

## 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*

Jinan Naura Talin<sup>1</sup>, Exsa Hadibrata<sup>2</sup>, Waluyo Rudiyanto<sup>3</sup>, Indri Windarti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Bagian Bedah, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>3</sup>Bagian Histologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>4</sup>Bagian Patologi Anatomi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

### Abstrak

Diabetes melitus yang tidak ditangani dengan baik dapat mengakibatkan infertilitas. Kandungan piperin yang terdapat dalam lada hitam dapat membantu dalam kualitas proses spermatogenesis dan kadar gula darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*P. nigrum L*) terhadap kadar gula darah dan jumlah spermatogonia model diabetes tikus putih jantan (*R. norvegicus*) galur *Sprague dawley*. 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 GCU dengan batas normal 50-135 mg/dL. Jumlah spermatogonia dihitung menggunakan alat bantu yaitu ImageJ. Data di analisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas, dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan uji *Pos Hoc*. Hasil statistik kadar gula darah didapatkan data terdistribusi normal  $p>0,05$ , data tidak homogen  $p<0,05$ , hasil uji *Kruskal-Wallis* yang bermakna dan dilanjutkan uji *Pos Hoc* didapatkan hasil bermakna pada P2 dan K-. Jumlah spermatogonia didapatkan data terdistribusi normal  $p>0,05$ , data tidak homogen  $p<0,05$ . Hasil uji *Kruskal-Wallis* yang bermakna  $p<0,05$  dan dilanjutkan uji *Pos Hoc* didapatkan hasil bermakna pada P2 dan P1. 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*.

## 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 Novergicus*) *Sprague Dawley* Strain

### Abstract

Diabetes mellitus that is not treated properly can result in infertility. The piperine content in black pepper can help in the quality of spermatogenesis process and blood sugar levels. This study aims to determine the effect of black pepper (*P. nigrum L*) ethanol extract on blood sugar levels and the number of spermatogonia in a diabetes model of male white rats (*R. norvegicus*) *Sprague dawley* strain. The study used a *Posttest-only Randomized Control Group* on 24 rats divided into 4 groups. All groups were induced with alloxan 150 mg/kgBW except for KN. P1 and P2 were given 122.5 mg/kgBW and 245 mg/kgBW black pepper ethanol extract. Blood sugar levels were checked using Easy Touch GCU with a normal limit of 50-135 mg/dL. The number of spermatogonia was calculated using a tool, namely ImageJ. The 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. The statistical results of blood sugar levels obtained normally distributed data  $p>0.05$ , non-homogeneous data  $p<0.05$ , significant *Kruskal-Wallis* test results and continued *Post Hoc* test obtained significant results at P2 and K-. The number of spermatogonia obtained normally distributed data  $p>0.05$ , non-homogeneous data  $p<0.05$ . The results of the *Kruskal-Wallis* test were significant  $p<0.05$  and continued *Post Hoc* test obtained significant results at P2 and P1. There was a decrease in blood sugar levels in the administration of black pepper ethanol extract (*P. nigrum L*) in the diabetes model of male white rats (*R. norvegicus*) *Sprague dawley* strain. However, there was no effect of administering black pepper ethanol extract (*P. nigrum L*) on the number of spermatogonia in the diabetes model of male white rats (*R. norvegicus*) *Sprague dawley* strain.

**Keywords:** Diabetes mellitus, *Piper nigrum L*, *Rattus norvegicus*.

Korespondensi: Jinan Naura Talin, Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No. 15, RT.01/RW.01, Gedong Meneng, Rajabasa, Bandar Lampung, hp 089521524175, e-mail: [jinnauratalin08@gmail.com](mailto:jinnauratalin08@gmail.com)

## Pendahuluan

Diabetes merupakan epidemi global yang terus berkembang setiap tahun. Menurut International Diabetes Federation (IDF) pada tahun 2015 terdapat 415 juta orang dewasa dengan diabetes mengalami kenaikan 4 kali lipat dari 180 juta di tahun 1980. Kemudian, pada akhir tahun 2021 IDF menyatakan bahwa terdapat peningkatan sebanyak 537 juta orang dengan diabetes.<sup>1</sup> Sedangkan, menurut Organisasi kesehatan dunia (WHO) menyebutkan bahwa kejadian penyakit diabetes mencapai sekitar 422 juta orang di seluruh dunia. Dalam hal ini, Indonesia menempati angka kejadian peringkat ke-7 di dunia untuk prevalensi penderita diabetes tertinggi pada tahun 2020. Menurut data riset kesehatan dasar (RISKESDAS) kementerian kesehatan tahun 2013 menyatakan bahwa prevalensi diabetes di Provinsi Lampung sebesar 0,9% dan menempati urutan ke-5 dengan kasus diabetes tertinggi dalam 14 kabupaten/kota.<sup>2</sup>

Aloksan adalah salah satu agen diabetogenik umum yang sering digunakan untuk menilai potensi antidiabetes baik dari senyawa murni maupun ekstrak tumbuhan dalam penelitian yang melibatkan diabetes.<sup>3</sup> Mekanisme diabetes yang induksi aloksan diawali dengan sel  $\beta$ -pankreas yang menyerap aloksan. Aloksan direduksi oleh agen pereduksi glutathione (GSH) dengan cara berikatan pada gugus -SH sehingga dihasilkan asam dialurat yang kemudian dioksidasi kembali menjadi aloksan. Aloksan secara selektif merusak sel-sel beta pankreas dengan memicu produksi radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal bebas ini menyebabkan stress oksidatif dan kerusakan sel serta akan merusak DNA, lipid, dan protein dalam sel beta pankreas, yang akhirnya akan menyebabkan apoptosis atau

kematian sel. Dengan kematian sel  $\beta$ -pankreas, maka produksi insulin berkurang yang menyebabkan terjadinya hiperglikemia kronis.<sup>3</sup>

Stres oksidatif sering menyebabkan gangguan pada reproduksi pria. Hal ini dikarenakan, membran sel sperma mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat tinggi sehingga rentan terjadi serangan ROS. Peroksidasi lipid merupakan salah satu mekanisme utama stres oksidatif yang dapat mempengaruhi fungsi reproduksi. Dengan cara, ROS yang menyerang asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel sperma sehingga akan memulai reaksi berantai. Hal ini, menyebabkan terjadinya produksi lipid peroksida dan terganggunya integritas membran. Sehingga, akan menyebabkan terganggunya fungsi dan kelangsungan hidup sperma serta proses spermatogenesis.<sup>4</sup>

Telah banyak hasil dari penelitian dan studi yang menyatakan bahwa pengobatan dengan menggunakan obat herbal tradisional dapat dilakukan untuk menanggulangi diabetes. Salah satunya yaitu dengan memanfaatkan ekstrak lada hitam (*Piper nigrum* L). Lada hitam (*Piper nigrum* L) dari famili piperaceae merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang tumbuh di Indonesia. Provinsi Lampung sendiri terkenal dengan produksi lada hitam dan sudah memperoleh Legalitas Sertifikat Indikasi Geografis karena memiliki reputasi baik di pasar domestik dan juga pasar Internasional pada tahun 2015. Hal ini dikarenakan produk hasil lada hitam di Provinsi Lampung memiliki karakteristik dari segi rasa dan aromanya yang khas.<sup>6</sup>

*Piper nigrum* L memiliki beberapa kandungan kimia diantaranya saponin, flavonoid, minyak atsiri, kavisin, resin, zat putih telur, amilum, piperine, piperiline, piperoleine, poperanine, piperonal, dihidrokarveol, kanyo-

fillene oksida, kariptone, tran piocarrol, dan minyak lada.<sup>5</sup> Bahan aktif utama *P. nigrum* L yaitu piperin memiliki efek hipoglikemik dan antioksidan yang diketahui berfungsi sebagai pelindung sel-sel dari kerusakan karena radikal bebas.<sup>7</sup>

Piperin menunjukkan pengaruh positif sebagai proteksi untuk melawan kerusakan oksidatif akibat dari radikal bebas, oksigen reaktif dan penghambatan peroksidasi lemak. Piperin juga memiliki aktivitas antioksidan dan dapat mengurangi zat reaktif asam thiobarbituric dan mempertahankan kadar superoksida dismutase, katalase, glutathione-S-transferase dan glutathione. Hal ini membuktikan bahwa piperin dalam kandungan *P. nigrum* L dapat mengurangi stres oksidatif yang merupakan salah satu penyebab munculnya penyakit diabetes.<sup>8</sup>

Selain itu, piperin juga berperan dalam melindungi jaringan testis dari kerusakan oksidatif, yang merupakan salah satu penyebab utama gangguan spermatogenesis pada penderita DM. Penelitian pada model tikus menunjukkan bahwa pemberian ekstrak lada hitam dapat meningkatkan jumlah spermatogonia, memperbaiki morfologi sperma, dan mengurangi tingkat apoptosis sel germinal testis.<sup>9</sup>

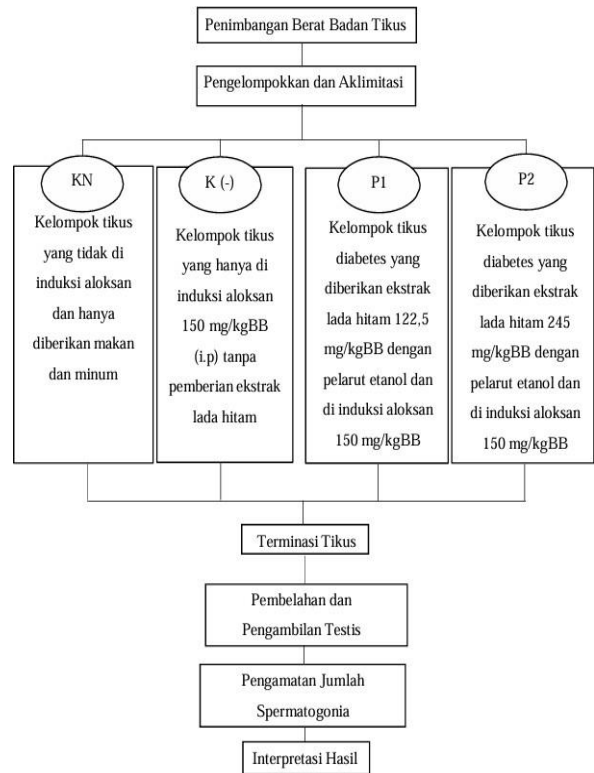
Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak lada hitam terhadap kadar gula darah dan jumlah spermatogonia pada tikus diabetes melitus.

### Metode

Penelitian menggunakan jenis penelitian yang menerapkan salah satu rancangan eksperimental serta metode *post test only control group design*. Pada penelitian ini menggunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berumur 2,5 dan 3 bulan dan berat 100-150 gram yang membagi menjadi 4 kelompok pada tikus putih, pembagian kelompok dilakukan secara acak, yaitu semua tikus yang belum diberikan perlakuan dianggap sama untuk kelompok kontrol serta eksperimen. Penelitian

dilaksanakan pada bulan september sampai oktober 2024 di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

### Alur Penelitian



Gambar 1. Alur Penelitian

Pada penelitian ini populasi hewan uji tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* berjenis kelamin jantan yang diperoleh dari Animal Vet di Bogor yang menjalin kerja sama dengan Institut Pertanian Bogor (IPB) dan sampel dalam penelitian menggunakan tikus sebanyak 24 ekor yang dipilih secara acak kemudian dibagi dalam 4 kelompok yang tiap kelompoknya terdiri dari 6 ekor tikus. Tiga ekor tikus ditempatkan bersama dalam satu kandang.

Tikus yang sudah sampai kemudian di aklimatisasi selama 7 hari, kemudian dilanjutkan dengan melakukan pengukuran berat badan tikus normal, setelah didapatkan berat badan normal, tikus dikelompokkan secara acak 4 kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2, setelah pemberian aloksan dan tikus menjadi diabetes melitus selanjutnya dilakukan pemberian

ekstrak dilakukan selama jangka waktu 8 hari dan pada hari ke-9 dilakukan terminasi dan pembedahan.

Buah *P. nigrum* L diperoleh dari petani lada di Kecamatan Gisting Tanggamus, Lampung, Indonesia. Buah *P. nigrum* L yang mengalami dehidrasi dihaluskan menjadi bubuk 100 gram. Kemudian, dilanjutkan dengan pemberian etanol sebanyak 300 ml untuk mengekstrak bubuk lada hitam lalu dikocok sebanyak tiga kali. Setelah itu, didapatkan hasil berupa filtrat dan residu. Selanjutnya, hasil filtrat diuapkan sehingga menghasilkan ekstrak etanol sebesar 10 gram. Ekstrak yang diperoleh disimpan dalam kulkas hingga ekstrak diperlukan.

Penentuan dosis untuk setiap perlakuan didasarkan pada penelitian sebelumnya. Pada penelitian tersebut menggunakan dosis sebesar 122,5 mg/KgBB selama 8 hari.<sup>10</sup> Penentuan dosis untuk perlakuan ditetapkan berdasarkan rata-rata berat hewan uji yaitu sekitar 200 gram. Sehingga, didapatkan dosis yang dibutuhkan pada kelompok perlakuan satu dan kelompok perlakuan dua (P1 dan P2) adalah  $122,5 \text{ mg/KgBB} \times 0,2 \text{ Kg (berat tikus)} = 24,5 \text{ mg}$  dibulatkan menjadi 25 mg, dan  $245 \text{ mg/KgBB} \times 0,2 \text{ Kg (berat tikus)} = 49 \text{ mg}$ .<sup>10</sup>

Pada penelitian ini digunakan 2 dosis ekstrak lada hitam, yaitu dosis 122,5mg/kg berat badan dan 245mg/kg berat badan yang akan diberikan kepada tikus putih jantan melalui mulut menggunakan sonde. Ekstrak lada hitam diberikan setiap hari dengan dosis sekali minum perhari selama delapan hari.

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.<sup>11</sup> Setelah tikus mati, dilanjutkan untuk pembedahan dan pematangan organ

testis tikus untuk melihat dan menilai jumlah spermatogonia.

Tikus yang digunakan dalam percobaan diberikan aloksan melalui suntikan intraperitoneal tunggal dari larutan yang baru di produksi dalam normal saline, dengan dosis 150 mg/kgBB.<sup>12</sup> Aloksan terabsorpsi secara cepat ke dalam sel beta pankreas karena molekul pada aloksan mirip dengan glukosa yang memiliki sifat hidrofilik sehingga dapat terabsorpsi ke dalam plasma membran sel beta pankreas melalui perantara glucose transporter 2 (GLUT2).<sup>13</sup> Setelah terserapnya aloksan maka akan terjadi kerusakan pada sel beta pankreas dengan cara mengaktifkan oxygen reactive spesies (ROS) diawali dengan adanya reaksi reduksi dari aloksan. Hasil dari reduksi aloksan yaitu asam dialurat yang nantinya membentuk siklus reaksi redoks sehingga menghasilkan radikal superoksida dan akan di stimulasi menjadi hidrogen peroksida.<sup>14</sup>

Pemberian aloksan pada hewan coba menyebabkan hewan tersebut menjadi diabetes dalam bentuk tipe 2. Hal ini dipicu oleh aloksan yang dapat menimbulkan kerusakan pada sel beta pankreas.<sup>3</sup> Oleh karena itu, dilakukan pemberian larutan glukosa 20% (5 10 ml) secara oral setelah 6 jam untuk mengatasi hipoglikemia yang disebabkan oleh pelepasan insulin yang berlebihan akibat induksi aloksan. Kemudian, dilanjutkan untuk pemeliharaan tikus selama 24 jam berikutnya dengan diikuti pemberian larutan yang mengandung 5% air glukosa bertujuan untuk menghindari terjadinya hipoglikemia. Eksperimen dilakukan pada tikus menunjukkan diabetes ringan, ditandai dengan adanya hiperglikemia dengan kandungan gula darah berkisar antara 200- 300 mg/dL.

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 Anatomik Nafri Bandar Lampung.

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 Anatomik 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.<sup>15</sup> Upaya mempermudah dalam perhitungan jumlah spermatogonia maka dilakukan perhitungan menggunakan aplikasi ImageJ.

Analisis statistik yang digunakan untuk mengolah data diperoleh dari analisis bivariat. Analisis bivariat adalah analisis statistik yang dilakukan untuk menilai hipotesis antara variabel bebas dan variabel terikat. Sedangkan untuk mendata hasil penelitian dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dikarenakan pada penelitian ini menggunakan sampel  $\leq 50$ , untuk mengetahui kenormalan distribusi data dan uji varians data menggunakan *Levene's test*. Pada penelitian ini didapatkan data terdistribusi normal namun varians data yang tidak homogen. Maka, penelitian ini dilakukan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji non-parametrik didapatkan data yang signifikan ( $p < 0,05$ ) yang berarti data bermakna dan hipotesis alternatif diterima. Dikarenakan hasil uji *Kruskal-Wallis* bermakna, maka dilanjutkan uji *Pos Hoc* dan didapatkan hasil bermakna pada P2 dan K- parameter kadar gula darah dan didapatkan hasil bermakna pada P2 dan P1 parameter jumlah spermatogonia.

## Hasil Penelitian

**Tabel 1.** Hasil Tes Kadar Gula Darah *R. norvegicus*

Rerata Kadar Gula Darah Masing - Masing Kelompok (mg/dL)					
KN	K-	P1		P2	
		Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
157,1	224	320,5	182,1	330	108,8

**Tabel 2.** Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Kadar Gula Darah

KELOMPOK	KETERANGAN	SIGNIFIKASI (p)
KN	Kelompok tikus yang hanya diberikan makanan tanpa di induksi aloksan dan tanpa pemberian ekstrak etanol lada hitam.	,884
K-	Kelompok tikus yang di induksi aloksan 150 mg/kgBB (i.p) tanpa pemberian ekstrak etanol lada hitam.	,780
P1	Kelompok tikus diabetes yang di induksi aloksan 150 mg/kgBB (i.p) dan diberikan ekstrak lada hitam 122,5 mg/kgBB dengan pelarut etanol.	,550
P2	Kelompok tikus diabetes yang di induksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak lada hitam 245 mg/kgBB dengan pelarut etanol.	,066

Berdasarkan hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* data diatas, didapatkan hasil data terdistribusi normal karena hasil signifikansi tiap kelompok bernilai  $p > 0,05$ .

**Tabel 3.** Hasil Uji Homogenitas *Levene* Kadar Gula Darah

Levene statistic	Df1	Df2	Sig.
KN	3	20	,031
K-	3	20	,040
P1	3	7,781	,078
P2	3	20	,031

Dengan demikian, hasil data penelitian ini menunjukkan data tidak homogen atau data tidak memiliki varian yang sama yaitu bernilai  $p < 0,05$ . Oleh karena itu, dilakukan uji Non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk melihat apakah

terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok.

**Tabel 4.** Hasil Uji Kruskal-Wallis Kadar Gula Darah

Parameter	Signifikansi
Kadar Gula Darah	,005

Data hasil kadar gula darah yang dilakukan uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil  $p < 0,05$  yang berarti  $H_1$  diterima. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum L*) terhadap kadar gula darah pada model diabetes tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Dengan demikian, hasil uji tersebut akan dilanjutkan uji *Pos Hoc*.

**Tabel 5.** Hasil Uji Pos Hoc Kadar Gula Darah

Kelompok Perbandingan	Signifikansi
P2 dan KN	1,000
P2 dan P1	,638
P2 dan K-	,003
KN dan P1	1,000
KN dan K-	,090
P1 dan K-	,344

**Tabel 6.** Hasil Perhitungan Jumlah Spermatogonia

Rerata Jumlah Spermatogonia Masing – Masing Kelompok	
KN	511
K-	494,5
P1	549,6
P1	414,3

**Tabel 7.** Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk Jumlah Spermatogonia

KELOMPOK	KETERANGAN	SIGNIFIKASI (p)
KN	Kelompok tikus yang hanya diberikan makanan tanpa di induksi aloksan dan tanpa pemberian ekstrak etanol lada hitam.	,570
K-	Kelompok tikus yang di induksi aloksan 150 mg/kgBB (i.p) tanpa pemberian ekstrak etanol lada hitam.	,639
P1	Kelompok tikus diabetes yang di induksi aloksan 150 mg/kgBB (i.p) dan diberikan ekstrak lada hitam 122,5 mg/kgBB dengan pelarut etanol.	,400
P2	Kelompok tikus diabetes yang di induksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak lada hitam 245 mg/kgBB dengan pelarut etanol.	,740

**Tabel 8.** Hasil Uji Homogenitas Levene

Levene statistic	Df1	Df2	Sig.
KN	3	20	,009
K-	3	20	,040
P1	3	12,155	,056
P2	3	20	,010

Dengan demikian, hasil data penelitian ini menunjukkan data tidak homogen atau data tidak memiliki varian yang sama yaitu bernilai  $p < 0,05$ . Oleh karena itu, dilakukan uji Non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok.

**Tabel 9.** Hasil Uji Kruskal-Wallis

Parameter	Signifikansi
Jumlah Spermatogonia	,013

Data Jumlah Spermatogonia yang dilakukan uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil  $p < 0,05$  yang berarti  $H_1$  diterima. Namun, jika dilihat dari rerata hasil perhitungan jumlah spermatogonia pada K- dan P1 didapatkan hasil jumlah spermatogonia yang tidak jauh berbeda. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum L*) terhadap kadar gula darah model diabetes tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*

**Tabel 10.** Hasil Uji *Pos Hoc* Jumlah Spermatogonia

Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K- dan P2	,107
KN dan P2	,096
P2 dan P1	,013
K- dan KN	1,000
K- dan P1	1,000
KN dan P1	1,000

Berdasarkan hasil uji tersebut Perlakuan 2 dan Perlakuan 1 didapatkan hasil  $p < 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada kedua kelompok tersebut. Sedangkan, pada perbandingan kelompok lainnya tidak terdapat perbedaan yang signifikan karena didapatkan hasil  $p > 0,05$ .

### Pembahasan

Diabetes melitus dapat menjadi komplikasi yang disebabkan oleh stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan keadaan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Stres oksidatif sering menyebabkan terjadinya gangguan reproduksi pada pria dengan cara menurunkan kadar testosteron yang mempengaruhi kerja enzim LDH untuk mengubah NADH menjadi NAD<sup>+</sup> yang merupakan pembentuk laktat pada sel sertoli dan akan menyebabkan terganggunya sintesa piruvat sehingga laktat tidak diproduksi. Dalam hal ini, karena laktat didalam sel sertoli berfungsi sebagai asupan nutrisi spermatozoa maka akan menurunkan kualitas spermatogenesis.<sup>16</sup> Selain itu, stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) karena meningkatnya asam lemak tak jenuh di membran sel sperma. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya produksi lipid peroksida dan terganggunya integritas membran. Sehingga, akan terganggunya fungsi dan kelangsungan hidup sperma serta proses spermatogenesis.<sup>4</sup>

Proses spermatogenesis diawali dari perubahan spermatogonium yang merupakan stem cell untuk pembentukan spermatozoa yang akan mengalami mitosis dengan melepaskan sebagian spermatogonium dari membran basalis tubulus seminiferus, kemudian akan berkembang menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer mengalami pembelahan meiosis sehingga jumlah kromosom menjadi separuh kromosom awal, kemudian membelah menjadi spermatosit sekunder dan berkembang menjadi spermatid yang merupakan tahap akhir dari spermatogenesis.

Pada hasil perhitungan jumlah spermatogonia menunjukkan adanya perbedaan hasil yaitu pada kelompok kontrol normal (KN) berjumlah 3066, kelompok kontrol negatif (K-) berjumlah 2967, kelompok perlakuan 1 (P1) 3298, dan kelompok perlakuan 2 (P2) berjumlah 2486 spermatogonia. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberikan aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak etanol lada hitam 122,5 mg/kgBB didapatkan hasil jumlah yang lebih banyak. Sedangkan, pada kelompok perlakuan 2 (P2) didapatkan hasil jumlah spermatogonia yang lebih sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat adanya efek peningkatan jumlah spermatogonia dengan pemberian dosis yang lebih rendah yaitu 122,5 mg/kgBB dibandingkan dengan pemberian dosis yang lebih tinggi yaitu 245 mg/kgBB.

Berdasarkan hasil, jika dibandingkan P1 dan P2 dengan kelompok normal (KN), didapatkan hasil jumlah spermatogonia yang lebih sedikit dibandingkan dengan P1 dan jumlah spermatogonia yang lebih

banyak dibandingkan dengan P2. Sementara itu, pada kelompok negatif (K-) didapatkan hasil yang jauh lebih sedikit dibandingkan kelompok lainnya. Akan tetapi, jika dilihat pada kelompok normal (KN) yaitu kelompok tikus yang hanya diberikan pakan dengan kelompok negatif (K-) yaitu kelompok tikus yang hanya diinduksi aloksan didapatkan hasil perhitungan jumlah spermatogonia yang tidak jauh berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa diabetes melitus tidak mempengaruhi jumlah spermatogonia maupun proses spermatogenesis.

Berdasarkan hasil uji statistik, menunjukkan hasil yang signifikan terhadap Perlakuan 2 dan Perlakuan 1. Hal ini, menyatakan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam terhadap jumlah spermatogonia dengan dosis 122,5 mg/kgBB dan 245 mg/kgBB. Maka dari itu, jika dilihat dari data hasil perhitungan jumlah spermatogonia didapatkan hasil bahwa ekstrak *P. nigrum* L memberi pengaruh positif terhadap peningkatan jumlah spermatogonia dengan dosis pemberian terbaik yaitu 122,5 mg/kgBB. Oleh karena itu, *P. nigrum* L dapat dijadikan salah satu pilihan obat tanaman herbal terhadap infertilitas salah satu penyebabnya yaitu menurunnya jumlah spermatogonia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Reni dkk., (2013) didapatkan hasil bahwa ekstrak lada hitam mampu menghambat penurunan jumlah spermatogonia. Akan tetapi, tingginya kadar ROS dalam proses spermatogenesis dapat menyebabkan tingginya konsentrasi asam lemak tak jenuh ganda membran plasma dan berkurangnya mekanisme pertahanan sitoplasma sehingga dapat meningkatkan stres oksidatif dengan memicu oksidasi DNA sel sperma, protein, dan lipid yang kemudian akan merusak tahapan spermatogenesis.<sup>20</sup> Hal ini sejalan dengan penelitian D'Cruz

dan Mathur (2005), menjelaskan bahwa piperin dapat berpengaruh terhadap reproduksi pria dengan meningkatkan kadar hormon gonadotropin sehingga dapat meningkatkan produksi hormon testosterone, namun pada pemberian piperin dengan dosis tinggi dapat menyebabkan penurunan aktivitas dari antioksidan sehingga terjadi peningkatan ROS yang dapat merusak produksi dari spermatozoa.

Hal ini dikarenakan, *P. nigrum* L diketahui memiliki beberapa zat kimia yang terkandung didalamnya salah satunya yaitu piperin. Kandungan piperin dapat meningkatkan hormon gonadotropin yang merupakan hormon utama dalam pengaturan fungsi testis. Hormon gonadotropin dirangsang oleh sekresi GnRH di hipofisis anterior untuk mensekresi *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Folicle Stimulating Hormone* (FSH).<sup>8</sup>

FSH berperan dalam menstimulasi sel sertoli, sedangkan LH akan menstimulasi sel leydig untuk menghasilkan testosterone. Sebagian testosterone akan diikat oleh *Androgen Binding Protein* (ABP) yang diproduksi oleh sel sertoli. Sedangkan, sebagian kecil akan masuk ke sirkulasi.<sup>17</sup> Pengikatan testosterone oleh ABP dapat membantu testosterone menuju lumen tubulus seminiferus untuk memulai proses spermatogenesis.<sup>18</sup> Testosterone dan FSH bersinergis untuk mendorong perubahan spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder. Kemudian, menghasilkan spermatid melalui proses meiosis dan dilanjutkan ke proses spermiogenesis. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa spermatogenesis dikendalikan oleh interaksi antara testosterone, FSH, dan LH. Maka dari itu, apabila terdapat gangguan pada interaksi testosterone, FSH, dan LH akan menyebabkan gangguan pada proses

spermatogenesis. Terganggunya proses spermatogenesis merupakan salah satu penyebab terjadinya infertilitas pada pria

Dalam etiologi infertilitas pria, berhubungan erat dengan stres oksidatif (OS). Hal ini dikarenakan ROS yang memediasi peroksidasi oksidatif asam lemak tak jenuh sehingga menyebabkan infertilitas. Maka dari itu, dengan adanya kandungan piperin dalam *P. nigrum* L yang memiliki aktivitas antioksidan dapat membantu dalam memperbaiki kelainan reproduksi dimulai dari proses spermatogenesis.<sup>20</sup> Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Reni dkk., didapatkan hasil bahwa ekstrak lada hitam mampu menghambat penurunan jumlah spermatogonia.<sup>15</sup> Akan tetapi, tingginya kadar ROS dalam proses spermatogenesis dapat menyebabkan tingginya konsentrasi asam lemak tak jenuh ganda membran plasma dan berkurangnya mekanisme pertahanan sitoplasma sehingga dapat meningkatkan stres oksidatif dengan memicu oksidasi DNA sel sperma, protein, dan lipid yang kemudian akan merusak tahapan spermatogenesis.<sup>20</sup>

Hal ini dikarenakan, *P. nigrum* L diketahui memiliki beberapa zat kimia yang terkandung didalamnya salah satunya yaitu piperin. Kandungan piperin dapat meningkatkan hormon gonadotropin yang merupakan hormon utama dalam pengaturan fungsi testis. Hormon gonadotropin dirangsang oleh sekresi GnRH di hipofisis anterior untuk mensekresi *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Folicle Stimulating Hormone* (FSH).<sup>8</sup> FSH berperan dalam menstimulasi sel sertoli, sedangkan LH akan menstimulasi sel leydig untuk menghasilkan testosteron. Sebagian testosteron akan diikat oleh *Androgen Binding Protein* (ABP) yang diproduksi

oleh sel sertoli. Sedangkan, sebagian kecil akan masuk ke sirkulasi.<sup>17</sup> Pengikatan testosteron oleh ABP dapat membantu testosteron menuju lumen tubulus seminiferus untuk memulai proses spermatogenesis.<sup>18</sup> Testosteron dan FSH bersinergis untuk mendorong perubahan spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder. Kemudian, menghasilkan spermatid melalui proses meiosis dan dilanjutkan ke proses spermiogenesis. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa spermatogenesis dikendalikan oleh interaksi antara testosteron, FSH, dan LH. Maka dari itu, apabila terdapat gangguan pada interaksi testosteron, FSH, dan LH akan menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis. Terganggunya proses spermatogenesis merupakan salah satu penyebab terjadinya infertilitas pada pria.<sup>19</sup>

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Reni dkk., (2013) didapatkan hasil bahwa ekstrak lada hitam mampu menghambat penurunan jumlah spermatogonia. Akan tetapi, tingginya kadar ROS dalam proses spermatogenesis dapat menyebabkan tingginya konsentrasi asam lemak tak jenuh ganda membran plasma dan berkurangnya mekanisme pertahanan sitoplasma sehingga dapat meningkatkan stres oksidatif dengan memicu oksidasi DNA sel sperma, protein, dan lipid yang kemudian akan merusak tahapan spermatogenesis.<sup>20</sup>

Hal ini sejalan dengan penelitian D'Cruz dan Mathur (2005), menjelaskan bahwa piperin dapat berpengaruh terhadap reproduksi pria dengan meningkatkan kadar hormon gonadotropin sehingga dapat meningkatkan produksi hormon testosteron, namun pada pemberian piperin dengan dosis tinggi dapat menyebabkan penurunan aktivitas dari

antioksidan sehingga terjadi peningkatan ROS yang dapat merusak produksi dari spermatozoa.

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah spermatogonia, pada kelompok kontrol normal (KN) dengan kelompok kontrol negatif (K-) didapatkan hasil yang tidak jauh berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh diabetes melitus terhadap jumlah spermatogonia. Namun, jika dilihat dari hasil pengecekan gula darah pada *R. norvegicus* didapatkan hasil pada kelompok tikus yang diberikan lada hitam mengalami penurunan kadar gula darah. Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian lada hitam terhadap diabetes melitus.

Berdasarkan hasil uji statistik, menunjukkan hasil yang signifikan terhadap Perlakuan 2 dan Kelompok Negatif. Hal ini menyatakan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam (*P. Nigrum* L) terhadap kadar gula darah model diabetes tikus putih jantan (*R. norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan dosis efektivitas yaitu 245 mg/kgBB. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Onyesife dkk., (2014) yang melakukan penelitian uji efek ekstrak daun *P. nigrum* L terhadap kadar gula darah pada *R. norvegicus* yang diinduksi aloksan didapatkan hasil bahwa *P. nigrum* L memiliki aktivitas antidiabetes karena pada penelitian tersebut *P. nigrum* L terbukti dapat menurunkan kadar gula darah tikus. Menurut Kavitha dan Mani (2017), menyatakan bahwa senyawa metabolit pada *P. nigrum* L yang berperan sebagai antidiabetes adalah alkaloid, flavonoid, dan saponin.

Alkaloid bekerja dalam menurunkan gula darah dengan cara meningkatkan transportasi glukosa di dalam darah, menghambat absorbs glukosa di usus, merangsang sintesis

glikogen dan menghambat sintesis glukosa dengan menghambat glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,6-bifosfatase yang merupakan enzim yang berperan dalam gluconeogenesis serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfat dehydrogenase. Oleh sebab itu, penurunan pembentukan glukosa ini disebabkan karena adanya hambatan pada enzim 6-fosfatase dan fruktosa 1,6-bifosfatase melalui substrat lain selain karbohidrat.<sup>23</sup>

Sedangkan, peran saponin sebagai antidiabetes sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase. Enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam mengubah karbohidrat menjadi glukosa. Dengan demikian, apabila enzim tersebut dihambat maka kadar gula dalam darah akan menurun sehingga menimbulkan efek hipoglikemik (Fiana dan Oktaria, 2016). Sementara itu, pada senyawa flavonoid mekanisme kerja menurunkan kadar glukosa dengan cara yang berbeda dari senyawa-senyawa lainnya. Hal ini dikarenakan, senyawa flavonoid menurunkan kadar gula darah dengan menggunakan kemampuannya sebagai zat antioksidan. Antioksidan dalam usahanya menurunkan gula darah dengan menghambat produksi radikal bebas atau meningkatkan kemampuan enzim pertahanan terhadap radikal bebas guna mencegah munculnya stres oksidatif.<sup>25</sup>

Berdasarkan hasil pengecekan kadar gula darah pada *R. norvegicus*, jika dilihat dari kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 didapatkan hasil pada P2 mengalami penurunan kadar gula darah lebih tinggi dibandingkan P1. Pada P2 mengalami penurunan kadar gula darah >100mg/dL. Sedangkan, pada P1 penurunan kadar gula darah <100 mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa, *P. nigrum* L dengan dosis yang lebih tinggi memiliki efektivitas yang baik pada

diabetes melitus. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Onyesife dkk., (2014) yang melakukan penelitian pemberian *P. nigrum* L terhadap kadar gula darah *R. norvegicus* menggunakan dosis pemberian 100, 200, dan 300 mg/kgBB didapatkan hasil dosis efektivitas ekstrak *P. nigrum* L terhadap diabetes yaitu pada dosis 300mg/kgBB dengan penurunan darah rata-rata sebesar 270mg/dL. Berdasarkan hasil dalam penelitian ini dan penelitian terdahulu menunjukkan adanya pengaruh positif pemberian *P. nigrum* L diabetes melitus dan pada dosis pemberian yang tinggi memiliki efektivitas penurunan kadar gula darah yang lebih signifikan. Oleh karena itu, ekstrak *P. nigrum* L dapat menjadi salah satu pilihan terapi berbahan dasar tanaman obat tradisional yang digunakan untuk mengatasi diabetes melitus.

Diabetes melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah. Diabetes melitus tidak dapat disembuhkan tetapi dapat dikontrol kadar gula darahnya (Purwandari dkk., 2022). Menurut Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) menyatakan bahwa pengontrolan kadar gula darah yang baik dapat mengurangi komplikasi diabetes melitus sekitar 20-30%. Berdasarkan data The United Kingdom Prospective Diabetes Study menyatakan bahwa setiap penurunan 1% HbA1C akan menurunkan risiko komplikasi sebesar 35%, menurunkan insiden kematian sebesar 21%, infark miokard 14%, komplikasi mikrovaskular 37% dan penyakit pembuluh darah perifer 43%.

Komplikasi diabetes melitus sangat luas dan sebagian besar disebabkan

oleh peningkatan kadar gula darah yang kronis. Pada umumnya, durasi suatu penyakit dibagi menjadi akut, subakut, dan kronik. Akut merupakan suatu penyakit dengan durasi yang tidak lama (<6 minggu)<sup>27</sup> dan timbul gejala secara cepat. Subakut suatu penyakit yang berdurasi lebih lama dibandingkan akut tetapi belum melebihi durasi kronik. Sedangkan, kronik adalah suatu penyakit yang berlangsung lama (3-6 bulan) atau dikenal sebagai penyakit menahun salah satunya diabetes melitus.<sup>26</sup>

Tidak terkontrolnya kadar gula darah dalam jangka panjang akan menyebabkan timbulnya komplikasi. Untuk menjaga homeostasis, glukosa bergantung dengan natrium 2 (SGLT2) dengan bantuan ginjal untuk proses penyaringan. Setiap hari, sekitar 180 gram glukosa disaring oleh ginjal atau setara dengan sekitar sepertiga dari total energi yang dikonsumsi oleh tubuh manusia. Selain itu, glukosa perlu dilakukan reabsorpsi setelah penyaringan terutama pada tubulus proksimal ginjal sehingga menghasilkan urin terbebas dari glukosa.

Akan tetapi, berbeda kasusnya dengan penderita diabetes. Pada penderita diabetes, glukosa yang disaring akan melebihi kapasitas transportasi tubulus ginjal dengan demikian akan menghasilkan glukosa dalam urin (glikosuria). Gangguan komponen penyaringan ginjal disebut juga hiperfiltrasi glomerulus. Selain itu, ginjal penderita diabetes pada tahap awal akan mengalami hipertrofi yang secara signifikan. Hal ini ditandai dengan adanya pembesaran ginjal.

Sel-sel dalam jaringan yang rentan terhadap komplikasi diabetes salah satunya sel endotel yang tidak mampu memodulasi tingkat transportasi glukosa untuk mencegah akumulasi glukosa intraseluler yang berlebihan. Molekul yang berasal dari glukosa yang masuk ke dalam sel biasanya dimasukkan ke dalam jalur produksi energi pertama disebut glikolisis. Pada diabetes, glikolisis hanya menghasilkan empat molekul ATP yang dimana hal ini menandakan glikolisis tidak efisien. Oleh karena itu, sel eukariotik akan mengangkut piruvat yang dihasilkan dari glikolisis ke mitokondria kemudian akan di oksidasi dan digunakan untuk fosforilasi oksidatif.

Fosforilasi oksidatif merupakan proses yang sangat efisien karena menggunakan energi yang dilepaskan dari nutrisi melalui siklus krebs dan dari oksidasi asam lemak dan asam amino sehingga menghasilkan 15 kali lebih banyak molekul ATP. Energi yang dilepaskan dari nutrisi sebagai elektron mengalir melalui rantai pernapasan yang memfasilitasi pengangkutan proton melalui mitokondria. Gradien proton elektrokimia yang dihasilkan akan digunakan untuk menghasilkan energi kimia dalam bentuk ATP.

Oleh karena itu, dengan menghentikan produksi ATP dan menghancurkan mitokondria akan menyebabkan produksi energi yang diatur oleh sel-sel kemungkinan besar menjadi tidak terkendali. Pada penderita diabetes, dimana antara glukosa dan asam lemak merupakan sumber energi utama pada organ jantung. Sehingga, kemungkinan akan terjadi peningkatan penyerapan asam lemak bebas untuk

mengkompensasi hilangnya ATP dan sebagai respon terhadap peningkatan gradien asam lemak bebas akibat hiperlipidemia.

Glukokinase/heksokinase merupakan enzim penting yang terlibat dalam pengangkutan glukosa ke dalam sel. Enzim tersebut dikendalikan oleh enzim glukosa-6-fosfat dehydrogenase (G6PDH) yang merupakan bagian dari jalur pentosa fosfat. Jalur pentosa fosfat terdapat ribosa yang membantu untuk produksi NAD(P)H, glutathione (GSH) reduktase, dan aldose reduktase. Setelah glukosa diangkut ke dalam sel, sebagian besar akan di metabolisme melalui glikolisis yang melibatkan glukosa-6-fosfat menjadi fruktosa-6-fosfat.

Akan tetapi, ketika terjadi peningkatan glukosa intraseluler glukosa dapat mengalihkan fruktosa-6-fosfat ke N-acetylglucosamine. Hal tersebut didukung oleh enzim aldose reductase yang memiliki peran sebagai detoksifikasi aldehida menjadi alkohol inert. Pada hiperglikemia, NAD(P)H dapat menghambat kapasitas antioksidan dengan cara mengurangi glutathione tereduksi menjadi glutathione aktivitas peroksidase. Dengan demikian, hal ini akan menyebabkan tingkat reduktase aldose yang relatif rendah, tetapi ekspresi yang berlebihan sehingga meningkatkan kerentanan terhadap aterosklerosis yang disebabkan oleh diabetes dan cedera iskemia/reperfusi.

Jaringan yang terpengaruh oleh penurunan sensitivitas insulin

adalah sel-sel otot rangka, hati, dan jaringan adiposa. Di hati, penyerapan glukosa di mediasi oleh insulin akan disimpan sebagai glikogen dan menyebabkan penurunan produksi glukosa oleh hati dengan membatasi gluconeogenesis. Selain itu, insulin akan memberi sinyal ketika berkurangnya kebutuhan untuk metabolisme lipid di hati yang akan menyebabkan mobilisasi asam lemak bebas tersimpan di jaringan adiposa.

Penurunan postprandial penyerapan glukosa yang diakibatkan oleh gangguan sinyal insulin dianggap sebagai ketersediaan glukosa yang rendah pada organ hati yang nantinya akan memobilisasi asam lemak dari jaringan adiposa sebagai alternatif sumber energi sehingga akan meningkatkan produksi glukosa (glukoneogenesis dan glikogenolisis). Oleh karena itu, akan terjadi akumulasi asam lemak bebas dan hiperglikemia yang mengubah lokalisasi dan ekspresi glukosa transporter seperti GLUT dan SGLT pada lokasi komplikasi diabetes.

### Simpulan

Terdapat efek penurunan kadar gula darah pada pemberian ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L) model diabetes tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

Tidak Terdapat Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Lada Hitam (*Piper nigrum* L) Terhadap Jumlah Spermatogonia Model Diabetes Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*.

Saran untuk peneliti selanjutnya yang akan melakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol lada hitam terhadap jumlah spermatogonia model diabetes tikus putih diperlukan adanya

paparan pemberian lada hitam yang lebih lama (kronik) kurang lebih 3 - 6 bulan.

### Daftar Pustaka

1. International Diabetes Federation. International Diabetes Federation Atlas. Vol. 266, The Lancet. 2019. 1–168 p.
2. Kemenkes. Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf. Lembaga Penerbit Balitbangkes. 2018. p. hal 156.
3. Ighodaro OM, Adeosun AM, Akinloye OA. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. Med [Internet]. 2017;53(6):365–74. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medic.2018.02.001>
4. Walke G, Gaurkar SS, Prasad R, Lohakare T, Wanjari M. The Impact of Oxidative Stress on Male Reproductive Function: Exploring the Role of Antioxidant Supplementation. Cureus. 2023;15(7):1–13.
5. Iskandar PF. Efektivitas Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum* L) Terhadap Jumlah dan Motilitas Spermatozoa. J Ilm Kesehat Sandi Husada. 2021;10(2):683–8.
6. Dinas Perkebunan Provinsi Lampung. Penyajian data statistik persebaran luas areal dan produksi komoditas lada Dinas Perkebunan di Provinsi Lampung tahun 2020 melalui peta GIS (Geographic Information System) [Internet]. 2020 [cited 2025 Jan 3]. Available from: <https://disbun.lampungprov.go.id/detail-post/penyajian-data-statistik-persebaran-luas-areal-dan-produksi-komoditas-lada-dinas-perkebunan-di-provinsi-lampung-tahun-2020-melalui-peta-gis-geographic-information-system>
7. Elis Nurul Ikhlas, Lina Rahmawati Rizkuloh, Richa Mardianingrum. Analisa In Silico Senyawa Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. J Ris Rumpun Ilmu Kesehat. 2023;2(2):301–21.
8. Aghnia Salsabila H. Efektifitas Ekstrak Lada Hitam (*Piper Nigrum* L) dan Zink (ZN) terhadap Viabilitas dan Morfologi Sperma. J Med Utama [Internet]. 2021;3(1):1507–11. Available from:

- <http://jurnalmedikahutama.com>
9. Chen X, Ge F, Liu J, Bao S, Chen Y, Li D, et al. Diverged effects of piperine on testicular development: Stimulating leydig cell development but inhibiting spermatogenesis in rats. *Front Pharmacol*. 2018;9(MAR):1–13.
  10. Kesuma DG. PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK LADA HITAM (*Piper nigrum* L) DAN SENG (Zn) TERHADAP MOTILITAS, JUMLAH DAN MORFOLOGI SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN STRAIN WISTAR. 2016;19(5):1–23.
  11. Abdillah R, Permatasari D, Badriyya E, Rachmaini F, Lailaturrahmi. Penuntun Praktikum Farmakologi. Univ Andalas [Internet]. 2020;1–67. Available from: <https://media.neliti.com/media/publications/171148-ID-peran-monosit-makrofag-pada-proses-angio.pdf>
  12. Pongoh AF, Queljoe E De, Rotinsulu H. Uji ANTIDIABETIK EKSTRAK ETANOL BUNGA PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ALOKSAN. *Pharmacon*. 2020;9(1):160.
  13. Wulandari NLWE, Udayani NNW, Dewi NLKAA, Triansyah GAP, Dewi NPEMK, Widiarsiani IAP, et al. Artikel review: pengaruh pemberian induksi aloksan terhadap gula darah tikus. *Indones J Pharm Educ*. 2024;4(3):2775–3670.
  14. PRATAMA RY, PRANITASARI N, PURWANINGSARI D. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas *Rattus Norvegicus* Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Hang Tuah Med J*. 2020;17(2):116.
  15. Reni S, Kanedi M, Nurcahyani N. Histologi Testis Mencit (*Mus musculus* L.) Muda Dan Tua Yang Diberi ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Testicular Histology Of Young And Old Mouse (*Mus musculus* L.) That Were Given Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Extract. 2013;1(2):1–4.
  16. Adelati S, Juniarto A, Miranti I. Histopatologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar Diabetes Melitus. *J Kedokt Diponegoro* [Internet]. 2016;5(4):1760–9. Available from: <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/medico>
  17. Agustinus I, I'tishom R, Pramesti MPB. *Biologi Reproduksi Pria*. Surabaya: Airlangga Universitas Press; 2018. p. 76-81.
  18. Setiawan FE, Winarni TI, Pawitra I. Pengaruh paparan obat nyamuk terhadap gambaran histopatologi sel Leydig tikus *Sprague Dawley*. Semarang: Universitas Diponegoro; 2014.
  19. Arief YS. Stres dapat mengganggu proses spermatogenesis pada mencit. *Jurnal Ners*. 2011;6(2):169-74.
  20. Cilio S, Rienzo M, Villano G, Mirto BF, Giampaglia G, Capone F, et al. Beneficial effects of antioxidants in male infertility management. 2022;1-11.
  21. Onyesihe CO, Ogugua CO, Victor N, Anaduaka EG. Hypoglycemic potentials of ethanol leaves extract of black pepper (*Piper nigrum* L.) on alloxan-induced diabetic rats. 2014.
  22. Kavitha S, Mani P. Anti-bacterial activity of extract of *Piper nigrum* leaf. *Biotechnology: An Indian Journal*. 2017;13(4).
  23. Arjadi F, Susatyo. Regenerasi sel pulau Langerhans pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diberikan rebusan daging mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.). 2007;2(2):118-22.
  24. Fiana N, Oktaria D. Pengaruh kandungan saponin dalam daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap penurunan kadar glukosa darah. *Journal Majority*. 2016;5(4):128.
  25. Prawitasari DS. Diabetes melitus dan antioksidan. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*. 2019;1(1):47-51.
  26. 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.
  27. Hamijoyo L, Suarjana N, Ginting AR, Kurniarti P, dan Rahman P dkk. 2020. *Buku Saku Reumatologi*. Perhimpunan Reumatologi Indonesia.