

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian uji toksisitas subkronik senyawa piperin pada biji lada putih (*Piper nigrum L.*) telah selesai dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian piperin pada mencit Balb/C yang dinilai dari 3 parameter yaitu berat badan, skor ulkus lambung (berdasarkan jumlah ulkus dan keparahan ulkus) serta kerusakan mukosa lambung. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini ialah biji lada putih (*Piper nigrum L.*) yang diperoleh dari daerah gamping. Biji lada putih yang digunakan adalah biji yang sudah tua, kering, berbentuk bulat kecil dan berwarna kecoklatan.



**Gambar 4.** Biji Lada Putih

Langkah awal yang dilakukan untuk memulai penelitian ini adalah melakukan determinasi pada tanaman lada putih yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Determinasi ini bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang akan digunakan adalah tanaman lada putih. Proses determinasi ini dilakukan dengan cara mencocokkan atau membandingkan sifat morfologi dari tanaman lada putih seperti ukuran, bentuk, jumlah bagian daun, buah dll. Hasil determinasi diperoleh bahwa tanaman tersebut adalah *Piper nigrum L.* Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

Setelah determinasi ialah pembuatan serbuk dari biji lada putih. Biji lada putih sebanyak  $\pm 1$  kg ditumbuk dan diperkecil lagi ukurannya dengan blender. Proses ini bertujuan untuk memperluas permukaan bahan karena semakin besar luas permukaan, semakin besar pula kontak antara pelarut dan serbuk biji sehingga senyawa aktif bisa terlarut sempurna. Setelah itu serbuk yang sudah didapat diayak untuk mendapatkan serbuk yang lebih halus. Dari  $\pm 1$  kg biji lada putih, didapatkan 676,18 gram serbuk halus. Serbuk halus inilah yang akan dijadikan bahan untuk mendapatkan ekstrak piperin dengan menggunakan metode ekstraksi sokletasi.

Metode ekstraksi sokletasi adalah metode pemisahan atau penyarian suatu komponen dalam zat padat yang dilakukan secara berulang-ulang menggunakan pelarut tertentu hingga didapatkan komponen yang terisolasi sempurna (Safirudin, 2009). Dikarenakan proses kontinyu (berulang-ulang) ini, pelarut yang digunakan relatif sedikit serta tidak banyak memakan waktu. Pelarut yang digunakan pada

metode ini ialah etil asetat, pelarut yang mudah menguap serta mampu melarutkan senyawa organik. Etil asetat ialah pelarut yang dapat melarutkan zat organik serta bersifat mudah menguap (volatil) (Chien dkk, 2005). Pemilihan pelarut harus disesuaikan dengan zat yang digunakan (prinsip *like dissolved like*). Pelarut akan menguap kembali setelah proses penyarian selesai dan sisanya ialah zat yang terekstrak atau tersaring. Pelarut yang menguap tersebut masih bisa digunakan kembali setelah hasil isolasi dipisahkan. Namun ada beberapa kerugian dari metode ini yakni tidak cocok untuk mengekstraksi senyawa yang tidak tahan panas (besifat termolabil sehingga senyawa akan mudah terdegradasi).

Sokletasi serbuk lada putih dilakukan dengan perbandingan pelarut dan serbuk lada putih sebanyak 3:1 (300 ml etil asetat : 100 mg serbuk lada putih). Proses ini dilakukan selama  $\pm$  3-5 jam hingga tetesan siklus dalam alat soklet tidak berwarna lagi. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70°C dengan kecepatan 90 rpm. Tujuan dilakukannya evaporasi adalah untuk memisahkan antara pelarut dan senyawa aktif lada putih serta mendapatkan ekstrak piperin yang lebih pekat dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan Depkes RI tahun 2000 bahwa proses pemekatan ini yakni meningkatkan senyawa terlarut dengan cara menguapkan pelarut hingga pekat atau kental (tidak sampai kering). Dari serangkaian proses tersebut, didapatkan ekstrak kental piperin.

Ekstrak kental piperin yang diperoleh dari proses evaporasi didiamkan selama  $\pm$ 7 hari hingga terbentuk kristal piperin berwarna putih kekuningan. Setelah kristal piperin ini terbentuk, dilakukan pencucian pada kristal

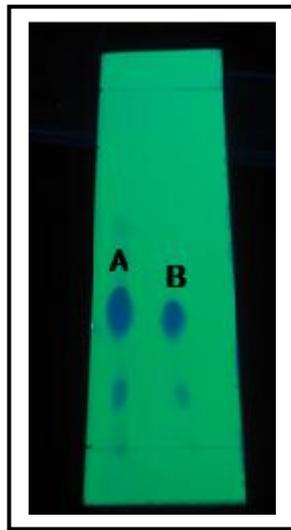
menggunakan etanol 96% hingga diperoleh kristal berwarna kuning. Tujuan pencucian kristal ini adalah untuk menghilangkan zat-zat pengotor yang terdapat pada permukaan kristal. Pencucian ini dilakukan 3 kali dengan 20 ml etanol 96%. Kristal piperin yang didapatkan sebanyak 15,1226 gram yang kemudian dihitung rendemennya dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Rendemen} : \frac{\text{bobot piperin yang didapat}}{\text{bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Hasil penghitungan didapatkan rendemen sebesar 2,23%. Besar kecilnya persentase rendemen ekstrak menunjukkan banyaknya zat yang terekstraksi (keefektifan proses ekstraksi).

Kristal piperin yang sudah didiamkan (diisolasi) kemudian diidentifikasi untuk membuktikan keberadaan piperin dalam kristal tersebut. Identifikasi dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Prinsip KLT pada umumnya adalah proses perpindahan molekul-molekul komponen atau analit pada fase diam yang dipengaruhi oleh fase gerak yang sering disebut dengan proses elusi. Fase diam memiliki fungsi yakni sebagai lapisan zat cair, penjerap atau penyangga. Fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel. Fase diam yang umumnya sering digunakan ialah selulosa dan turunannya, silika gel (fase gerak yang digunakan pada penelitian ini) atau alumina, poliamida dan sebagainya. Fase gerak atau eluen memiliki peran penting dalam proses elusi agar senyawa atau zat yang akan dipisahkan dapat bergerak melewati fase diamnya. Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah toluene : etil asetat (7:3).

Fase gerak yang biasanya digunakan berupa pelarut organik ataupun campuran pelarut yang dibedakan berdasarkan tingkat polaritasnya. Untuk mengidentifikasi piperin, dapat dilakukan dengan penentuan harga Rf (*Retardation factor*). Nilai Rf yang baik berkisar antara 0,2 - 0,8. Hasil identifikasi KLT pada piperin ini didapatkan nilai Rf yakni sebesar 0,35 dan Rf standarnya yaitu 0,4. Nilai Rf tersebut masih masuk dalam rentang yang sudah ditetapkan.



**Gambar 5.** Hasil identifikasi piperin dengan KLT (A = standar piperin; B = piperin yang diuji)

Uji toksisitas subkronik dilakukan untuk mengetahui efek toksis suatu senyawa dengan pemberian dosis berulang (peroral) setiap harinya. Beberapa peneliti melakukan uji ini dengan rentang waktu yaitu 14 hingga 28 hari. Penelitian uji toksisitas subkronik piperin ini dilakukan selama 21 hari pada 30 ekor mencit Balb/C (subjek uji). Mencit bergalur Balb/C yang digunakan berusia 2 hingga 3 bulan serta berjenis kelamin jantan. Mencit dikatakan dewasa ketika usianya sudah memasuki 35 hari (Mangkoewidjojo dkk, 1988) sehingga harapannya fungsi organ mencit sudah baik. Berat badan mencit yang digunakan dalam penelitian ini berkisar antara 35 hingga 45 gram. Seperti halnya yang

dikatakan oleh Mankoewidjojo (1988), bahwa berat badan mencit jantan yang dikatakan dewasa berkisar antara 20 hingga 40 gram.

Menurut tabel kekerabatan waktu antara pemberian senyawa pada hewan uji dengan kesetaraan waktu pada manusia (Benitz, 1970), jika dilakukan pengujian selama 1 bulan pada tikus berarti setara dengan 34 bulan pada manusia. Pada penelitian ini, hewan uji yang digunakan adalah mencit, namun dalam tabel tersebut tidak disebutkan konversi waktu untuk hewan mencit. Mencit dan tikus memiliki kemiripan dalam sistem (seperti sistem organ) maupun dalam hal siklus reproduksi (Akbar, 2010). Jika mengacu pada konversi waktu tikus, didapatkan bahwa selama 21 hari pengujian pada mencit setara dengan  $\pm 23,8$  bulan atau  $\pm 714$  hari.

**Tabel 4.** Kekerabatan waktu antara pemberian senyawa pada hewan uji dengan kesetaraan waktu pada manusia (Benitz, 1970)

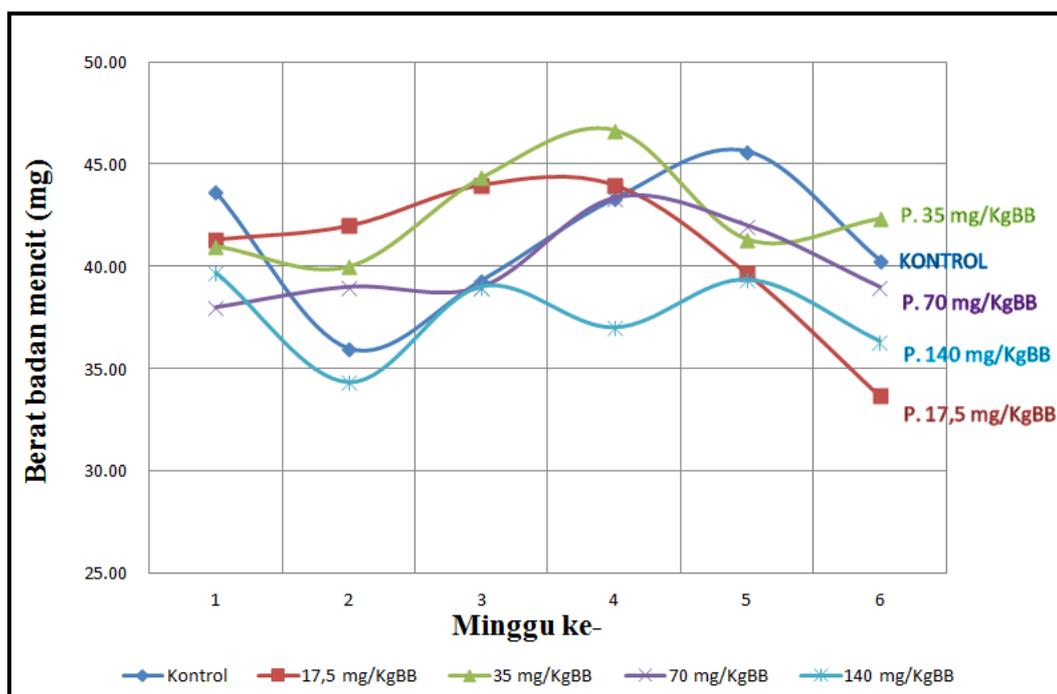
Lama uji (bulan)	Tikus		Kelinci		Anjing		Kera	
	Masa hidup %	Setara manusia (bulan)						
1	4,1	34	1,5	12	0,82	6,5	0,55	4,5
2	8,2	67	3,0	24	1,6	14	1,1	9
3	12	101	4,5	36	2,5	20	1,6	13
6	25	202	9,0	72	4,9	40	3,3	27
12	49	404	18	145	9,8	81	6,6	53
24	99	808	36	289	20	162	13	107

Hewan uji ini terbagi menjadi 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan jumlah mencit perkelompoknya yakni 6 ekor. Kelompok perlakuan terbagi menjadi 4 dosis yaitu dosis 17,5 mg/KgBB, 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB dan 140 mg/KgBB. Penentuan dosis dihitung berdasarkan penelitian sebelumnya yakni uji toksisitas subkronik piperin selama 7 hari menunjukkan bahwa pada dosis 100 mg/KgBB piperin terbukti tidak toksik. Perlakuan dilakukan secara peroral menggunakan sonde dan spuit. Dosis maksimal yang diberikan yaitu 1 ml. Keempat dosis pada kelompok perlakuan kemudian dikonversi ke dalam dosis manusia dengan perhitungan yang terdapat dalam Lampiran 3.

Larutan uji yang digunakan pada kelompok perlakuan ialah piperin yang dilarutkan dalam *corn oil* (minyak jagung) sedangkan kelompok kontrol hanya diberikan *corn oil*. Digunakan minyak jagung karena dalam *Corn Oil Profile* menyebutkan bahwa minyak jagung adalah salah satu pelarut atau pembawa yang sering digunakan dalam penelitian toksikologi. *Corn oil* juga terbukti meningkatkan berat badan tikus serta kenaikan tingkat kelangsungan hidup ketika digunakan sebagai pelarut atau kontrol (Baker, 2018). Dalam *Hazardous Substances Data Bank* (2015) juga menyebutkan bahwa *corn oil* sangat mudah dicerna serta dapat dimetabolisme sebagai energi maupun disimpan sebagai energi pada lemak adiposa. Selain itu juga dikatakan bahwa *corn oil* ketika diberikan ke tikus, hanya menyisakan < 5% dalam kurun waktu 24 jam. Mengenai keamanan *corn oil*, telah disebutkan juga dalam *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (Edisi 6) bahwa *corn oil* relatif tidak toksik dan tidak menimbulkan iritasi jika

dikonsumsi. *Corn oil* juga bukanlah suatu zat yang karsinogenik (IARC, 2014 ; WHO, 2014) dan tidak bersifat mutagenik (HSDB, 2015).

Pengamatan yang dilakukan pada uji toksisitas subkronik ini ialah data berat badan mencit yang ditimbang seminggu sekali, skor ulkus lambung (makroskopis) serta pengamatan histologi lambung mencit dengan melakukan skoring desintegrasi mukosa ulkus (mikroskopis).



**Gambar 6.** Grafik rata-rata berat badan mencit selama 3 minggu (21 hari)

Grafik tersebut didapatkan dari rata-rata berat badan tiap mencit pada masing-masing perlakuan yang diamati seminggu sekali. Hasil grafik menunjukkan semua kelompok perlakuan dan kelompok kontrol mengalami penurunan berat badan. Pada minggu pertama dan kedua, grafik kelompok P.17,5 mg/KgBB masih stabil. Namun ketika memasuki minggu terakhir, terjadi penurunan. Kelompok P. 35 mg/KgBB dan P. 70 mg/KgBB pada minggu kedua mengalami kenaikan dan penurunan pada minggu ketiga. Grafik kelompok P. 140

mg/KgBB mengalami naik turun (tidak stabil) yakni minggu pertama mengalami penurunan, memasuki minggu kedua grafik mulai naik namun ketika memasuki minggu ketiga, grafik mengalami penurunan. Pertumbuhan berat badan mencit juga di analisis menggunakan program analisis statistik yakni SPSS. Uji statistik yang digunakan ialah uji *One Way ANOVA* karena untuk mengetahui beda signifikan atau tidak pada tiap kelompok. Dari hasil uji didapatkan nilai signifikansi 0,071 atau  $p > 0,05$  yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan (bermakna) dari rata-rata berat badan mencit di setiap kelompok walaupun pada grafik semua kelompok mengalami penurunan berat badan. Hasil uji statistik ini dapat diketahui melalui Lampiran 4.

**Tabel 5.** Jumlah kematian mencit pada setiap kelompok

<u>Hari ke-</u>	<u>Jumlah mencit yang mati</u>				
	<u>Kontrol</u>	<u>P 17,5</u>	<u>P 35</u>	<u>P70</u>	<u>P140</u>
1	6	0	0	0	0
2	6	0	0	0	0
3	6	0	0	0	0
4	6	0	0	0	0
5	6	0	0	0	0
6	6	0	0	1	1
7	6	0	0	1	1
8	6	0	0	1	1
9	6	0	0	1	1
10	6	0	0	1	1
11	6	0	0	1	1
12	6	0	0	1	1
13	6	0	0	1	1
14	6	0	0	1	1
15	6	0	0	2	1
16	6	0	0	2	1
17	6	0	0	2	1
18	6	0	0	2	1
19	6	0	0	2	1
20	6	0	0	2	1
21	6	0	1	2	1
<u>Presentase Kematian (%)</u>		<b>0%</b>	<b>16.67%</b>	<b>33.33%</b>	<b>16.67%</b>

Dari tabel 5 menunjukkan selama 21 hari perlakuan, dari total 30 ekor mencit terdapat empat ekor mencit yang mati. Kematian mencit yang pertama terjadi dihari keenam pada dosis 140 mg/KgBB kemudian dosis 70 mg/KgBB selang beberapa jam kemudian. Selanjutnya mencit ketiga mati di hari ke-15 pada dosis 70 mg/KgBB serta mencit terakhir mati dihari terakhir perlakuan pada dosis 35 mg/KgBB. Dari data diatas didapatkan bahwa kematian mencit dimulai dari dosis tertinggi (140 mg/KgBB) hingga dosis rendah (35 mg/KgBB). Dosis terendah pada kelompok perlakuan (17,5 mg/KgBB) menunjukkan tidak satupun mencit mengalami kematian. Kematian mencit-mencit tersebut rata-rata ditandai dengan pergerakannya yang melemah dan gangguan penglihatan yakni mata yang lebih sipit daripada saat sebelum perlakuan (tidak terlalu terbuka). Satu diantara mencit yang mati juga mengalami gangguan lain seperti kejang-kejang beberapa saat sebelum mati yakni mencit dengan pemberian dosis 70 mg/KgBB. Terjadinya perbedaan respon ataupun efek pada mencit tersebut bukan hanya dikarenakan pemberian dosis yang berbeda namun ada faktor lain yang menyertainya. Setiap individu mencit memiliki perbedaan fisiologi maupun morfologi. Hal itulah yang menyebabkan perbedaan respon ataupun efek pada mencit

Pembedahan pada hewan uji dilakukan untuk diamati organ lambungnya baik secara mikroskopis maupun makroskopis. Pembedahan seluruh hewan uji dilakukan pada hari ke 22. Sebelum pembedahan, dilakukan eutanasia kimia dengan menggunakan kloroform (secara inhalasi). Pembedahan dilakukan menggunakan 1 set alat bedah dan selanjutnya organ lambung mencit diambil. Lambung dicuci dengan NaCl 0,9% secara berulang sebelum dilakukan fiksasi.

Organ lambung difiksasi menggunakan menggunakan formalin 10%. Fiksasi dilakukan guna mengawetkan protoplasma agar struktur jaringan tetap terjaga (stabil) yakni tidak mengalami perubahan (Pechkam, 2014 cit Indrawati, 2017). Formalin 10% dapat berikatan dengan beberapa protein lalu membentuk ikatan silang, mendenaturasi protein-protein lain serta mencegah terjadinya degradasi dengan menginaktivasi enzim (Pechkam, 2014 cit Indrawati, 2017).

Preparasi histologi (mempersiapkan preparat histologi) dilakukan setelah proses fiksasi. Proses ini dimulai dari *trimming* (pemotongan ukuran kecil), dehidrasi, *clearing* (penjernihan), *embedding* atau infiltrasi paraffin, *blocking* hingga pewarnaan serta perekatan. Pada tahap pewarnaan, metode yang digunakan ialah metode Hematoksilin & Eosin (HE). Pewarnaan dilakukan untuk membedakan antara sel jaringan satu dengan yang lain serta memperjelas dan mempertajam preparat agar bisa diamati dibawah mikroskop. (Waheed, 2012 cit Indrawati, 2017). Pewarnaan HE ini berfungsi untuk membedakan komponen-komponen sel dari suatu jaringan serta morfologi dari organ hewan uji. Hematoksilin adalah zat yang bersifat basa, berwarna biru tua sedangkan eosin bersifat basa, berwarna kemerahan. Prinsipnya ialah inti sel pada jaringan yang bersifat asam akan menarik larutan atau zat yang bersifat basa sehingga terbentuk warna biru. Sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan menarik larutan atau zat yang bersifat asam sehingga terbentuk warna merah.

Pengamatan lambung mencit secara makroskopis dilakukan dengan melakukan penilaian atau skoring terhadap jumlah ulkus dan keparahan ulkus (Bancroft & Cook, 1984). Keadaan-keadaan ulkus lambung yang terjadi seperti

muncul kemerahan (skor 1,5), terdapat bintik perdarahan (skor 2), adanya ulkus dengan jumlah dan panjang tertentu (skor 3 sampai 5) hingga timbul perforasi (skor 6). Skor 1 hingga 6 tersebut sudah menunjukkan perbedaan secara klinis. Data skoring di analisis dengan SPSS menggunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji statistik skor ulkus dapat dilihat pada Lampiran 4 dan data skoring ulkus pada Lampiran 7.

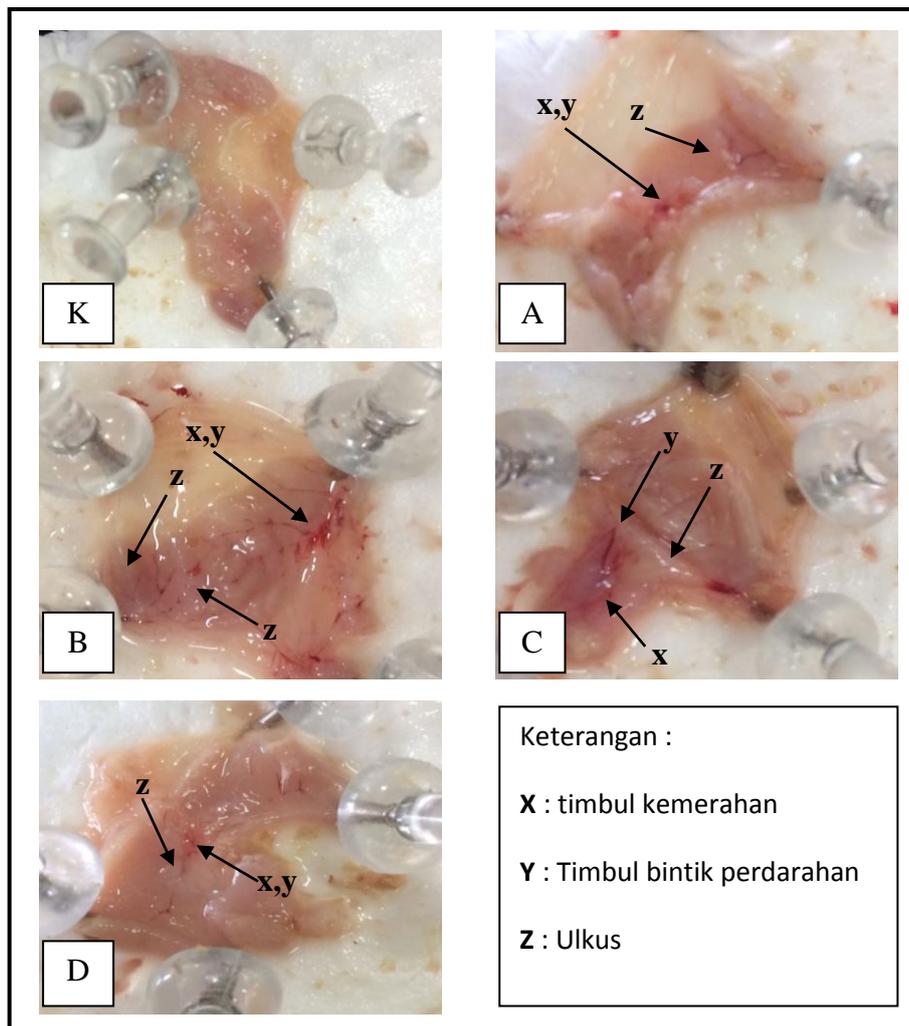
Dari hasil analisis statistik *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi untuk parameter jumlah ulkus yakni 0,007 ( $p < 0,05$ ) dan parameter keparahan ulkus 0,006 ( $p < 0,05$ ). Nilai signifikansi ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil yang signifikan ataupun bermakna. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan pada kedua parameter tersebut, antara kelompok kontrol dengan perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan. Kelompok perlakuan dosis P.17,5, P.35, P.70 dan P.140 menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok. Pada semua dosis perlakuan piperin pada penelitian ini dari mulai dosis terendah hingga tertinggi sama-sama menyebabkan timbulnya ulkus ataupun perdarahan pada lambung mencit.

**Tabel 6.** Rata-rata dan standard error jumlah ulkus serta keparahan ulkus

No	Kelompok	Jumlah Ulkus	Keparahan Ulkus
1	Kontrol	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
2	P. 17,5	4,25 ± 1,06 <sup>b</sup>	2,41 ± 0,49 <sup>b</sup>
3	P. 35	5,83 ± 0,67 <sup>b</sup>	3,33 ± 0,16 <sup>b</sup>
4	P. 70	4,91 ± 1,01 <sup>b</sup>	2,91 ± 0,41 <sup>b</sup>
5	P. 140	4,75 ± 1,10 <sup>b</sup>	2,75 ± 0,47 <sup>b</sup>

Keterangan : Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Dari kedua parameter tersebut didapatkan hampir semua mencit pada keempat dosis perlakuan mengalami ulkus serta bintik kemerahan pada lambungnya namun tidak sampai timbul perforasi. Hasil pengamatan ulkus secara makroskopis dapat dilihat pada Gambar 7.



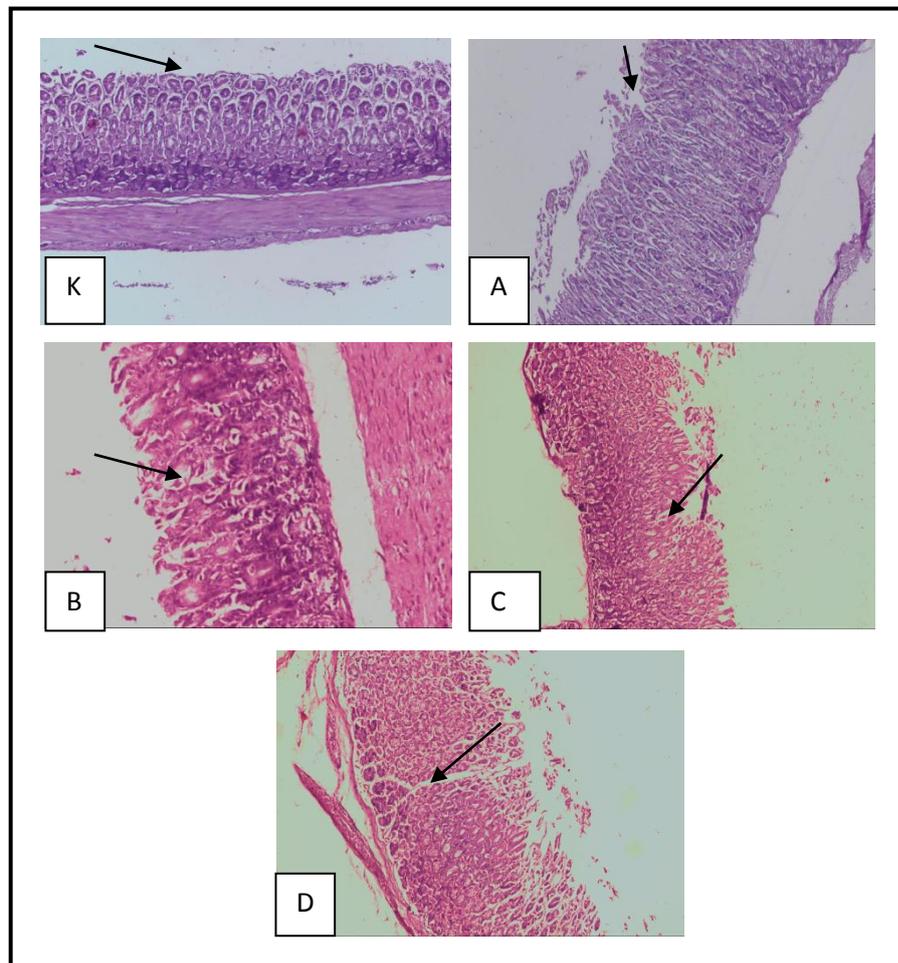
**Gambar 7.** Gambaran makroskopis ulkus lambung mencit balb/c (**K**= Kontrol ; **A**= P.17,5 ; **B**= P.35 ; **C**= P.70 ; **D**= P.140)

Ada dua faktor yang menyebabkan pertahanan lambung diserang dengan mudah sehingga mengakibatkan kerusakan yakni faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen berasal dari substansi dalam lambung itu sendiri seperti asam hidroklorida (HCl), enzim pepsin maupun garam empedu. Faktor eksogen muncul salah satunya disebabkan oleh adanya senyawa kimia atau obat. Penyebab terbentuknya ulkus lambung yakni terjadi ketidakseimbangan antara faktor protektif dan destruktif. Adanya ulkus bisa jadi disebabkan karena faktor destruktif (agresif) yang meningkat ataupun faktor protektif yang menurun. Faktor protektif yang sangat berperan pada lambung ialah pertahanan mukosa lambung (mucus bikarbonat, prostaglandin dll).

Terdapat tiga tingkatan sawar pada sistem pertahanan lambung yakni preepitel, epitel dan subepitel.. Ketika piperin ini masuk ke dalam tubuh, pertahanan lambung secara tidak langsung teraktivasi dengan mengeluarkan mukus bikarbonat. Mukus bikarbonat berfungsi sebagai sistem pertahanan utama pada dinding untuk mencegah kerusakan. Namun ketika sistem pertahanan ini menurun, mukosa lambung menjadi rapuh atau sensitif sehingga akan dirusak oleh asam lambung. Hal inilah yang menginduksi terjadinya ulkus. Schmitz (2008) mengatakan bahwa jika terjadi perubahan proses ataupun mekanisme kerja pada salah satu sawar dapat membawa ke keadaan kerusakan salah satunya pembentukan ulkus. Mukus bikarbonat ialah lini pertama pada sawar dan terletak pada tingkatan sawar preepitel.

Perbedaan tingkat keparahan ulkus serta jumlah ulkus yang terjadi disebabkan karena pemberian dosis yang berbeda-beda. Disamping itu, terjadinya variasi hasil skoring disebabkan karena respon mencit yang berbeda-beda tiap individunya. Terjadinya perdarahan serta timbul ulkus (meskipun tidak terlalu banyak) ini bisa jadi disebabkan karena senyawa kimia (piperin) yang diberikan (faktor eksogen). Berdasarkan MSDS tentang piperin (revisi terbaru tahun 2019) mengatakan bahwa piperin dapat mengiritasi membrane mukosa serta saluran pernafasan atas.

Pengamatan lambung secara mikroskopis (histologi) dilakukan dengan melakukan skoring terhadap integritas kerusakan mukosa lambung. Keadaan ulserasi adalah keadaan terparah pada skoring integritas mukosa ini. Ulserasi epitel ditandai dengan kerusakan yang terjadi hampir atau bahkan pada seluruh tebal mukosa (skor 3). Erosi epitel ditandai dengan terjadinya kerusakan pada separuh atau sebagian dari tebal mukosa (skor 2) sedangkan deskuamasi celah kerusakan yang terjadi hingga sepertiga tebal mukosa (skor 1). Skor 1 hingga 3 tersebut sudah menunjukkan perbedaan secara klinis. Data skoring integritas kerusakan mukosa dapat dilihat pada Lampiran 6. Contoh kerusakan integritas mukosa yang diberi perlakuan dosis piperin serta hasil pengamatan mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Gambaran mikroskopis mukosa lambung mencit Balb/C (**K (Kontrol)** Mukosa normal (skor 0) ; **A (P.17,5)** Deskuamasi epitel (skor 1) ; **B (P.35)** Erosi epitel (skor 2) ; **C (P.70)** Erosi epitel (skor 2) ; **D (P.140)** Ulserasi epitel (skor 3)

Hasil skoring kerusakan integritas mukosa lambung dianalisis statistik dengan SPSS menggunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Dari hasil statistik didapatkan nilai signifikansi 0,000 ( $P < 0,05$ ) yang menandakan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada kelima kelompok perlakuan.

**Tabel 7.** Rerata dan Standard error skor kerusakan integritas mukosa

No	Kelompok	Kerusakan mukosa
1	Kontrol	$0,46 \pm 0,13^a$
2	P. 17,5	$1,03 \pm 0,09^b$
3	P. 35	$1,23 \pm 0,21^b$
4	P. 70	$1,53 \pm 0,22^b$
5	P. 140	$2,53 \pm 0,17^c$

Keterangan : Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Hasil uji statistik *Mann-Whitney* menunjukkan antara kelompok kontrol dengan perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan. Kelompok P.17,5 , P.35 dan P.70 menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Namun ketika ketiga dosis perlakuan tersebut dibandingkan dengan dosis tertinggi yakni P.140, menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Skoring pada dosis P.140 memang menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari kelompok lain.

Mukosa lambung sangat rawan sekali dengan kerusakan. Ketika pertahanan lambung menurun, maka mukosa dapat dengan mudah dirusak oleh asam-asam yang ada di lambung. Kerusakan mukosa lambung yang terjadi dapat mengakibatkan beberapa keadaan pada epitel lambung seperti deskuamasi, ulserasi dan erosi. Deskuamasi termasuk dalam kerusakan ringan, erosi kerusakan sedang serta terjadinya ulserasi termasuk kerusakan yang berat. Deskuamasi terjadi sebagai respon terjadinya iritasi lambung yang ditandai dengan adanya pengelupasan atau pelepasan mukosa pada lambung. Terjadinya deskuamasi ini bisa jadi dikarenakan karena beberapa faktor seperti kondisi kandang yang kurang ideal, pemberian pakan yang tidak sesuai standar, faktor stres mencit dan lain

sebagainya. Selain itu bisa jadi disebabkan karena mencit sebelumnya sudah mengalami gangguan lambung seperti traktur gastrointestinal. Erosi dan ulserasi terjadi dikarenakan ketidakseimbangan antara faktor proteksi dan agresif dari lambung. Erosi hanya terjadi di bagian epitel mukosa namun ulserasi terjadi pada bagian yang lebih dalam dibandingkan erosi bahkan hingga menembus submukosa atau bagian yang lebih dalam. Integritas permukaan mukosa berperan penting sebagai pertahanan lambung dari terjadinya erosi dan ulserasi.

Erosi dan ulserasi lambung mencit balb/c yang rata-rata terjadi pada dosis 70 mg/KgBB dan 140 mg/KgBB menandakan bahwa lambung tidak mampu menyeimbangkan faktor proteksi dan faktor agresifnya. Perbedaan variasi skor bisa jadi disebabkan karena respon individual mencit dalam mengatasi terjadinya deskuamasi, erosi serta ulserasi. Secara keseluruhan, hasil pengamatan ulkus serta histologi lambung mencit balb/c dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut antara lain berasal dari bahan uji (piperin), hewan uji serta pelaksanaan uji. Faktor bahan uji, yakni piperin, yang dapat mempengaruhi ialah sifat fisikokimia dari piperin, kemurnian piperin dan dosis piperin. Sifat fisikokimia berhubungan pada kemampuan piperin dalam menghasilkan efek pada lambung. Dosis piperin jelas berpengaruh terhadap munculnya efek pada mencit meskipun volume uji yang diberikan tidak melebihi standar yang ditetapkan. Kelebihan atau kurang dosis saat penyondean juga dapat mempengaruhi hasil. Faktor hewan uji yang berpengaruh seperti berat badan, status kesehatan serta jenis kelamin. Berat badan yang berbeda berhubungan pada status kesehatan mencit. Status kesehatan mencit adalah hal penting yang harus diperhatikan. Namun status kesehatan ini

bisa terganggu karena beberapa hal seperti pakan yang diberikan, kondisi tempat tinggal serta cara pemeliharaan mencit itu sendiri. Terakhir adalah faktor pelaksanaan uji yakni cara penyondean piperin ke mencit yang kurang tepat atau ideal.