

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG FALOAK
(*Sterculia quadrifida* R.Br) TERHADAP HISTOPATOLOGI
PANKREAS TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh:

**Lili Ria Sairlay
19133885 A**

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
Juni 2017**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG FALOAK
(*Sterculia quadrifida* R.Br) TERHADAP HISTOPATOLOGI
PANKREAS TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh:

**Lili Ria Sairlay
19133885 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI
Berjudul :

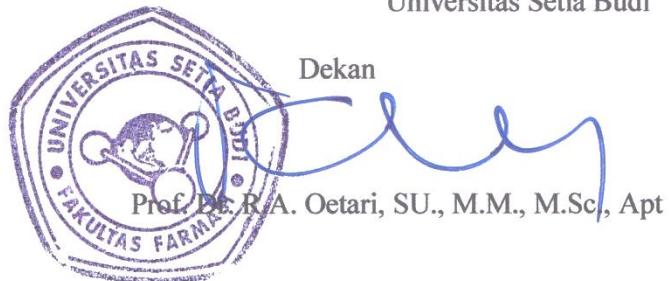
PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG FALOAK
(*Sterculia quadrifida* R.Br) TERHADAP HISTOPATOLOGI
PANKREAS TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Oleh :

Lili Ria Sairlay
19133885 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 13 Juni 2017

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Pembimbing,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dr. Titik Sunarni' followed by 'M.Sc., Apt'.

Dr. Titik Sunarni, M.Sc., Apt

Pembimbing pendamping,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Sunarti' followed by 'M.Sc., Apt'.

Sunarti, M.Sc., Apt

Penguji:

1. Dr. Rina Herowati, M.Sc., Apt.
2. Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt.
3. Hery Muhamad Ansory, M.Sc
4. Dr. Titik Sunarni, M.Sc., Apt.

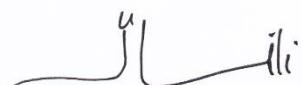
Four handwritten signatures in black ink, labeled 1, 2, 3, and 4, corresponding to the list of examiners. The signatures are arranged vertically, with 1 at the top and 4 at the bottom.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 13 Juni 2017



Lili Ria Sairlay

PERSEMBAHAN



This essay I dedicate to:

Lord Jesus Christ as my way, my truth and my life

Beloved Parents, Manase and Aksamina Sairlay

Beloved brothers and sister : Levi, Vony and Rony

And big family of PMK Katharos

May the grace and peace from our Father

and Jesus Christ be with you all.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG FALOAK (*Sterculia quadrifida* R.Br) TERHADAP HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN”** ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
3. Dr. Titik Sunarni, M.Sc., Apt selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu beliau untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Sunarti, M.Sc., Apt., selaku Pembimbing Pendamping yang dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu dosen panitia penguji skripsi yang telah memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Pak Yuli dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada yang telah banyak membantu.
7. Ibu Winang dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang telah banyak memberi bantuan selama penelitian.
8. Orang tua terkasih Manase dan Aksamina Sairlay, serta saudara-saudari Levi, Vony dan Rony Sairlay yang selalu memberi nasehat, doa dan semangat. *May God always love and bless our family.*
9. Keluarga besar PMK Katharos yang selalu memberi semangat dan dukungan. *Let us keep Spirit of Excellent.*

10. Teman-teman S1 Farmasi teori 3 angkatan 2013 yang telah banyak memberi bantuan dan dukungan.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, 13 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--------------------------------|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iii |
| HALAMAN PERSEMPAHAN | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR TABEL | xii |
| INTISARI | xiii |
| ABSTRACT | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian | 4 |
| D. Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Tanaman Faloak | |
| 1. Klasifikasi tanaman | 5 |
| 2. Nama daerah | 5 |
| 3. Morfologi tanaman | 5 |
| 4. Kandungan kimia | 6 |
| 5. Kegunaan tanaman | 6 |
| B. Tinjauan Fitokimia | |
| 1. Flavonoid | 7 |
| 2. Tanin | 7 |
| 3. Saponin | 8 |
| 4. Alkaloid | 8 |
| 5. Terpenoid | 9 |
| 6. Steroid | 9 |
| C. Simplisia | |
| 1. Pengertian | 10 |
| 2. Pengeringan | 10 |

| | |
|--|----|
| D. Ekstraksi | |
| 1. Pengertian | 11 |
| 2. Ekstrak | 11 |
| 3. Maserasi | 11 |
| 4. Pelarut | 11 |
| E. Diabetes Mellitus | |
| 1. Pengertian | 12 |
| 2. Patofisiologi..... | 12 |
| 3. Tanda dan Gejala | 12 |
| 4. Klasifikasi | |
| 4.1. Diabetes melitus tipe 1 | 13 |
| 4.2. Diabetes melitus tipe 2 | 13 |
| 4.3. Diabetes melitus tipe lain | 14 |
| 4.4. Diabetes melitus gestasional..... | 14 |
| 5. Komplikasi | 14 |
| 6. Diagnosa | 15 |
| 7. Terapi | |
| 7.1. Insulin | 15 |
| 7.2. Obat antidiabetik oral | 15 |
| F. Glibenklamid | |
| 1. Kelarutan | 16 |
| 2. Indikasi dan kontraindikasi..... | 17 |
| 3. Dosis dan aturan pakai..... | 17 |
| 4. Mekanisme kerja..... | 17 |
| 5. Efek samping | 17 |
| G. Diabetogenik..... | 17 |
| H. Stres Oksidatif | 19 |
| I. Hewan Percobaan | |
| 1. Klasifikasi hewan percobaan | 19 |
| 2. Karakteristik utama..... | 20 |
| J. Histopatologi Organ Pankreas | |
| 1. Pengertian histopatologi | 20 |
| 2. Struktur dan anatomi pankreas | 20 |
| 3. Kerusakan pankreas | 21 |
| 4. Histopatologi pankreas | 21 |
| 5. Metode pembuatan preparat histopatologi | 22 |
| K. Landasan Teori | 23 |
| L. Hipotesis | 24 |

BAB III METODE PENELITIAN

| | |
|--------------------------------------|----|
| A. Populasidan Sampel..... | 25 |
| B. Variabel Penelitian | |
| 1. Identifikasi variabel utama | 25 |

| | |
|---|----|
| 2. Klasifikasi variabel utama | 25 |
| 3. Definisi operasional variabel utama | 26 |
| C. Alat dan Bahan | |
| 1. Alat | 26 |
| 2. Bahan | 27 |
| 3. Hewan percobaan..... | 27 |
| D. Jalannya Penelitian | |
| 1. Determinasi tanaman kulit batang faloak | 27 |
| 2. Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk ... | 27 |
| 3. Penetapan kadar air..... | 28 |
| 4. Pembuatan ekstrak etanol kulit batang faloak | 28 |
| 5. Uji bebas alkohol..... | 28 |
| 6. Identifikasi kandungan senyawa | |
| 6.1. Identifikasi flavonoid..... | 29 |
| 6.2. Identifikasi tanin | 29 |
| 6.3. Identifikasi saponin..... | 29 |
| 6.4. Identifikasi alkaloid | 29 |
| 6.5. Identifikasi terpenoid dan steroid | 29 |
| 7. Penentuan dosis | |
| 7.1 Penentuan dosis aloksan | 29 |
| 7.2 Penentuan dosis glibenklamid | 30 |
| 7.3 Penentuan dosis ekstrak etanol | 30 |
| 8. Pembuatan sediaan uji | |
| 8.1 Aloksan..... | 30 |
| 8.2 CMC Na 0,5% | 30 |
| 8.3 Glibenklamid | 30 |
| 9. Pengelompokan dan perlakuan hewan uji | 30 |
| E. Histopatologis Organ Pankreas | |
| 1. Pembuatan preparat histopatologi..... | 31 |
| 2. Pemeriksaan histopatologi | 33 |
| F. Analisa Statistik..... | 34 |
| G. Alur Penelitian..... | 35 |
| H. Alur Pemeriksaan Histopatologi..... | 36 |

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

| | |
|--|----|
| A. Determinasi Kulit Batang Faloak | 37 |
| B. Pembuatan Serbuk Kulit Batang Faloak | 38 |
| C. Penetapan Kadar Air Serbuk Kulit Batang Faloak | 39 |
| D. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak | 39 |
| E. Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak..... | 40 |
| F. Identifikasi Kandungan Kimia Kulit Batang Faloak..... | 41 |
| G. Pemeriksaan Histopatologi Pankreas | 41 |

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

| | |
|---------------------|----|
| A. Kesimpulan | 47 |
| B. Saran | 47 |

| | |
|----------------------|----|
| DAFTAR PUSTAKA | 48 |
| LAMPIRAN | 53 |

DAFTAR GAMBAR

Halaman

| | |
|--|----|
| 1. Pohon faloak | 5 |
| 2. Struktur kimia flavonoid | 7 |
| 3. Struktur kimia tanin | 8 |
| 4. Struktur kimia saponin | 8 |
| 5. Struktur kimia alkaloid..... | 8 |
| 6. Struktur kimia terpenoid | 9 |
| 7. Struktur kimia steroid..... | 10 |
| 8. Struktur kimia glibenklamid | 16 |
| 9. Struktur kimia aloksan | 18 |
| 10. Pulau Langerhans dengan pewarnaan HE | 41 |

DAFTAR TABEL

Halaman

- | | |
|--|----|
| 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah | 38 |
| 2. Penetapan kadar air serbuk kulit batang faloak | 39 |
| 3. Rendemen ekstrak kulit batang faloak | 40 |
| 4. Hasil uji bebas alkohol pada ekstrak kulit batang faloak..... | 40 |
| 5. Identifikasi reaksi kimia ekstrak kulit batang faloak | 41 |
| 6. Rata-rata hasil perhitungan presentase nekrosis sel..... | 44 |

INTISARI

SAIRLAY LR., 2017, PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG FALOAK (*Sterculia quadrifida* R.Br) TERHADAP HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br.) merupakan bagian dari pohon faloak yang memiliki aktivitas antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes dari ekstrak etanol kulit batang faloak dalam meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

Ekstrak etanol kulit batang faloak diuji aktivitas dengan pemberian pada tikus yang telah diinduksi aloksan. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu: kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 65 mg/kg BB, ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 130 mg/kg BB dan ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 260 mg/kg BB. Diberikan perlakuan selama 14 hari dan pada hari ke-15 hewan uji dikorbankan dan pankreasnya dibuat preparat histologi. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan metode *Kolmogorof-Smirnov* dan dilanjutkan dengan *One Way Anova*.

Hasil penelitian menunjukan bahwa ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 260 mg/kg BB memiliki aktivitas yang paling efektif dalam meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans dan memiliki beda signifikan ($p<0,05$) dengan kelompok kontrol diabetes.

Kata kunci : ekstrak etanol, kulit batang faloak, pulau Langerhans, nekrosis pankreas

ABSTRACT

SAIRLAY LR., 2017, THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF FALOAK BARK (*Sterculia quadrifida* R.Br) FOR HYSTOPATHOLOGY PANCREAS OF RATS THAT INDUCED BY ALLOXAN, ESSAY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Faloak bark (*Sterculia quadrifida* R.Br) is the part of faloak tree which has antidiabetic activity. The purpose of this study is to know the antidiabetic effect of ethanolic extract of faloak bark in increasing the number of islands and decreasing the percentage of necrosis endocrine cells of Langerhans Island in pancreatic organ of male rats that induced by aloxxan.

Ethanolic extract of faloak bark was tested for activity by administration of alloxan-induced rats. The treatment group were divided into 6 groups: normal control, negative control, positive control, ethanol extract of faloak bark dose 65 mg/kg BB, ethanol extract of faloak bark dose 130 mg/kg BB and ethanol extract of faloak bark dose 260 mg/kg BB. The treatment was given for 14 days and on the 15th day of the test, the rats were sacrificed and the pancreas was prepared by histology. The data obtained were analyzed using Kolmogorof-Smirnov method and continued with One Way Anova.

The result of this study showed that the ethanolic extract of faloak bark dose of 260 mg/kg BB have the best activity in increasing the island number and decreasing the percentage of necrosis endocrine cell of Langerhans island and had significant difference ($p<0,05$) with diabetes control group.

Key words : ethanolic extract, faloak bark, Langerhans island, pancreas necrosis

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) atau sering juga dikenal sebagai penyakit kencing manis, adalah penyakit akibat gangguan pada sistem metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein dalam tubuh. Gangguan metabolisme tersebut disebabkan oleh kurangnya produksi atau resistensi sel-sel tubuh terhadap insulin (Iskandar 2009). DM ini juga telah diketahui sebagai salah satu masalah kesehatan terbesar di dunia. Menurut data dari *World Health Organization* (WHO), sebanyak 346 miliar manusia di dunia diindikasikan mengalami DM (Aklima *et al.* 2013). WHO juga memprediksi bahwa Indonesia akan menjadi negara dengan tingkat penderita DM terbesar keempat di dunia pada tahun 2030 nanti, setelah India, Cina dan Amerika Serikat.

Pada penderita DM terjadi perubahan histopatologi pada organ pankreas. Perubahan ini dapat berupa kerusakan dan sering ditemukan sebagai salah satu gambaran patologis yang khas pada pasien dan hewan model DM. Perubahan pulau Langerhans yang terutama terjadi pada populasi sel β ini, mengakibatkan kadar insulin dalam tubuh rendah, dan berdampak pada peningkatan kadar glukosa darah (terjadi keadaan hiperglikemia) (Suarsana *et al.* 2010). Kondisi hiperglikemia menurut Robertson *et al.* (2003) dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS=*reactive oxygen species*). ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel β pankreas.

Kerusakan pulau Langerhans yang terjadi dapat terlihat pada perubahan morfologi pulau Langerhansnya, baik secara kuantitatif seperti pengurangan jumlah pulau Langerhans, maupun secara kualitatif seperti nekrosis dan degenerasi sel endokrin pulau Langerhans. Menurut Andayani (2003), hewan percobaan DM akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal. Apabila jaringan pankreas normal

diamati pada hewan percobaan, maka per lapang pandang pankreas ditemukan lebih dari dua buah pulau Langerhans. Sedangkan pada hewan percobaan DM tipe 2, kadang-kadang tidak satupun pulau Langerhans ditemukan.

Pada kelompok tikus normal kondisi pulau Langerhans pankreas dalam keadaan relatif baik yang ditandai dengan kondisi islet Langerhans yang relatif rapat. Sedangkan pada kelompok diabetes, kondisi islet Langerhans mengalami kerusakan yang ditandai dari adanya ruang-ruang kosong di bagian tengah pulau Langerhans (Ismini & Zubaidah 2013). Ruang-ruang kosong pada pada pulau Langerhans tersebut disebabkan karena nekrosis dari sel β pankreas. Kim *et al.* (2006) mengemukakan bahwa agen diabetogenik senyawa aloksan dapat menyebabkan nekrosis dan degenerasi sel β pankreas. Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai oleh kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti oleh lisisnya sel dan peradangan jaringan. Hal ini yang mengindikasikan bahwa tikus mengalami gangguan sekresi insulin (Nurdiana 1998).

Melihat tingkat keparahan yang ditimbulkan oleh penyakit DM, maka banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari pengendalian terhadap penyakit ini. Salah satunya adalah dengan melakukan penelitian bahan-bahan tradisional yang dipercaya memiliki khasiat dalam mengendalikan diabetes (Uray 2009). Pengobatan DM dengan memanfaatkan penggunaan bahan-bahan tradisional seperti tanaman berkhasiat obat, dipercaya sebagai bentuk pengobatan yang efektif dan memiliki efek samping lebih ringan, dibandingkan dengan obat antidiabetes oral. Selain itu, tanaman berkhasiat obat juga dapat diperoleh dengan mudah, dapat dipetik langsung untuk pemakaian segar atau dapat dikeringkan (Wijayakusuma 2004).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antidiabetes alami adalah Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). Faloak tumbuh di provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) dan hingga kini masih dimanfaatkan secara tradisional sebagai tanaman obat (Ranta *et al* 2012). Bagian pohon Faloak yang sering digunakan adalah kulit batang (klika). Masyarakat NTT menggunakan kulit batang faloak dengan mengandalkan pengetahuan dan pengalaman secara turun

temurun, sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti diabetes, hepatitis dan gangguan pencernaan.

Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk menunjukkan efek antidiabetes kulit batang faloak ini. Menurut Siswadi *et al* (2013), kulit batang faloak mengandung senyawa antioksidan alami yaitu flavonoid dan senyawa fenolik. Flavonoid diketahui mampu berperan menangkap radikal bebas atau berfungsi sebagai antioksidan alami. Aktivitas antioksidan tersebut memungkinkan flavonoid untuk menangkap atau menetralkan radikal bebas terkait dengan gugus OH fenolik sehingga dapat memperbaiki keadaan jaringan yang rusak. Flavonoid juga berperan dalam memperbaiki morfologi pankreas tikus percobaan pada kerusakan jaringan pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA akibat induksi aloksan.

Pernyataan tersebut dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Anin (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak kulit batang faloak memiliki aktivitas antioksidan yang besar dengan nilai IC_{50} sebesar 4,8101 ppm, sehingga dapat melindungi tubuh dari radikal bebas. Selain itu, Nue (2016) juga melaporkan bahwa kulit batang faloak dengan dosis 150 mg, 300 mg dan 600 mg/Kg BB mencit memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar gula darah ketika diuji pada mencit yang diinduksi glukosa.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka peneliti tertarik untuk menguji pengaruh ekstrak etanol kulit batang faloak terhadap kondisi histopatologi pankreas baik jumlah pulau maupun persentasi nekrosis sel endokrin pulau Langerhans tikus yang diinduksi aloksan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini yaitu :

1. Apakah pemberian ekstrak etanol kulit batang faloak dapat meningkatkan jumlah pulau serta menurunkan persentase nekrosis sel endokrin sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?

2. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol kulit batang faloak yang memiliki efektivitas dalam meningkatkan jumlah pulau serta menurunkan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit batang faloak dalam meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.
2. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak kulit batang faloak yang memiliki efektivitas dalam meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus jantan putih galur Wistar yang diinduksi aloksan.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberi informasi ilmiah tentang kemampuan ekstrak etanol kulit batang faloak dalam aktivitas antidiabetes dan dapat digunakan sebagai suatu gagasan baru bagi ilmu pengetahuan di Indonesia serta memberikan kontribusi ilmiah terhadap penelitian-penelitian antidiabetes selanjutnya, terutama dalam pengembangan dan pemanfaatan tanaman tradisional. Penelitian ini juga diharapkan dapat meningkatkan budidaya tanaman faloak sebagai obat alternatif dalam pengobatan DM serta dapat menjadi suatu masukan untuk berbagai pihak dalam memproduksi produk-produk herbal sehingga meningkatkan kesehatan masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Faloak

1. Klasifikasi tanaman

Menurut Siswadi *et al.* (2013), tanaman faloak dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

| | | |
|----------|---|----------------------------------|
| Kingdom | : | Plantae |
| Division | : | Angiospermae |
| Ordo | : | Malvales |
| Family | : | Malvaceae |
| Genus | : | Sterculia |
| Species | : | <i>Sterculia quadrifida</i> R.Br |

2. Nama lain dan nama daerah

Faloak memiliki nama yang berbeda-beda, seperti: faloak (Indonesia), komila (Timor Leste) dan Red-fruit Kurrajong (Australia) (Siswadi *et al.* 2013).



Gambar 1. Pohon Faloak (Siswadi *et al.* 2013)

3. Morfologi tanaman

Tanaman faloak terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Pohon faloak dapat tumbuh mencapai tinggi lebih dari 15 meter. Tanaman ini memiliki kulit batang berwarna abu-abu terang dan mengeluarkan getah transparan ketika disayat. Tanaman faloak berbunga pada bulan April hingga Juni dan berbuah pada bulan Juni hingga Oktober setiap tahun. Pangkal daun tumpul

dengan ujung daun yang meruncing. Buah berwarna kuning, jingga hingga merah dengan permukaan luar ditutupi bulu-bulu halus rapat yang ketika matang akan terbuka, berisi 4-8 biji berwarna hitam mengkilap. Biji berbentuk elips dengan ukuran kira-kira 10 mm, dapat dimakan dan memiliki rasa seperti kacang (Russell-Smith *et al.* 2006).

4. Kandungan kimia tanaman

Penelitian yang dilakukan oleh Siswadi *et al.* (2013) mengungkapkan bahwa kulit batang faloak mengandung berbagai senyawa yakni senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Selain itu, peneliti yang lain juga melaporkan adanya senyawa 3-hydroxyoctadecanoic acid yang berhasil diisolasi dari kulit batang faloak dan memiliki khasiat sebagai antifungi terhadap jamur *C.Albicans* (Ranta *et al.* 2012).

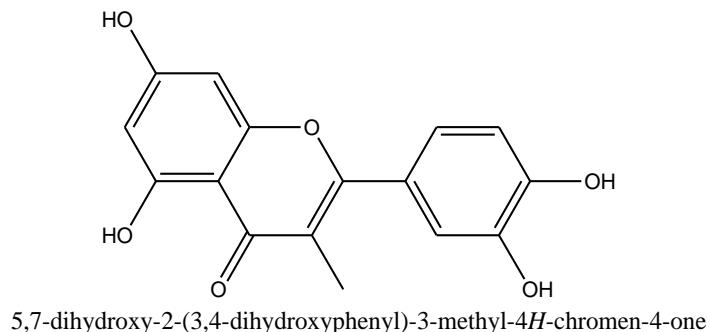
5. Kegunaan tanaman

Bagian dari faloak yang biasanya digunakan sebagai obat herbal oleh masyarakat khususnya di pulau Timor yaitu bagian kulit batang (klika). Kulit batang faloak dipercaya dapat mengobati beberapa penyakit seperti hepatitis, kanker, gangguan saluran pencernaan, diabetes, reumatik, dan sebagai penguat sel darah merah. Dalam bentuk ekstrak, kulit batang faloak juga berpotensi dalam menurunkan kadar gula darah (Nue 2016). Umumnya, masyarakat tradisional mengkonsumsi kulit batang faloak dengan cara direbus, baik tanpa tambahan bahan lain atau dengan tambahan misalnya rempah-rempah seperti kunyit maupun kencur (Siswadi *et al.* 2013).

Selain itu, biji tanaman faloak tersebut juga memiliki potensi sebagai sumber obat untuk mencegah dan mengobati penyakit yang disebabkan oleh jamur *C. Albicans* (Ranta *et al.* 2012).

B. Tinjauan Fitokimia

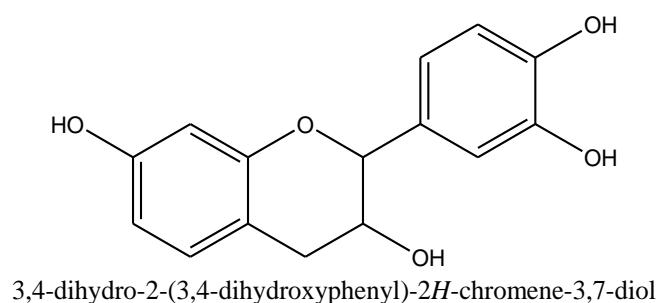
1. Flavonoid



Gambar 2. Struktur kimia flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang secara kimia mempunyai struktur dasar dengan dua cincin aromatis dengan tiga atom C di antara cincin ($C_6-C_3-C_6$). Tiga atom C antar cincin tersebut membentuk cincin ketiga yang berupa heterosiklik O. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang terdapat di alam. Flavonoid ditemukan pada berbagai tanaman serta terdistribusi pada bagian-bagian seperti buah, daun, biji, akar, kulit kayu, batang dan bunga. Berdasarkan kerangka karbon strukturnya, senyawa flavonoid dibagi menjadi enam sub kelompok utama yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanol, isoflavon dan antosianidin (Raharjo 2013).

2. Tanin

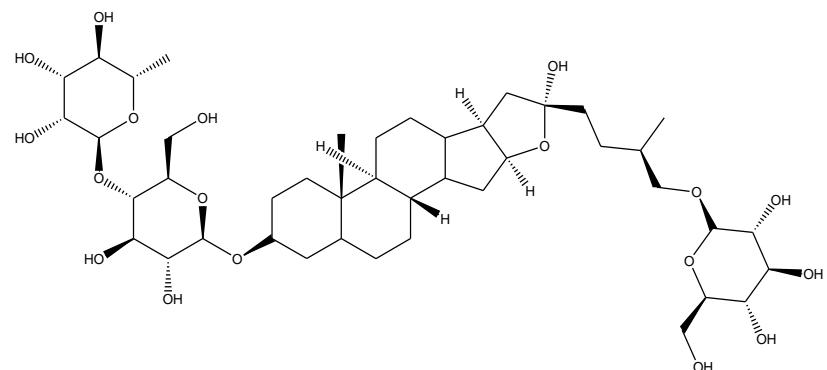


Gambar 3. Struktur kimia Tanin

Tanin merupakan kandungan tumbuhan yang fenol, yang mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Kelarutan tanin adalah larut dalam air, tidak larut dalam pelarut organik non polar (Robinson 1995). Tanin juga memiliki aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis,

dan juga memiliki aktivitas lain yaitu sebagai astringent atau pengkhelat (Dalimarta 2005).

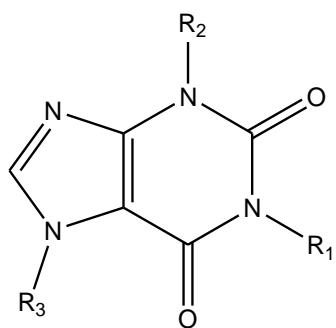
3. Saponin



Gambar 4. Struktur kimia Saponin

Saponin adalah zat semacam sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba (Robinson 1995).

4. Alkaloid

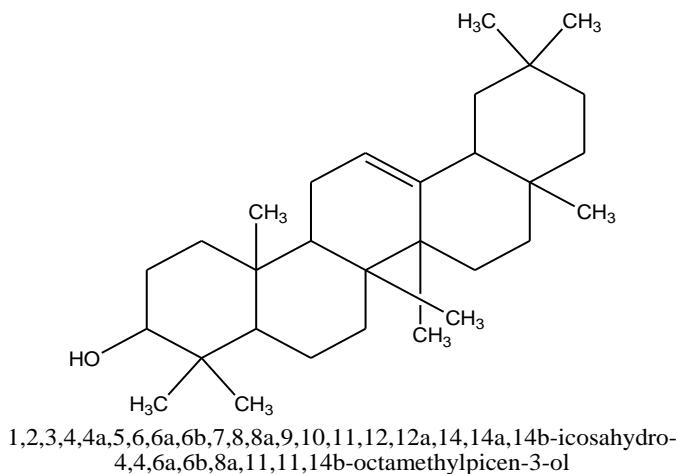


Gambar 5. Struktur kimia alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang mempunyai sifat alkali. Sifat inilah yang membuat penamaan golongan senyawa-senyawa ini sebagai alkaloid. Sifat alkali ini dimungkinkan karena secara kimia alkaloid adalah senyawa organik yang mengandung nitrogen baik satu atau lebih dalam bentuk amina primer sekunder maupun tersier.

Berdasarkan sumber atom N dalam strukturnya, alkaloid dapat dikategorikan menjadi alkaloid yang berasal dari ornitin, lisin, asam nikotinat, tirosin, triptofan, asam antranilat, histidin, proses aminasi dan purin (Raharjo 2013).

5. Terpenoid

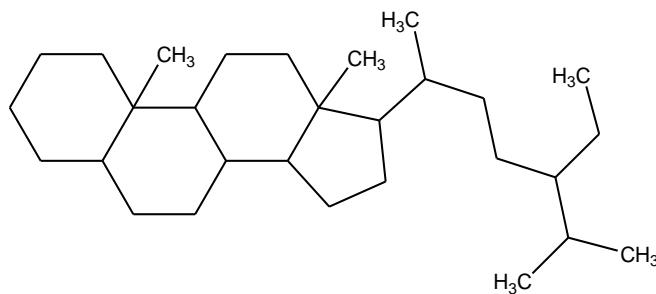


Gambar 6. Struktur kimia terpenoid

Terpenoid atau isoprenoid merupakan senyawa bahan alam yang mempunyai struktur dasar disusun oleh struktur isoprena yang saling bergabung dan mengalami modifikasi sehingga mengandung gugus fungsi dan terkadang juga terjadi siklisasi menghasilkan struktur siklik alifatik. Terpenoid merupakan kelompok terbesar senyawa bahan alam dengan jumlah senyawa lebih dari 30.000 senyawa (Raharjo 2013).

6. Steroid

Steroid merupakan hasil modifikasi triterpenoid tetrasiklik. Struktur kolesterol dapat dianggap sebagai struktur dasar steroid, tetapi modifikasi lebih lanjut pada rantai samping menghasilkan struktur yang bervariasi. Steroid juga dikenal sebagai senyawa hormon. Salah satu golongan steroid merupakan hormon seksual yang diproduksi di kelenjar kelamin (Raharjo 2013).



17-(5-ethyl-6-methylheptan-2-yl)-hexadecahydro-10,13-dimethyl-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthrene

Gambar 7. Struktur kimia steroid

C. Simplisia

1. Pengertian

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan, dan kecuali dinyatakan lain, simplisia merupakan bahan yang dikeringkan (Kemenkes 2009). Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati, yaitu simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman tertentu atau eksudat tanaman.

Eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes RI 1995).

2. Pengeringan

Pengeringan diartikan sebagai hilangnya air, diartikan juga sebagai hilangnya pelarut organik. Pengeringan umumnya menjamin stabilitas zat menjadi lebih baik, karena dalam kondisi kering tidak terjadi reaksi penguraian secara kimia maupun mikrobiologi. Hilangnya air menjamin stabilitas dan pengawetan yang efektif. Jika proses pengeringan melibatkan penggunaan panas maka proses

harus dilakukan sesingkat mungkin, karena meningkatnya suhu umumnya meningkatkan kecepatan reaksi-reaksi kimia (Voigt 1994).

Pengeringan bertujuan antara lain, menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan memudahkan dalam hal pengelolaan selanjutnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu: waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan udara, kelembapan bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan dan Mulyani 2004).

D. Ekstraksi

1. Pengertian

Ekstraksi dalam farmasi meliputi pemisahan bahan aktif berkhasiat obat dalam jaringan tanaman atau hewan dari komponen yang tidak aktif atau *inert* menggunakan pelarut selektif, sesuai dengan standar prosedur ekstraksi (Handa 2008).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995)

3. Maserasi

Maserasi yaitu proses penyarian dengan cara merendam simplisia dalam penyari sampai meresap dan melunakkan susunan sel. Serbuk simplisia yang akan disari ditempatkan dalam wadah bejana bermulut besar, ditutup rapat sambil diaduk beberapa kali sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia (Ansel 1989)

4. Pelarut

Pelarut adalah suatu zat yang dapat digunakan untuk melarutkan obat dalam preparat larutan. Dalam ekstraksi bahan mentah obat tertentu, pelarut

dipilih berdasarkan daya larut zat aktif dan zat yang tidak aktif (Ansel 1989). Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol.

Etanol merupakan pelarut universal yang memiliki kisaran polaritas lebar sehingga mampu melarutkan senyawa baik yang polar maupun non polar yang terkandung dalam kulit batang faloak (Depkes RI 1986). Etanol memiliki keuntungan yakni tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Selain itu, etanol juga mempunyai sifat yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim termasuk peragian serta menghalangi pertumbuhan jamur dan sebagian besar bakteri, sehingga disamping sebagai cairan penyari juga berguna sebagai pengawet (Voigt 1994).

E. Diabetes Melitus

1. Pengertian

Menurut American Diabetes Association (ADA) tahun 2010, Diabetes melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolismik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya.

2. Patofisiologi

Diabetes melitus adalah penyakit kekurangan hormon insulin, yang berfungsi memungkinkan glukosa masuk ke dalam sel untuk dimetabolisir (dibakar) dan demikian dimanfaatkan sebagai sumber energi. Akibatnya glukosa bertumpuk di dalam darah (hiperglikemia) dan akhirnya dieksresikan lewat kemih tanpa digunakan (*glycosuria*). Karena itu, produksi kemih sangat meningkat dan penderita sering berkemih (*poliuri*), banyak minum (*polidipsi*), banyak makan (*polifagi*), merasa amat haus, berat badan menurun dan merasa lelah (Tan & Rahardja 2006)

3. Tanda dan gejala

Menurut Depkes RI (2005), diabetes seringkali muncul tanpa gejala. Namun demikian ada beberapa gejala yang harus diwaspadai sebagai isyarat kemungkinan diabetes. Gejala tipikal yang sering dirasakan penderita diabetes

antara lain poliuria (sering buang air kecil), polidipsia (sering haus), dan polifagia (banyak makan/mudah lapar). Selain itu sering pula muncul keluhan penglihatan kabur, koordinasi gerak anggota tubuh terganggu, kesemutan pada tangan atau kaki, timbul gatal-gatal yang seringkali sangat mengganggu (pruritus), dan berat badan menurun tanpa sebab yang jelas.

Pada DM Tipe 1 gejala klasik yang umum dikeluhkan adalah poliuria, polidipsia, polifagia, penurunan berat badan, cepat merasa lelah (fatigue), iritabilitas, dan pruritus (gatal-gatal pada kulit).

Pada DM Tipe 2 gejala yang dikeluhkan umumnya hampir tidak ada. DM Tipe 2 seringkali muncul tanpa diketahui, dan penanganan baru dimulai beberapa tahun kemudian ketika penyakit sudah berkembang dan komplikasi sudah terjadi. Penderita DM Tipe 2 umumnya lebih mudah terkena infeksi, sukar sembuh dari luka, daya penglihatan makin buruk, dan umumnya menderita hipertensi, hiperlipidemia, obesitas, dan juga komplikasi pada pembuluh darah dan syaraf.

4. Klasifikasi

Klasifikasi etiologis DM menurut American Diabetes Association (2010), dibagi dalam 4 jenis yaitu:

4.1. Diabetes melitus Tipe 1 atau Insulin Dependent Diabetes Mellitus/IDDM. DM tipe 1 terjadi karena adanya destruksi sel β pankreas karena sebab autoimun. Pada DM tipe ini terdapat sedikit atau tidak sama sekali sekresi insulin dapat ditentukan dengan level protein c-peptida yang jumlahnya sedikit atau tidak terdeteksi sama sekali. Manifestasi klinik pertama dari penyakit ini adalah ketoasidosis.

4.2. Diabetes Melitus Tipe 2 atau Insulin Non-dependent Diabetes Mellitus/NIDDM. Pada penderita DM tipe ini terjadi hiperinsulinemia tetapi insulin tidak bisa membawa glukosa masuk ke dalam jaringan karena terjadi resistensi insulin yang merupakan turunnya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa oleh jaringan perifer dan untuk menghambat produksi glukosa oleh hati. Oleh karena terjadinya resistensi insulin (reseptor insulin sudah tidak aktif karena dianggap kadarnya masih tinggi dalam darah) akan mengakibatkan defisiensi relatif insulin. Hal tersebut dapat mengakibatkan

berkurangnya sekresi insulin pada adanya glukosa bersama bahan sekresi insulin lain sehingga sel β pankreas akan mengalami desensitisasi terhadap adanya glukosa. Onset DM tipe ini terjadi perlahan-lahan karena itu gejalanya asimptomatik. Adanya resistensi yang terjadi perlahan-lahan akan mengakibatkan sensitivitas reseptor akan glukosa berkurang. DM tipe ini sering terdiagnosis setelah terjadi komplikasi.

4.3. Diabetes Melitus Tipe Lain. DM tipe ini terjadi karena etiologi lain, misalnya pada defek genetik fungsi sel β , defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, penyakit metabolismik endokrin lain, iatrogenik, infeksi virus, penyakit autoimun dan kelainan genetik lain.

4.4. Diabetes Melitus Gestasional. DM tipe ini terjadi selama masa kehamilan, dimana intoleransi glukosa didapati pertama kali pada masa kehamilan, biasanya pada trimester kedua dan ketiga. DM gestasional berhubungan dengan meningkatnya komplikasi perinatal. Penderita DM gestasional memiliki risiko lebih besar untuk menderita DM yang menetap dalam jangka waktu 5-10 tahun setelah melahirkan.

5. Komplikasi

Hiperglikemia yang terjadi dari waktu ke waktu dapat menyebabkan kerusakan ke berbagai sistem tumbuh terutama syaraf dan pembuluh darah. Beberapa konsekuensi dari diabetes melitus yang sering terjadi, adalah meningkatnya resiko penyakit jantung dan stroke, neuropati (kerusakan syaraf) di kaki yang meningkatkan kejadian ulkus kaki, infeksi dan bahkan keharusan untuk amputasi kaki. Selain itu, juga dapat menyebabkan retinopati diabetikum, yang merupakan salah satu penyebab utama kebutaan, terjadi akibat kerusakan pembuluh darah kecil di retina. Diabetes juga merupakan salah satu penyebab utama gagal ginjal. Resiko kematian penderita diabetes secara umum adalah dua kali lipat dibandingkan bukan penderita diabetes. Dengan pengendalian diabetes yang baik, menjaga agar kadar gula darah berada dalam kategori normal, maka komplikasi dapat dicegah/ditunda (Menkes 2014).

6. Diagnosa

Diagnosis DM awalnya dapat dilihat melalui gejala khas yang terjadi, yakni banyak makan (polifagi), sering berkemih (poliuri), banyak minum (polidipsi), lemas dan berat badan menurun. Gejala lain yang mungkin dikeluhkan pasien adalah kesemutan, mata kabur, gatal, impotensi pada pria dan pruritus bulva pada wanita. Keluhan dan gejala yang khas ditambah hasil pemeriksaan glukosa darah sewaktu >200 mg/dl atau glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Bila hasil pemeriksaan glukosa darah meragukan, pemeriksaan Tes Toleransi Glukosa Oral diperlukan untuk memastikan diagnosis DM. Sekurang-kurangnya diperlukan kadar glukosa darah 2 kali abnormal untuk konfirmasi diagnosis DM pada hari yang lain. Konfirmasi tidak diperlukan pada keadaan khas hiperglikemia dengan dekompensasi metabolismik akut seperti ketoasidosis dan berat badan yang menurun cepat (Mansjoer *et al* 2001).

7. Terapi

7.1. Insulin. Insulin menstimulasi pemasukan asam amino ke dalam sel dan kemudian meningkatkan sintesa protein. Insulin juga menstimulasi pemasukan glukosa ke dalam sel untuk digunakan sebagai sumber energi dan membantu penyimpanan glikogen di dalam sel otot dan hati. Insulin eksogen diindikasikan untuk semua penyandang diabetes melitus tipe 1 karena produksi insulin oleh sel β tidak ada atau hampir tidak ada (Misnadiarly 2006).

7.2. Obat antidiabetik oral. Obat anti diabetik oral digunakan untuk pengobatan diabetes melitus tipe 2 yang hanya digunakan jika pasien gagal memberikan respons terhadap setidaknya 3 bulan diet rendah karbohidrat dan energi, disertai aktivitas fisik yang dianjurkan (BPOM 2008).

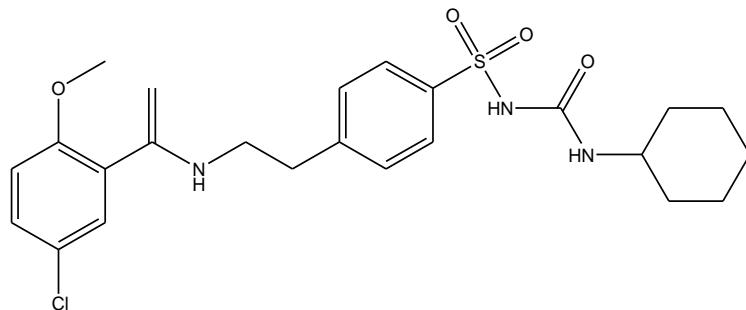
7.2.1. Golongan Sulfonilurea. Efek utama sulfonilurea adalah meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas. Obat golongan ini diberikan pada pasien yang sel β masih berfungsi atau diberikan pada pasien diabetes melitus tipe 2. Sulfonilurea dapat mengurangi glukosa darah dan meningkatkan pembentukan glikogen, lemak dan protein. Contoh obat golongan sulfonilurea antara lain Glipizid, Gliburid, dan Glimepirid (Katzung 2012).

7.2.2. Biguanida. Efek primer obat ini adalah mengurangi produksi glukosa hati melalui pengaktifan enzim *AMP-activated protein kinase*. Mekanisme minor lainnya adalah penghambatan glukoneogenesis di ginjal, perlambatan penyerapan glukosa di saluran cerna, disertai peningkatan konversi glukosa di eritrosit. Efek biguanid dalam menurunkan glukosa darah tidak bergantung pada fungsi sel β pankreas. Contoh obat dari golongan ini adalah Metformin (Katzung 2012).

7.2.3. Meglitinid. Obat-obat ini memodulasi pelepasan insulin sel β dengan mengatur refluks kalium melalui saluran kalium. Obat golongan ini memiliki dua tempat pengikatan yang sama dengan sulfonilurea. Contoh obat yang termasuk dalam golongan ini adalah Repaglinid (Katzung 2012).

7.2.4. Inhibitor α -glukosidase. Akarbosa dan miglitol adalah inhibitor kompetitif α -glukosidase usus serta mengurangi penyimpanan kadar glukosa pasca-makan dengan menunda pencernaan dan penyerapan tepung dan disakarida (Katzung 2012).

F. Glibenklamid



Gambar 8. Struktur kimia glibenklamid

1. Kelarutan

Glibenklamid mempunyai sifat kelarutan yang praktis tidak larut di dalam air dan eter, sukar larut dalam etanol dan metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes 1993)

2. Indikasi dan kontraindikasi

Glibenklamid diindikasikan pada pengobatan DM tipe onset maturitas stabil yang tidak terkomplikasi ringan atau parah dan tidak dapat diobati hanya dengan diet saja. Glibenklamid sedapat mungkin tidak digunakan pada gangguan fungsi hati, gagal ginjal dan pada ibu menyusui (BPOM 2008).

3. Dosis dan aturan pakai

Dosis awal 5 mg 1 kali sehari, segera setelah makan pagi, dosis lanjut usia 2,5 mg (BPOM 2008).

4. Mekanisme kerja

Glibenklamid merupakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan sulfonilurea yang hanya digunakan untuk mengobati individu dengan DM tipe II (Moore 1997). Obat golongan ini menstimulasi sel β pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan. Mekanisme kerja obat golongan sulfonilurea dengan cara menstimulasi pengelupasan insulin yang tersimpan (*stored insulin*) dan meningkatkan sekresi insulin akibat rangsangan glukosa (Soegondo 2005). Obat ini cepat diserap dalam saluran pencernaan dan memiliki waktu paruh ($t_{1/2}$) sekitar 4 jam (Suherman 2007).

5. Efek samping

Efek samping dari glibenklamid antara lain gejala saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hipersekresi asam lambung dan efek samping di daerah jantung, gejala di susunan saraf pusat berupa vertigo, bingung, ataksia, gejala hematologi berupa leukopenia dan agranulositosis, gejala hipertiroidisme dan gejala ikterus obstruktif. Hipoglikemia dapat terjadi bila dosis tidak tepat, tidak cukup makan dan terjadi gangguan hati atau ginjal (Sukandar *et al* 2008).

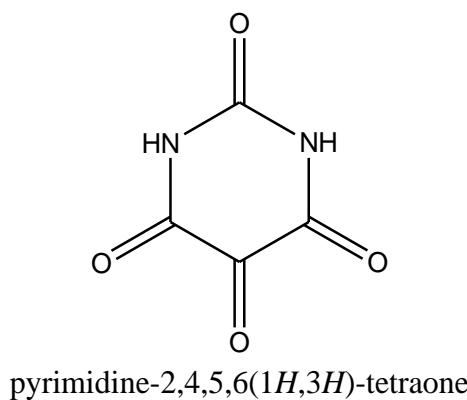
G. Diabetogenik

Dalam penelitian untuk mengetahui aktivitas antidiabetes dibutuhkan zat diabetogenik untuk membuat kondisi hewan percobaan memiliki kadar glukosa darah yang tinggi. Salah satu zat yang dikenal sebagai diabetogenik adalah aloksan (Szkudelski 2001).

Aloksan adalah senyawa yang sering digunakan untuk penelitian diabetes menggunakan hewan coba. Aloksan dapat menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan diabetes pada hewan coba. Efek diabetogenik pada aloksan ini dapat dicegah oleh senyawa penangkap radikal hidroksil (Studiawan & Santosa 2005).

Aloksan dapat menyebabkan DM tergantung insulin pada hewan percobaan dengan karakteristik mirip dengan DM pada manusia (Yuriska 2009). Aloksan menimbulkan kondisi diabetik eksperimental pada hewan uji dengan cepat yaitu 24-28 jam setelah injeksi aloksan subkutan. Tiga fase yang timbul setelah injeksi aloksan adalah fase I (hiperglikemia) terjadi setelah 2-4 jam setelah injeksi aloksan, fase II (hiperglikemia) selama kurang lebih 6 jam yang mungkin disebabkan pelepasan insulin karena kerusakan sel β , disusul fase III (hiperglikemia permanen) pada saat sel β mengalami degenerasi sehingga kandungan insulin menurun ke level sangat rendah (Bondy & Rosenberg 1980).

Menurut Ressang (1984), perubahan sel-sel yang ditimbulkan oleh zat ini juga menyerupai perubahan sel-sel pada diabetes, yaitu pengecilan pada pulau-pulau pankreas, pengurangan jumlah sel-sel β dan degranulasi. Efek senyawa aloksan terhadap sel β menyebabkan nekrosis dan degenerasi bahkan dilaporkan 40-50% sel β mengalami nekrosis (Suarsana *et al.* 2010).



Gambar 9. Struktur kimia aloksan

H. Stress Oksidatif

Stress oksidatif didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan antioksidan di dalam tubuh (Power & Jackson 2008). Ketidakseimbangan ini dikarenakan adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh (Finaund 2006).

Pada stress oksidatif terjadi peningkatan produksi dan penurunan kemampuan eliminasi molekul-molekul yang bersifat sangat reaktif di dalam tubuh seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Produksinya yang berlebihan ini akan menyebabkan stress oksidatif yang mengakibatkan keadaan patologik seperti kerusakan protein, lipid dan DNA (Johansen 2005).

Pada keadaan patologik seperti diabetes, peningkatan ROS dalam tubuh akan memicu kerusakan sel β pankreas dimana sel tersebut akan mengalami degranulasi sehingga mengakibatkan produksi di insulin terganggu (Panjuatiningrum 2009). Regenerasi sel β pankreas diawali dengan perbaikan sel-sel β pankreas yang baru (mitosis) yang menyebabkan jumlah sel β pankreas sehingga diharapkan produksi insulin meningkat sehingga kadar glukosa darah dapat berangsur-angsur menjadi normal (Yuriska 2009).

I. Hewan Percobaan

1. Klasifikasi hewan uji

Sistematika tikus putih jantan galur wistar (Sharp *et al* 1998) adalah sebagai berikut :

| | | |
|----------|---|--------------|
| Kingdom | : | Animalia |
| Filum | : | Chordata |
| Subfilum | : | Vertebrata |
| Kelas | : | Mamalia |
| Subkelas | : | Theria |
| Ordo | : | Rodensia |
| Subordo | : | Sciurognathi |

| | |
|-----------|----------------------------|
| Famili | : Muridae |
| Subfamili | : Murinae |
| Genus | : <i>Rattus</i> |
| Spesies | : <i>Rattus norvegicus</i> |

2. Karakteristik utama

Tikus putih relatif resisten terhadap infeksi dan pada umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktifnya tidak terganggu oleh adanya manusia di sekitarnya, suhu tubuh normal $37,5^{\circ}\text{C}$, laju respirasi 210 menit. Tikus putih bila diperlakukan kasar akan menjadi galak dan sering menyerang si pemegang (Smith & Mankowidjojo 1988).

J. Histopatologi Organ Pankreas

1. Pengertian histopatologi

Histopatologi merupakan studi tentang manifestasi struktur penyakit di bawah cahaya mikroskop. Pada histopatologi, dapat dibedakan histopatologi jaringan normal, variasi proses penyakit, dan perubahan-perubahan yang mungkin timbul sebagai hasil dari penelitian jaringan penyakit yang dilakukan (Chrissman *et al* 2004).

Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk mengetahui perubahan-perubahan yang terjadi pada pankreas tikus yang mengalami hiperglikemi akibat induksi aloksan (Rahayu *et al* 2006).

2. Struktur dan anatomi pankreas

Pankreas adalah suatu kelenjar eksokrin sekaligus juga kelenjar endokrin, mempunyai konsistensi yang lunak karena banyak mengandung jaringan kelenjar dan dibagi menjadi beberapa bagian yaitu kaput, korpus, dan kauda, dimana memiliki berat rata-rata 80 g.

Secara fisiologis fungsi pankreas dapat bertindak sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Fungsi endokrin pankreas dilakukan sekelompok sel yang disebut pulau Langerhans yang memproduksi hormon insulin dan glukagon yang penting untuk metabolisme karbohidrat. Fungsi eksokrin oleh kelenjar tubuloacinar,

pankreas menyekresi 500-1.200 ml getah pankreas setiap hari ke duodenum. Suatu enzim pencernaan yang terdiri atas amilase, tripsin dan lipase (Katzung 2012).

Pulau Langerhans pankreas merupakan gabungan sel dengan diameter 75-500 μm , yang tersebar (dalam bentuk pulau) dalam jaringan pankreas dan dipasok dengan banyak pembuluh darah. Keseluruhannya sering disebut organ pulau, untuk menyatakan ketidaktergantungannya secara morfologik dan fungsional. Masa utama sel pulau (sekitar 80%) disusun oleh sel B (sel β) yang diwarnai lemah, dan karena itu sel B terang (berwarna muda), yang memproduksi insulin.

3. Kerusakan pankreas

Pada hewan percobaan yang diinduksi aloksan, akan terjadi pembentukan radikal bebas dan radikal aloksan melalui metabolisme oksidasi reduksi. Radikal ini mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas (Suarsana *et al* 2010).

Lesi di pankreas tidak konstan dan jarang bernilai diagnostik. Perubahan khas lebih sering berkaitan dengan diabetes tipe 1 daripada tipe 2. Mungkin ditemukan satu atau lebih perubahan berikut :

3.1. Berkurangnya jumlah dan ukuran islet paling sering ditemukan pada diabetes tipe 1, terutama pada penyakit yang berkembang cepat. Sebagaimana besar islet tampak kecil, tidak menonjol dan sulit ditemukan. Pada diabetes tipe 2, kerusakan sel β terjadi belakangan dan biasanya tidak lebih dari 20-50%.

3.2. Degranulasi sel β yang sudah rusak. Hal ini lebih sering ditemukan pada pasien dengan diabetes tipe 1A yang baru didiagnosis, saat masih terdapat beberapa sel β .

3.3. Peningkatan jumlah dan ukuran islet merupakan gambaran khas pada neonatus nondiabetes yang lahir dari ibu diabetes. Diperkirakan sel islet janin mengalami hiperplasia sebagai respons terhadap hiperglikemia ibu (Kumar 2007).

4. Histopatologi Pankreas

Kerusakan pankreas yang terjadi akibat diabetes melitus dapat dilihat pada perubahan morfologi pulau Langerhansnya, baik diameter, jumlah pulau, jumlah sel endokrin dan persentase nekrosis sel yang terjadi.

4.1. Jumlah pulau Langerhans. Hewan percobaan DM akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal. Apabila jaringan pankreas normal diamati pada hewan percobaan, maka per lapang pandang pankreas ditemukan lebih dari dua buah pulau Langerhans. Sedangkan pada hewan percobaan DM tipe 2, kadang-kadang tidak satupun pulau Langerhans ditemukan (Andayani 2003).

4.2. Nekrosis. Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai oleh kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti dengan lisisnya sel dan peradangan jaringan sehingga terdapat ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans disebabkan karena nekrosis sel β (Nurdiana, 1998). Sel yang mengalami nekrosis dapat dilihat dari perubahan inti selnya yaitu adanya piknotik. Perubahan inti piknotik dengan ciri yang dapat diamati adalah inti sel yang mati menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap. Proses ini dinamakan piknotis, sedangkan intinya disebut inti piknotik (Price & Wilson 1992).

5. Metode pembuatan preparat histopatologi

Metode pembuatan preparat histopatologi menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin (HE). Pewarnaan hematoxylin eosin adalah jenis pewarnaan rutin yang paling umum dipakai. Prosedur ini digunakan dalam proses pembuatan preparat histopatologi dari berbagai spesies hewan sakit atau mati, yang memerlukan pemeriksaan histopatologi untuk peneguhan diagnosis hewan yang bersangkutan (Muntiha 2001). Pada pewarnaan HE, digunakan dua macam zat warna yaitu hematoksilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik), serta eosin yang digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda (Jusuf 2009).

Pengamatan jaringan pankreas dengan pewarnaan HE adalah morfologi umum jaringan pankreas meliputi keadaan sel-sel pada pulau Langerhans dan sel-sel asinar, adanya peradangan, serta menghitung jumlah pulau Langerhans per lapangan pandang (Uray 2009).

K. Landasan Teori

Diabetes melitus adalah suatu penyakit yang ditandai dengan kadar glukosa darah di atas normal. Penyebab diabetes melitus, atau yang biasa disebut sebagai penyakit kencing manis, adalah kekurangan hormon insulin yang berfungsi memungkinkan glukosa masuk ke dalam sel untuk dibakar dan dimanfaatkan sebagai sumber energi. Jika tubuh kekurangan hormon insulin maka glukosa akan menumpuk di dalam darah atau hiperglikemia, dan akhirnya dieksresikan lewat kemih tanpa digunakan.

Pada penderita diabetes melitus terjadi perubahan histopatologi pulau Langerhans yang disebabkan oleh kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes melitus. Hal tersebut terjadi karena hiperglikemia memicu pembentukan *reactive oxygen spesific* yang dapat menyebabkan stress oksidatif dan mempengaruhi pankreas.

Gambaran histopatologi pankreas pada kelompok tikus yang normal adalah kondisi pulau Langerhans sel pankreas dalam keadaan relatif baik yang ditandai dari kondisi islet Langerhans yang relatif rapat. Sedangkan pada kelompok diabetes, kondisi islet Langerhans mengalami kerusakan yang ditandai dari adanya ruang-ruang kosong di bagian tengah pulau Langerhans karena terjadinya nekrosis dan degenerasi sel-sel endokrin pulau Langerhans.

Untuk mengetahui perubahan histopatologi pulau Langerhans baik jumlah pulau maupun persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada jaringan pankreas menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin (HE). Pengamatan jaringan pankreas dengan pewarnaan HE adalah morfologi umum jaringan pankreas meliputi keadaan sel-sel pada pulau Langerhans, adanya peradangan serta menghitung jumlah pulau Langerhans per lapangan pandang (Uray 2009).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antidiabetes adalah faloak. Kulit batang faloak telah digunakan secara empiris sebagai bahan obat untuk penyakit diabetes, hepatitis dan gangguan pencernaan. Kulit batang faloak mengandung flavonoid yang memainkan peran penting dalam pengobatan diabetes dan pencegahan komplikasinya.

Penggunaan ekstrak etanol kulit batang faloak ini diharapkan mampu mempengaruhi kondisi histopatologi pankreas dengan meningkatkan jumlah pulau, dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans yang mengalami penurunan pada tikus diabetes akibat induksi dari aloksan serta meminimalkan dosis yang diberikan.

L. Hipotesis

Pertama, ekstrak etanol kulit batang faloak mempunyai efek meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus jantan galur Wistar.

Kedua, pemberian dosis tertentu ekstrak etanol kulit batang faloak memiliki efektivitas dalam meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel serta endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus jantan galur Wistar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang dari tanaman faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) yang diperoleh dari Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) yang diperoleh dari Kupang, Nusa Tenggara Timur yang dalam kondisi segar, bersih dan tidak busuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol kulit batang faloak terhadap diameter, jumlah pulau, densitas pulau dan jumlah sel endokrin pulau Langerhans pankreas tikus yang diinduksi aloksan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yakni variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit batang faloak dalam berbagai dosis.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kondisi organ pankreas setelah perlakuan, dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang faloak dalam berbagai dosis.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi hewan uji yang meliputi

berat badan, lingkungan lingkungan hidup, jenis kelamin, usia, galur, kondisi laboratorium dan peneliti sendiri.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, kulit batang faloak adalah kulit yang diperoleh dari batang faloak yang berasal dari Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Kedua, serbuk kulit batang faloak adalah serbuk yang diperoleh dari hasil pengeringan, penggilingan dan pengayakan kulit batang faloak.

Ketiga, ekstrak etanol kulit batang faloak adalah ekstrak yang dihasilkan dari penyarian dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian dipekatkan di atas *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

Keempat, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus jantan putih yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 180-220 g yang diinduksikan dengan aloksan 180 mg/kg BB sehingga mengalami diabetes.

Kelima, metode uji diabetes aloksan adalah metode yang digunakan dengan upaya merusak sebagian atau merusak total organ pankreas tikus.

Keenam, kondisi histopatologi pankreas adalah peningkatan jumlah pulau dan penurunan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pankreas terhadap jumlah sel normal.

Ketujuh, persentase nekrosis adalah persentase jumlah sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas yang mengalami piknosis terhadap jumlah sel normal.

Kedelapan, dosis efektif adalah dosis dari ekstrak etanol kulit batang faloak yang memiliki aktivitas meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans yang setara dengan kontrol positif.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat untuk pembuatan sampel terdiri dari timbangan digital, oven, ayakan no. 40, bejana maserasi, kertas saring, kain flanel, evaporator, corong pisah, botol dan alat glass.

Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan, sputit oral, dan kandang tikus.

Alat yang digunakan untuk preparat histopatologi adalah rangkaian alat bedah (scalpel, pinset, pisau, gunting, jarum, dan meja lilin), mikrotom putar (*rotary microtome*), object glass dan deck glass, mikroskop cahaya Olimphus CH20.

2. Bahan

2.1. Bahan Sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) yang diperoleh dari Kupang, Nusa Tenggara Timur.

2.2. Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aloksan (Merck), glibenklamid (Ifars), CMC-Na (Brataco), etanol 70%, NaCl 0,9% dan aquadest. Bahan untuk pengamatan histopatologi adalah formalin PA, larutan warna *Haematoxylin Eosin*, formaldehid, etanol, xylen dan alkohol dari Merck.

3. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 180-220 gram sebanyak 30 ekor.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman faloak

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopisnya. Hal ini dilakukan dengan mencocokan ciri-ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibuktikan dengan identifikasi yang dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi, Universitas Sebelas Maret.

2. Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk

Sampel penelitian yang digunakan adalah kulit batang Faloak yang diperoleh dari Kupang, Nusa Tenggara Timur (NTT). Sampel kulit batang faloak yang diperoleh disortasi basah lalu dicuci. Sampel kemudian dirajang dan

dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah itu, dilakukan sortasi kering dan diserbukan dengan menggunakan mesin serbuk serta diayak dengan menggunakan pengayak no.40 sampai didapatkan serbuk kulit batang faloak yang diinginkan.

3. Penetapan kadar air kulit batang faloak

Penetapan kadar air kulit batang faloak dilakukan dengan cara menimbang serbuk kulit batang faloak sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih apinya dibesarkan. Pemanasan dihentikan bila pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes dan diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut selanjutnya dihitung kadar air dalam satuan persen dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

4. Pembuatan ekstrak etanol kulit batang faloak

Pembuatan ekstrak etanol kulit batang faloak dilakukan dengan cara mengambil kulit batang faloak yang telah diserbuk, kemudian ditimbang sebanyak 500 gram. Serbuk dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap dan ditambahkan etanol 70% sebanyak 5000 ml. Setelah itu botol didiamkan selama 5 hari sambil sering diaduk dan pengocokan berulang. Setelah lima hari, filtrat disaring dengan kain flanel, sedangkan ampasnya yang telah disaring dimasukkan kembali ke dalam botol berwarna gelap dan dibilas lagi dengan etanol 70%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatan dengan *rotary evaporator* 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Depkes 1986).

5. Uji bebas alkohol

Tes bebas alkohol ekstrak etanol kulit batang faloak dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak kulit batang faloak ditambah asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Bila tidak ada bau ester (etil asetat) berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1979).

6. Identifikasi kandungan senyawa

6.1. Identifikasi flavonoid. Ekstrak etanol kulit batang faloak dimasukan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, ditambah 2 ml larutan alkohol : HCl (1:1) dan pelarut amil alkohol, lalu dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukan dengan terbentuknya warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol.

6.2. Identifikasi tanin. Sejumlah ekstrak ditambah 20 ml air panas kemudian didihkan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1%. Jika tanin positif maka akan terbentuk warna hijau violet setelah direaksikan dengan larutan besi (III) klorida (Depkes 1995).

6.3. Identifikasi saponin. Sebanyak 0,5 gram ekstrak kulit batang faloak dimasukan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah air panas 10 ml dan dikocok kuat-kuat. Tambahkan 1 tetes HCl 2N dan amati jika terjadi reaksi positif yang ditunjukan dengan buih yang terbentuk setinggi 1-10 cm dan tidak hilang.

6.4. Identifikasi alkaloid. Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak simplisia sebanyak 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrate sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1,5 ml HCl 2% kemudian dilanjutkan dengan penambahan 2 sampai 4 tetes reagen Mayer. Alkaloid positif terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harborne 1987).

6.5. Identifikasi terpenoid/steroid. Sejumlah tertentu ekstrak ditambahkan dengan satu tetes Liebermann Burchard yang terdiri dari 1 ml asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat 1 tetes. Terpenoid menunjukan reaksi positif dengan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan. Sedangkan, steroid menunjukan reaksi positif apabila muncul cincin biru kehijauan (Sarker 2006).

7. Penentuan dosis

7.1. Penentuan dosis aloksan. Pada penelitian ini, aloksan dilarutkan di dalam salin (0,9%) dan diberikan secara intraperitoneal pada dosis 180 mg/kg BB tikus.

7.2. Penentuan dosis glibenklamid. Dosis glibenklamid diambil berdasarkan penggunaannya pada manusia, yaitu 5 mg untuk 70 kg BB manusia. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Sehingga, dosis glibenklamid untuk tikus pada penelitian ini adalah 0,09 mg/200 gram BB tikus (0,45 mg/kg BB tikus).

7.3. Penentuan dosis ekstrak etanol. Dosis yang diberikan pada tikus mengacu pada dosis pemakaian tumbuhan kulit batang faloak secara tradisional. Penentuan dosis dilakukan setelah orientasi dengan mengkonversi rendemen pengeringan dan ekstraksi kulit batang faloak dari manusia ke 70 kg ke tikus 200 gram (faktor konversi : 0,018). Dosis yang akan diberikan kepada tikus dalam penelitian ini menggunakan tiga seri konsentrasi dosis yaitu dosis 1 ($\frac{1}{2} \times$ dosis empiris), dosis 2 (1 x dosis empiris) dan dosis 3 (2 x dosis empiris). Banyaknya ekstrak kental kulit batang faloak yang digunakan dihitung berdasarkan berat badan dari masing-masing tikus.

8. Pembuatan sediaan uji

8.1. Aloksan. Larutan aloksan monohidrat dengan konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 g aloksan monohidrat dalam larutan garam fisiologi pada volume 100 ml.

8.2. CMC Na 0,5%. CMC Na 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif. CMC Na 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g CMC Na 0,5% dengan aquadest hangat sedikit demi sedikit, kemudian dimasukan ke dalam mortir dan digerus sampai halus. Setelah itu, aquadest ditambahkan hingga 100 ml dan diaduk.

8.3. Glibenklamid. Suspensi glibenklamid dibuat dalam kadar 0,009%. Cara pembuatannya dimulai dengan menimbang serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg, kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC Na sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,09 mg/ml.

9. Pengelompokan dan perlakuan hewan uji

Tikus ditimbang dan diberi tanda. Sebelum perlakuan, selama satu minggu tikus diadaptasi terlebih dahulu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan berat rata-rata 180-

220 gram. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor yang secara acak dibagi dalam 6 kelompok. Setelah itu tikus dipuaskan selama 18 jam untuk mengukur kadar glukosa awal (T_0). Kemudian, masing-masing tikus diberikan aloksan dosis 180 mg/kg BB secara intraperitoneal kecuali pada 5 ekor tikus sebagai kontrol normal dan setelah 5 hari diperiksa kadar glukosa darahnya. Tikus yang kadar glukosanya naik >200 mg/dL dikelompokan, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus, dengan perlakuan yang diberikan yaitu:

- Kelompok 1 : Kelompok normal tanpa perlakuan
- Kelompok 2 : Kontrol negatif, tikus diberikan CMC Na 0,5%
- Kelompok 3 : Kontrol positif, tikus diberikan glibenklamid dosis 0,45 mg/kg BB
- Kelompok 4 : Tikus diberi ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 65 mg/kg BB
- Kelompok 5 : Tikus diberi ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 130 mg/kg BB
- Kelompok 6 : Tikus diberi ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 260 mg/kg BB

Setelah itu, tikus diambil darahnya untuk pengukuran kadar glukosa pertama (T_1). Kemudian, diberikan larutan uji secara oral setiap hari pada pagi hari selama 14 hari. Pada hari ke-15 semua tikus dikorbankan dengan cara didislokasi lehernya, setelah itu diambil organ pankreas untuk dilakukan uji histopatologinya.

E. Histopatologi Organ Pankreas

1. Pembuatan preparat histopatologi

Pertama, organ pankreas tikus yang telah didekapitasi diambil dan dimasukan dalam pot plastik. Organ langsung difiksasi dengan menggunakan formalin 10% PA agar preparat tidak cepat rusak, dan diberi label kode tikus sesuai kelompok perlakuan. Setelah itu, dilakukan pemotongan pada organ pankreas yang telah difiksasi tadi dan dimasukan ke dalam tissue cassette dan dicuci di bawah air mengalir selama 30 menit.

Kedua, tahap dehidrasi yaitu proses penarikan cairan jaringan. Jaringan pankreas yang telah dimasukan ke dalam tissue cassette direndam dengan

menggunakan etanol secara bertingkat berturut-turut etanol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 1 jam, kemudian etanol absolut I selama 1 jam, etanol absolut II selama 1 jam dan etanol absolut III selama 1 jam.

Ketiga, dilakukan proses penjernihan (*clearing*), dengan menggunakan larutan xylene, untuk menghilangkan alkohol (dealkoholisasi). Dimulai dengan memasukkan jaringan pankreas ke dalam xylene I selama 20 menit, kemudian xylene II selama 20 menit dan selanjutnya xylene III selama 20 menit.

Keempat, dilakukan proses infiltrasi parafin. Organ dimasukkan ke dalam parafin panas, untuk membuat jaringan menjadi lebih keras dan lebih mudah dipotong dengan mikrotom. Proses pertama yang dilakukan adalah dengan memasukkan jaringan ke dalam parafin I, parafin II dan parafin III masing-masing selama 1 jam pada suhu 60°C.

Kelima, dilakukan proses selanjutnya yakni tahap *embedding* atau penanaman jaringan dalam parafin, dengan memasukkan jaringan ke dalam blok parafin. Pemotongan dengan mikrotom menghasilkan lapisan dengan ketebalan 5 mikrometer, lapisan jaringan diletakkan di atas kaca objek untuk siap diwarnai.

Keenam, tahap pewarnaan hematoxylin eosin. Tahap ini diawali dengan deparafinisasi dengan xylen yang bertujuan untuk menghilangkan parafin pada jaringan. Dimulai dengan memasukkan jaringan ke xylen I selama 3 menit, dan xylen II selama 3 menit.

Ketujuh, dilakukan proses rehidrasi yang bertujuan mengembalikan cairan ke dalam jaringan dengan menggunakan larutan etanol. Tahap pertama yaitu dengan memasukkan jaringan ke dalam etanol absolut I dan absolut II masing-masing selama 3 menit, selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam etanol 80% dan 70% secara bergantian masing-masing selama 3 menit.

Kedelapan, dilakukan tahap *staining*, dimana jaringan dimasukkan ke dalam larutan pewarna. Jaringan dimasukkan ke dalam pewarna hematoxylin selama 10 sampai 20 menit, kemudian diamati apakah jaringannya sudah berwarna ungu. Selanjutnya, jaringan yang sudah diwarnai tadi dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit. Setelah itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan sediaan ke dalam pewarna eosin selama 10 menit.

Kesembilan, dilakukan rehidrasi, tujuannya untuk menarik air dari jaringan agar awet dan tidak cepat rusak. Jaringan dicelupkan 4 kali secara berurutan ke dalam larutan etanol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 30 detik. Selanjutnya direndam dengan etanol absolut dicelupkan sebanyak 4 kali, masing-masing selama 1 menit.

Kesepuluh dilakukan proses penjernihan atau *clearing*, dengan memasukan jaringan ke dalam larutan xylen I dan dilakukan *mounting*, yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan ditutup dengan deg glass (Lerebulan 2014).

2. Pemeriksaan histopatologi

Untuk dapat mengamati seluruh lapangan pandang pada daerah-daerah yang ditentukan, maka preparat jaringan pankreas diamati pada perbesaran 40-100x. Daerah yang diamati adalah daerah asinar yang merupakan tempat terdistribusinya sel-sel endokrin yang membentuk kumpulan tersendiri yang disebut pulau Langerhans dan sel dalam pulau Langerhansnya. Pada penelitian ini, preparat diamati dengan mikroskop cahaya Olympus CH20, sehingga sel yang diamati tampak jelas.

Untuk mengetahui persentase nekrosis dihitung jumlah inti sel dan jumlah sel yang mengalami piknosis. Setelah itu, dilakukan perbandingan antara jumlah sel yang mengalami piknosis dengan jumlah total sel pada jaringan pankreas, sehingga dapat ditentukan persentase kerusakan pada jaringan pankreasnya.

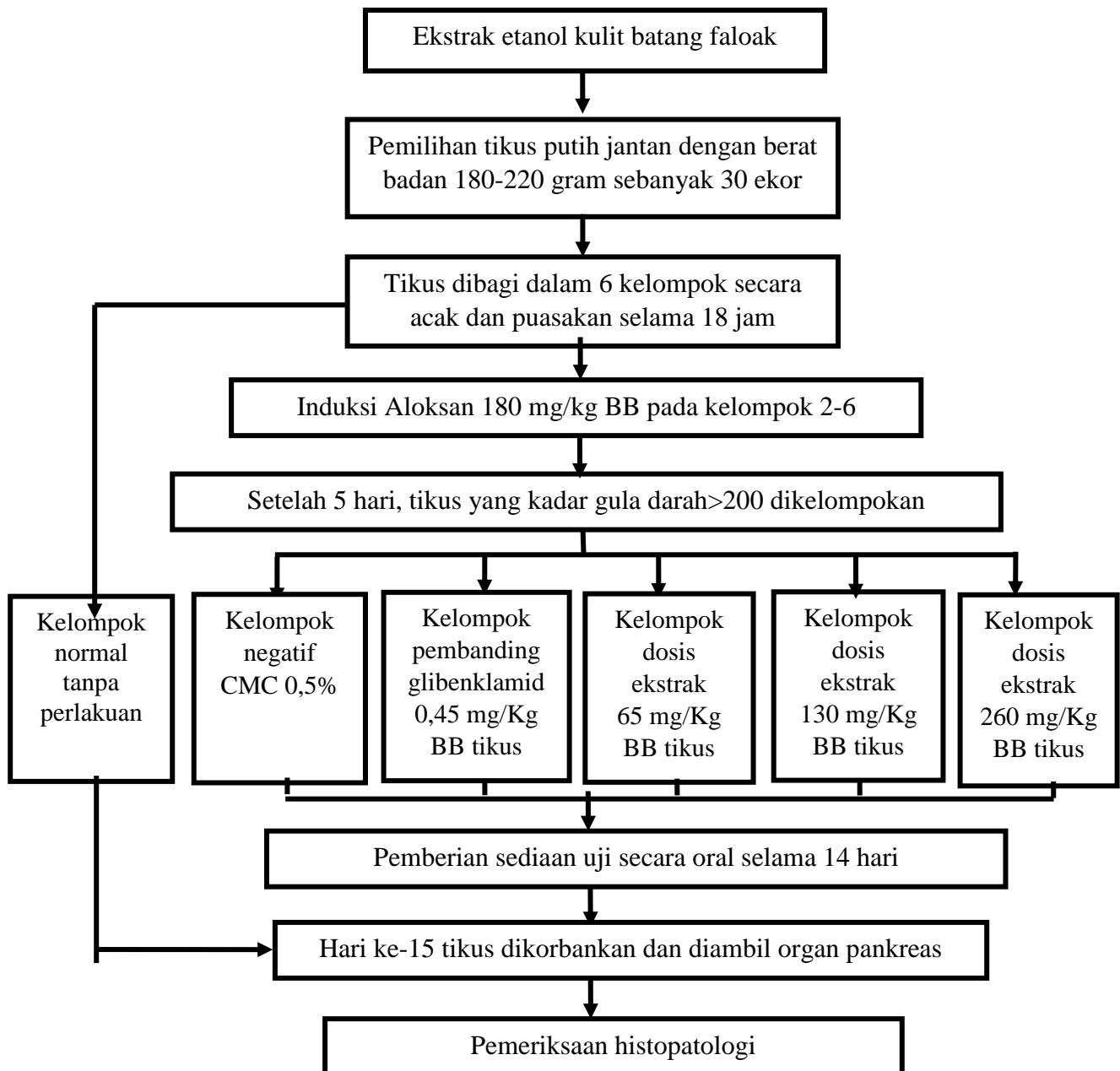
$$\text{Persentase nekrosis} = \frac{\text{Total inti piknosis sel pankreas}}{\text{Total inti sel pankreas}} \times 100\%$$

Jumlah pulau Langerhans (n) pada tiap preparat dihitung pada tiap lapang pandang. Hasil pengamatan didokumentasikan dengan melakukan pemotretan dengan menggunakan kamera digital.

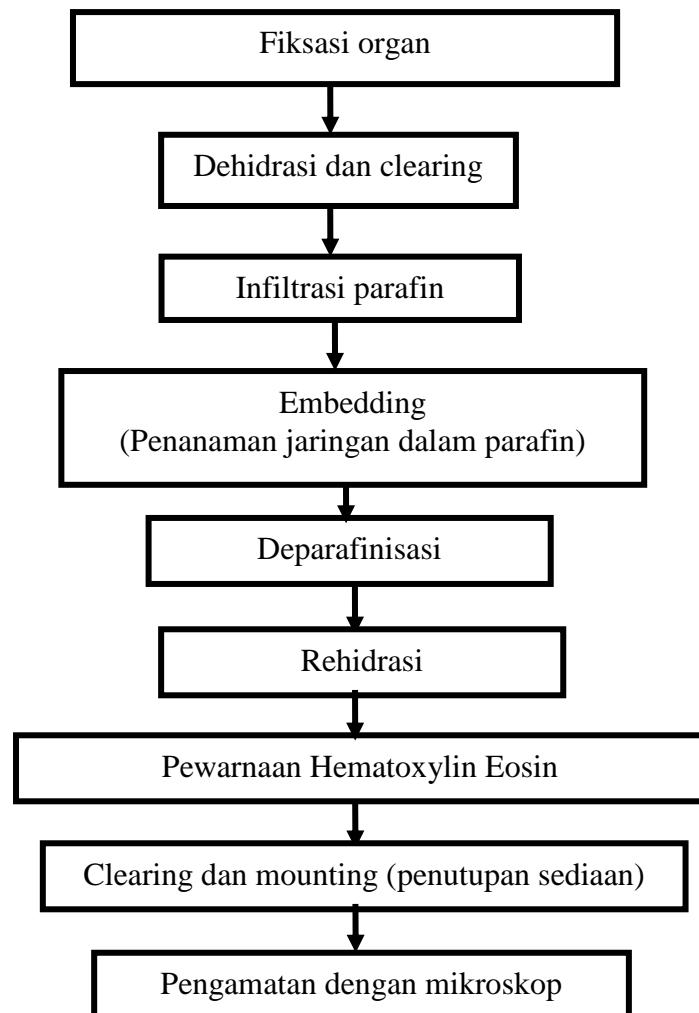
F. Analisa Statistik

Data presentase nekrosis sel endokrin yang diperoleh dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji distribusi normal (Kromogorov-Smirnov) yang bertujuan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Jika data yang didapatkan terdistribusi normal ($p>0,05$) maka dilanjutkan dengan uji parametrik (Anova satu jalan). Setelah itu dilanjutkan dengan Post Hoc test untuk mengetahui perbedaan bermakna di antara tiap-tiap kelompok.

G. Alur Penelitian



H. Alur Pemeriksaan Histopatologi



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi dan Deskripsi Tanaman Faloak

1. Determinasi tanaman

Kulit batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) yang digunakan sebagai bahan penelitian ini dideterminasi terlebih dahulu dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil serta menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret.

Berdasarkan hasil determinasi dari surat no : 201/UN27.9.6.4/Lab/2016 dinyatakan bahwa tumbuhan yang diteliti adalah benar-benar tanaman Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). Hasil determinasi tanaman faloak yang dilakukan berdasarkan C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963,1965) menunjukkan kunci determinasi sebagai berikut:

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-28b-29b-30b-31b-32b-33b-34b-35b-36b-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50a-94.Sterculiaceae. 1a-2a -15. *Sterculia*. 1-*Sterculia quadrifida* R.Br.

2. Deskripsi tanaman

Faloak merupakan pohon, menahun, tinggi 5-10 meter. Akarnya tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang tumbuh tegak, percabangan monopodial, bercabang banyak, berbentuk bulat, berkayu, permukaan kulit batang gundul, berwarna abu-abu muda hingga abu-abu kusam, ranting berwarna cokelat keabuan. Daun tunggal, terletak berseling, bentuk bulat telur, panjang 5-12 cm, lebar 4-8 cm, pangkal daun tumpul hingga berlekuk, tepi daun rata, ujung meruncing, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun mengkilat dan berwarna hijau tua, permukaan bawah daun mengkilat dan berwarna hijau muda; tangkai daun bulat, gundul,

berwarna hijau. Bunga majemuk, tumbuh dalam kumpulan kecil di ketiak daun di dekat ujung batang, berwarna kuning kehijauan hingga kuning-krem atau kuning keputihan. Buah berwarna hijau ketika muda, oranye di kulit luar dan oranye hingga merah di bagian dalam ketika masak. Biji bulat memanjang, panjang 8-12 mm, diameter 6-8 mm, berjumlah 8 per buah, berwarna hitam ketika masak.

B. Hasil Pembuatan Serbuk Kulit Batang Faloak

Tanaman faloak dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Kupang, Nusa Tenggara Timur. Kulit batang faloak yang berwarna cokelat dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci dengan air bersih kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai diperoleh kulit batang kering. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan mutu dan khasiat kulit batang faloak. Kulit batang faloak yang telah dikeringkan dihaluskan dan dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling kemudian diayak dengan pengayak no. 40 untuk memperoleh serbuk yang halus.

Penentuan persentase bobot kering terhadap bobot basah dilakukan dengan cara menimbang kulit batang faloak yang masih basah, kemudian hasilnya dibandingkan dengan bobot kulit batang faloak yang masih kering. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah kulit batang faloak dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah kulit batang faloak

| No. | Bobot basah (kg) | Bobot kering (kg) | Rendemen |
|-----|------------------|-------------------|----------|
| 1 | 3,6 | 1,8 | 50% |

Kulit batang faloak sebanyak 3,6 kg dikeringkan dan didapatkan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 50%. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah kulit batang faloak dapat dilihat pada lampiran 5.

C. Hasil Penetapan Kadar Air Kulit Batang Faloak

Serbuk kulit batang faloak yang diperoleh dilakukan penetapan kadar air dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Penetapan kadar air kulit batang faloak dimaksudkan agar mutu dan khasiat kulit batang faloak tetap terjaga. Persyaratan kadar air serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylen karena xylen memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih besar daripada air dan tidak bercampur dengan air. Hasil penetapan kadar air serbuk kulit batang faloak dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air kulit batang faloak

| No. | Berat serbuk (g) | Volume terbaca (ml) | Kadar air (%) |
|-----------|------------------|---------------------|---------------|
| 1 | 20 | 1,8 | 9 |
| 2 | 20 | 1,9 | 9,5 |
| 3 | 20 | 1,8 | 9 |
| Rata-rata | | | 9,16 |

Hasil perhitungan kadar air serbuk kulit batang faloak menggunakan alat *Sterling-Bidwell* didapat kadar air rata-rata 9,16%. Jadi, serbuk kulit batang faloak pada penelitian ini sudah sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan. Hasil perhitungan penetapan kadar air sebuk kulit batang faloak dapat dilihat pada lampiran 6.

D. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak

Serbuk kulit batang faloak ditimbang 500 gram, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 3750 ml dengan perbandingan 1:7,5 kemudian dimaserasi selama 5 hari dengan melakukan pengocokan 3 kali sehari. Kulit batang faloak yang telah dimaserasi disaring menggunakan kain flanel, dilanjutkan dengan kertas saring. Ampas atau residu yang tersisa kemudian dialiri kembali dengan etanol 70% sebanyak 1250 ml dan dibiarkan selama 2 hari. Hasilnya kemudian disaring dengan menggunakan kain flanel dan dilanjutkan

dengan kertas saring. Setelah itu, dilakukan penguapan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dilakukan pemeriksaan organoleptis yang bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dari ekstrak etanol kulit batang faloak yaitu ekstrak terbentuk kental dengan warna cokelat tua dan berbau khas. Ekstrak tersebut kemudian ditimbang untuk selanjutnya dihitung rendemen ekstrak kulit batang faloak. Hasil perhitungan ekstrak etanol dan rendemen kulit batang faloak dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak etanol kulit batang faloak

| No. | Berat serbuk (g) | Berat ekstrak (g) | Rendemen |
|-----|------------------|-------------------|----------|
| 1 | 500 | 67,678 | 13,5356% |

Dapat dilihat pada tabel 3, ekstrak kental yang didapat dari 500 gram serbuk kulit batang faloak sebesar 67,678 gram dan diperoleh rendemen 13,5%. Hasil rendemen pembuatan ekstrak etanol kulit batang faloak dapat dilihat pada lampiran 7.

E. Hasil Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak

Ekstrak etanol kulit batang faloak yang diperoleh diuji bebas alkohol. Ekstrak ditambah larutan asam asetat dan larutan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan hingga tidak tercium bau ester khas alkohol. Berdasarkan hasil uji bebas alkohol, ekstrak etanol kulit batang faloak tidak mengandung alkohol. Uji bebas alkohol dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi.

Tabel 4. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol kulit batang faloak

| Prosedur | Hasil | Keterangan |
|--|-------------------------|------------|
| Ekstrak + H ₃ COOH | Tidak tercium bau | (-) |
| + H ₂ SO ₄ condipanaskan | ester khas dari alkohol | |

F. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Kulit Batang Faloak

Ekstrak etanol kulit batang faloak dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpenoid dan steroid. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol kulit batang faloak dapat dilihat pada tabel 5.

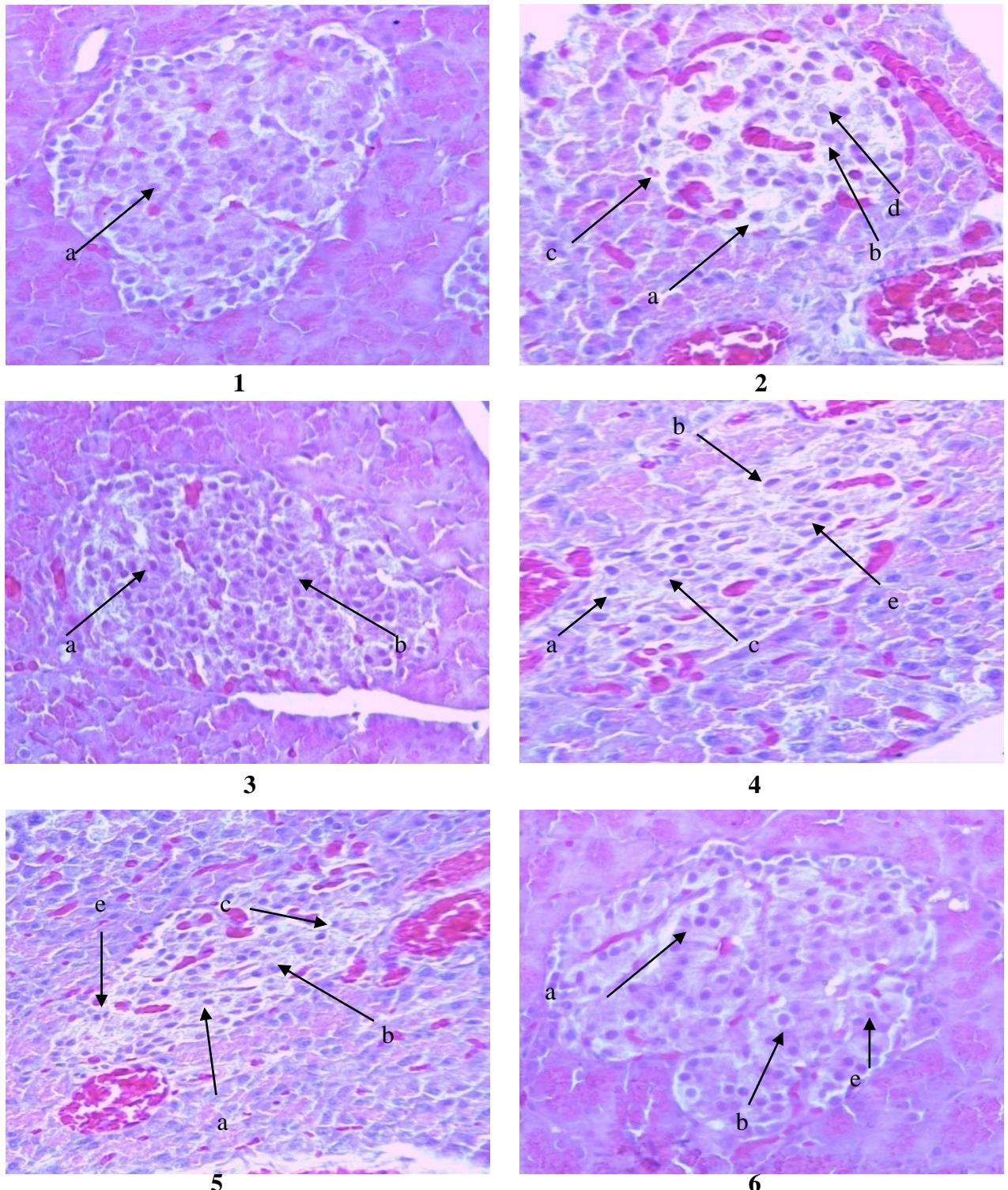
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol kulit batang faloak

| Kandungan Kimia | Hasil Penelitian | Interpretasi Hasil | Pustaka |
|-----------------|--|--------------------|--|
| Flavonoid | Warna jingga pada lapisan amil alkohol | + | Warna jingga pada lapisan amil alkohol |
| Tanin | Warna hijau violet | + | Terbentuk warna hijau violet |
| Saponin | Buih tinggi 1-10 cm | + | Buih tinggi 1-10 cm |
| Alkaloid | Endapan warna cokelat | + | Terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat |
| Terpenoid | Cincin kecoklatan | + | Cincin kecoklatan |
| Steroid | Cincin biru kehijauan | - | Cincin kecoklatan |

Dapat dilihat pada tabel 5, diketahui ekstrak etanol kulit batang faloak mengandung flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan terpenoid. Hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada lampiran 8.

G. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Pankreas

Metode pemeriksaan yang digunakan untuk melihat kondisi histopatologi pankreas hewan uji adalah metode pewarnaan Hematoxilyn Eosin (HE). Metode ini menggunakan pewarnaan ganda (*double staining*), sehingga hematoxilyn akan memulihkan inti dan struktur asam lainnya dari sel menjadi biru, sedangkan eosin akan memberikan warna merah pada sitoplasma dan kolagen (Junquera 2007).



Gambar 10. Pulau Langerhans potongan pankreas dengan pewarnaan HE perbesaran 40x

Keterangan:

(1) Kontrol normal. (2) Kontrol negatif. (3) Kontrol positif. (4) Kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg/kg BB (5) Kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg/kg BB (6) Kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg/kg BB

(a) Sel normal (b) sel yang mengalami piknosis (c) sel yang mengalami karioreksis (d) sel yang mengalami kariolisis (e) sel yang mengalami atrofi

Pewarnaan secara HE dilakukan untuk mengamati bentuk morfologi dan struktur jaringan pankreas tikus. Hasil pengamatan histopatologi pankreas dapat dilihat pada Gambar 10 dan lampiran 14. Pada kelompok normal menunjukkan gambaran kondisi normal atau sehat dari pulau Langerhans yang terlihat dari adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dengan bentuk sel yang seragam.

Hasil pewarnaan HE pada kontrol negatif yang telah diinduksi aloksan terlihat perubahan yaitu degenerasi atau kerusakan sel yang ditunjukkan dengan adanya susunan sel yang tidak teratur dan penyusutan bentuk sel menjadi lebih kecil (atrofi) dibandingkan dengan sel normal, sehingga bentuk sel menjadi tidak seragam (polimorf). Selain itu, dapat dilihat juga bahwa pulau Langerhans pada kelompok kontrol negatif mengalami nekrosis sel endokrin, yang ditunjukkan dengan adanya penyusutan inti sel menjadi lebih kecil (piknosis), kerusakan inti menjadi bentuk fragmen (karioreksis) dan hilangnya inti sel (kariolisis) (Lestari 2011). Adanya nekrosis atau kematian sel ini menyebabkan sel-sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok kontrol negatif menjadi lebih sedikit jumlahnya dan menyebabkan kekosongan dalam pulau Langerhans.

Hal ini menunjukkan bahwa aloksan dapat merusak sel endokrin pankreas khususnya sel β yang mengisi 80% dari volume pulau Langerhans dengan merusak biomakromolekul seperti lipid, fosfolipid, dan karbohidrat yang merupakan komponen dinding sel, serta DNA yang berada dalam inti sel (Dewanti 2015). Pewarnaan HE pada kontrol positif dan kelompok uji ekstrak etanol kulit batang faloak pada berbagai varian dosis memperlihatkan adanya perubahan pada sel-sel pulau Langerhansnya, yaitu terjadi regenerasi sel endokrin menuju bentuk normal dan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dalam bentuk yang seragam.

Untuk mengetahui dosis yang paling baik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, maka pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap jumlah pulau dan persentase nekrosis sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas tikus.

Jumlah pulau Langerhans diamati pada tiap lapangan pandang untuk mengetahui kerusakan yang terjadi akibat pemberian zat diabetogenik. Kelompok normal yang tidak diberikan perlakuan menunjukkan jumlah pulau yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada kelompok kontrol positif dan kelompok uji ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg/kg BB juga masih ditemukan lebih dari dua pulau Langerhans, sedangkan pada kelompok kontrol negatif kadang-kadang tidak ditemukan satupun pulau Langerhans pada tiap lapangan pandang. Hal ini terjadi karena rusaknya sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas yang disebabkan oleh induksi agen diabetogenik sehingga sekresi insulin ke dalam pembuluh darah menurun (Suarsana *et al* 2011). Kerusakan sel endokrin ini menyebabkan penyusutan pulau Langerhans menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang.

Pada penelitian ini juga dilakukan perhitungan persentase nekrosis sel endokrin pankreas. Hasil perhitungan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pankreas dapat dilihat pada tabel 6 dan lampiran 13.

Tabel 6. Rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau langerhans potongan jaringan pankreas tikus dengan pewarnaan HE

| Kelompok Perlakuan | Rata-rata persentase nekrosis (Mean \pm SD) |
|---------------------------|---|
| I | 13,09 \pm 3,45 |
| II | 39,66 \pm 3,74 |
| III | 16,92 \pm 5,00 |
| IV | 33,94 \pm 8,32 |
| V | 26,21 \pm 3,67 |
| VI | 21,54 \pm 3,64 |

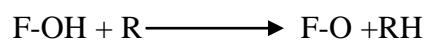
Keterangan :

- I : Kelompok normal
- II : Kelompok kontrol negatif
- III : Kelompok kontrol positif
- IV : Kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 65 mg/kg BB
- V : Kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 130 mg/kg BB
- VI : Kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak dosis 260 mg/kg BB

Persentase nekrosis sel endokrin tersebut diperoleh dengan menghitung total inti sel dan total inti sel yang mengalami nekrosis, yakni piknosis, karioreksis dan kariolisis. Data hasil menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap rata-rata persentase nekrosis sel endokrin yang dibuktikan dengan adanya perbedaan rata-rata persentase nekrosis.

Berdasarkan tabel 6, kelompok uji yang memberikan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans dari terkecil sampai terbesar berturut-turut adalah sebagai berikut: kelompok normal, kelompok kontrol positif, kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg/kg BB, kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg/kg BB, kelompok ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg/kg BB dan kelompok kontrol negatif.

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang faloak memiliki kemampuan untuk menurunkan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa yang ditunjukkan pada hasil identifikasi kualitatif pada tabel 5 yakni flavonoid. Flavonoid disebut sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antihiperglikemi karena dapat bertindak sebagai antioksidan dan inhibitor aldosa reduktase. Sebagai antioksidan, flavonoid menghambat pembentukan radikal bebas yang dapat merusak sel β pankreas dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus fenoliknya untuk berikatan dengan substituen radikal bebas sehingga membentuk radikal flavonoid (Sandhar *et al* 2011). Mekanisme reaksinya sebagai berikut:



Sebagai inhibitor enzim, flavonoid menghambat kerja enzim aldosa reduktase, yaitu enzim yang mengkatalisis perubahan glukosa menjadi sorbitol. Jika kadar sorbitol meningkat maka terjadi penurunan kadar ATP dalam mitokondria yang mengakibatkan peningkatan nekrosis sel β pankreas. Dengan adanya flavonoid yang terkandung dalam tanaman, maka flavonoid tersebut akan menghambat kerja enzim aldosa reduktase dan meningkatkan regenerasi sel-sel dalam pulau Langerhans pankreas serta memicu pelepasan insulin (Sandhar *et al* 2011). Kemampuan flavonoid dalam menghambat kerusakan dan meningkatkan

regenerasi sel inilah yang menyebabkan rendahnya persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok ekstrak etanol kulit batang Faloak. Persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans yang semakin mengecil mengindikasikan adanya peningkatan produksi insulin pada sel-sel endokrin pankreas sehingga dapat menurunkan kadar gula darah.

Hasil yang didapatkan juga menunjukkan bahwa dosis ekstrak etanol kulit batang faloak yang paling efektif dalam menurunkan persentase nekrosis yaitu dosis 260 mg/kg BB. Hal ini sesuai dengan uji penurunan kadar gula darah yang dilakukan oleh Diki Dongga (2017) di mana pemberian ekstrak etanol kulit batang faloak dengan tiga variasi dosis terbukti mampu menurunkan kadar gula darah tikus dan dosis efektif ekstrak etanol kulit batang faloak yang memberikan efek antihiperglikemi adalah dosis 260 mg/kg BB, dengan persentase penurunan kadar gula darah kelompok uji ekstrak etanol kulit batang faloak pada dosis 65 mg/kgBB, 130 mg/kg BB dan 260 mg/kg BB secara berturut-turut sebesar 26,32%; 38,09% dan 46,07%.

Pada kelompok kontrol positif yang diberikan glibenklamid juga menunjukkan penurunan persentase nekrosis pada sel endokrin pulau Langerhans dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Glibenklamid digunakan sebagai kontrol positif karena obat ini telah terbukti dan sudah digunakan oleh masyarakat luas dalam pengobatan penyakit diabetes dan diberikan secara peroral sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin pada setiap pemasukan glukosa.

Data hasil perhitungan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans tersebut kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorof-Smirnov* untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Dari data uji *Kolmogorof-Smirnof* diperoleh nilai signifikasi yang menyatakan bahwa data terdistribusi normal ($p>0,05$) sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian hipotesis menggunakan metode parametrik yaitu One Way Anova. Hasil yang diperoleh dari uji Anova adalah 0,000 ($p<0,05$) artinya terjadi perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan Post Hoc sehingga diketahui adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, pemberian ekstrak etanol kulit batang faloak dapat meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

Kedua, dosis ekstrak etanol kulit batang faloak yang efektif dalam meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan adalah dosis 260 mg/kg BB.

B. SARAN

Penelitian yang dilakukan ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode pewarnaan dan parameter yang berbeda terkait efek antidiabetes ekstrak etanol kulit batang faloak terhadap histopatologi pankreas.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat senyawa apa saja yang terkandung dalam kulit batang faloak yang mampu menghambat kerusakan pada pulau Langerhans pankreas.

DAFTAR PUSTAKA

- [ADA] American Diabetes Association. 2010. *Standards of Medical Care in Diabetes 2010*.
- Aklima S, Charunawan K, Thaniawattananon P. 2013. Dietary behavior among patient with type 2 diabetes mellitus in Indonesia. *Nurse Medical Journal Noursing*. 3(1): 499-509.
- Andayani Y. 2003. mekanisme aktivitas antihiperglikemik ekstrak buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) pada tikus diabetes dan identifikasi komponen bioaktif [Disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Anin YM. 2014. uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol klika faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) dengan metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) [Skripsi]. Makasar: Fakultas Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makasar.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Farida Ibrahim, penerjemah. Jakarta: UI Press.
- Bondy PK, Rosenberg. 1980. *Metabolic Control and Disease 8th Edition*. Tokyo: Saunders Company.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta: Sagung Seto
- Chrissman JW. 2004. Best practices guideline: Toxicologic histopathology. *Society of Toxicologic Pathology Guideline*. 32(1) : 126-131
- Ciulei J. 1984. *Metodology for Analysis of Vegetables and Drugs*. Bucharest Rumania: Faculty of Pharmacy. Pp. 11- 26.
- Dalimartha S, Adrian F. 2012. *Makanan & Herbal untuk Penderita Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadatya.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Jilid III*. Jakarta: Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Depkes RI
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitokimia: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Depkes RI

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Dewanti T, Wijayanti N, Handayani D, Rachmawati N, 2015. *Efek Hipoglikemik Ekstrak Cincau Hitam (Mesona Palustaris BL) pada Tikus Wistar Diabetes yang di induksi Aloksan*. Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Brawijaya: Malang.
- Diki Dongga RY. 2017. aktivitas antidiabetes ekstrak etanol kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) terhadap kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Finaund JL. 2006. Oxidative stress, relationship with exercise and training. *Journal Sports Med* 36 (4), 327-358.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid ke-1. Yogyakarta: Penebar Swadaya.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *International Centre For Science And High Technology*.
- Harbone, JB. 1987. *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi 4. Bandung : ITB.
- Harvey RA & Pamela CC. 2009. *Farmakologi, Ulasan Bergambar*. Ahli bahasa: Dian R, Husny M, Linda D & Lukman YR, Editor bahasa Indonesia: Adhy T & Carolina S. Edisi 4. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Lippincott's illustrated reviews: pharmacology*.
- Iskandar J. 2009. *Kencing Manis*. Jakarta: Kelompok Gramedia
- Ismini IF, Zubaidah E. 2013. Studi komplikasi pemberian cuka salak dan cuka anggur terhadap penurunan glukosa darah dan histopatologi sel pankreas pada tikus wistar jantan diabetes melitus yang diinduksi Streptozotocin. *Medika Eksakta* 1-19
- Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. 2005. Oxydative stress and the use of antioxidant in diabetes. *Linking Basic Science to Clinical practice*.
- Junquiera LC. 2007. *Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik*. Histology Dasar: teks dan atlas. Edisi 10. Jakarta

- Jusuf AA. 2009. *Histoteknik Dasar*. Depok: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.
- Katzung, BG, Masters SB, Trevor AJ. 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 12. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- [Kemenkes] Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 261/Menkes/SK/IV/2009.
- Kim *et al.* 2006. Hypoglycemic and antihyperlipidemic effect of four korean medicinal plants in alloxan induced diabetic rats. *Am. J. Biochem. Biotech.* 2:154-160.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Ed ke-7. Volume ke-2. Bram Pendit, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Robbins Basic Pathology 7thed*.
- Lerebulan EF. 2014. aktivitas kombinasi ekstrak etanolik batang brotowali (*Tinespora crispa* (L) Miers) dan fraksi ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook. F. & Th) terhadap nekrosis dan jumlah sel β pankreas tikus yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Lestari A, Mulyono A. 2011. *Analisis Citra Ginjal untuk Identifikasi Sel Pikknosis dan Sel Nekrosis*. Jurnal Neutrino Vol. 4, No.1
- Mansjoer *et al.* 2001. *Kapita Selektia Kedokteran Jilid I*. Edisi Ke-3. Jakarta: Media Aesculapicus Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Menkes RI. 2014. Pusat Data dan Informasi tentang Diabetes Melitus. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Misnadiarly. 2006. *Diabetes Melitus: Mengenali gejala, menanggulangi, mencegah komplikasi*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Moore, Couthney M. 1997. *Terapi Diet dan Nutrisi*. Jakarta: Hipokrates
- Muntiha M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). *Temu Tekhnis Fungsional Non Peneliti*.
- Nue EEM. 2016. pengaruh ekstrak etanol kulit batang faloak (*Sterculia sp.*) terhadap penurunan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi glukosa [Abstrak]. Kupang: Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.

- Nurdiana NP, Setyawati, Ali M.1998. Efek streptozotocin sebagai bahan diabetogenik pada tikus wistar dengan cara pemberian intraperitoneal dan intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*
- Panjuatiningsrum F. 2009. pengaruh pemberian buah naga merah (*Hylocerreus polyhizus*) terhadap kadar glukosa darah tikus putih yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Power SK, Jackson MJ. 2008. Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanism and impact on muscle force production. *Phsiol Rev*1243-1276.
- Price SA, Wilson L Mc C. 1992. *Patologis Konsep Klinik Proses-proses Penyakit*. Ed-6. Dharma A, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Raharjo TJ. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Rahayu L, Damayanti R, Thamrin. 2006. Gambaran histopatologi pankreas tikus hiperglikemia setelah mengkonsumsi k-Karagenan dan i-Karagenan. *Ilmu Kefarmasian Indonesia* 4: 96-101
- Ranta F, Wasrin S, Pribadi ES, Nawawi DS. 2012. Aktivitas anticendawan zat ekstraktif faloak (*Sterculia comosa* Wallich). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis Vol. 10*.
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid : Struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian* 9(2).
- Ressang AA. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. Edisi ke-2. Denpasar: Percetakan Bali.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H.2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 52:581-587.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari : *The Organic Constituen of Higher Plant*. Hlm 157.
- Russell-Smith J, Djoeroemana S, Maan J, Pandanga P. 2007. Rural livelihoods and burning practices in savanna landscapes of Nusa Tenggara Timur, Eastern Indonesia. *Hum Ecol*. 35: 345–359.
- Sandhar *et al.* 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids, *International Pharmaceutica Scienza*, Vol 1.
- Sarker, Satyajit D., Zahid L., Alexander I., Gray. 2006. *Natural Product Isolation Second Edition*. Human Press, New Jersey.
- Sharp PE, LaRegina MC, Suckw Ma. 1998. *The Laborotory Rat*. USA: CRC Press.

- Siswadi S, S.G, Rianawati H. 2013. Potential distribution and utilization of faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br 1844), *Proceeding International Conference of Forest and Biodiversity Manado*.
- Smith JB, Mankowidjojo. 1998. *Pemeliharaan, Pembibitan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI-Press. Hlm 10-36
- Soegondo S. 2013. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.
- Studiawan H, Santosa MH. 2005. Uji aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun *Eugenia polyantha* pada mencit yang diinduksi aloksan. *Media Kedokteran Hewan* 21: 62-65.
- Suarsana IN, Priosoeryanto BP, Bintang M, Wresdiyati T. 2010. Profil glukosa darah dan ultrastruktur sel beta pankreas tikus yang diinduksi senyawa aloksan. *JITV* 15: 118-123
- Suherman, Suharti K. *Insulin dan antidiabetik oral*. Diacu dalam: Gunawan, SG, Setibudy R, Nafrialdi, Elysabeth.2007. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Departemen Farmakologi
- Sukandar EY,*et al.* 2008. *ISO Farmakoterapi Buku 1*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. hlm 26.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of rat pancreas. *J Physiol Res* 50:537-546
- Tan H, Rahardja K. 2006. *Obat-Obat Penting*. Ed ke-6. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Uray AD. 2009. profil sel β pulau Langerhans jaringan pankreas tikus diabetes mellitus yang diberi *Virgin Coconut Oil* (VGO) [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian.
- Wijayakusuma H. 2004. *Bebas Diabetes Mellitus ala Hembing*. Jakarta: Puspa Swara
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*.Edisi ke-5. Soendani Noerono, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Yani, Winda. 2014. Pengaruh ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) *Solan Ex Cornea* terhadap kadar glukosa darah mencit terinduksi aloksan dan profil KLT fraksi aktif [Skripsi]. Bengkulu: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Bengkulu.
- Yuriska AF. 2009. efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar [KTI]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.

Lampiran 1. Surat determinasi tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS SEBELAS MARET

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingen Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375

<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 201/UN27.9.6.4/Lab/2016
 H a l : Hasil Determinasi Tumbuhan
 Lampiran : -

Nama Pemesan : Lili Ria Sairlay
 NIM : 19133885A
 Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Sterculia quadrifida* R.Br.
Familia : Sterculiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1965) :
 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-
 34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50a _____ 94. Sterculiaceae
 1a-2a _____ 15. *Sterculia*
 1 _____ *Sterculia quadrifida* R.Br.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tinggi tanaman 5-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : tumbuh tegak, percabangan monopodial, bercabang banyak, berbentuk bulat, berkayu, permukaan kulit batang gundul, berwarna abu-abu muda hingga abu-abu kusam, ranting berwarna coklat keabuan. Daun : tunggal, terletak berseling, bentuk bulat telur, panjang 5-12 cm, lebar 4-8 cm, pangkal daun tumpul hingga berlekuk, tepi daun rata, ujung meruncing, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun mengkilat dan berwarna hijau tua, permukaan bawah daun mengkilat dan berwarna hijau muda; tangkai daun bulat, gundul, berwarna hijau. Bunga : majemuk, tumbuh dalam kumpulan kecil di ketiak daun di dekat ujung batang, berwarna kuning kehijauan hingga kuning-krem atau kuning keputihan. Buah : berwarna hijau ketika muda, oranye di kulit luar dan oranye hingga merah di bagian dalam ketika masak. Biji : bulat memanjang, panjang 8-12 mm, diameter 6-8 mm, berjumlah 8 per buah, berwarna hitam ketika masak.

Surakarta, 23 Desember 2016

Mengetahui,
 Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyamingsih, M.Si.
 NIP. 19660714 199903 2 001

Penanggungjawab
 Determinasi Tumbuhan



Suratman, S.Si., M.Si.
 NIP. 19800705 200212 1 002

Lampiran 2. Ethical clearance



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital

RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University

Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE KELAIKAN ETIK

Nomor : 191 / III/ HREC /2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret University Of Surakarta

Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

after reviewing the proposal design, herewith to certify
setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
Bawa usulan penelitian dengan judul

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG FALOAK (*Streulcia Quadrifida* R.Br)
TERHADAP HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Principal investigator : Lili Ria Sairlay
Peneliti Utama 19133885 A

Location of research : Lab. Pusat Antar Universitas, UGM
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
Dinyatakan laik etik

Issued on : 11 Maret 2017



Lampiran 3. Foto tanaman faloak

Pohon Faloak



Kulit batang Faloak

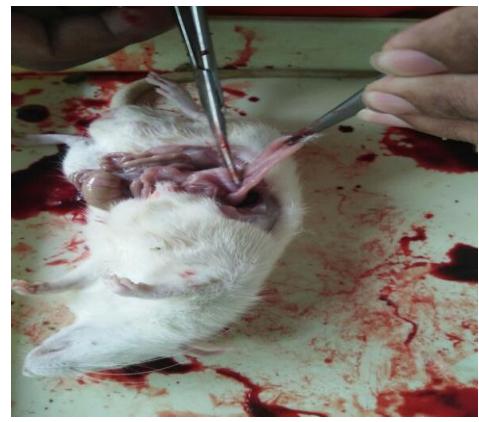


Serbuk kulit batang Faloak



Ekstrak etanol kulit batang
Faloak

Lampiran 4. Foto hewan percobaan, proses pembedahan, pankreas tikus.



Lampiran 5. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah kulit batang faloak

Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah kulit batang faloak

| No. | Bobot basah (kg) | Bobot kering (kg) | Rendemen |
|-----|------------------|-------------------|----------|
| 1 | 3,6 | 1,8 | 50% |

Perhitungan rendemen :

$$\% \text{ rendemen kering} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,8}{3,6} \times 100\%$$

$$= 50\%$$

Lampiran 6. Hasil penetapan kadar air kulit batang faloak

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air kulit batang faloak

| No. | Berat serbuk (g) | Volume terbaca (ml) | Kadar air (%) |
|-----------|------------------|---------------------|---------------|
| 1 | 20 | 1,8 | 9 |
| 2 | 20 | 1,9 | 9,5 |
| 3 | 20 | 1,8 | 9 |
| Rata-rata | | | 9,16 |

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_1 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,8 \text{ mL}}{2 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 9 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_2 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,9 \text{ mL}}{2 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 9,5 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_3 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,8 \text{ mL}}{2 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 9 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata kadar air serbuk kulit batang faloak} &= \frac{\text{Kadar air}_1 + \text{kadar air}_2 + \text{kadar air}_3}{3} \\
 &= \frac{9\% + 9,5\% + 9\%}{3} = 9,16\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Perhitungan rendemen ekstrak kulit batang faloak

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol kulit batang faloak

| No. | Berat simplisia (g) | Berat ekstrak (g) | Rendemen |
|-----|---------------------|-------------------|----------|
| 1 | 500 | 67,678 | 13,5356% |

Perhitungan rendemen :

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen ekstrak etanol kulit batang faloak} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{67,678 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 13,5356\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak kulit batang faloak

1. Flavonoid



Ekstrak + 2 mL metanol + serbuk Mg 0,1 gram + HCl 5 tetes
→ Warna merah (+)

2. Tanin



Ekstrak + 20 mL air panas, disaring + FeCl_3 5 tetes → Warna hijau violet (+)

3. Saponin



Ekstrak + HCl 2N 1 → tetes buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm (+)

4. Alkaloid



Ekstrak + Reagen Mayer 2 tetes \rightarrow endapan dan kekeruhan berwarna coklat (+)

5. Terpenoid/steroid



Ekstrak + 20 mL air panas, disaring + H_2SO_4 anhidrat 2 tetes + HCl pekat 1 tetes \rightarrow Cincin kecoklatan pada perbatasan larutan (Terpenoid (+), Steroid (-))

Lampiran 11. Perhitungan dosis dan volume pemberian

1. Aloksan

Pembuatan aloksan sebagai penginduksi diabetes dibuat dengan konsentrasi 1% dengan cara :

$$\begin{aligned}\text{Aloksan 1\%} &= 1 \text{ g/100 mL} \\ &= 1000 \text{ mg/100 mL} \\ &= 10 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Larutan aloksan 1% sebagai penginduksi dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL larutan NaCl. Dosis aloksan untuk tikus adalah 180 mg/kgBB secara intraperitoneal.

$$\begin{aligned}180 \text{ mg/g BB tikus} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 180 \text{ mg} \\ &= 36 \text{ mg/200 g BB tikus}\end{aligned}$$

Jadi, volume pemberian untuk tikus dengan berat badan 200 g adalah :

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian aloksan} &= \frac{36 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 3 \text{ mL untuk 200 g BB tikus}\end{aligned}$$

2. CMC Na 0,5%

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi CMC 0,5\%} &= 0,5 \text{ g/100 mL aquadest} \\ &= 500 \text{ mg/100 mL aquadest} \\ &= 5 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Larutan stok CMC 0,5\% dibuat 100 mL} &= \frac{100 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \times 500 \text{ mg} \\ &= 500 \text{ mg/100 mL aquadest} \\ &= 0,5 \text{ g/100 mL aquadest}\end{aligned}$$

Ditimbang serbuk CMC 0,5% kemudian disuspensikan dengan aquadest panas *ad* 100 mL sampai homogen. Suspensi ini digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*.

3. Glibenklamid

Dosis terapi glibenklamid sekali pemakaian untuk manusia 70 Kg adalah 5 mg. Faktor konversi dari manusia 70 Kg ke tikus 200 gram adalah 0,018 sehingga dosis glibenklamid untuk tikus 200 gram adalah $5 \text{ mg} \times 0,018 = 0,09 \text{ mg}/200 \text{ gram BB tikus}$ ($0,45 \text{ mg}/\text{Kg BB tikus}$).

- Larutan stok glibenklamid 0,009%

$$\frac{9 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = \frac{0,009 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 0,009 \% \text{ b/v} \sim 0,09 \text{ mg/mL}$$

- Volume pengoran glibenklamid :

$$\text{Volume (mL)} = \frac{0,09 \text{ mg}}{0,09 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$

Untuk 200 gram tikus

Jadi, volume pemberian untuk tikus yang memiliki berat 200 gram dengan larutan stok glibenklamid 0,009% adalah 1 mL.

4. Dosis ekstrak etanol kulit batang faloak

Dosis yang digunakan berdasarkan dosis empiris kulit batang faloak pada manusia dewasa 70 Kg sebesar 20 gram berat basah. Dosis ekstrak diperoleh setelah dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi, besarnya rendemen pengeringan yang diperoleh dikonversi dengan dosis empiris manusia, kemudian dosis ekstrak dikonversikan ke tikus 200 gram dengan faktor konversi 0,018.

- Berat kulit batang faloak sebelum dibersihkan = 4 Kg
- Berat basahkulit batang faloak setelah bersih = 3,6 Kg
- Berat kulit batang faloak setelah dioven = 1,8 Kg
- Rendemen bobot kering = 50%
- Pembuatan ekstrak : ditimbang sebanyak 500 gram serbuk kulit batang faloak dan dimerasi dengan menggunakan 5000 mL etanol 70%. Dari

hasil maserasi selama 7 hari diperoleh ekstrak kental sebanyak 67,678 gram. Rendemen ekstrak = 13,5356%

- Dosis empiris pada manusia 70 Kg = 20 gram (berat basah)
- Berat kering dosis empiris = Rendemen bobot kering × Berat basah

$$= 20 \text{ gram} \times \frac{50}{100}$$

$$= 10 \text{ gram}$$
- Dosis ekstrak pada manusia = Rendemen ekstrak × Berat kering dosis empiris

$$= \frac{13,5356}{100} \times 10 \text{ gram}$$

$$= 1,35356 \text{ gram} \sim 1,4 \text{ gram}$$
- Dosis pada manusia dikonversikan ke tikus 200 gram dengan faktor konversi 0,018 = 1,4 gram × 0,018

$$= 0,0252 \text{ gram} / 200 \text{ gram BB tikus}$$

$$= 0,126 \text{ gram} / \text{Kg BB tikus}$$

$$= 126 \text{ mg} / \text{Kg BB tikus} \sim 130 \text{ mg} / \text{Kg BB tikus}$$

Maka, dosis yang dapat diberikan kepada tikus adalah sebagai berikut :

- a. Dosis pertama ($\frac{1}{2} \times \text{DE}$) $= \frac{1}{2} \times 130 \text{ mg/Kg BB tikus}$
 $= 65 \text{ mg/Kg BB tikus}$
- b. Dosis kedua ($1 \times \text{DE}$) $= 1 \times 130 \text{ mg/Kg BB tikus}$
 $= 130 \text{ mg/Kg BB tikus}$
- c. Dosis ketiga ($2 \times \text{DE}$) $= 2 \times 130 \text{ mg/Kg BB tikus}$
 $= 260 \text{ mg/Kg BB tikus}$

Lampiran 12. Hasil penimbangan hewan uji dan dosis pemberian

| Perlakuan | Tikus 1 (gram) | Tikus 2 (gram) | Tikus 3 (gram) | Tikus 4 (gram) | Tikus 5 (gram) |
|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Kontrol normal | 162 | 164 | 180 | 199 | 159 |
| Kontrol negatif (CMC 0,5%) | 170 | 180 | 168 | 162 | 161 |
| Kontrol positif (Glibenklamid) | 157 | 155 | 156 | 165 | 166 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak (65 mg kg/bb) | 161 | 199 | 175 | 164 | 169 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak (130 mg kg/bb) | 186 | 178 | 192 | 179 | 177 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak (260 mg kg/bb) | 160 | 181 | 162 | 171 | 169 |

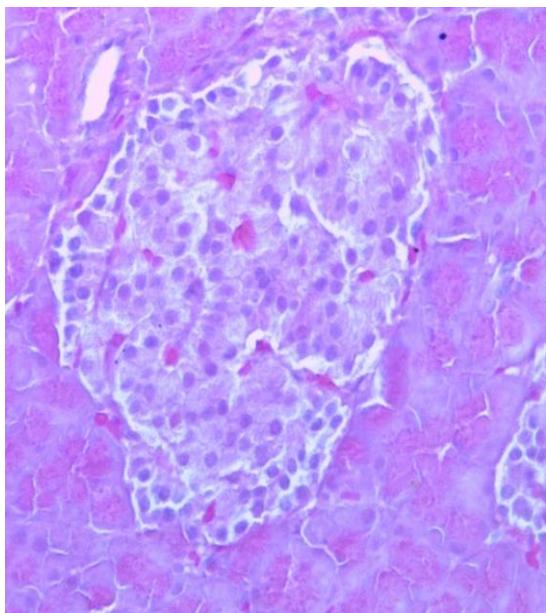
Rumus perhitungan dosis ekstrak etanol :

$$\text{Dosis pemberian} = \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{Dosis ekstrak}$$

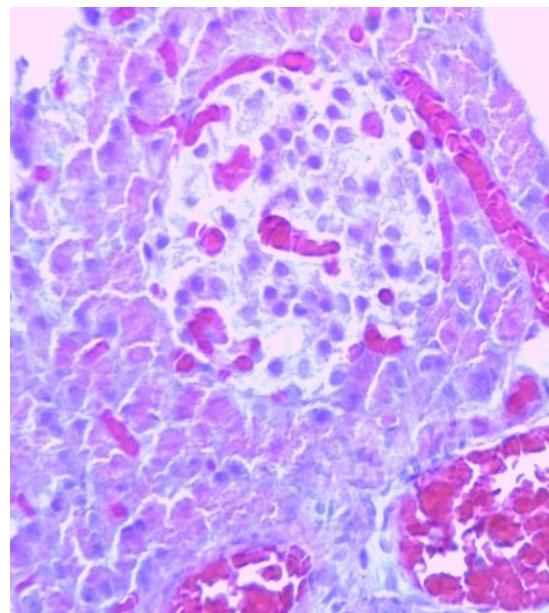
Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus tersebut maka diperoleh dosis pemberian pada tikus berdasarkan berat badannya seperti yang terlihat pada tabel di atas.

Lampiran 13. Hasil perhitungan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans

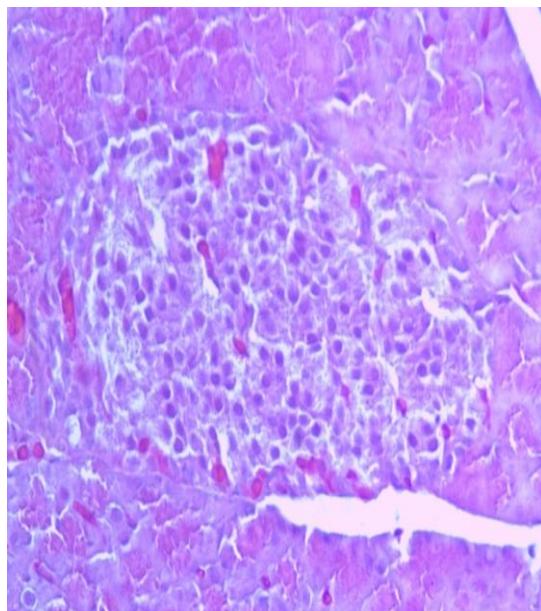
| Kelompok | Kode tikus | Total inti sel | Total inti piknotik | Presentase nekrosis (%) | Rata-rata presentase nekrosis | SD |
|----------|------------|----------------|---------------------|-------------------------|-------------------------------|------|
| I | 1 | 112 | 11 | 9,82 | | |
| | 2 | 118 | 13 | 11,02 | | |
| | 3 | 104 | 17 | 16,37 | | |
| | 4 | 109 | 12 | 11,01 | | |
| | 5 | 110 | 19 | 17,27 | 13,09 | 3,45 |
| II | 1 | 14 | 5 | 35,71 | | |
| | 2 | 25 | 10 | 40 | | |
| | 3 | 16 | 7 | 43,75 | | |
| | 4 | 14 | 6 | 42,86 | | |
| | 5 | 25 | 9 | 36 | 39,66 | 3,74 |
| III | 1 | 88 | 10 | 11,36 | | |
| | 2 | 86 | 12 | 13,95 | | |
| | 3 | 68 | 15 | 22,05 | | |
| | 4 | 76 | 17 | 22,37 | | |
| | 5 | 74 | 11 | 14,86 | 16,92 | 5,00 |
| IV | 1 | 40 | 8 | 20 | | |
| | 2 | 41 | 17 | 41,46 | | |
| | 3 | 30 | 11 | 36,67 | | |
| | 4 | 34 | 13 | 38,24 | | |
| | 5 | 30 | 10 | 33,33 | 33,94 | 8,32 |
| V | 1 | 52 | 12 | 23,07 | | |
| | 2 | 59 | 15 | 25,42 | | |
| | 3 | 40 | 10 | 25 | | |
| | 4 | 43 | 14 | 32,56 | | |
| | 5 | 68 | 17 | 25 | 26,21 | 3,67 |
| VI | 1 | 60 | 12 | 20 | | |
| | 2 | 71 | 19 | 26,76 | | |
| | 3 | 62 | 13 | 20,97 | | |
| | 4 | 76 | 14 | 18,42 | 21,54 | 3,64 |

Lampiran 14. Hasil histopatologi organ pankreas

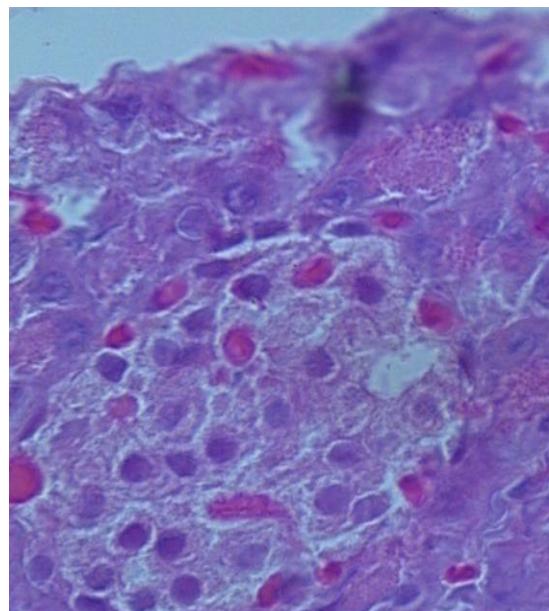
Kontrol Normal



Kontrol Negatif

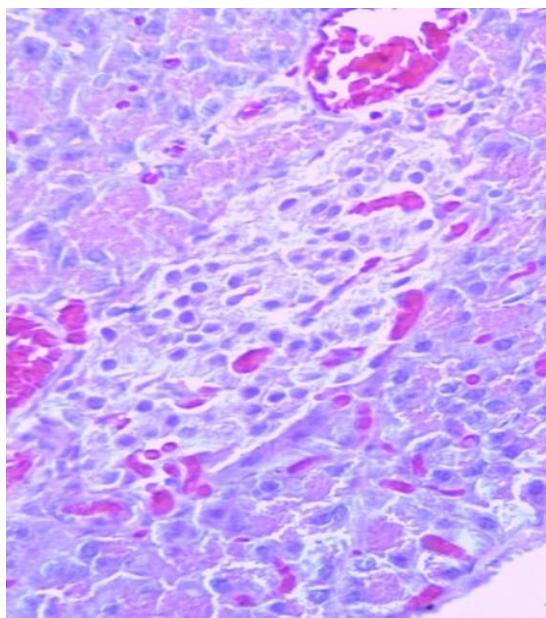


Kontrol Positif

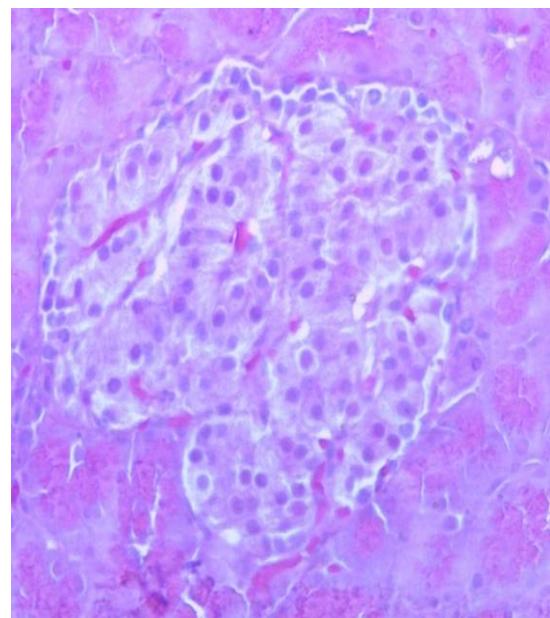


Ekstrak etanol kulit batang

faloak 65 mg/kg bb



Ekstrak etanol kulit batang
faloak 130 mg/kg bb



Ekstrak etanol kulit batang
faloak 260 mg/kg bb

Lampiran 15. Hasil uji statistik presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans

Descriptive Statistics

| | N | Mean | Std. Deviation | Minimum | Maximum |
|----------------------------------|----|-------|----------------|---------|---------|
| Presentase nekrosis sel endokrin | 29 | 60,59 | 31,033 | 9,82 | 43,75 |

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | Presentase nekrosis sel endokrin |
|----------------------------------|----------------|----------------------------------|
| N | | 29 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 60,59 |
| | Std. Deviation | 31,033 |
| Most Extreme Differences | Absolute | ,128 |
| | Positive | ,128 |
| | Negative | -,092 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | ,691 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | ,726 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Presentase nekrosis sel endokrin

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| Kelompok normal | 5 | 110,60 | 5,079 | 2,272 | 104,29 | 116,91 | 104 | 118 |
| Kelompok negatif | 5 | 21,20 | 5,718 | 2,557 | 14,10 | 28,30 | 14 | 26 |
| Kelompok positif | 5 | 78,40 | 8,414 | 3,763 | 67,95 | 88,85 | 68 | 88 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 5 | 35,00 | 5,292 | 2,366 | 28,43 | 41,57 | 30 | 41 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | 5 | 52,40 | 11,502 | 5,144 | 38,12 | 66,68 | 40 | 68 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | 4 | 67,25 | 7,544 | 3,772 | 55,25 | 79,25 | 60 | 76 |
| Total | 29 | 60,59 | 31,033 | 5,763 | 48,78 | 72,39 | 14 | 118 |

Oneway**ANOVA**

Presentase nekrosis sel endokrin

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 25635,884 | 5 | 5127,177 | 88,722 | ,000 |
| Within Groups | 1329,150 | 23 | 57,789 | | |
| Total | 26965,034 | 28 | | | |

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

Presentasi nekrosis pankreas

| (I) Kelompok percobaan | (J) Kelompok percobaan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------------|--|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| Kelompok normal | Kelompok negatif | 89,400* | 4,808 | ,000 | 74,48 | 104,32 |
| | Kelompok positif | 32,200* | 4,808 | ,000 | 17,28 | 47,12 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 75,600* | 4,808 | ,000 | 60,68 | 90,52 |

| | | | | | | | |
|---|--|--|---------|-------|---------|--------|-------|
| | | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | 58,200* | 4,808 | ,000 | 43,28 | 73,12 |
| | | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | 43,350* | 5,100 | ,000 | 27,53 | 59,17 |
| Kelompok negatif | Kelompok normal | -89,400* | 4,808 | ,000 | -104,32 | -74,48 | |
| | Kelompok positif | -57,200* | 4,808 | ,000 | -72,12 | -42,28 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | -13,800 | 4,808 | ,081 | -28,72 | 1,12 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | -31,200* | 4,808 | ,000 | -46,12 | -16,28 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | -46,050* | 5,100 | ,000 | -61,87 | -30,23 | |
| Kelompok positif | Kelompok normal | -32,200* | 4,808 | ,000 | -47,12 | -17,28 | |
| | Kelompok negatif | 57,200* | 4,808 | ,000 | 42,28 | 72,12 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 43,400* | 4,808 | ,000 | 28,48 | 58,32 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | 26,000* | 4,808 | ,000 | 11,08 | 40,92 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | 11,150 | 5,100 | ,282 | -4,67 | 26,97 | |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | Kelompok normal | -75,600* | 4,808 | ,000 | -90,52 | -60,68 | |
| | Kelompok negatif | 13,800 | 4,808 | ,081 | -1,12 | 28,72 | |
| | Kelompok positif | -43,400* | 4,808 | ,000 | -58,32 | -28,48 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | -17,400* | 4,808 | ,016 | -32,32 | -2,48 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | -32,250* | 5,100 | ,000 | -48,07 | -16,43 | |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | Kelompok normal | -58,200* | 4,808 | ,000 | -73,12 | -43,28 | |
| | Kelompok negatif | 31,200* | 4,808 | ,000 | 16,28 | 46,12 | |
| | Kelompok positif | -26,000* | 4,808 | ,000 | -40,92 | -11,08 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 17,400* | 4,808 | ,016 | 2,48 | 32,32 | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | -14,850 | 5,100 | ,074 | -30,67 | ,97 | |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | Kelompok normal | -43,350* | 5,100 | ,000 | -59,17 | -27,53 | |
| | Kelompok negatif | 46,050* | 5,100 | ,000 | 30,23 | 61,87 | |
| | Kelompok positif | -11,150 | 5,100 | ,282 | -26,97 | 4,67 | |

| | | | | | | | |
|--|--|--|----------|-------|------|---------|--------|
| | | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 32,250* | 5,100 | ,000 | 16,43 | 48,07 |
| | | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | 14,850 | 5,100 | ,074 | -,97 | 30,67 |
| Kelompok normal | Kelompok negatif | | 89,400* | 4,808 | ,000 | 73,66 | 105,14 |
| | Kelompok positif | | 32,200* | 4,808 | ,000 | 16,46 | 47,94 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | | 75,600* | 4,808 | ,000 | 59,86 | 91,34 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | | 58,200* | 4,808 | ,000 | 42,46 | 73,94 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | | 43,350* | 5,100 | ,000 | 26,65 | 60,05 |
| Kelompok negatif | Kelompok normal | | -89,400* | 4,808 | ,000 | -105,14 | -73,66 |
| | Kelompok positif | | -57,200* | 4,808 | ,000 | -72,94 | -41,46 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | | -13,800 | 4,808 | ,130 | -29,54 | 1,94 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | | -31,200* | 4,808 | ,000 | -46,94 | -15,46 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | | -46,050* | 5,100 | ,000 | -62,75 | -29,35 |
| Kelompok positif | Kelompok normal | | -32,200* | 4,808 | ,000 | -47,94 | -16,46 |
| | Kelompok negatif | | 57,200* | 4,808 | ,000 | 41,46 | 72,94 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | | 43,400* | 4,808 | ,000 | 27,66 | 59,14 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | | 26,000* | 4,808 | ,000 | 10,26 | 41,74 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | | 11,150 | 5,100 | ,588 | -5,55 | 27,85 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | Kelompok normal | | -75,600* | 4,808 | ,000 | -91,34 | -59,86 |
| | Kelompok negatif | | 13,800 | 4,808 | ,130 | -1,94 | 29,54 |
| | Kelompok positif | | -43,400* | 4,808 | ,000 | -59,14 | -27,66 |

| | | | | | | |
|---|---|----------|-------|------|--------|--------|
| | | -17,400* | 4,808 | ,022 | -33,14 | -1,66 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | | | | | |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | -32,250* | 5,100 | ,000 | -48,95 | -15,55 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | Kelompok normal | -58,200* | 4,808 | ,000 | -73,94 | -42,46 |
| | Kelompok negatif | 31,200* | 4,808 | ,000 | 15,46 | 46,94 |
| | Kelompok positif | -26,000* | 4,808 | ,000 | -41,74 | -10,26 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 17,400* | 4,808 | ,022 | 1,66 | 33,14 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | -14,850 | 5,100 | ,118 | -31,55 | 1,85 |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | Kelompok normal | -43,350* | 5,100 | ,000 | -60,05 | -26,65 |
| | Kelompok negatif | 46,050* | 5,100 | ,000 | 29,35 | 62,75 |
| | Kelompok positif | -11,150 | 5,100 | ,588 | -27,85 | 5,55 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 32,250* | 5,100 | ,000 | 15,55 | 48,95 |
| | Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | 14,850 | 5,100 | ,118 | -1,85 | 31,55 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Presentasi nekrosis sel endokrin

| Kelompok percobaan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|---|---|-------------------------|-------|-------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Tukey HSD ^a | | | | | |
| Kelompok negatif | 5 | 21,20 | | | |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 65 mg | 5 | 35,00 | | | |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 130 mg | 5 | | 52,40 | | |
| Ekstrak etanol kulit batang faloak 260 mg | 4 | | 67,25 | 67,25 | |
| Kelompok positif | 5 | | | 78,40 | |
| Kelompok normal | 5 | | | | 110,60 |
| Sig. | | ,091 | ,059 | ,245 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,800.