terdistribusi normal yaitu $p > 0,05$, data tidak homogen $p < 0,05$. Hasil uji *Kruskal-Wallis* yang bermakna yaitu $p < 0,05$ dan dilanjutkan uji *Pos Hoc* didapatkan hasil bermakna pada P2 dan P1.

Simpulan: Terdapat penurunan kadar gula darah pada pemberian ekstrak etanol lada hitam (*P. nigrum L*) model diabetes tikus putih Jantan (*R. norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Namun, tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*P. nigrum L*) terhadap jumlah spermatogonia model diabetes tikus putih Jantan (*R. norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

Kata Kunci: Diabetes melitus, *Piper nigrum L*, *Rattus norvegicus*.

ABSTRACT

THE EFFECT OF GIVING BLACK PEPPER ETHANOL EXTRACT (*Piper nigrum L*) ON BLOOD SUGAR LEVELS AND SPERMATOGONIA COUNT OF DIABETES MODEL MALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley STRAIN

BY

JINAN NAURA TALIN

Background: Diabetes mellitus that is not treated properly can result in infertility. The piperine content in black pepper can help in the quality of the spermatogenesis process and blood sugar levels. This study aims to determine the effect of administering ethanol extract of black pepper (*Piper nigrum L*) on blood sugar levels and the number of spermatogonia in a model of diabetes in male white rats (*Rattus norvegicus*) of the *Sprague dawley* strain.

Methods: The study used a Posttest-only Randomized Control Group on 24 mice divided into 4 groups. All groups were induced with alloxan 150 mg/kgBW except KN. P1 and P2 were given black pepper ethanol extract 122.5 mg, kgBW and 245 mg/kgBW. Blood sugar levels were checked using Easy Touch Glucose with a normal limit of 50-135 mg/dL. The number of spermatogonia was counted using the tool ImageJ. Data were analyzed using the Shapiro-Wilk normality test and homogeneity test, followed by the Kruskal Wallis non-parametric test and the Post Hoc test.

Result: The statistical results of blood sugar levels showed that the data was normally distributed, namely $p > 0.05$, the data was not homogeneous, $p < 0.05$, the results of the Kruskal-Wallis test showed significant results and continued with the Post Hoc test, the results were significant for P2 and K-. The data obtained for the number of spermatogonia were normally distributed, namely $p > 0.05$, the data was not homogeneous, $p < 0.05$. The results of the Kruskal-Wallis test were significant, namely $p < 0.05$ and continued with the Post Hoc test, significant results were obtained at P2 and P1.

Conclusion: There is a decrease in blood sugar levels when given ethanol extract of black pepper (*P. nigrum L*) in the diabetes model of male white rats (*R. norvegicus*) of the *Sprague dawley* strain. However, there is no effect of giving ethanol extract of black pepper (*P. nigrum L*) on the number of spermatogonia in the diabetes model of male white rats (*R. norvegicus*) of the *Sprague dawley* strain.

Keyword: diabetes mellitus, *Piper nigrum L*, *Rattus norvegicus*.

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I PENDAHULUAN	1
19.1. Latar Belakang	1
19.2. Rumusan Masalah.....	4
19.3. Tujuan Penelitian	4
19.4. Manfaat Penelitian	4
19.4.1. Bagi Peneliti	4
19.4.2. Bagi Institusi dan Masyarakat	4
19.5. Ruang Lingkup Penelitian.....	5
19.5.1. Lingkup Masalah.....	5
19.5.2. Lingkup Subyek	5
19.5.3. Lingkup Tempat dan Waktu	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Histologi Testis	6
2.1. Spermatogenesis	8
2.2. Diabetes Melitus	10
2.3. Dampak Diabetes Melitus Pada Spermatogenesis	12
2.4. Lada Hitam	14
2.5.1. Klasifikasi Tanaman Lada Hitam (<i>Piper nigrum L</i>)	14
2.5.2. Kandungan dan Khasiat Lada Hitam (<i>Piper nigrum L</i>)	15
2.5.3. Pengaruh Piperin Pada Kadar Glukosa	15
2.5.4. Mekanisme dan Manfaat Piperin Sebagai Antioksidan	16
2.5. Tikus Putih Jantan (<i>Rattus novergicus</i>) Galur <i>Sprague dawley</i>	17

2.6.	Siklus Spermatogenesis Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) Galur <i>Sprague dawley</i>	20
2.7.	Kerangka Teori	21
2.8.	Kerangka Konsep	22
2.9.	Hipotesis	22
BAB III METODE PENELITIAN.....		24
3.1.	Jenis dan Desain Penelitian.....	24
3.2.	Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
3.2.1.	Waktu Penelitian.....	24
3.2.2.	Tempat Penelitian	24
3.3.	Subyek Penelitian	24
3.3.1.	Populasi.....	24
3.3.2.	Sampel	25
3.3.3.	Kelompok Perlakuan.....	26
3.4.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	27
3.5.	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	27
3.5.1.	Variabel Penelitian	27
3.5.2.	Definisi Operasional Variabel Penelitian	27
3.6.	Alat dan Bahan Penelitian	30
3.6.1.	Alat Penelitian.....	30
3.6.2.	Bahan Penelitian	30
3.7.	Prosedur Penelitian	30
3.7.1.	Pengadaan Hewan Uji.....	30
3.7.2.	Pemeliharaan Hewan Uji.....	30
3.7.3.	Pengamatan dan Terminasi Hewan Uji.....	31
3.7.4.	Pembuatan Ekstrak Lada Hitam (<i>Piper nigrum L</i>).....	32
3.7.5.	Induksi Aloksan	32
3.7.6.	Pembedahan	33
3.7.7.	Pengambilan dan Pengamatan Jumlah Spermatogonia	33
3.8.	Analisis Data.....	34
3.9.	Alur Penelitian	35
3.10.	Etik Penelitian.....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		37
4.1.	Gambaran Umum Penelitian.....	37

4.2 Hasil Tes Kadar Gula Darah <i>Rattus norvegicus</i>	37
4.3 Hasil Analisis Perhitungan Jumlah Spermatogonia	40
4.4. Pembahasan Penelitian	44
4.4.1 Efek Diabetes Melitus Terhadap Spermatogenesis	44
4.4.2 Pengaruh Efektivitas <i>Piper nigrum L</i> pada P1 dan P2.....	45
4.4.3 Perbandingan Pengaruh Efektivitas <i>Piper nigrum L</i> pada P1, P2 dengan KN dan K.....	45
4.4.4 Efektivitas <i>Piper nigrum L</i> Terhadap Pencegahan Infertilitas Pada Pasien Diabetes Melitus	47
4.4.5 Efektivitas <i>Piper nigrum L</i> Terhadap Diabetes Melitus	49
4.4.6 Diabetes Melitus Terhadap Organ Target Tubuh	51
4.4.6.1 Kadar Gula Darah	52
4.4.6.2 Ketidakseimbangan Produksi Energi	52
4.4.6.3 Aldosa Reduktase	53
4.4.6.4 Resistensi Insulin	54
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	56
5.1. Kesimpulan	56
5.2. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	28
2. Hasil Tes Kadar Gula Darah <i>Rattus norvegicus</i>	38
3. Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> Kadar Gula Darah	41
4. Hasil Uji Homogenitas <i>Levene</i> Kadar Gula Darah.....	42
5. Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Kadar Gula Darah.....	39
6. Hasil Uji <i>Pos Hoc</i> Kadar Gula Darah	40
7. Hasil Perhitungan Jumlah Spermatogonia	41
8. Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> Jumlah Spermatogonia	42
9. Hasil Uji Homogenitas <i>Levene</i> Jumlah Spermatogonia	42
10. Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Jumlah Spermatogonia	43
11. Hasil Uji <i>Pos Hoc</i> Jumlah Spermatogonia.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambaran mikroskopis tubulus seminiferous perbesaran 100x.....	7
2. Gambaran mikroskopis tubulus seminiferous perbesaran 400x.....	8
3. Tanaman Buah Lada Hitam	14
4. Tikus Putih <i>Rattus novergicus</i>	18
5. Kerangka Teori	21
6. Kerangka Konsep	22
7. Alur Penelitian.....	35

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan sebuah gangguan yang terkait dengan proses metabolisme dan sistem endokrin, yang ditandai oleh tingginya gula darah atau hiperglikemia. Kondisi ini terjadi karena ketidakmampuan tubuh untuk menggunakan insulin dengan baik dan adanya masalah pada sel beta di pankreas, seperti yang dinyatakan oleh Lotti dan Maggi (2023). Penyakit ini telah menjadi tantangan kesehatan global yang terus mengalami peningkatan setiap tahun. Menurut laporan dari International Diabetes Federation (IDF), pada tahun 2015, jumlah orang dewasa yang menderita diabetes mencapai 415 juta, menunjukkan kenaikan signifikan dari 180 juta pada tahun 1980. Sampai akhir tahun 2021, IDF melaporkan angka tersebut telah meningkat menjadi 537 juta.

Data dari Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan yang dilakukan pada tahun 2013 menunjukkan bahwa prevalensi diabetes di Provinsi Lampung mencapai 0,9%, menjadikannya peringkat kelima dengan jumlah kasus diabetes tertinggi di 14 kabupaten dan kota. Individu yang menderita diabetes melitus berisiko tinggi mengalami masalah kesehatan serius, yang dapat berujung pada penurunan kualitas hidup atau malah kematian. Pengelolaan diabetes melitus yang tidak memadai dapat menimbulkan masalah kesuburan.

Stres oksidatif mengakibatkan kerusakan pada sel endotel pembuluh darah serta mengarah pada mikroangiopati yang menghambat distribusi nutrisi dari pembuluh darah ke jaringan yang memproduksi spermatozoa, sehingga proses spermatogenesis di testis tidak dapat berjalan dengan baik. Selain itu, stres oksidatif dapat merusak sumbu hipotalamus-pituitari-gonad, yang pada gilirannya meningkatkan ketidaknormalan dalam sekresi hormon. Dengan begitu, jika sel-sel dan hormon di testis mengalami gangguan, fase spermatogenesis juga terpengaruh, yang dapat menurunkan jumlah spermatozoa dan akhirnya mengarah pada masalah kesuburan (Adelati dkk., 2016). Dalam penanganannya, langkah pertama adalah menerapkan gaya hidup sehat bersamaan dengan intervensi farmakologis. Banyak penelitian dan studi menunjukkan bahwa penggunaan obat herbal tradisional efektif dalam mengatasi diabetes. Salah satu contohnya adalah pemanfaatan ekstrak lada hitam untuk pengobatan diabetes.

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara yang menghasilkan berbagai rempah-rempah terbaik di dunia. Rempah adalah tanaman yang memiliki aroma dan rasa unik, sering digunakan sebagai bumbu dalam masakan, bahan kosmetik, serta untuk tujuan pengobatan. Lada hitam (*Piper nigrum* L) yang termasuk dalam keluarga piperaceae adalah salah satu rempah yang tumbuh di Indonesia. Provinsi Lampung terkenal dengan produksi lada hitam dan telah mendapatkan Sertifikat Indikasi Geografis, berkat reputasinya yang baik di pasar lokal maupun internasional sejak tahun 2015. Hal ini disebabkan oleh karakteristik khas dari lada hitam yang dihasilkan di Provinsi Lampung, baik dari segi rasa maupun aromanya (Distanbun, 2022).

Piper nigrum L memiliki beragam senyawa kimia seperti saponin, flavonoid, minyak esensial, kavisin, resin, protein, amilum, piperin, piperiline, piperoleine, poperanine, piperonal, dihidrokarveol, kanyo-fillene oksida, kariptone, tran piocarrol, serta minyak lada (Iskandar, 2021).

Senyawa aktif yang paling signifikan dari *P. nigrum L*, yakni piperin, menunjukkan kemampuan untuk menurunkan tingkat gula darah dan memiliki karakteristik antioksidan yang diklaim dapat melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dapat menyebabkan stres oksidatif, yang diketahui sebagai salah satu faktor pemicu diabetes (Ikhlas dkk., 2023).

Banyak studi telah memanfaatkan hewan sebagai objek penelitian. Salah satu spesies hewan yang sering dipilih adalah *Rattus norvegicus* atau Tikus Putih. Hewan ini diharapkan akan membantu para peneliti dalam mendapatkan subjek percobaan yang sesuai serta terstandarisasi. *R. norvegicus* juga dapat digunakan dalam penelitian tentang berbagai penyakit, termasuk diabetes, karena tikus ini merepresentasikan proses patogenesis diabetes yang serupa dengan yang dialami manusia. Dalam penelitian sebelumnya oleh Sergeevna dan Natalia (2016), tujuan yang dilakukan adalah untuk menyelidiki efek paparan timbal asetat terhadap proses spermatogenesis pada testis tikus jantan. Selain itu, penelitian (Sutyarso dkk., 2016) menunjukkan adanya hubungan antara peningkatan kadar testosteron pada tikus dan pemberian ekstrak *P. nigrum L*.

Dalam penelitian ini, dijelaskan bahwa piperin yang terkandung dalam *P. nigrum L* berpengaruh terhadap level testosteron pada tikus. Selain itu, ekstrak etanol *P. nigrum L* juga berdampak signifikan pada jumlah spermatosit, spermatid, serta spermatozoa di epididimis. Namun, sampai saat ini, penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak etanol *P. nigrum L* pada proses spermatogenesis dengan menggunakan model diabetes tikus putih jantan *R. norvegicus* masih belum ada. Oleh karena itu, peneliti berminat untuk meneliti dampak pemberian ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum L*) terhadap tingkat gula darah dan jumlah spermatogonia pada model diabetes dari tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah disampaikan di atas, permasalahan dapat dirumuskan sebagai berikut:

”Apakah ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L) berdampak pada kadar glukosa darah dan jumlah spermatogonia pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley yang telah melalui induksi diabetes?”

1.3. Tujuan Penelitian

- a. Apakah pemberian ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L) berdampak pada kadar glukosa darah pada model diabetes tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley.
- b. b. Apakah pemberian ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L) memengaruhi jumlah spermatogonia pada model diabetes tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) dari garis keturunan Sprague Dawley.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Peneliti

Meningkatkan wawasan di bidang biologi medis mengenai efek pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L) terhadap jumlah spermatogonia pada model diabetes di tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) dari jalur Sprague Dawley.

1.4.2. Bagi Institusi dan Masyarakat

Menjadi referensi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan memberikan informasi kepada masyarakat mengenai khasiat rempah-rempah yang ada di Indonesia.

1.5. Ruang Lingkup Penelitian

1.5.1. Lingkup Masalah

Topik yang dianalisis dalam penelitian ini adalah dampak dari pemberian ekstrak etanol dari biji lada hitam (*Piper nigrum* L) terhadap kadar glukosa dalam darah serta jumlah spermatogonia.

1.5.2. Lingkup Subyek

Objek yang diteliti dalam penelitian ini adalah mencit jantan berwarna putih (*Rattus norvegicus*) dari ras Sprague Dawley yang terkena diabetes.

1.5.3. Lingkup Tempat dan Waktu

Studi ini dilakukan antara bulan Agustus dan September tahun 2024 di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Histologi Testis

Testis adalah sepasang kelenjar reproduksi pria yang memiliki bentuk oval, berperan dalam produksi sperma serta hormon steroid yang disalurkan ke aliran darah. Organ ini memiliki dua fungsi utama, yakni endokrin dan eksokrin. Struktur testis terdiri dari beberapa lapisan, termasuk tunika vaginalis bagian parietalis, tunika vaginalis bagian visceralis, tunika albuginea, dan tunika vaskulosa (Salsabila, 2021). Testis juga terbagi menjadi lobulus, yang dipisahkan oleh septum testis, hasil dari penebalan tunika albuginea. Setiap lobus mengandung tubulus seminiferus dan jaringan interstisial testis (Adelati et al., 2016). Tubulus seminiferus tersusun dari saluran yang berkelok, yang dapat terhubung dengan tubulus tetangga (Sinaga dan Aminah, 2022).

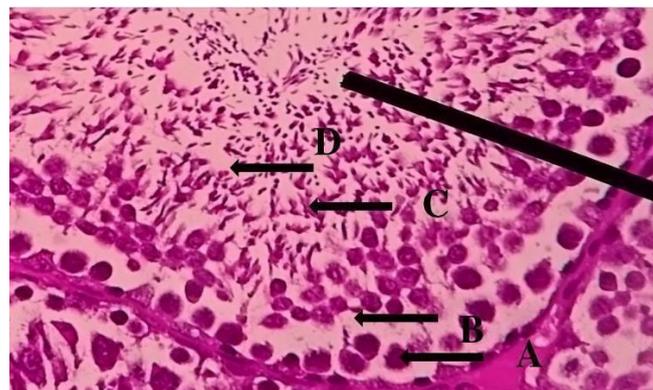
Saluran seminiferus dilapisi oleh epitel germinativum atau epitel seminiferus, yang terbentuk dari jaringan epitel berlapis berbentuk kubus yang terletak di membrana basalis. Epitel dari tubulus seminiferus terdiri atas dua jenis sel, yaitu sel sustentakular dan sel Sertoli. Pada hewan coba seperti tikus, sel Sertoli menyumbang sekitar 17-19% dari total sel di antara sel-sel spermatogenik. Testis menghasilkan spermatozoa yang kemudian bergerak menuju saluran ekskretori. Saluran ini meliputi rete testis, saluran eferens, epididimis, dan duktus vas deferens. Rete testis adalah sistem anastomosis yang berasal dari tubulus seminiferus. Dari rete testis, terbentuk 3-7 saluran eferens yang bergabung membentuk struktur bernama epididimis (Sinaga dan Aminah, 2022).

Epididimis adalah saluran yang memanjang dari bagian atas hingga bawah testis dan terbagi menjadi tiga bagian: kaput, korpus, dan kauda epididimis. Fungsi epididimis mencakup tempat di mana spermatozoa matang, penyimpanan spermatozoa, dan sebagai saluran penghubung antara testis dan saluran ejakulasi. Setelah kauda epididimis, saluran berlanjut ke vas deferens yang menuju uretra. Sebelum mencapai prostat, vas deferens membentuk bagian bernama ampula di ujungnya. Ampula berfungsi untuk menyimpan spermatozoa hingga saat pelepasan atau ejakulasi (Sinaga dan Aminah, 2022).



Gambar 1. Gambaran mikroskopis tubulus seminiferous perbesaran 100x (Adelati dkk., 2016).

Keterangan: Bagian yang ditunjuk merupakan tubulus seminiferus



Gambar 2. Gambaran mikroskopis tubulus seminiferus perbesaran 400x (Adelati dkk., 2016).

Keterangan:

A = spermatogonia; B = spermatosit; C = spermatid; D = spermatozoa

2.1. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah serangkaian langkah yang mencakup regenerasi dan diferensiasi spermatogonia, pematangan serta pembelahan spermatosit, dan transisi sel sperma. Proses ini berlangsung di dalam testis, khususnya di struktur yang dinamai tubulus seminiferus. Tahapan ini dimulai selama masa pubertas, ketika produksi hormon gonadotropin sudah berada pada tingkat yang optimal untuk merangsang pembentukan spermatozoa. Awal mula dari proses ini berlangsung dalam rahim, ketika sel germinal primordial berada pada tahap awal perkembangan dan terletak di antara sel-sel endoderm, sebelum mereka bergerak menuju wilayah urogenital di bagian lumbar. Selanjutnya, sel germinal ini akan mengalami periode istirahat hingga lumen tubulus seminiferus sepenuhnya terbentuk selama masa pubertas, setelah itu akan mengalami diferensiasi menjadi spermatogonia (Syauqy A, 2014).

Spermatogonia terdapat dalam dua hingga tiga lapisan di luar sel epitel tubulus seminiferus dan dibedakan menjadi dua kategori, yaitu tipe A dan tipe B. Tipe A terbagi lagi menjadi dua subtipe, yaitu spermatogonia tipe Ad (gelap) dan spermatogonia tipe Ap (pucat). Tipe Ad jarang melakukan pembelahan dan tidak menunjukkan aktivitas proliferasi dalam kondisi normal. Tipe ini dianggap sebagai sel punca testis yang akan melakukan mitosis ketika jumlah spermatogonia menurun signifikan, contohnya akibat paparan radiasi. Di sisi lain, spermatogonia tipe Ap akan membelah dan bertransformasi menjadi spermatogonia tipe B. Kemudian, spermatogonia tipe B bergerak menuju lumen untuk terbentuk spermatosit primer, yang selanjutnya akan menjalani pembelahan meiosis menjadi spermatosit sekunder. Setelah itu, spermatosit sekunder akan membagi lagi secara meiosis II menjadi spermatid.

Spermatid memiliki bentuk bulat dan tidak melakukan pembelahan. Namun, sel ini akan mengalami proses perpanjangan menjadi spermatid panjang yang dikenal sebagai spermiogenesis, dan akan dirilis menjadi spermatozoa melalui proses spermiasi. Pelepasan spermatid dari epitel germinal diatur oleh sel sertoli. Setelah itu, spermatid akan bergerak menuju batas lumen tubulus seminiferus untuk menjadi spermatid matang yang akan menutup jembatan interseluler dan berpisah dari epitel germinal, sehingga berkembang menjadi spermatozoa. Spermatozoa adalah tahap sel matang dari germinal yang terdapat dalam tubulus seminiferus.

Proses spermatogenesis terbagi menjadi empat fase sebagai berikut:

1. Fase proliferasi

Dalam fase proliferasi, sel spermatogonia mengalami pembelahan mitosis dan diferensiasi menjadi spermatosit primer.

2. Fase Growing

Pada tahap ini, spermatosit primer mengalami proses pembelahan menjadi spermatosit sekunder dan akan melaksanakan pembelahan meiosis tahap II, di mana mereka akan bertransformasi menjadi spermatid.

3. Fase Maturasi

Fase ini dikenal juga sebagai spermiogenesis yaitu perubahan spermatid menjadi spermatozoa.

4. Fase Transformasi

Fase ini dikenal juga sebagai spermiasi yaitu dimana akan terjadi pelepasan spermatozoa dari epitel germinal menuju lumen tubulus seminiferus (Agustinus dkk., 2018).

2.2. Diabetes Melitus

Diabetes melitus, sering dikenal sebagai kencing manis, adalah suatu keadaan jangka panjang yang dapat bertahan sepanjang hidup. Penyakit ini termasuk dalam kategori gangguan metabolik yang berdampak pada kinerja pankreas, ditandai oleh peningkatan kadar gula dalam darah (hiperglikemia) yang terjadi akibat menurunnya produksi insulin oleh pankreas. Resistan terhadap insulin sering kali merupakan gejala awal yang tampak dalam kasus diabetes melitus (Lestari dkk., 2021).

Ada berbagai faktor yang dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin, di antaranya adalah: kelebihan berat badan (obesitas), peningkatan kadar glukokortikoid yang disebabkan oleh penggunaan steroid dalam waktu lama, kadar hormon pertumbuhan yang tinggi (akromegali), kondisi kehamilan, diabetes yang terjadi selama kehamilan, sindrom ovarium polikistik, lipodistrofi akibat akumulasi lemak di hati (baik yang diperoleh maupun diwariskan), autoantibodi terhadap reseptor insulin, mutasi pada reseptor aktivator proliferasi peroksisom, serta perubahan genetik pada reseptor melanokortin yang dapat berkontribusi pada obesitas genetik. Hemokromatosis, sebagai penyakit pewarisan, juga dapat mengakibatkan penumpukan zat besi dalam jaringan tubuh. Beberapa gejala umum yang dapat dijumpai pada diabetes melitus adalah:

a. Poliuri

Poliuri merupakan kondisi di mana individu sering mengalami kebutuhan untuk buang air kecil selama malam hari. Penyebabnya adalah kadar glukosa dalam darah lebih dari 180 mg/dl, yang mendorong tubuh untuk mengeliminasi glukosa melalui urine. Ini mengakibatkan tubuh berusaha menahan sebanyak mungkin air, sehingga produksi urine meningkat dan frekuensi buang air kecil bertambah. Dalam keadaan normal, seseorang biasanya menghasilkan sekitar 1,5 liter urine dalam sehari; namun, bagi mereka yang mengidap diabetes, volume urine dapat mencapai lima kali lipat dari angka normal tersebut (Lestari dkk., 2021).

b. Polidipsi

Polidipsi adalah situasi di mana individu merasa haus secara berlebihan (poliploidi). Ini disebabkan sebagai respons terhadap gejala poliuri. Dalam kondisi ini, tubuh mengalami dehidrasi dan, untuk mengatasinya, akan menimbulkan rasa haus yang kuat, membuat penderitanya cenderung ingin minum dalam jumlah banyak (Lestari dkk., 2021).

c. Polifagi

Polifagi merujuk pada meningkatnya nafsu makan serta perasaan lemas. Ini terjadi karena pada penderita diabetes, produksi insulin dalam tubuh terhambat, yang berdampak pada penyerapan glukosa oleh sel-sel tubuh, mengakibatkan energi yang dihasilkan juga berkurang. Selain itu, peran otak dalam hal ini menjadi penting; ketika sel-sel kekurangan glukosa, otak berasumsi bahwa kurangnya energi berasal dari asupan makanan yang tidak mencukupi, yang pada gilirannya menstimulasi tubuh untuk merasa lapar dan mendorong peningkatan keinginan untuk makan (Lestari dkk., 2021).

d. Berat badan menurun

Penderita diabetes umumnya mengalami penurunan berat badan. Hal ini disebabkan oleh tidak cukupnya energi yang didapat dari glukosa akibat kurangnya insulin, sehingga tubuh beralih menggunakan lemak dan protein sebagai sumber energi. Selain itu, dalam sistem ekskresi yang tidak terkontrol, setiap individu bisa kehilangan sekitar 500 gram glukosa melalui urine dalam 24 jam, yang setara dengan pemborosan sekitar 2000 kalori setiap harinya. Di samping itu, gejala lain yang mungkin muncul termasuk kesemutan, gatal, atau luka yang lambat sembuh. Wanita mungkin mengalami gatal di area genital, sedangkan pria dapat merasakan nyeri di bagian ujung organ genitalnya.

Pemantauan kadar glukosa dalam darah secara berkala sangat diperlukan untuk menilai seberapa parah kondisi diabetes mellitus. Pada manusia, diabetes mellitus dapat didiagnosis jika nilai kadar glukosa sewaktu mencapai ≥ 200 mg/dL, sedangkan untuk pemeriksaan puasa, diagnosis DM dilakukan jika hasil yang ditemukan adalah ≥ 126 mg/dL (Hidayaturrahmah dkk., 2020). Namun, pada tikus, nilai normal kadar glukosa darah berada dalam kisaran 50-135 mg/dL (Vione dkk., 2022).

2.3. Dampak Diabetes Melitus Pada Spermatogenesis

Sel sperma adalah jenis sel mamalia yang paling berkembang. Proses pembentukan sperma dimulai dari pria yang mengirimkan DNA haploidnya kepada wanita melalui serangkaian mekanisme hingga terjadinya pembuahan. Sperma memiliki lapisan mitokondria di bagian tengah yang menjadi lokasi proses oksidasi. Stres oksidatif adalah keadaan yang dihasilkan dari ketidak seimbangan antara radikal bebas dan zat antioksidan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pieme et al. (2017) dan Zatalia serta Sanusi (2013), komplikasi dari diabetes melitus disebabkan oleh stres oksidatif. Radikal bebas dalam kondisi diabetes melitus terjadi akibat autooksidasi glukosa yang melebihi kemampuan antioksidan di dalam sel untuk menetralkannya, berakibat pada kerusakan sel (Widaryanti et al., 2021).

Stres oksidatif sering kali mengganggu fungsi reproduksi pada pria. Hal ini disebabkan oleh membran sel sperma yang kaya akan asam lemak tak jenuh, yang membuatnya rentan terhadap serangan Reactive Oxygen Species (ROS). Peroksidasi lipid adalah salah satu mekanisme utama dari stres oksidatif, yang dapat berpengaruh pada kemampuan reproduksi. Di mana, serangan ROS terhadap asam lemak tak jenuh ganda di membran sel sperma memicu reaksi berantai. Proses ini mengarah pada produksi lipid peroksida dan merusak integritas membran. Akibatnya, fungsi dan kelangsungan hidup sperma serta proses spermatogenesis menjadi terpengaruh (Walke et al., 2023).

Pengoksidasi protein juga dapat mempengaruhi fungsi reproduksi pria. Dalam konteks ini, ROS melakukan modifikasi terhadap protein di dalam sperma secara oksidatif, yang mengakibatkan perubahan struktur dan gangguan fungsi. Selain itu, kerusakan DNA adalah aspek yang paling mengkhawatirkan karena dapat menyebabkan kondisi yang lebih serius pada spermatozoa. Fragmentasi DNA yang disebabkan oleh ROS dalam sperma dapat mengurangi tingkat pembuahan dan meningkatkan risiko keguguran, yang dapat berujung pada kegagalan reproduksi. Hal ini juga berdampak negatif pada proses pembuahan dan perkembangan embrio (Walke et al., 2023).

ROS menyebabkan stres oksidatif, hal ini telah diketahui dapat mengurangi kadar testosteron yang berdampak pada performa enzim LDH dalam mengubah NADH menjadi NAD⁺, yang berperan penting dalam produksi laktat di sel sertoli, serta mempengaruhi gangguan sintesis piruvat, mengakibatkan produksi laktat tidak terjadi. Di sini, laktat yang ada di sel sertoli berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi spermatozoa selama tahap spermatogenesis (Adelati et al., 2016).

2.4. Lada Hitam

2.5.1. Klasifikasi Tanaman Lada Hitam (*Piper nigrum L*)



Gambar 3. Tanaman Buah Lada Hitam (Saenong, 2017).

Tanaman lada hitam memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperaceae
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper L
Spesies	: <i>Piper nigrum L</i>

Tanaman *P. nigrum L* berbentuk ruas-ruas, tumbuh secara merambat pada tiang panjang atau menjalar diatas permukaan tanah dengan pokok batang yang berkayu. Hasil ekspor perkebunan lada hitam menempati peringkat ke-6 setelah kakao, kelapa, karet, kelapa sawit dan kopi. Provinsi Lampung adalah salah satu provinsi yang menjadi wilayah utama penghasil lada hitam di Indonesia. Dengan luas area perkebunan di provinsi Lampung sebesar 46.181 ha dan menghasilkan produksi sebesar 15.056 ton pada tahun 2017. Dengan adanya angka tersebut berhasil membuat provinsi Lampung pada urutan ke-2 penghasil lada terbesar di Indonesia setelah provinsi Bangka Belitung (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017).

2.5.2 Kandungan dan Khasiat Lada Hitam (*Piper nigrum L*)

Piper nigrum L memiliki komponen yang menawarkan rasa dan aroma yang unik, sehingga sering dipakai dalam kuliner sebagai perasa. Selain itu, *P. nigrum L* juga kaya akan berbagai metabolit sekunder yang menawarkan manfaat kesehatan dan sering digunakan dalam pengobatan tradisional (Alaris, 2020).

Piper nigrum L juga merupakan sumber yang baik dari kalium, kalsium, mangan, besi serta mengandung sejumlah kecil vitamin K dan vitamin C. Terdapat empat isomer piperin yang berbeda, yaitu isopiperin (isomer cis-trans), piperin (isomer trans-trans), isochavin (isomer trans-cis), dan chavicin (isomer cis-cis) (Salsabila dkk., 2021).

2.5.3 Pengaruh Piperin Pada Kadar Glukosa

Piperin merupakan anggota dari kelompok alkaloid yang berbasis piridin yang berasal dari famili Piperaceae. Piperin dikenal sebagai stereoisomer trans dari 1-piperoylpiperidine dan juga disebut (E, E) - 1-piperoylpiperidine serta (E, E) -1- [5- (1, 3-benzodioxol-5-yl) -1-oxo- 2, 4-pentdienyl] peridine (Gorgani, 2017). Selain itu, piperin memiliki peranan dalam mengurangi stres oksidatif, bertindak sebagai agen perlindungan terhadap radikal bebas, ROS, serta menghambat proses peroksidasi lemak (Salsabila dkk., 2021).

Kandungan yang terdapat dalam piperin akan menekan berat badan dan meningkatkan sensitivitas insulin dan leptin sehingga dapat mengendalikan obesitas. Pada penelitian yang sudah terbukti, melaporkan bahwa piperin dapat mempengaruhi kadar glukosa darah. Hal ini dapat membuktikan bahwa kandungan piperin dalam lada hitam bisa dilakukan sebagai pengobatan herbal pada seseorang yang terkena diabetes. Akan tetapi, sama halnya pada tikus dengan diabetes dilaporkan dapat mempengaruhi kadar glukosa dalam darah. hal ini dikarenakan telah dilakukannya penelitian pada kasus diabetes akut dan subakut (Salsabila dkk., 2021).

Dalam studi akut, dilakukan pengujian pemberian piperin secara oral dengan dosis 10, 20, dan 40 mg/kg berat badan yang menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah pada dosis tinggi. Sementara itu, dalam penelitian subakut, administrasi piperin dengan dosis 5, 10, dan 20 mg/kg berat badan menghasilkan penurunan kadar glukosa yang signifikan. Ini menunjukkan bahwa konsumsi piperin dalam *P. nigrum* L dengan dosis rendah dapat mengurangi kadar glukosa darah dibandingkan dengan dosis tinggi pada tikus yang menderita diabetes (Salsabila dkk., 2021).

2.5.4 Mekanisme dan Manfaat Piperin Sebagai Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang berperan untuk menahan atau menghindari terjadinya proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Kemampuan ini berasal dari sifat antioksidan yang dapat memberikan elektron kepada radikal bebas, sehingga tercipta stabilitas yang membantu mengendalikan reaksi berantai yang terjadi. Selain itu, antioksidan memiliki peran penting dalam mengatasi stres oksidatif. Stres oksidatif di definisikan sebagai keadaan di mana terdapat ketidak seimbangan antara jumlah radikal bebas dan konsentrasi antioksidan dalam tubuh (Salsabila dkk., 2021).

Zat antioksidan memiliki kemampuan untuk meminimalkan terbentuknya Spesies Oksigen Reaktif (ROS) dengan berbagai cara. Spesies Oksigen Reaktif (ROS) merupakan molekul kecil yang dihasilkan dari oksigen yang muncul dalam reaksi oksidatif, termasuk anion superoksida, radikal hidroksil, dan hidrogen peroksida (Ikhlas dkk., 2023).

Dalam pengujian *in vitro*, piperin menunjukkan dampak positif sebagai pelindung terhadap kerusakan akibat oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas dan oksigen reaktif serta mencegah peroksidasi lipid. Piperin juga menunjukkan potensi sebagai antioksidan, mampu menurunkan kadar reaktif asam thiobarbituric, serta mempertahankan aktivitas superoksida dismutase, katalase, glutathione-S-transferase, dan glutathione (Gorgani, 2017). Temuan ini menunjukkan bahwa piperin yang terkandung dalam *P. nigrum* L dapat mengurangi stres oksidatif, salah satu faktor yang berkontribusi pada berkembangnya penyakit diabetes.

2.5. Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

Klasifikasi *Rattus norvegicus* sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Rattus norvegicus mampu bereproduksi dengan pesat dalam jumlah yang bervariasi dan memiliki ukuran tubuh yang lebih besar daripada tikus kecil. Saat berusia dua bulan, beratnya bisa bervariasi antara 200 hingga 300 gram, dan bahkan bisa mencapai 500 gram. Terdapat beberapa jenis *R. norvegicus*, seperti Wistar, Sprague Dawley, dan Long-Evans (Frianto dan rekan, 2015).

Jenis Wistar dari *Rattus norvegicus* mempunyai ciri warna tubuh putih, mata merah (albino), kepala yang kecil, dan ekor yang lebih pendek dibandingkan dengan tubuhnya. Jenis Sprague Dawley memiliki karakteristik mirip, yaitu berwarna putih dengan mata merah, namun kepala mereka lebih kecil dan ekor lebih panjang jika dibandingkan dengan tubuhnya. Sementara itu, jenis Long-Evans dapat dengan mudah dikenali oleh pola warna hitam di area kepala dan bagian depan tubuhnya. *R. norvegicus* sering digunakan sebagai objek dalam penelitian keamanan atau efikasi obat serta studi yang berkaitan dengan penyakit tertentu (Frianto dan rekan, 2015).

Rattus norvegicus yang telah tersertifikasi diharapkan dapat memudahkan peneliti dalam memperoleh hewan percobaan yang sesuai dengan kriteria yang diperlukan. Kriteria tersebut meliputi kontrol pakan, kesehatan, pencatatan perkawinan, spesies, umur, berat badan, jenis kelamin, serta silsilah genetik. *R. norvegicus* memiliki beberapa sifat menguntungkan yang menjadikannya hewan uji yang ideal, antara lain tingkat reproduksi yang cepat, ukuran tubuh yang lebih besar daripada mencit, dan kemudahan dalam pemeliharaan (Frianto dkk., 2015).

Rattus norvegicus adalah pemakan segala, sehingga dapat mengonsumsi berbagai jenis makanan yang biasa dimakan manusia. Setiap harinya, seekor tikus memerlukan pakan sebanyak 10 persen dari berat tubuhnya dalam bentuk kering. Sementara jika pakan dalam keadaan basah, kebutuhan ini dapat meningkat menjadi 15 persen dari berat tubuhnya. Untuk asupan air, seekor tikus memerlukan sekitar 15 hingga 30 ml setiap hari. Namun, jumlah tersebut bisa berkurang jika jenis pakan yang diberikan sudah mengandung banyak air (Ahmad, 2021).

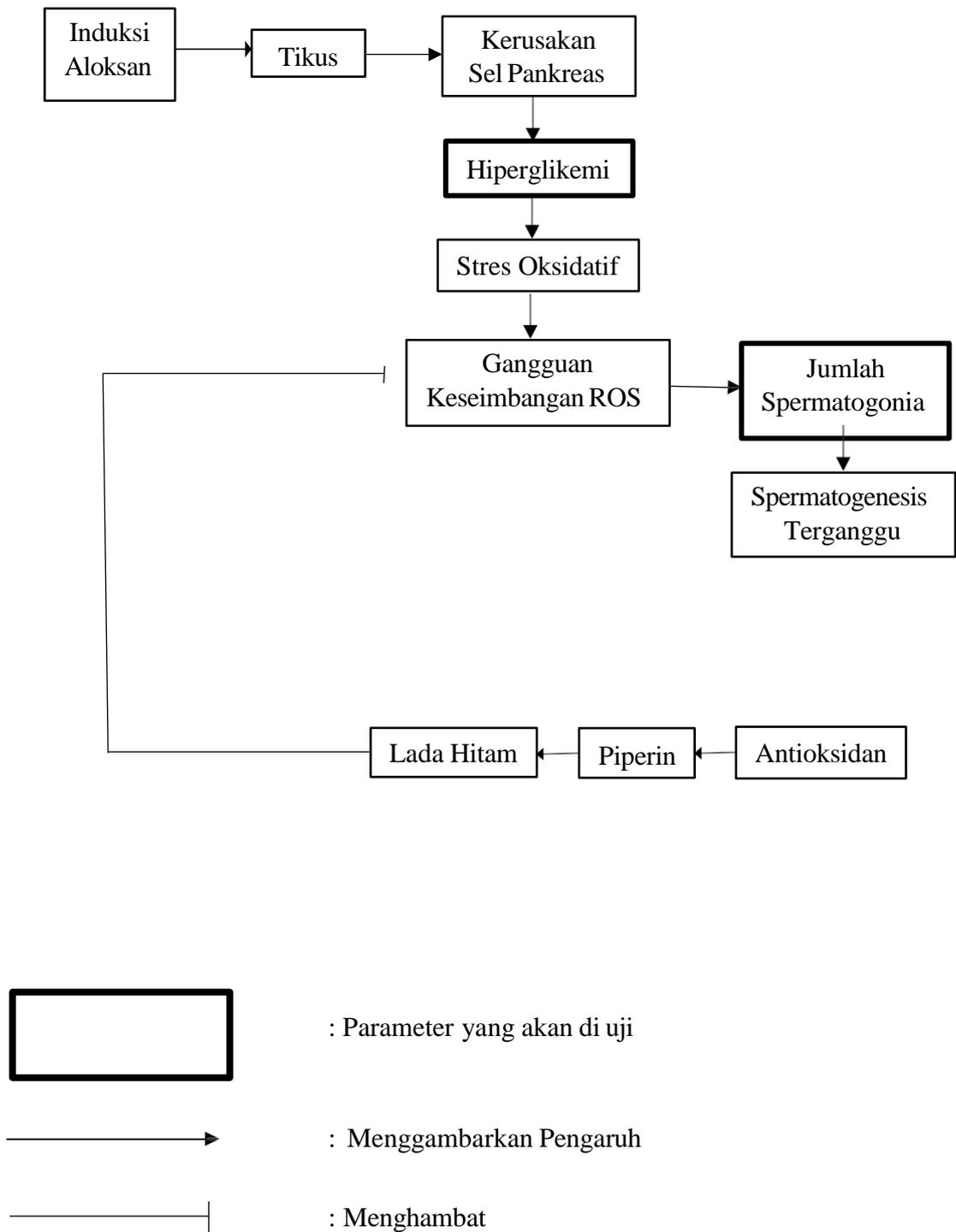
Struktur reproduksi tikus jantan memiliki kesamaan dengan reproduksi manusia. Di area skrotum tikus terdapat testis, epididimis, m. Cremaster, vas deferens, arteri testicularis, dan plexus pampiniformis yang memainkan peran penting dalam sistem organ. Testis memiliki peran utama dalam proses reproduksi pada pria, yang melibatkan pembuatan sel telur jantan melalui spermatogenesis dan penghasilan hormon jantan melalui proses steroidogenesis. Tahapan spermatogenesis pada tikus dan manusia menunjukkan kemiripan. Usia reproduktif mempengaruhi tahap spermatogenesis pada tikus. Pubertas pada tikus dimulai sekitar usia enam minggu (40-60 hari), sedangkan fase pra-dewasa muncul di rentang 63-70 hari (Sitasiwi dkk., 2023). Menurut penelitian oleh Nugroho dkk., (2020), tikus dewasa dianggap telah mencapai tingkat kematangan seksual antara usia 8-9 minggu. Oleh karena itu, tikus yang telah melewati usia 9 minggu sudah dapat bereproduksi. Spermatogenesis pada tikus berlangsung di dalam tubulus seminiferus. Spermatogonia, spermatisit, dan spermatid saling berinteraksi dengan cara tertentu untuk menghasilkan siklus spermatogenik. Tahap akhir dari spermatogenesis menghasilkan spermatozoa yang kemudian berpindah dari tubulus seminiferus ke epididimis untuk proses pematangan (Fitria dkk., 2018).

2.6 Siklus Spermatogenesis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Spragudawley*

Proses pembuatan sperma dipengaruhi oleh berbagai hormon seperti GnRH, testosteron, Luteinizing Hormone (LH), Follicle Stimulating Hormone (FSH), dan inhibin. Testosteron memiliki peran penting selama tahap meiosis yang bertujuan untuk menciptakan spermatisit sekunder. Hormon ini disintesis oleh sel Leydig yang berada di testis. FSH berfungsi untuk merangsang pertumbuhan sel spermatogenik pada berbagai tahap. Selain itu, FSH juga mendukung sel Sertoli dalam memproduksi Protein Pengikat Androgen (ABP) dan inhibin. ABP memiliki fungsi dalam spermatogenesis karena bertindak sebagai pengikat testosteron di luar tubulus.

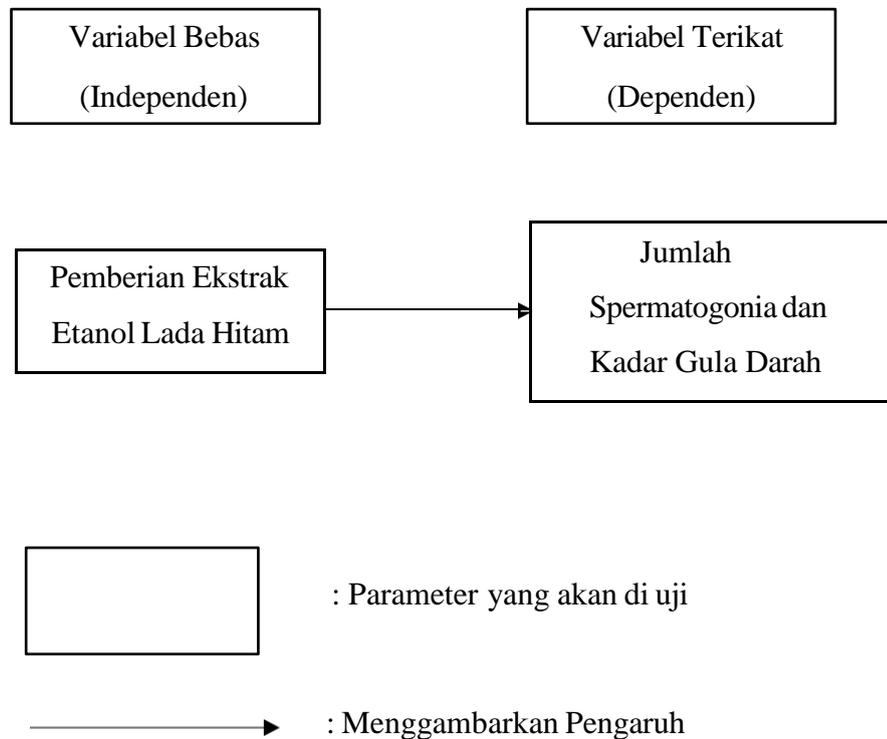
Hormon LH dan FSH dihasilkan oleh kelenjar hipofisis anterior melalui mekanisme umpan balik yang melibatkan hipotalamus, hipofisis, dan testis, yang mengendalikan proses pembentukan sperma. Hipotalamus menghasilkan hormon pelepas yang disebut GnRH yang kemudian diteruskan ke hipofisis melalui sistem pembuluh darah yang dikenal sebagai porta hipofisis. GnRH akan merangsang hipofisis agar menghasilkan FSH dan LH. Selama proses pembentukan sperma, terjadi siklus epitelium spermatogonium di dalam tubulus seminiferus. Yang dimulai dari pembelahan mitosis spermatogonium hingga pelepasan spermatozoa dari tubulus seminiferus, yang berlangsung terus-menerus mengikuti pola ritme siklus tersebut.

2.6. Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

1. Hipotesis Null (H₀)

Tidak ada pengaruh dari penggunaan ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L) terhadap kadar glukosa dalam darah pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley.

Hipotesis Alternatif (H_a)

Ada pengaruh dari penggunaan ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L) terhadap konsentrasi gula dalam darah pada model diabetes yang melibatkan tikus jantan (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley.

2. Hipotesis Null (H₀)

Penggunaan ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L) tidak memiliki efek pada jumlah spermatogonia dalam model diabetes pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley.

Hipotesis Alternatif (H_a)

Tidak ada efek yang ditimbulkan oleh penggunaan ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L) terhadap jumlah spermatogonia dalam model diabetes pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimen yang dilaksanakan di laboratorium. Desain yang diterapkan adalah Posttest-only Randomized Control Group. Dalam prosedur ini, dilakukan pengacakan untuk memastikan bahwa sebelum perlakuan diberikan, kelompok kontrol dan kelompok eksperimen dianggap setara, dengan pembentukan kedua kelompok tersebut dilakukan secara acak. Data dikumpulkan setelah perlakuan selesai, dengan membandingkan kelompok yang mendapatkan perlakuan dan kelompok yang tidak.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September hingga Oktober tahun 2024.

3.2.2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3. Subyek Penelitian

3.3.1. Populasi

Populasi yang menjadi sasaran dalam studi ini yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley, yang berusia antara 2,5 sampai 3 bulan dengan berat berkisar 100 hingga 150 gram.

3.3.2. Sampel

Penelitian ini dibagi menjadi empat kategori, di mana dua kategori berfungsi sebagai kelompok kontrol dan dua kategori lainnya sebagai kelompok perlakuan. Ukuran sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer dengan rumus $(t-1)(n-1) \geq 15$ (Federer, 1963 dalam Furqan dkk., 2015).

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

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

$$3n-3 \geq 15 + 3$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Oleh karena itu, jumlah hewan yang diperlukan untuk setiap kelompok adalah 6 ekor, dan total kelompok yang diaplikasikan adalah 4, sehingga totalnya adalah 24 ekor tikus dari populasi yang ada, dengan 4 ekor tikus sebagai cadangan.

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

Keterangan:

N = besar sampel koreksi.

n = besar sampel awal.

f = perkiraan proporsi drop out sebesar 10%.

t = besar kelompok.

$$N = \frac{6}{1-0,1}$$

$$N = \frac{6}{0,9}$$

$$N = 7 \text{ (Pembulatan ke atas)}$$

(Lwanga dan Lemeshow, 1991).

Sehingga, jumlah hewan percobaan yang dibutuhkan untuk setiap kategori adalah 6 ekor dan total kategori yang dipakai adalah 4 kategori, yang berarti dalam penelitian ini melibatkan 24 ekor tikus dari populasi yang tersedia dengan 4 ekor tikus disiapkan sebagai cadangan.

3.3.3. Kelompok Perlakuan

1. Kelompok Kontrol Normal (KN)

Kelompok tikus yang hanya diberikan makanan tanpa di induksi aloksan dan tanpa pemberian ekstrak etanol lada hitam.

2. Kelompok Kontrol Negatif (K-)

Kelompok tikus yang di induksi aloksan 150 mg/kgBB (i.p) tanpa pemberian ekstrak etanol lada hitam.

3. Kelompok Perlakuan 1 (P1)

Kelompok tikus diabetes yang diberikan ekstrak lada hitam 122,5 mg/kgBB dengan pelarut etanol dan di induksi aloksan 150 mg/kgBB (i.p).

4. Kelompok Perlakuan 2 (P2)

Kelompok tikus diabetes yang diberikan ekstrak lada hitam 245 mg/kgBB dengan pelarut etanol dan di induksi aloksan 150 mg/kgBB (i.p).

Pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak diberikan setiap hari selama 8 hari. Menurut, Mbongue dkk. Lada hitam merangsang fungsi reproduksi pria setelah 8 hari terapi karena dapat meningkatkan sekresi organ seks. Maka dari itu, hal tersebut dapat membuktikan adanya peningkatan kadar testosteron.

3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus yang dalam keadaan sehat (aktif bergerak, bulu terawat, tidak mengalami kerontokan, dan tidak memiliki kebutakan).
- b. Tikus dengan berat antara 100 hingga 150 gram.
- c. Jenis kelamin jantan.
- d. Usia sekitar 2,5 hingga 3 bulan.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Penurunan berat badan melebihi 10% setelah periode penyesuaian (1 minggu) di dalam laboratorium.
- b. Meninggal dunia selama periode perlakuan.

3.5. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.5.1. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas (Independent Variable)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol dari lada hitam (*Piper nigrum* L).

2. Variabel terikat (Dependent Variable)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah tingkat kadar gula darah dan jumlah spermatogonia.

3.5.2. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Untuk memberikan klarifikasi dan menampilkan variabel-variabel yang ada dalam studi ini, berikut adalah penjelasan operasional yang disediakan:

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel Penelitian

No	Jenis Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Spermatogonia	Spermatogonia merupakan sel epitel germinal yang menghasilkan sperma matang (spermatozoa). Spermatogonia berbentuk bulat terletak di dekat membran basal tubulus seminiferus (Shari, 2022).	Mikroskopis cahaya	Pengamatan pada tubulus seminiferus dengan perbesaran 200x. Dalam permukaan perhitungan jumlah spermatogonia maka dilakukan perhitungan dengan menggunakan aplikasi ImageJ.	Jumlah spermatogonia	Numerik
2	Kadar Gula Darah	Gula dalam darah terbentuk dari karbohidrat yang diambil dari makanan dan disimpan dalam bentuk glikogen di hati serta otot (Jiwintarum dkk., 2017) Pada umumnya,	Easy Touch Gula Darah	Ekor tikus dibersihkan dahulu dengan alkohol 70% dan diambil darah melalui ujung ekor yang sudah dilakukan tusukan menggunakan jarum spuit.	Kadar Gula Darah	Nominal

		<p>kadar gula darah normal pada tikus 50-135 mg/dL (Malole, 1989). Dan dikatakan hiperglikemi apabila kadar gula darah >135 mg/dL (Malole, 1989).</p>		<p>Kemudian, teteskan darah tikus pada stik glukosa dan tunggu selama 10 detik untuk melihat hasil.</p>	
2	<p>Ekstrak <i>P. nigrum L</i></p>	<p>Buah <i>P. nigrum L</i> dikeringkan, digiling kemudian dibuat menjadi ekstrak dengan zat pelarut etanol, lalu diberikan kepada tikus putih jantan.</p>	<p>Sonde Lambung</p>	<p>Kelompok perlakuan</p> <p>P1: diberikan larutan ekstrak lada hitam 122,5 mg/kgBB dengan pelarut etanol.</p> <p>P2: diberikan larutan ekstrak lada hitam 245 mg/kgBB dengan pelarut etanol.</p>	<p>Kategorik</p>
3	<p>Induksi Aloksan</p>	<p>Induksi aloksan untuk membuat tikus model hiperglikemik dengan memberikan injeksi aloksan dosis 150</p>	<p>Sprit</p>	<p>Dosis 150 mg/kgBB</p>	<p>Nominal</p>

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan mencakup neraca elektronik, sembilan kandang tikus, timbangan, wadah untuk makanan dan minuman tikus, sonde lambung, toples plastik berpenutup, mikroskop, kalkulator, pipet tetes, gelas objek, gelas penutup, kaca arloji, wadah untuk urin, cawan petri, spuit oral satu cc, kapas, satu set alat bedah, improved naubauer, sarung tangan, dan masker..

3.6.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari *R. norvegicus* jantan dari galur Sprague dawley, ekstrak *P. nigrum* L, etanol sebagai pelarut, sekam, aloksan, pakan untuk tikus, air minum, bahan untuk pengamatan di mikroskop, serta buffer formalin.

3.7. Prosedur Penelitian

Penelitian ini diawali dengan pengajuan proposal untuk memperoleh izin etis kepada Fakultas Kedokteran Universitas Lampung terkait penggunaan hewan percobaan, yang melibatkan sebanyak 24 ekor *R. norvegicus* jantan dari galur Sprague dawley.

3.7.1. Pengadaan Hewan Uji

Percobaan ini melibatkan 24 ekor *R. norvegicus* jantan yang berasal dari galur Sprague Dawley. Tikus-tikus ini diambil dari Animal Vet di Bogor yang menjalin kerja sama dengan Institut Pertanian Bogor (IPB) University.

3.7.2. Pemeliharaan Hewan Uji

Penelitian ini memanfaatkan *R. norvegicus* dari galur Sprague dawley sebagai objek pengujian. Hewan-hewan tersebut diacak menjadi empat kelompok dan ditempatkan di kandang. Mereka menjalani masa aklimatisasi selama satu minggu di kandang pemeliharaan untuk

menstandarisasi kondisi hidup serta pola makan sebelum diberikan perlakuan. Tikus-tikus itu diletakkan dalam sebuah kandang yang terbuat dari wadah berpenutup jaring dan disiapkan dengan lapisan sekam kayu keras setebal 0,5-1 cm. Sekam tersebut diganti setiap tiga hari untuk menjaga kebersihan dan menghindari infeksi mikroorganisme yang dapat membahayakan keselamatan hewan uji.

Enam ekor tikus ditempatkan bersama dalam satu kandang. Kandang diposisikan pada suhu kamar dan memanfaatkan sinar matahari yang tersebar, dengan tetap menjaga tingkat kelembapan yang terkendali di habitatnya. Menawarkan makanan dan minuman tanpa batas. Makanan hewan pengerat tersebut dibagikan dalam bentuk pellet BR 1. Dispenser air hewan pengerat ditempatkan pada kawat yang terletak di atas baskom atau wadah. Makanan dan minuman yang berlimpah disediakan dalam wadah yang berbeda dan diisi ulang setiap hari untuk menjaga kesejahteraan tikus, mencegah penyakit atau kematian (Mutiarahmi dkk, 2021).

3.7.3. Pengamatan dan Terminasi Hewan Uji

Masing-masing *R. norvegicus* jantan pada tiap kelompok dicampurkan dengan tikus betina. Pada saat tikus mengalami perkawinan dan telah terjadi ereksi, maka dalam waktu cepat dilakukan terminasi menggunakan larutan eter terlebih dahulu lalu dilanjutkan dengan dislokasi leher pada tikus. Hal ini, dilakukan dengan cara leher tikus dipegang dan ditempatkan pada permukaan yang rata dengan demikian tikus akan merenggangkan tubuhnya. Kemudian, leher tikus ditarik keras dengan tangan yang dominan sehingga leher akan terdislokasi (Putra dan Astuti, 2021). Setelah tikus mati, dilanjutkan untuk pembedahan dan pemotongan organ testis tikus untuk melihat dan menilai jumlah spermatogonia.

3.7.4. Pembuatan Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum L*)

Buah *P. nigrum L* diperoleh dari petani di Kecamatan Gisting Tanggamus, Lampung, Indonesia. Buah tersebut dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi bubuk dengan berat 100 gram. Selanjutnya, ditambahkan etanol sebanyak 300 ml untuk proses ekstraksi bubuk lada, yang kemudian diaduk tiga kali. Proses ini menghasilkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan untuk menghasilkan 10 gram ekstrak etanol.

Penetapan dosis untuk masing-masing perlakuan mengacu pada studi sebelumnya. Dalam penelitian itu, dosis yang diterapkan adalah 122,5 mg/KgBB selama delapan hari (Kesuma dan rekan-rekan, 2013). Penentuan dosis untuk perlakuan didasarkan pada rata-rata bobot hewan uji sekitar 200 gram. Oleh karena itu, jumlah dosis yang dibutuhkan untuk kelompok perlakuan satu dan kelompok perlakuan dua (P1 dan P2) dihitung dengan cara berikut: 122,5 mg/KgBB dikalikan 0,2 Kg (berat tikus) menghasilkan 24,5 mg, yang dibulatkan menjadi 25 mg, sedangkan 245 mg/KgBB dikalikan 0,2 Kg (berat tikus) menghasilkan 49 mg (Kesuma dkk., 2013).

3.7.5. Induksi Aloksan

Tikus yang terlibat dalam percobaan ini menerima aloksan melalui penyuntikan intraperitoneal tunggal dari larutan yang baru saja disiapkan dalam larutan garam fisiologis, dengan dosis 150 mg/kgBB (Pongoh dkk., 2020). Aloksan cepat diserap oleh sel beta pankreas karena struktur molekulnya yang mirip dengan glukosa, memiliki sifat hidrofilik, sehingga dapat memasuki membran sel beta pankreas melalui transporter glukosa 2 (GLUT2) (Wulandari dkk., 2024). Setelah aloksan terserap, akan terjadi kerusakan pada sel beta pankreas dengan mengaktifkan spesies reaktif oksigen (ROS) dimulai dari reaksi reduksi aloksan. Proses reduksi aloksan menghasilkan asam dialurat yang nantinya membentuk siklus reaksi redoks menghasilkan radikal superoksida yang akan merangsang pembentukan hidrogen peroksida (Pratama dkk., 2020).

Pemberian aloksan kepada hewan percobaan menyebabkan hewan tersebut mengalami diabetes tipe 2. Hal ini terjadi karena aloksan menyebabkan kerusakan pada sel beta pankreas (Ighodaro dkk., 2017). Untuk mengatasi keadaan hipoglikemia yang muncul akibat pelepasan insulin yang berlebihan setelah induksi aloksan, larutan glukosa 20% (5-10 ml) diberikan secara oral setelah enam jam. Selanjutnya, dalam periode 24 jam berikutnya, perawatan tikus dilakukan dengan memberikan larutan yang mengandung glukosa 5% untuk mencegah terjadinya hipoglikemia. Hasil dari percobaan yang dilakukan pada tikus menunjukkan tanda-tanda diabetes, yang mana ditandai dengan hiperglikemia, dengan kadar gula darah berada dalam rentang 200-300 mg/dL

3.7.6. Pembedahan

Setelah tikus mati, segera dilanjutkan dengan proses pembedahan bertujuan untuk pengambilan organ testis. Dimulai dengan membuat sayatan yang memanjang pada area kulit abdominal tikus, lalu setelah dinding perut terbuka diambil organ organ yang diperlukan dan memisahkan bagian kedua testisnya. Testis yang telah dipisahkan dari jaringan sekitarnya, segera di rendam ke dalam buffer formalin yang sudah diencerkan. Setelah itu, dilanjutkan dengan pembuatan sediaan preparate histologi di Laboratorium Patologi Anatomi Nafri Bandar Lampung.

3.7.7. Pengambilan dan Pengamatan Jumlah Spermatogonia

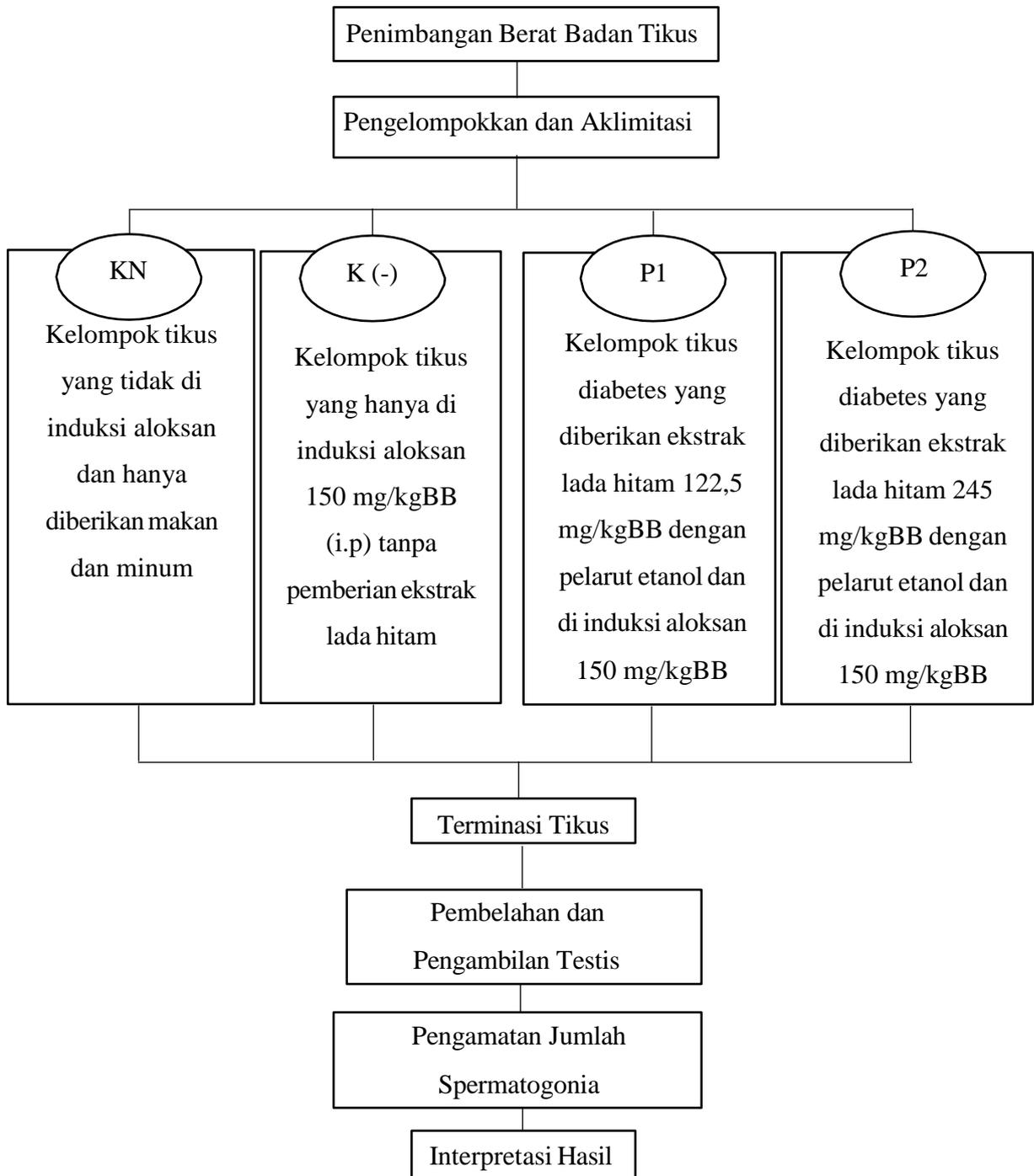
Setelah dilakukan proses pembedahan, kemudian dilanjutkan prosedur sebagai berikut:

- a. Pengambilan organ testis tikus. Setelah itu, dilanjutkan untuk merendam bagian testis yang telah diambil ke dalam buffer formalin yang sudah diencerkan. Kemudian, dibuatkan preparat histologi di Laboratorium Patologi Anatomi Nafri.
- b. Setelah preparat selesai dibuat, dilanjutkan untuk pemeriksaan mikroskopis testis untuk mengamati dan menilai jumlah spermatogonia nya pada tiga lapang pandang dengan menggunakan perbesaran 200x (Reni dkk., 2013). Upaya mempermudah dalam perhitungan jumlah spermatogonia maka dilakukan perhitungan menggunakan aplikasi ImageJ.

3.8. Analisis Data

Pendekatan ini adalah metode statistik yang bertujuan untuk menganalisis hipotesis yang berhubungan antara variabel independen dan variabel dependen. Selain itu, pengumpulan data penelitian dilakukan dengan menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk, mengingat ukuran sampel dalam penelitian ini adalah 50 atau kurang, untuk menentukan apakah data tersebut memiliki distribusi normal dan juga melakukan uji varians menggunakan Levene's test. Temuan dari penelitian menunjukkan bahwa data memiliki distribusi normal, meskipun variansnya tidak stabil. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis. Hasil dari pengujian non-parametrik menunjukkan nilai signifikan ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa data tersebut berarti dan hipotesis alternatif dapat diterima. Dengan adanya hasil uji tersebut, penelitian dilanjutkan dengan analisis Pos Hoc, yang menunjukkan temuan signifikan pada kelompok P2 dan K- terkait dengan tingkat gula darah, serta hasil signifikan pada P2 dan P1 berkaitan dengan jumlah spermatogonia.

3.9. Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

3.10. Etik Penelitian

Etika penelitian ini telah diajukan untuk verifikasi oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor registrasi 5272/UN26.18/PP.05.02.00/2024. Proses pelaksanaan penelitian ini melibatkan prinsip 3R, yang mencakup penggantian, pengurangan, dan penyempurnaan.

Penggantian berhubungan dengan pemilihan hewan percobaan yang dipertimbangkan dengan seksama, berdasar pada pengalaman sebelumnya serta sumber-sumber literatur demi memenuhi keperluan penelitian, di mana tidak ada kemungkinan untuk digantikan oleh organisme lain seperti sel atau kultur jaringan. Dalam penelitian ini, hewan percobaan yang dipakai adalah *R. norvegicus* galur Sprague Dawley dan tidak ada spesies percobaan lain yang dapat menggantikannya.

Pengurangan berkaitan dengan penurunan jumlah hewan percobaan yang terlibat untuk memperoleh informasi mengenai perlakuan yang diberikan. Peneliti menentukan jumlah minimum sampel dengan menggunakan rumus Federer, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, di mana t adalah jumlah kelompok perlakuan dan n mewakili jumlah sampel dalam masing-masing kelompok.

Refinement bertujuan untuk meminimalkan tingkat keparahan dari prosedur yang tidak etis terhadap hewan percobaan. Upaya yang dapat dilakukan antara lain memastikan hewan bebas dari kesulitan seperti haus dan lapar dengan memberikan air dan makanan sesuai dengan kebutuhan nutrisi untuk kesehatan mereka.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Ada dampak dari pemberian ekstrak etanol dari biji lada hitam (*Piper nigrum* L) terhadap tingkat glukosa dalam darah pada model diabetes yang melibatkan tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley.
2. Ekstrak etanol dari biji lada hitam (*Piper nigrum* L) tidak memperlihatkan dampak terhadap jumlah spermatogonia dalam model diabetes yang menggunakan tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) dari strain Sprague Dawley.

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti ini, sebagai berikut:

5.2.1 Saran penelitian selanjutnya

Disarankan bagi peneliti berikutnya yang akan mengeksplorasi pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam terhadap jumlah spermatogonia pada model diabetes tikus putih, untuk menjalankan perawatan dengan dosis lada hitam yang lebih panjang (kronik) selama sekitar 3 - 6 bulan.

5.2.2 Saran bagi masyarakat

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai obat herbal sebagai tambahan untuk resep dokter bagi individu yang memiliki diabetes melitus dan menghadapi masalah reproduksi yang bisa mengganggu aktivitas sehari-hari mereka.

DAFTAR PUSTAKA

- Abboud R, Chagas M, Ribeiro I, Correa L, dan Lange R. 2020 A Modified Protocol of The Alloxan Technique For The Induction of Diabetes Melitus In Wistar Rats. *Medicina Veterinaria (Brazil)*, 14(4), pp. 315-18. Doi: 10.26605/medvet-v14n4-2410.
- Adelati, S., A. Juniarto, and I. Miranti. 2016. Histopatologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar Diabetes Melitus. *Jurnal Kedokteran Diponegoro* 5(4):1760–69.
- Agustinus, I'tishom R, Pramesti MPB. 2018. Biologi Reproduksi Pria. Departemen Biologi Kedokteran. Airlangga Universitas Press. 76-81.
- Aghnia S, Hasri. 2021. Efektifitas Ekstrak Lada Hitam (*Piper Nigrum L*) Dan Zink (ZN) Terhadap Viabilitas Dan Morfologi Sperma. *Jurnal Medika Utama* 3(1):1507–11.
- Arief, Yuni S. 2017. Stres Dapat Mengganggu Proses Spermatogenesis Pada Mencit. *Jurnal Ners* 6(2):169–74. doi: 10.20473/jn.v6i2.3987.
- Arjadi F dan Susatyo. 2007. Regenerasi Sel Pulau Langerhans Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes yang Diberik Rebusan Daging Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa (scheff.) Boerl.*), 2(2):118-22.
- Azrifitria A, Putri E. 2023. Efek Ekstrak Etanol 70% Daun Kemangi (*Ocimum americanum L*) Terhadap Perbaikan Sel Spermatogenik Tikus Sprague-dawley Jantan. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 5(1): 1–8.
- Cilio, Simone, Monica R, Gianluca V, Benito F M, Gaetano G, Federico C, Gianpiero F, Erika D Z, and Felice C. 2022. Beneficial Effects of Antioxidants in Male Infertility Management: A Narrative Review. *Oxygen* 2(1):1–11. doi: 10.3390/oxygen2010001.
- D'Cruz SC dan Mathur PP. 2005. Effect of Piperine on the Epididimys of Adult Male Rats Asian. *Journal of Andrology*, 7(4): 363-68.
- Damanik, Alaris D, Ricky J H, Fitriyani F, Adang F, and Wiwin W. 2020. Peningkatan Kelarutan Ekstrak Lada (*Piper Nigrum L.*) Dalam Air dan Karakteristiknya. *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi Indonesia* 9(1):61–74. doi: 10.58327/jstfi.v9i1.139.

- 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).
- Elis N I, Lina R R, and Richa M. 2023. “Analisa In Silico Senyawa Biji Lada Hitam (*Piper Nigrum L.*) Terhadap Aktivitas Antioksidan.” *Jurnal Riset Rumpun Ilmu Kesehatan* 2(2):301–21. doi: 10.55606/jurrikes.v2i2.1815.
- Fiana, Nuzulut, and Dwita O. 2016. “Pengaruh Kandungan Saponin Dalam Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah.” *Majority* 5(4):128–32.
- Fitria, Laksmindra, Mulyati M, Cut M. Tiraya, and Andreas S. Budi. 2018. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus Norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, Dan Dewasa. *Jurnal Biologi Papua* 7(1):29–36. doi: 10.31957/jbp.429.
- Hamijoyo L. Suarjana N, Ginting AR, Kurniarti P, dan Rahman P dkk. 2020. Buku Saku Reumatologi. Perhimpunan Reumatologi Indonesia.
- Hammouti, B., M. Dahmani, A. Yahyi, A. Ettouhami, M. Messali, A. Asehrou, A. Bouyanzer, I. Warad, and R. Touzani. 2019. Black Pepper Uses. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research* 06(1):12–56.
- Hidayaturrahmah, Heri B S, Ridha A R, and Dewi K. 2020. Blood Glucose Level of White Rats (*Rattus Norvegicus*) after Giving Catfish Biscuit (*Pangasius Hypothalmus*) . *BIO Web of Conferences* 20:04005. doi: 10.1051/bioconf/20202004005.
- Iskandar, Puji F. 2021. Efektivitas Ekstrak Lada Hitam (*Piper Nigrum L*) Terhadap Jumlah Dan Motilitas Spermatozoa. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada* 10(2):683–88. doi: 10.35816/jiskh.v10i2.677.
- Jiwintarum Y, Eliza I, Tatontos EY dan Rohmi. 2017. Tea Bag Biji Alpukat (Persen Americana Mill) Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kesehatan*. 11(2).
- Josephine M, Forbes and Cooper ME. 2013. Mechanisms Of Diabetic Complications. *American Physiological Society*.137-38
- Kesuma DG. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum L*) Dan Seng (Zn) Terhadap Motilitas, Jumlah Dan Morfologi Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Strain Wistar. *Medical Journal of Lampung University*. 19(5), 1–23.

- Lwanga, S. K., Lemeshow, S., & World H O. (1991). *Sample size determination in health studies: a practical manual*. World Health Organization.
- Lestari, Zulkarnain, Sijid, and ST Aisyah. 2021. *Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan Dan Cara Pencegahan*. UIN Alauddin Makassar 1(2):237–41.
- Lotti, Francesco, and MarioM. 2023. *Effects of Diabetes Mellitus on Sperm Quality and Fertility Outcomes: Clinical Evidence*. *Andrology* 11(2):399–416. doi: 10.1111/andr.13342.
- Malole MBM, dan Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan - Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mutiarahmi CN, Hartady T, Lesmana R. 2021. *Use of Mice As Experimental Animals in Laboratories That Refer To the Principles of Animal Welfare: a Literature Review*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1): 134–45.
- Nawadi AR. 2021. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Buah Nangka (Artocarpus heterophyllus Lam) Terhadap Bobot Ginjal Tikus (Rattus norvegicus) Jantan Yang Diinduksi Diet Tinggi Asam Urat*. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Oduwole, Olayiwola O., Hellevi P, and Ilpo T. Huhtaniemi. 2018. *Role of Follicle-Stimulating Hormone in Spermatogenesis*. *Frontiers in Endocrinology* 9(December):1–11. doi: 10.3389/fendo.2018.00763.
- Onyesife, Ogugua, C. O., Ogugua, Victor N, Anaduaka, & G, E. (2014). *Hypoglycemic Potentials of Ethanol Leaves Extract of Black Pepper (Piper Nigrum) on Alloxan-Induced Diabetic Rats*. *Annals of Biological Research*, 5(6), 26–31. Retrieved from <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Papadopoulou A, Karkalousos P, Trapali M. 2022. *Effects of Diabetes Mellitus upon Sperm Quality Insight into Molecular Level*. *Journal of Diabetes Mellitus*, 12(02): 75–86.
- Pieme, Constant A, Jérôme A T, GustaveS, Prosper C B P, Vicky Jocelyne Ama Moor, Bruno Moukette Moukette, Francine Tankeu Nzufu, Borgia Legrand Njinkio Nono, and Eugene Sobngwi. 2017. *Relationship between Hyperglycemia, Antioxidant Capacity and Some Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidants in African Patients with Type 2 Diabetes*. *BMC Research Notes* 10(1):1–7. doi: 10.1186/s13104-017-2463-6.

- Pongoh, Adinda F, Edwin D Q, and Henki R. 2020. UJI ANTIDIABETIK EKSTRAK ETANOL BUNGA PEPAYA (*Carica Papaya L.*) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus Norvegicus*) YANG DIINDUKSI ALOKSAN. *Pharmacon* 9(1):160. doi: 10.35799/pha.9.2020.27423.
- Pramaningtyas, Miranti D, Dini I, and Muhammad L A. 2022. Apoptosis Pada Spermatogenesis. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 22(3):147–57. doi: 10.24815/jks.v22i3.21375.
- Pratama, R. Y., Pranitasari, N., & Purwaningsari, D. (2020). Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas *Rattus Norvegicus* Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Hang Tuah Medical Journal*, 17(2), 116. <https://doi.org/10.30649/htmj.v17i2.159>
- Prawitasari DS. 2019. Diabetes Melitus dan Antioksidan. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(1): 48-52.
- Putra IL dan Astuti ND. 2021. Jenis-jens Larva Lalat Pada Mencit (*Mus musculus L*) di Desa Bedoyo, Ponjopng Gunung Kidul. *Jurnal Biosains*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Purwandari CA, Wirjatmadi R, dan Mahmudiono T. 2022. Faktor Risiko Terjadinya Komplikasi Kronis Diabetes Melitus Tipe 2 Pada Pra Lansia. *Amerta Nutrition*. Universitas Airlangga, 6(3), 262-71.
- Rahman S, Rahmawati dan Nurkhalifah. 2014. Efek Hipoglikemic Kombinasi Infusa Biji Alpukat (*Persea Americana Mill*) Dan Biji Pepaya (*Carica Papaya (L) Var. Bangkok*) Asal Kab. Pinrang Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan. *Jurnal Bionature*, 15(2).
- Reni S, Kanedi M, Nurcahyani N, Sutyarso. 2013. Histologi Testis Mencit (*Mus musculus L*) Muda Dan Tua Yang Diberi Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum L*). *Jurnal Ilmiah : Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati*, 1(2), 92–95.
- Rhodes. (1971). *The Mathematical Gazette*. Cambridge University Press, 55(393), 298–305.
- Saenong, M. Sudjak. 2017. Tumbuhan Indonesia Potensial Sebagai Insektisida Nabati Untuk Mengendalikan Hama Kumbang Bubuk Jagung (*Sitophilus Spp.*). *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian* 35(3):131. doi: 10.21082/jp3.v35n3.2016.p131-142.

- Setiawan FE, Winarni TI, Pawitra I. 2014. Pengaruh Paparan Obat Nyamuk Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Leydig Tikus Sprague dawley. (Doctoral dissertation, Faculty of Medicine Diponegoro University).
- Shari, Amalia. 2022. Seleksi Spermatozoa Pada Fertilisasi In Vitro (IVF). Indonesian Journal of Health Science 2(1):1–8. doi: 10.54957/ijhs.v2i1.135.
- Sinaga, Elvina Sari. 2022. Isoflavon Kedelai Terhadap Spermatozoa. Vol. 11.
- Sitasiwi, Agung J, Tyas R S, and Faisal M A. 2023. Uji Fertilitas Tikus (*Rattus Norvegicus*) Jantan Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). Buletin Anatomi Dan Fisiologi 8(1):47–52. doi: 10.14710/baf.8.1.2023.47-52.
- Sutyarso, Sutyarso, Mohammad Kanedi, and M Kanedi. 2016. The Effect of Fruit Extracts of Black Pepper on the Fertility Potential of Male Albino Mice. American Journal of Medical and Biological Research 4(1):1–4. doi: 10.12691/ajmbr-4-1-1.
- Syam AK. 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kayu Hitam (*Diospyros celebica* B.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*). Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Syauqy, Ahmad. 2021. Evaluasi Kromatin Sperma Sebagai Indikator Kualitas Sperma. Biologi Kedokteran 3(4):1646–51.
- T.Eltrikanawati, T. Eltrikanawat., and Bisma FN. 2023. Edukasi Diabetes Mellitus Dan Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah. Sambulu Gana : Jurnal Pengabdian Masyarakat 2(2):64–70. doi: 10.56338/sambulu_gana.v2i2.3542.
- Walke, Gireeja, Sagar S. Gaurkar, Roshan Prasad, Tejaswee Lohakare, and Mayur Wanjari. 2023. The Impact of Oxidative Stress on Male Reproductive Function: Exploring the Role of Antioxidant Supplementation. Cureus 15(7):1–13. doi: 10.7759/cureus.42583.
- Widaryanti, Barinta, Nur K, and Nunung S. 2021. Efek Rebusan Sereh (*Cymbopogon Citratus*) Terhadap Respon Stress Oksidatif Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Diabetes. Life Science 10(2):173–81. doi: 10.15294/lifesci.v10i2.54457.

Wulandari, N. L. W. E., Udayani, N. N. W., Dewi, N. L. K. A. A., Triansyah, G. A. P., Dewi, N. P. E. M. K., Widiarsiani, I. A. P., & Prabandari, A. A. S. S. (2024). Artikel review: pengaruh pemberian induksi aloksan terhadap gula darah tikus. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education (e-Journal)*, 4(3), 2775–3670. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v4i2.26494>

Zhao, Yue, Shoulong D, Chongyang L, Jingchao C, Aowu W, Mingming C, Xuehai M, Sen W, and Zhengxing L. 2024. The Role of Retinoic Acid in Spermatogenesis and Its Application in Male Reproduction. *Cells* 13(13):1–15. doi: 10.3390/cells13131092.