

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Populasi dan Sampel**

#### **1. Populasi**

Tanaman bunga angšana (*Pterocarpus indicus* Willd) merupakan populasi yang digunakan dalam penelitian ini, yang dikumpulkan dari lokasi Tawangmangu, Karanganyar, Provinsi Jawa Tengah.

#### **2. Sampel**

Sampel penelitian ini terdiri dari bunga angšana (*Pterocarpus indicus* Willd) yang dikumpulkan dari Tawangmangan, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan metode pengambilan sampel acak. Sampel dikumpulkan dengan kriteria yang ketat untuk memastikan validitas hasil, yang meliputi kebersihan, kesegaran, dan bebas dari kerusakan atau pembusukan.

### **B. Variable Penelitian**

#### **1. Identifikasi variabel utama**

Penelitian ini memiliki empat variabel utama yang saling terkait. Variabel independen adalah ekstrak etanol bunga angšana (*Pterocarpus indicus* Willd).

Variabel dependen primer adalah penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*)

Variabel dependen sekunder adalah perbaikan profil histopatologi sel pankreas atau penurunan persentase nekrosis pada sel beta pankreas tikus.

Variabel kontrol mencakup faktor-faktor *intern* dan *ekstern* seperti kondisi peneliti, laboratorium dan karakteristik hewan uji.

#### **2. Klasifikasi variabel utama**

Penelitian ini memiliki tiga kategori variabel utama yang menjadi fokus penelitian, yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas merupakan faktor yang dimanipulasi secara sengaja untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Dosis ekstrak etanol bunga angšana (*Pterocarpus indicus* Willd) yang diberikan secara oral kepada hewan uji merupakan contoh variabel bebas.

Variabel tergantung merupakan hasil utama penelitian yang diukur sebagai akibat dari manipulasi variabel bebas, yaitu penurunan kadar glukosa darah dan perbaikan profil histopatologi sel pankreas pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Variabel terkendali mencakup beberapa faktor yang dapat mempengaruhi variabel tergantung, seperti peran peneliti, kondisi laboratorium, kondisi percobaan, berat badan tikus, galur tikus, usia tikus, jenis kelamin tikus, dan zat penginduksi diabetes.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, bunga angkana adalah bunga berwarna kuning dari tanaman angkana (*Pterocarpus indicus* Willd), yang tumbuh di Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk bunga angkana merupakan hasil pengeringan, penggilingan dan pengayakan bunga angkana.

Ketiga, ekstrak etanol kental bunga angkana diperoleh dengan metode maserasi dengan larutan penyari etanol 96%, yang selanjutnya dievaporasi pada suhu 50°C dengan *rotary evaporator*.

Keempat, tikus hiperglikemia adalah tikus putih dengan jenis kelamin jantan yang memiliki kesehatan fisik berumur 2-3 bulan dan berat badan 180-200 gram, yang kemudian diinduksi aloksan monohidrat dosis 150 mg/kgBB.

Kelima, induksi aloksan ialah proses pemberian aloksan melalui injeksi intraperitoneal pada tikus, diikuti dengan pengukuran kadar glukosa darah.

Keenam, tikus dinyatakan hiperglikemia apabila terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang signifikan setelah diinduksi aloksan.

Ketujuh, histopatologi organ pankreas adalah pengamatan struktur mikroskopis pankreas menggunakan teknik pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE), untuk mengevaluasi perubahan pada pankreas tikus dengan diabetes sebelum dan setelah diberikan ekstrak bunga angkana.

Kedelapan, nekrosis: kematian sel/jaringan akibat degenerasi reversibel, dengan tiga bentuk: piknotik, karioreksis, dan kariolisis.

Kesembilan, piknotik: mengecilnya inti sel dengan warna gelap dan sitoplasma merah.

Kesepuluh, karioreksis: sel mengecil dengan kontur ireguler dan fragmentasi inti.

Kesebelas, kariolisis adalah menghilangnya inti sel.

Keduabelas, dosis efektif ialah dosis terkecil dari ekstrak etanol bunga angšana yang memiliki aktivitas antihiperqlikemia yakni dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menurunkan persentase kerusakan sel pankreas yang setara atau hampir mendekati dengan kontrol positif.

Ketigabelas, glibenklamid adalah obat hipoglemikemik oral golongan sulfonilurea yang berikan dengan dosis 5 mg/70 kgBB secara oral.

### C. Bahan, Alat dan Hewan Uji

#### 1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah bunga angšana, etanol 96%, kain flannel, kertas saring, aloksan dosis 150 mg/kg BB tikus, glibenklamid, CMC-Na dan larutan NaCl 0,9%. Pengamatan histopatologi, digunakan bahan kimia seperti formalin PA, formaldehid, larutan pewarna *Hematoxylin Eosin*, alkohol, etanol, dan *xylene*. Bahan untuk pengukuran glukosa darah dalam sampel serum dan plasma EDTA, digunakan reagen GOD-PAP dengan buffer dan satu set reagen untuk pengukuran glukosa.

#### 2. Alat

Penelitian ini memerlukan berbagai peralatan. Alat yang digunakan untuk pembuatan simplisia, digunakan pisau, oven, mesin penggiling dan ayakan mesh 40. Proses penyarian menggunakan botol coklat, batang pengaduk, peralatan gelas, kain flannel, kertas saring, labu takar, Beaker gelas, Erlenmeyer, gelas ukur, *rotary evaporator* dan timbangan digital.

Pengukuran susut pengeringan dilakukan dengan *moisture balance*. Pembuatan larutan stok glibenklamid dan ekstrak bunga angšana memerlukan Beaker gelas, gelas ukur, labu takar, botol putih, aluminium foil, batang pengaduk, mortar, stamfer dan timbangan digital. Kendang, timbangan dan spuit oral merupakan alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji.

Instrument fotometer, mikro pipet, spuit 3 ml, tabung reaksi, *sentrifuge*, rak tabung reaksi, tip kuning dan biru, *waterbath/inkubator*, *timer*, kapas alkohol dan tisu serangkaian alat yang digunakan untuk pengukuran kada gglukosa darah tikus. Rangkaian alat bedah, mikrotom putar, *object glass*, *deck glass* dan mikroskop cahaya Olimphus CH20 merupakan alat untuk pembuatan preparate histopatologi.

### 3. Hewan uji

Penelitian ini menggunakan tikus putus jantan galur Wistar sebagai subjek penelitian. Tikus tersebut memiliki rentang usia 2-3 bulan dengan berat badan ideal yang berkisar antara 180-200 gram. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Eksperimental Universitas Setia Budi Surakarta.

## D. Alur Penelitian

### 1. Pembuatan *ethical clearance*

Pembuatan *ethical clearance* (EC) dilakukan di RSUD Dr. Moewardi, Surakarta. Hal pertama yang dilakukan adalah mengisi formulir pendaftaran online. Mendatangi kantor forensik dan medicolegal RSUD Dr. Moewardi dengan menyerahkan bukti pendaftaran dan form yang telah diisi secara online, serta membawa proposal yang telah ditandatangani pembimbing. Melakukan pembayaran. EC akan diproses terlebih dahulu selama 14 hari. Pengambilan EC harus dilakukan secara mandiri disertai dengan bukti pengajuan yang telah ditandatangani oleh petugas.

### 2. Determinasi tanaman angsana

Determinasi tanaman yaitu menetapkan dan memastikan jenis tanaman dan kebenaran tanaman angsana yang digunakan dalam penelitian ini. Determinasi tanaman angsana dilakukan di laboratorium B2P2TOOT di Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, karakteristik dan morfologi tanaman angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) yang akan diteliti digunakan untuk menentukan hasil.

### 3. Pengumpulan, pengeringan, dan pembuatan serbuk

Bunga angsana yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Provinsi Jawa Tengah. Untuk memastikan kualitas, bunga angsana dipilih dalam keadaan bersih, segar, dan bebas dari kerusakan. Selanjutnya, bunga angsana dikeringkan di bawah sinar matahari selama 5-7 hari dengan penutup kain hitam. Setelah itu, bunga angsana dihaluskan menggunakan mesin penggiling dan diayak dengan ayakan mesh 40 untuk memperoleh serbuk bunga angsana yang seragam dan sesuai dengan kebutuhan penelitian.

#### **4. Penetapan susut pengeringan serbuk bunga angsana**

Penentuan kadar air serbuk bunga angsana dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Sebanyak  $\pm 2$  gram serbuk bunga angsana ditimbang dan ditempatkan dalam wadah yang sesuai. Suhu pengukuran diatur pada  $105^{\circ}\text{C}$  hingga proses pemanasan selesai. Hasil pengukuran kadar air dicatat dalam satuan persen (%) berdasarkan bobot awal serbuk. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali untuk memastikan akurasi dan reliabilitas data. Kriteria mutu yang digunakan sebagai acuan adalah kadar air maksimum 10% sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh Departemen Kesehatan pada tahun 2010.

#### **5. Pembuatan ekstrak etanol daun angsana**

Pembuatan ekstrak etanol bunga angsana dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Perbandingan antara serbuk bunga angsana dan etanol 96% yang digunakan adalah 1:10. Sebanyak 800 gram serbuk bunga angsana direndam dalam 8000 ml etanol 96% selama lima hari dalam botol berwarna coklat yang terlindung dari cahaya. Selama proses perendaman, campuran tersebut diaduk secara berkala. Setelah proses perendaman selesai, campuran tersebut disaring menggunakan kain flanel dan kertas saring. Proses penyarian diulangi dengan menambahkan 4000 ml etanol 96% pada ampas yang dihasilkan. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$ , sehingga dihasilkan ekstrak kental etanol bunga angsana. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat ekstrak dengan berat serbuk simplisia awal, sesuai dengan pedoman yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia (FHI, 2017).

#### **6. Penetapan kadar air ekstrak etanol bunga angsana**

Penentuan kadar air pada simplisia memiliki tujuan ganda, yaitu untuk menentukan jumlah air maksimal yang terkandung dan untuk menilai kemurnian serta keberadaan kontaminan. Metode gravimetri digunakan sebagai acuan dalam penentuan kadar air. Prosesnya dimulai dengan menimbang 10 gram sampel secara akurat dan meletakkannya dalam wadah yang telah ditimbang sebelumnya. Kemudian, sampel dikeringkan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama lima jam dan ditimbang kembali untuk mengetahui perubahan berat. Proses pengeringan dilanjutkan dengan penimbangan setiap jam sampai diperoleh perbedaan berat yang kurang dari 0,0005 gram antara dua penimbangan berturut-turut, yang menandakan bahwa kadar air telah stabil.

## 7. Uji bebas etanol

Untuk menguji keberadaan etanol bebas, 0,5 g ekstrak dicampur dengan 2 mL asam asetat dan 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, kemudian dipanaskan. Reaksi positif ditandai dengan hilangnya bau ester wangi, menunjukkan bahwa proses esterifikasi telah lengkap. Sebaliknya, keberlangsungan bau ester menandakan adanya sisa etanol yang belum mengalami esterifikasi (Scroorl, 1998).

## 8. Analisis skrining fitokimia

### 8.1 Identifikasi flavonoid menggunakan tabung reaksi.

Untuk mengidentifikasi kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol bunga angkana, dilakukan uji kimia. Ekstrak seberat 10 gram dilarutkan dalam 100 ml aquadest panas, dipanaskan selama lima menit, lalu disaring. Filtrat sebanyak 5 ml kemudian dicampur dengan 0,1 gram serbuk Mg, 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol. Campuran tersebut dikocok dan dibiarkan memisah. Reaksi positif flavonoid ditandai dengan munculnya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, menurut metode (Marjoni dan Saifuddin, 2022).

### 8.2 Identifikasi alkaloid menggunakan tabung reaksi. Uji

alkaloid dilakukan pada ekstrak bunga angkana. Dua gram ekstrak dilarutkan dalam aquadest, didihkan selama lima menit, lalu disaring. Filtrat dibagi menjadi dua tabung (masing-masing 2 ml). Tabung pertama ditambahkan reagen Mayer, menunjukkan hasil positif alkaloid dengan munculnya endapan putih atau kuning. Tabung kedua ditambahkan reagen Dragendorff, menunjukkan hasil positif alkaloid dengan munculnya endapan jingga (Marjoni dan Saifuddin, 2022).

### 8.3 Identifikasi saponin menggunakan tabung reaksi. Uji

saponin dilakukan dengan menambahkan 10 ml air suling panas ke dalam 0,5 gram ekstrak bunga angkana dalam tabung reaksi. Campuran tersebut didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik hingga terbentuk buih atau busa. Kriteria positif saponin adalah ketinggian busa antara 1-10 cm yang bertahan minimal 10 menit dan tidak menghilang setelah diteteskan HCl 2N (Marjoni dan Saifuddin, 2022).

### 8.4 Identifikasi tanin menggunakan tabung reaksi. Uji

kandungan tanin pada ekstrak bunga angkana dilakukan dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak dalam 10 ml aquadest. Filtrat sebanyak 2 ml kemudian dicampur dengan 1-2 tetes larutan besi (III) klorida. Perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman menandakan positif kandungan tanin, sesuai metode (Marjoni dan Saifuddin, 2022).

## 9. Penentuan dosis

**9.1 Dosis aloksan.** Untuk menginduksi diabetes pada tikus, digunakan aloksan monohidrat dengan dosis 150 mg/kg berat badan yang diberikan secara intraperitoneal sekali. Induksi ini dapat menyebabkan DM tipe 2 pada tikus selama kurang dari sebulan setelah pemberian aloksan. Sebelum diinduksi dengan aloksan, tikus dipuasakan selama 16-18 jam. Jadi, dosis aloksan yang diinduksi ke tikus dengan berat 200 gram adalah  $150 \text{ mg} \times 200 \text{ g} / 1000 \text{ g} = 30 \text{ mg} / 200 \text{ gram BB}$  tikus.

**9.2 Dosis glibenklamid.** Dosis glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan dosis yang umum digunakan pada manusia, yaitu 5 mg untuk individu dengan berat badan 70 kg. Untuk menyesuaikan dosis tersebut dengan berat badan tikus yang digunakan sebagai subjek penelitian, digunakan faktor konversi dari manusia ke tikus. Faktor konversi yang digunakan adalah 0,018, yang diperoleh dari perbandingan berat badan manusia (70 kg) dan tikus (200 gram). Dengan demikian, dosis glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,09 mg per 200 gram berat badan tikus, atau setara dengan 0,45 mg/kgBB.

**9.3 Dosis ekstrak.** Dosis yang digunakan dalam penelitian ini untuk pemberian pada tikus didasarkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Firmansyah *et al.*, (2022). Penelitian tersebut menemukan bahwa dosis efektif ekstrak daun angkana (*Pterocarpus indicus* Willd) untuk menurunkan kadar glukosa darah pada mencit jantan (*Mus musculus*) adalah 200 mg/kgBB. Dosis ini kemudian dikonversi untuk digunakan pada tikus, dengan hasil dosis 28 mg per 200 gram berat badan tikus, atau setara dengan 140 mg/kgBB.

## 10. Pembuatan sediaan uji

**10.1 Aloksan.** Untuk menginduksi kondisi diabetes pada tikus, larutan aloksan 1% disiapkan dengan cara melarutkan 1 gram aloksan monohidrat dalam 100 ml larutan infus NaCl 0,9%. Dosis aloksan monohidrat yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada tikus adalah sebesar 150 mg/kg berat badan tikus. Pemberian aloksan monohidrat dilakukan secara intraperitoneal untuk memastikan efektivitas penginduksian diabetes.

**10.2 CMC Na 0,5%.** Sediaan larutan CMC Na 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif dalam penelitian ini. Pembuatan larutan ini dimulai dengan menimbang 0,5 gram CMC Na yang kemudian

dilarutkan dalam 10 ml aquadest panas. Campuran tersebut kemudian dibiarkan selama kurang dari 15 menit hingga berubah menjadi larutan yang bening dan berbentuk seperti gel. Setelah itu, larutan tersebut diaduk hingga menjadi massa yang homogen. Selanjutnya, larutan tersebut diencerkan dengan aquadest dalam labu ukur hingga mencapai volume 100 ml.

**10.3 Glibenklamid.** Suspensi glibenklamid disiapkan dalam konsentrasi 0,005% dengan cara menggerus satu tablet glibenklamid yang mengandung 5 mg obat hingga halus menggunakan mortir, kemudian dilarutkan dalam larutan Na CMC 0,5% sebanyak 100 ml.

## **11. Pengelompokan dan perlakuan hewan uji**

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan dengan berat badan rata-rata 180-200 gram. Sebanyak 30 ekor tikus diambil sebagai sampel dan dibagi secara acak menjadi 6 kelompok. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasikan selama 7 hari dan dipuasakan selama 16-18 jam untuk menentukan kadar glukosa awal (T<sub>0</sub>). Kemudian, tikus diberikan induksi aloksan 150 mg/kgBB secara intraperitoneal, kecuali 5 ekor tikus yang digunakan sebagai kontrol normal. Setelah tiga hari, kadar glukosa tikus diukur kembali. Tikus yang menunjukkan peningkatan kadar glukosa lebih dari 200 mg/dL kemudian dikelompokkan menjadi lima kelompok, masing-masing terdiri dari lima ekor tikus. Kelompok hewan uji dalam penelitian ini kemudian dibagi berdasarkan perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut:

- Kelompok I : Kelompok kontrol normal, tikus tanpa perlakuan
- Kelompok II : Kontrol negatif, tikus diberikan CMC Na 0,5%
- Kelompok III : Kontrol positif, tikus diberikan glibenklamid dosis 150 mg/kgBB.
- Kelompok IV : Tikus diberikan ekstrak etanol bunga angkana ½ dosis efektif (70 mg/kgBB)
- Kelompok V : Tikus diberikan ekstrak etanol bunga angkana 1 x dosis efektif (140 mg/kgBB)
- Kelompok VI : Tikus diberikan ekstrak etanol bunga angkana 2 x dosis efektif (280 mg/kgBB)

## **12. Prosedur uji hiperglikemia**

Uji hiperglikemia dimulai dengan menimbang semua tikus dan memberikan tanda pengenal yang unik untuk masing-masing tikus. Pada hari pertama, dilakukan pengambilan sampel darah untuk mengukur

kadar glukosa darah awal (T<sub>0</sub>). Setelah itu, induksi aloksan dilakukan dan diikuti dengan pengambilan sampel darah lagi pada hari ke-3 untuk mengukur kadar glukosa darah (T<sub>1</sub>). Tikus yang menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah yang bermakna antara T<sub>0</sub> dan T<sub>1</sub> dinyatakan mengalami hiperglikemia.

### **13. Prosedur pemeriksaan glukosa darah**

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan menggunakan metode GOD-PAP pada hari ke-10 dan ke-14 setelah perlakuan. Sampel darah diambil dari *vena orbital* hewan uji dan dikumpulkan dalam tabung serologi. Setelah disentrifugasi dengan kecepatan 400 rpm selama 15 menit, serum dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi: standar, blangko, dan sampel. Masing-masing tabung diisi dengan 1000  $\mu$ L reagen dan 10  $\mu$ L larutan standar, aquadest, atau serum. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C. Kadar glukosa darah diukur menggunakan fotometer. Penggunaan mikropipet *blue tip* untuk reagen (1000  $\mu$ L) dan mikropipet *white tip* untuk serum, larutan standar, dan aquadest (10  $\mu$ L) memastikan akurasi pengukuran.

### **14. Prosedur mematikan dan membedah hewan uji**

Eutanasia pada hewan uji dilakukan melalui dislokasi leher untuk meminimalkan penderitaan. Prosedurnya melibatkan pemegangan ekor tikus, penempatan pada permukaan datar, dan penyangga leher menggunakan benda tumpul seperti pensil atau batang logam. Tarikan kuat pada ekor menyebabkan dislokasi leher dan kematian instan (Stevani, 2016).

Setelah eutanasia, tikus dibedah dengan membuat sayatan vertical menggunakan gunting bengkok dimulai dari sternum hingga pusar. Kemudian buka perut dengan hati-hati untuk mengakses organ dalam untuk mengidentifikasi organ pankreas yang terletak di belakang lambung. Gunakan gunting lurus untuk memisahkan pankreas dari jaringan sekitarnya. Lalu diangkat pankreas dengan hati-hati untuk menghindari kerusakan dan dicuci dengan larutan NaCl 0,9%. Kemudian, organ tersebut difiksasi dalam larutan formalin 10% dan buffer formalin untuk preservasi.

### **15. Pembuatan preparat histopatologi**

Proses preparasi histopatologi pankreas melibatkan beberapa tahap. Pertama, fiksasi dilakukan menggunakan larutan buffer formalin 10% selama minimal 48 jam untuk menjaga struktur histologis.

Kemudian, dehidrasi dilakukan menggunakan etanol dengan konsentrasi yang meningkat (70-100%) selama 1,5 jam. Selanjutnya, proses *clearing* menggunakan *xylene* dilakukan untuk menghilangkan alkohol. Jaringan direndam dalam *xylene* selama 30 menit hingga 1,5 jam. Infiltrasi parafin dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam parafin hangat selama 1 jam dan diinkubasi pada suhu 45°C selama 1 malam.

Setelah itu, *embedding* dilakukan dengan meletakkan jaringan pada blok parafin. Lapisan jaringan dengan ketebalan 3-4 mikrometer dipotong menggunakan mikrotom dan diletakkan pada kaca objek. Pewarnaan *hematoksin-eosin* dilakukan setelah deparafinisasi dan rehidrasi. Jaringan direndam dalam pewarna *hematoksin* dan *eosin* secara bergantian, kemudian dicuci dengan air mengalir.

Tahap akhir melibatkan rehidrasi, *clearing*, dan *mounting*. Jaringan direndam dalam larutan etanol dan *xylene*, kemudian ditutup dengan gelatin dan *deck glass* (Lerebulan, 2014). Pemeriksaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

## **16. Pemeriksaan kerusakan sel pankreas**

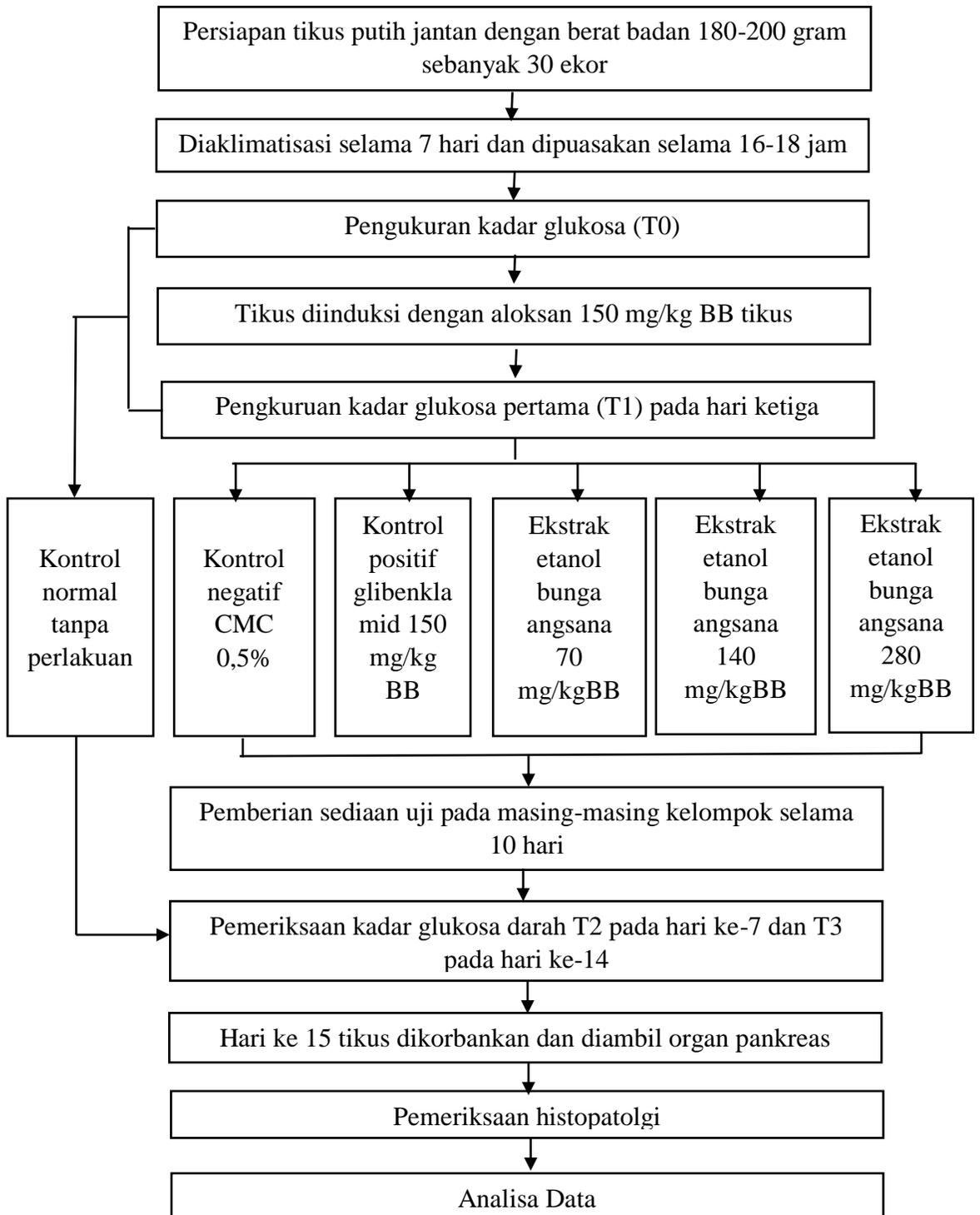
Pengamatan histopatologi jaringan pankreas dilakukan pasca-pemberian ekstrak etanol bunga angkana dengan membandingkan empat kelompok, yaitu kelompok perlakuan, normal, negatif dan kontrol. Evaluasi ini meliputi analisis deskriptif perubahan histopatologi seperti degenerasi dan nekrosis pada potongan jaringan pankreas. Jumlah pulau Langerhans juga diamati untuk menilai kerusakan akibat zat diabetogenik. Persentase kerusakan organ pankreas ditentukan melalui perhitungan jumlah total inti sel dan inti sel yang mengalami nekrosis. Hasil analisis ini akan menunjukkan pengaruh perlakuan terhadap tingkat kerusakan organ pankreas.

## **E. Analisa Hasil**

Data dari penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi *software* statistik *SPSS*. Data kadar glukosa T0 dan T1 yang diperoleh dianalisis dengan uji *Shapiro wilk* untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Apabila data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen ( $p > 0,05$ ), dilanjutkan dengan analisis *Paired Samples t-test* untuk melihat perbedaan yang signifikan antara nilai kadar glukosa darah awal dan setelah induksi aloksan untuk memastikan bahwa hewan uji berhasil diinduksi kondisi hiperglikemia. Selanjutnya

semua data kadar glukosa darah dilakukan analisis normalitas dan homogen, apabila terdistribusi normal dan homogne maka dilanjutkan uji parametrik yaitu uji ANOVA. Setelah itu uji dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok hewan perlakuan. Analisa hasil pemeriksaan histopatologi pankreas dilihat dari kerusakan sel pankreas yang terjadi dan dihitung persentase nekrosis yaitu perbandingan antara total inti sel yang mengalami nekrosis dengan total inti sel pankreas.

### F. Skema Penelitian



Gambar 7. Skema penelitian.