

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERSALUT
KITOSAN TERHADAP PROFIL HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus
musculus*) DIABETES KOMPLIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
ANA MAR'A KONITA FIRDAUS
NIM. 17620076**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERSALUT
KITOSAN TERHADAP PROFIL HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus
musculus*) DIABETES KOMPLIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
ANA MAR'A KONITA FIRDAUS
NIM. 17620076**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan
dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERSALUT
KITOSAN TERHADAP PROFIL HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus
musculus*) DIABETES KOMPLIKASI**

SKRIPSI

Oleh:

Ana Mar'a Konita Firdaus

NIM. 17620076

Telah Diperiksa dan Disetujui :

Tanggal 27 September 2021

Dosen Pembimbing I



Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M, M. Si
NIP. 19710919 200003 2 001

Dosen Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIP. 19860512 201903 1 002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERSALUT
KITOSAN TERHADAP PROFIL HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus
musculus*) DIABETES KOMPLIKASI**

SKRIPSI

Oleh:

Ana Mar'a Konita Firdaus

NIM: 17620076

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana
(S.Si)**

Tanggal : 27 September 2021

Susunan Dewan Penguji

Penguji Utama: Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Tanda Tangan

()

Ketua Penguji: Dr. Kiptiyah, M.Si
NIP. 19731005 200212 2 003

()

Sekretaris Penguji: Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M., M. Si
NIP. 19710919 200003 2 001

()

Anggota Penguji: Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIP. 19860512 201903 1 002

()

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah rabbil 'alamin

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, karunia serta rahmatNya yang sungguh besar, yang telah memberikan banyak kemudahan serta kekuatan kepada saya dalam menimba ilmu serta dalam proses penulisan skripsi ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan keberkahan dan manfaat terhadap ilmu yang saya dapat selama bangku kuliah, serta memberikan kemudahan untuk perjalanan kedepannya. Banyak pihak yang telah membantu dan memberikan motivasi selama penulisan skripsi ini, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, saya persembahkan dan ucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua saya, Bapak H. Sutrisno dan Ibu Hj. Askhunah S.Pd, serta kakak tercinta Ilmiyah Ifa Nurhana S.Pd, kakak ipar Muhammad Effendi S.Pd serta keponakan tercinta Shanum Khaira Alfatih dan adik sepupu Aza Atilla Rahman yang telah banyak memberikan kasih sayang, support secara materiil, bantuan, bimbingan, motivasi, doa, semangat, serta waktunya kepada saya.
2. Suyono, M.P selaku dosen wali yang telah membimbing serta memberikan motivasi sejak awal menuntut ilmu di bangku perkuliahan.
3. Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, memberikan banyak ilmu, serta keikhlasan dan kesabarannya dalam memberikan bimbingan kepada saya selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si, Dr. Kiptiyah, M.Si, Mujahidin Ahmad, M.Sc yang telah memberikan bimbingan serta banyak arahan dengan sangat sabar.
5. Teman-teman biologi C 2017, teman seperjuangan skripsi dan tesis Zeni, semua teman Angkatan Biologi 2017, serta teman kos Indhana, Isvi, Ika, Isna, Icha yang banyak memberikan cerita, pelajaran, serta bantuannya.

Semoga Allah SWT memberi balasan kebaikan serta mencatat sebagai Amal Sholeh. Aamiin

MOTTO

.....وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ^{٨٨}

**Dan tidak ada taufik bagiku melainkan dengan (pertolongan) Allah
(QS. Hud 88)**

“Usaha itu diiringi do’a, do’a itu diiringi usaha”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ana Mar'a Konita Firdaus

NIM : 17620076

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalut Kitosan Terhadap Profil Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Komplikasi

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, dan / atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan dan/atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 September 2021
yang membuat pernyataan



Ana Mar'a Konita Firdaus
NIM. 17620076

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalur Kitosan terhadap Profil Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Komplikasi” ini tidak dipublikasikan namun akses hak Cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizing penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalut Kitosan Terhadap Profil Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Komplikasi

Ana Mar'a Konita Firdaus, Bayyinatul Muchtaromah dan Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Hiperglikemia yang terjadi secara kronis pada penderita diabetes melitus dapat memicu komplikasi mikrovaskuler pada organ ginjal. Komplikasi tersebut disebabkan oleh faktor stress oksidatif pada saat keadaan hiperglikemia. Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman obat yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan antidiabetes. Kandungan senyawanya mampu melindungi dari nefropati diabetik melalui penghambatan stress oksidatif. Dalam hal meningkatkan potensi obat dan bioavailabilitas senyawa pegagan, maka digunakan teknologi nanopartikel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi ginjal mencit diabetes komplikasi menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan dan 4 ulangan. Pembagian kelompok perlakuan diantaranya K- (hewan coba tidak diberikan perlakuan apapun), K+ (hewan coba diinduksi STZ), P1 (STZ + nanopartikel pegagan 120 mg/kgBB), P2 (STZ + nanopartikel pegagan 180 mg/kgBB), P3 (STZ + nanopartikel pegagan 240 mg/kgBB). Pembuatan model hewan coba diabetes komplikasi dilakukan dengan diinduksi STZ secara intraperitoneal dengan dosis 40 mg/kgBB selama 2 hari dan STZ dosis 60 mg/kgBB selama 3 hari kemudian dibiarkan selama 9 hari. Pemberian terapi nanopartikel pegagan dilakukan selama 28 hari. Parameter dalam penelitian ini adalah keadaan kerusakan sel pada jaringan glomerulus dan tubulus (Proksimal dan distal) ginjal. Data yang didapat diuji normalitas dan homogenitas, kemudian data yang telah normal dan homogen diuji dengan one-way Anova serta diuji lanjut dengan uji Duncan. Hasil analisis one-way Anova taraf 5% menunjukkan bahwa nanopartikel pegagan tersalut kitosan berpengaruh terhadap penurunan kerusakan profil histologi glomerulus dan tubulus (proksimal dan distal) ginjal mencit. Pemberian nanopartikel pegagan dosis 240 mg/kgBB merupakan dosis yang paling optimal dalam menurunkan kerusakan profil histologi glomerulus dan tubulus (proksimal dan distal) ginjal mencit.

Kata kunci: diabetes nefropati, nanopartikel, nekrosis sel, pegagan, ROS

The Effect of Nanoparticles Gotu Kola (*Centella Asiatica*) Chitosan Coated on Kidney Histology Profile of Mice (*Mus musculus*) Diabetes Complications

Ana Mar'a Konita Firdaus, Bayyinatul Muchtaromah and Mujahidin Ahmad

Biology Department, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Chronic hyperglycemia in people with diabetes mellitus can result in microvascular problems in the kidneys. During hypoglycemia, oxidative stress causes these problems. *Centella asiatica* (Gotu Kola) is a medicinal herb with antioxidant and anti-diabetic properties. Its chemical presence can help to prevent diabetic nephropathy by reducing oxidative stress. Nanoparticle technology is utilized to increase the medicinal efficacy and bioavailability of Gotu Kola components. This study aims to determine the effect of Gotu Kola (*Centella Asiatica*) nanoparticles coated with chitosan on the renal histology profile of complicated diabetic mice using a completely randomized design (CRD) with 5 treatment groups and 4 replications. The treatment groups were divided into K- (the experimental animals that received no treatment) K+ (STZ experimental animals), P1 (STZ + Gotu Kola nanoparticles 120 mg/kg bw) and P2 (STZ + Gotu Kola nanoparticles 180 mg/kg bw). Dosage of intraperitoneal STZ 40 mg/kg bw for 2 days and STZ for 60 mg/kg bw for 3 days, and then for 9 days, was the induction for the animal experimental model of complex diabetes. The Gotu Kola nanoparticle therapy was given for 28 days. This study parameter is the cell injury status of the glomerular and tubular (proximal and distal) tissue of the kidney. Data obtained were checked for normality and homogeneity and examined on a one-way ANOVA basis and tested further by Duncan. The findings of a one-way ANOVA analysis at 5% demonstrated that Gotu Kola, coated with chitosan, reduces the histological profile damage to the glomerulus and tubules (proximal and distal) of the mice. The optimal dosage to reduce the histology of glomeruli and tubules (proximal and distal) in the kidneys of the mice was the injection of Gotu Kola nanoparticles at a dose of 240 mg/kg bw.

Keywords: diabetic nephropathy, nanoparticles, cell necrosis, Gotu Kola, ROS

تأثير جزيئات غوتو كولا (كينتيللا اسياتيكا) النانوية المغلفة بالكينتوزان على المظهر النسيجي لكلى الفئران (موس موسكولوس) مضاعفات مرض السكري

أنا مرة قانتا فردوس ، بينة المحترمة ، مجاهدين أحمد

قسم علم الأحياء ، كلية العلوم و التكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

يمكن أن يؤدي ارتفاع السكر في الدم الذي يحدث بشكل مزمن في الأشخاص المصابين بداء السكري إلى مضاعفات الأوعية الدموية الدقيقة في الكلى. تحدث هذه المضاعفات بسبب الإجهاد التأكسدي أثناء ارتفاع السكر في الدم. غوتو كولا (كينتيللا اسياتيكا) هو نبات طبي يحتوي على إمكانات كمضاد للأكسدة ومضاد لمرض السكر. محتواه المركب قادر على الحماية من اعتلال الكلية السكري من خلال تثبيط الإجهاد التأكسدي. من حيث زيادة فاعلية الدواء والتوافر البيولوجي لمركبات غوتو كولا ، يتم استخدام تقنية الجسيمات النانوية. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تأثير جسيمات غوتو كولا (كينتيللا اسياتيكا) النانوية المغلفة بالكينتوزان على ملف الأنسجة الكلوية لفئران مصابة بمرض السكري المعقدة باستخدام تصميم عشوائي بالكامل مع 5 مجموعات علاجية و 4 مكررات. تم تقسيم مجموعات العلاج إلى K- (لم تعط حيوانات التجربة أي علاج) ، K+ (تم تحفيز حيوانات التجربة بواسطة STZ) P1 ، (STZ + جسيمات نانوية غوتو كولا 120 مجم/كجم من وزن الجسم) ، P2 (STZ + جسيمات نانوية غوتو كولا 180 مجم/كجم من وزن الجسم) ، P3 (STZ + جسيمات نانوية غوتو كولا 240 مجم/كجم من وزن الجسم). تم تحفيز النموذج الحيواني التجريبي لمرض السكري المعقد بواسطة STZ داخل الصفاق بجرعة 40 مجم/كجم من وزن الجسم لمدة يومين و STZ بجرعة 60 مجم/كجم من وزن الجسم لمدة 3 أيام ثم ترك لمدة 9 أيام. تم إعطاء العلاج بالجسيمات النانوية غوتو كولا لمدة 28 يومًا. المعلمة في هذه الدراسة هي حالة تلف الخلايا في الأنسجة الكبيبية والأنبوبية (القريبة والبعيدة) من الكلى. تم اختبار البيانات التي تم الحصول عليها من أجل الحالة الطبيعية والتجانس ، ثم تم اختبار البيانات العادية والمتجانسة باستخدام *Anova* أحادي الاتجاه واختبارها مع اختبار *Duncan*. أظهرت نتائج تحليل *Anova* أحادي الاتجاه عند مستوى 5 ٪ أن غوتو كولا المغلف بالكينتوزان كان له تأثير على تقليل الضرر الذي يلحق بالمظهر النسيجي للكبيبات والنبيبات (القريبة والبعيدة) لكليتي الفئران. كان إعطاء جسيمات غوتو كولا النانوية بجرعة 240 مجم / كجم من وزن الجسم هو الجرعة المثلى في تقليل الأضرار التي لحقت بالمظهر النسيجي للكبيبات والنبيبات (القريبة والبعيدة) لكليتي الفئران.

الكلمات المفتاحية: اعتلال الكلية السكري ، الجسيمات النانوية ، نخر الخلية ، غوتو كولا ، أنواع الاكسجين التفاعلية

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Segala puji bagi Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang karena atas rahmat, taufiq serta hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang serta dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi ini. Sholawat serta salam, selalu tercurahkan kepada junjungan nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita ke jalan terang benderang, yaitu *Addinul Islam*.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan bantuan baik materi maupun non materi dari berbagai pihak. Sehingga perkenankan penulis mengucapkan banyak terima kasih atas bantuannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan kepada:

1. Prof.Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr.Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Suyono, M.P selaku dosen wali yang telah membimbing serta memberikan motivasi sejak awal menuntut ilmu di bangku perkuliahan.
5. Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, memberikan banyak ilmu, serta keikhlasan dan kesabarannya dalam memberikan bimbingan kepada saya selama proses penyusunan skripsi ini.
6. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang dengan sabar telah banyak memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan kajian Al-Quran dan As-Sunnah dalam skripsi.

7. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si, dan Dr. Kiptiyah, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta nasehat dengan sangat sabar kepada penulis.
8. Seluruh dosen, laboran dan staf administrasi di jurusan biologi yang telah membantu memberikan kemudahan dalam penyusunan skripsi ini.
9. Kedua orang tua serta saudara/I penulis yang telah banyak memberikan kasih sayang, doa, serta bantuan baik moril maupun materil kepada penulis.
10. Seluruh teman-teman tercinta yang telah memberikan pengalaman, pelajaran serta bantuan selama masa perkuliahan.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan. Untuk itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah ilmu pengetahuan untuk kita semua. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamua'alaikum Wr. Wb.

Malang, September 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
مستخلص البحث.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Hipotesis	8
1.6 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Pegagan (Centella asiatica).....	9
2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi	9
2.1.2 Kandungan Senyawa Aktif	12
2.1.3 Manfaat Pegagan.....	15
2.2 Nanopartikel Tersalut Kitosan Metode Gelasi Ionik.....	16
2.3 Tinjauan Mencit (<i>Mus musculus</i>)	23

2.4 Agen Diabetogenik Streptozotosin.....	25
2.5 Diabetes Melitus.....	26
2.6 Struktur Histologi dan Fungsi Ginjal	28
2.7 Hubungan Diabetes melitus dengan Kerusakan Ginjal (Nefropati Diabetik) ...	33
2.8 Nekrosis Sel Ginjal.....	36
BAB III METODE PENELITIAN	39
3.1 Rancangan Penelitian	39
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	39
3.3 Variabel Penelitian	39
3.4 Sampel Penelitian	40
3.5 Alat dan Bahan	40
3.6 Prosedur Penelitian.....	40
3.6.1 Pembuatan Ekstrak	40
3.6.2 Pembuatan Nanopartikel.....	41
3.6.3 Persiapan Hewan Coba	41
3.6.4 Pembagian Kelompok Sampel.....	42
3.6.4 Pembuatan Mencit Model Diabetes Komplikasi	42
3.6.5 Pemberian Nanopartikel Pegagan.....	43
3.6.6 Pembedahan Mencit dan Pengambilan Organ Ginjal	43
3.6.6 Pembuatan Preparat Histologi	43
3.7 Analisis data.....	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	47
4.1 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) Tersalut Kitosan Terhadap Profil Histologi Glomerulus Ginjal Mencit (<i>Mus Musculus</i>) Diabetes Komplikasi	47
4.2 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) Tersalut Kitosan Terhadap Profil Histologi Tubulus Ginjal Mencit (<i>Mus Musculus</i>) Diabetes Komplikasi	59
BAB V PENUTUP.....	67
5.1 Kesimpulan.....	67
5.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Senyawa Aktif Utama <i>Centella asiatica</i>	14
3.1 Skoring pada bagian ginjal yang diamati secara histologis.....	45
4.1 Hasil Anova tingkat kerusakan glomerulus ginjal mencit.....	50
4.2 Hasil Uji Duncan 5% tingkat kerusakan glomerulus ginjal mencit.....	50
4.3 Hasil Anova tingkat kerusakan tubulus ginjal mencit.....	61
4.4 Hasil Uji Duncan 5% tingkat kerusakan tubulus ginjal mencit.....	61

DAFTAR GAMBAR

2.1 Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica</i>).....	9
2.2 Struktur Kimia Senyawa Triterpen <i>Centella asiatica</i>	13
2.3 Struktur Kitosan.....	20
2.4 pembukaan <i>tight junction</i> oleh nanopartikel kitosan.....	21
2.5 Matrik Nanopartikel Metode Gelasi Ionik.....	22
2.6 Struktur Kimia Streptozotosin.....	25
2.7 Letak Anatomi Ginjal Mencit.....	28
2.8 Potongan Koronal Ginjal Kanan.....	29
2.9 Nefron.....	29
2.10 Korpuskel Ginjal.....	30
2.11 Sel Tubulus Proksimal dan Tubulus Distal.....	31
2.12 Potongan Melintang Medula Ginjal.....	32
2.13 Histologi Tubulus Proksimal dan Tubulus Distal.....	32
2.14 Glomerulopathy pada penderita Diabetes.....	34
2.15 Penebalan membran basalis glomerulus.....	34
2.16 Morfologi ginjal normal dan perubahan struktur pada diabetes melitus.....	35
2.17 Tahapan Nekrosis Sel.....	37
2.18 Nekrosis sel pada Tubulus Proksimal.....	38
4.1 Hasil pengamatan profil histologi glomerulus ginjal mencit.....	48
4.2 Diagram batang tingkat kerusakan sel glomerulus ginjal mencit.....	49
4.3 Hasil pengamatan profil histologi tubulus ginjal mencit.....	59
4.4 Diagram batang tingkat kerusakan sel tubulus ginjal mencit.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

1 Gambar Hasil Pengamatan Histologi Glomerulus dan Tubulus Ginjal Mencit.....	76
2 Perhitungan Dosis.....	77
3 Hasil Skoring Glomerulus.....	79
4 Hasil Skoring Tubulus.....	79
5 Spss hasil skoring glomerulus.....	80
6 Spss hasil skoring tubulus.....	82

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit diabetes menjadi masalah kesehatan global yang dapat menjangkit setiap orang yang tidak bergantung dengan status sosial ekonomi serta batas negara. Hasil riset *International Diabetes Federation* (IDF) menunjukkan di tahun 2019 terdapat sebanyak 463 juta penduduk dunia berusia 20-79 tahun yang mengalami diabetes, jumlah tersebut diperkirakan dapat meningkat menjadi 578 juta pada tahun 2030. Lebih dari 1 juta penduduk di Asia Tenggara meninggal disebabkan penyakit diabetes pada tahun 2019. Di antara semua negara, Indonesia pada tahun 2019 masuk kedalam daftar 10 negara dengan jumlah penderita diabetes tertinggi, dengan Indonesia berada pada urutan ke tujuh (IDF, 2019). Hasil Riskesdas pada tahun 2018 menunjukkan sebesar 2% penduduk Indonesia mengidap diabetes berdasarkan diagnosis dokter (Riskesdas, 2018).

Penyakit diabetes merupakan penyakit degeneratif yang dapat ditandai dengan tingginya konsentrasi gula dalam darah (hiperglikemia) yang disebabkan oleh terganggunya pelepasan dan/atau kerja hormon insulin yang kurang efektif digunakan tubuh (Ugahari dkk., 2016). Insulin merupakan hormon yang disintesis dan disekresi oleh sel β pada pulau Langerhans di pankreas berfungsi untuk membantu penyimpanan glukosa dalam bentuk glikogen di hati dan otot. Diabetes melitus dapat dikategorikan menjadi diabetes melitus tipe I dan diabetes melitus tipe II. Diabetes melitus tipe 1 terjadi apabila sekresi insulin terganggu akibat rusaknya sel beta pankreas akibat autoimun, genetik, faktor diet, atau zat toksin, sedangkan diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh kombinasi penurunan sensitivitas insulin dan disfungsi sekresi insulin (Bilous & Donnelly, 2015). Pengaturan pola makan tidak seimbang yang tinggi kalori dapat menjadi faktor resiko terjadinya diabetes (Li *et al.*, 2020).

Asupan makanan yang berlebihan dan tidak seimbang, seperti konsumsi makanan dengan kandungan karbohidrat yang tinggi dan dalam jumlah yang banyak sekaligus dapat menyebabkan tingginya kadar gula darah. Diketahui dari hal tersebut

berlebih-lebihan dalam makan dan minum akan membawa kemudharatan. Oleh karena itu pembatasan konsumsi makanan dan minuman sesuai dengan porsi yang dianjurkan harus dilakukan untuk mengurangi faktor resiko diabetes. Anjuran tersebut secara implisit terkandung dalam firman Allah pada QS: Al-A'raf [7]: 31 yang berbunyi:

يَبْنَىٰٓ ءَادَمَ خُذُوْا زِيْنَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوْا وَشَرَبُوْا وَلَا تُسْرِفُوْا ۚ إِنَّهُ لَا يُحِبُّ
الْمُسْرِفِيْنَ ۝۳۱

Artinya:

Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) mesjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan. (QS: Al A'raf [7]: 31).

Diantara makna Surat Al-A'raf ayat 31 terdapat kalimat “وَكُلُّوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا” yang dapat diartikan, makan dan minumlah dan janganlah berlebih-lebihan. Tafsir kalimat tersebut dianjurkan untuk memakan makanan yang dihalalkan, enak, memberikan manfaat dan mengandung gizi yang baik, serta jangan berlebihan dalam makan dan minum atau dalam hal apapun, karena sesungguhnya Allah ﷻ tidak menyukai serta tidak memberikan rahmat bagi orang-orang yang selalu berlebihan (Shihab, 2002). Seperti halnya dengan memakan makanan yang memiliki indeks glikemik tinggi secara berlebihan akan menyebabkan tingginya kadar gula darah (hiperglikemia) yang akan mengganggu kerja enzim insulin dan menimbulkan penyakit diabetes melitus.

Hiperglikemia yang terjadi secara kronis pada penderita diabetes melitus dapat memicu munculnya komplikasi kerusakan atau kegagalan berbagai organ seperti, jantung, ginjal, mata, pembuluh darah dan saraf (Lathifah, 2017). Diketahui sekitar 20-40% penderita diabetes melitus tipe II dapat berkembang menjadi komplikasi pada ginjal (Stephens *et al.*, 2020). Derajat hiperglikemia pada penderita diabetes dapat menyebabkan komplikasi jaringan karena berhubungan dengan gangguan mikrovaskular spesifik pada organ diantaranya pada mata (retinopati), ginjal

(nefropati), atau saraf perifer (neuropati) serta gangguan makrovaskular tidak spesifik seperti aterosklerosis (Bilous & Donnelly, 2015).

Nefropati diabetik merupakan komplikasi mikrovaskular yang merusak pembuluh darah halus pada ginjal. Ciri patologis pada nefropati diabetik diantaranya penebalan membrane basalis kapiler glomerulus serta glomerulosklerosis difus yang disebabkan oleh penumpukan protein matriks, faktor metabolik dan hemodinamik (Bilous & Donnelly, 2015), selain itu terjadi peningkatan inflamasi sel yang menyebabkan degenerasi sel glomeruli, tubulus proksimal dan tubulus distal pada ginjal (Sancar *et al.*, 2015) serta menyebabkan nekrosis sel tubulus yang mengganggu fungsi reabsorpsi (Esther & Manonmani, 2014). Kerusakan mikrovaskuler pada komplikasi kronik diabetes dapat terjadi dalam kurun 10-15 tahun. Diketahui 10 tahun umur manusia sama dengan satu bulan pada kurun waktu tikus, sehingga tikus yang terpapar diabetes pada kurun 4 minggu sudah mengalami kerusakan mikrovaskuler (Djari, 2008).

Hiperglikemia kronis dapat meningkatkan faktor stress oksidatif dari auto-oksidasi glukosa dan glikosilasi protein oleh pembentukan radikal bebas sehingga meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) disertai dengan penurunan aktivitas antioksidan yang menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif memainkan peran krusial dalam produksi ROS melalui aktivasi berbagai respons seluler sehingga menyebabkan efek kerusakan sel dan jaringan, seperti dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan ginjal (Mahmoodnia *et al.*, 2017). Komponen seluler sel seperti protein, karbohidrat, asam nukleat dan fosfolipid pada membran biasanya menjadi komponen yang diganggu oleh radikal bebas, yang dapat mempercepat kerusakan sel dan jaringan (Yuslianti, 2018).

Kerusakan pada sel dan jaringan akibat stress oksidatif dari proses autooksidasi glukosa dapat dicegah dengan keseimbangan antioksidan pada tubuh. Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi menangkal radikal bebas (Gerald, 2017). Antioksidan dibedakan antara antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen merupakan senyawa yang dihasilkan di dalam tubuh berupa

enzimatis atau non enzimatis. Antioksidan eksogen biasanya didapat dari luar tubuh melalui makanan seperti vitamin E, vitamin C, karetonoid dan flavonoid yang bisa didapat dari kandungan di dalam tumbuh-tumbuhan yang berfungsi sebagai obat (Serang & Febrianto, 2018). Sehingga untuk menghindari stress oksidatif dapat dengan cara mengoptimalkan pertahanan dengan mengonsumsi tumbuh-tumbuhan yang tersedia di alam yang memiliki kandungan sumber antioksidan.

Allah ﷻ menciptakan beraneka ragam tumbuhan di bumi untuk dapat diambil manfaat dan kebaikannya. Kebaikan yang terdapat di dalam tumbuhan harus terus diteliti agar dapat dirasakan manfaat dan potensinya. Anjuran tersebut secara tersirat dijelaskan dalam firman Allah ﷻ pada QS: As-Syu'ara [26]: 7 yang menjelaskan mengenai kebaikan tumbuhan:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝

Artinya:

Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh tumbuhan yang baik? (QS: As-Syu'ara [26]: 7).

Dalam Surat As-Syu'ara ayat 7 tersebut terdapat kata زَوْجٍ كَرِيمٍ ulama memberikan arti tumbuhan yang baik. Kata كَرِيمٍ menurut Shihab (2002) digunakan dalam menggambarkan sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Dalam ayat ini objek tersebut adalah tumbuhan yang baik, yang subur lagi banyak manfaatnya. Kata إِلَى merupakan kata dengan makna batas akhir. Berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir. Sehingga ayat ini memberikan anjuran agar manusia mengarahkan pandangannya hingga batas kemampuannya memandang beraneka ragam tumbuhan serta keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhan tersebut. Dan hanya Allah ﷻ yang dapat mengeluarkan beraneka ragam tumbuhan dari bumi yang mendatangkan manfaat bagi umatnya. Penciptaan tumbuhan dapat memberikan banyak manfaat untuk kemaslahatan manusia. Seperti halnya menurut Yuslianti (2018) menyatakan tumbuhan memiliki kandungan baik yaitu kandungan bahan aktif antioksidan, yang

dibutuhkan tubuh sebagai antioksidan eksogen, yang bermanfaat untuk melawan radikal bebas.

Antioksidan eksogen dapat diambil dari senyawa aktif dari bahan alam, seperti salah satunya dari tanaman pegagan (*Centella asiatica*). Pegagan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 84% (Hashim dkk., 2011). Sifat antioksidan tersebut didapat karena pegagan mengandung senyawa aktif utama berupa senyawa triterpen, yaitu asam asiatik, asiaticoside, dan madecassoside (Razali *et al.*, 2019). Asam asiatik pegagan diketahui dapat melindungi dari nefropati diabetik pada tikus melalui penghambatan stress oksidatif (Chen *et al.*, 2018). Kabir *et al.*, (2014) menyatakan *Centella asiatica* bersifat antihiperglikemik dengan menghambat penyerapan glukosa melalui penghambatan enzim disakaridase usus maupu α -amilase. Menurut Muchtaromah dkk. (2013) beberapa sediaan pegagan dapat mengurangi sel nekrosis pada jaringan pankreas, sehingga dapat diketahui pegagan mampu meregenerasi sel nekrosis. Tumbuhan pegagan memiliki khasiat sebagai obat antidiabetes dengan menurunkan kadar gula darah (Tulung dkk., 2021), selain itu sebagai antimikroba, antiinflamasi (Yasurin *et al.*, 2016), memperbaiki cedera tubular, fibrosis ginjal dan mediator inflamasi akibat iskemik ginjal (Arfian *et al.*, 2020). Komponen lain yang terdapat dalam pegagan diantaranya minyak volatile, fitosterol, flavonoid, tannin, dan sentelosida. Kandungan aktif pada pegagan bermanfaat dalam menjaga sel tubuh dari kerusakan dengan cara menangkal radikal bebas sebagai penyebab kerusakan (Hebbar, 2019).

Penelitian-penelitian sebelumnya meyakini bahwa pegagan memiliki potensi sebagai antidiabetes serta aktivitas antioksidan yang baik yang banyak diteliti secara *in vitro* (Kabir *et al.*, 2014 dan Muchtaromah *et al.*, 2021), sehingga dalam penelitian ini digunakan pegagan (*Centtella asiatica*) sebagai tanaman obat dalam mengatasi diabetes komplikasi dengan cara mengujiya secara *in vivo* pada mencit (*Mus musculus*) yang berfokus pada kerusakan organ ginjal. Tingkat kerusakan ginjal diamati melalui parameter kerusakan sel pada preparat histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) sehingga dapat terlihat secara langsung bagaimana keadaan profil histologi ginjal mencit

diabetes komplikasi yang telah diberikan perlakuan pegagan (*Centella asiatica*), selain itu untuk meningkatkan potensi pegagan (*Centella asiatica*) sebagai tanaman obat maka digunakan metode pembuatan secara nanoteknologi.

Pemanfaatan pegagan dalam bentuk segar, kering, ramuan dan ekstrak memiliki kekurangan karena ukuran partikel pada ekstrak terlalu besar. Menurut Yasurin *et al.* (2016) *delivery* sistem pada ekstrak kasar *Centella asiatica* yang diuji secara *in vivo* mempunyai kelarutan lemak, permeabilitas dan bioavailabilitas yang rendah, sehingga premosesan menjadi bentuk nanopartikel diharapkan dapat meningkatkan efektivitas penggunaan *Centella asiatica* sebagai bahan obat. Nanopartikel adalah partikel koloid padat yang memiliki ukuran diameter antara 10-1000 nm (Safitri, 2014). Kelebihan penggunaan nanopartikel menurut Martien dkk. (2012) yaitu, dapat menembus ruang antar sel yang hanya bisa dilewati partikel koloid serta meningkatkan afinitas karena ukuran luas permukaan kontak meningkat dengan kadar yang sama (Martien dkk., 2012). Penelitian Kesornbuakao & Patchaneyasurin (2016), menyatakan hasil nanopartikel BSA (*Bovine Serum albumin*) dengan metode desolvasi pada ekstrak *Centella asiatica* memiliki kapasitas hidrofobik lebih tinggi dibanding dengan ekstrak kloroform *Centella asiatica*, senyawa aktif yang memiliki kapasitas hidrofobik yang baik dapat lebih mudah melalui membran sel.

Nanopartikel dapat dibuat dengan berbasis biopolimer. Biopolimer banyak digunakan sebagai biomaterial dalam sistem penghantaran obat dengan keunggulan dapat membentuk jaringan yang dikembangkan sebagai sistem pembawa dalam bentuk matriks. Salah satu biopolimer yang dapat digunakan adalah kitosan. Sifat khas yang dimiliki polimer kitosan diantara polimer lain, yaitu dapat membuka *tight junction* pada membran usus secara sementara (Martien dkk., 2012). Kitosan memiliki kemampuan mukoadhesivitas pada GI track (Souto *et al.*, 2019). Penelitian El-Hameed (2020), menyatakan formula nanopartikel kitosan pada polydatin memberikan efek dapat memperbaiki nefropati pada tikus diabetes dibanding dengan polydatin bebas tanpa nanopartikel, efek tersebut dilihat dengan penurunan kadar albumin serum.

Metode pembuatan nanopartikel tersalut kitosan dapat menggunakan metode gelasi ionik. Metode ini tergolong metode yang sederhana serta mudah dikontrol dan tidak menggunakan pelarut organik (Mardiyati dkk., 2012). Kitosan dilarutkan pada pH asam sehingga gugus aminanya ($-NH_2$) berubah menjadi terionisasi positif ($-NH_3^+$), sehingga dapat berinteraksi dengan obat yang bermuatan negatif. Untuk menstabilkan pengikatan maka ditambahkan *cross linker* yang menstabilkan muatan positif yang tersisa berupa polianion (Martien dkk., 2012). Polianion yang digunakan adalah sodium tripolifosfat yang memiliki sifat nontoksik dan memiliki multivalent (Fan, 2012). Muchtaromah *et al.*, (2020) menjelaskan pembuatan nanopartikel dan enkapsulasi dengan kitosan dengan metode gelasi ionik berhasil membuat partikel nano pada ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma manga*, dan *Acorus calamus* dengan ukuran hingga 438 nm. Berdasarkan penjelasan yang telah diuraikan pada latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi?
2. Bagaimana pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini diantaranya:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan manfaat diantaranya:

1. Sebagai bahan informasi pembaca dan masyarakat mengenai teknologi nanopartikel untuk pengembangan pembuatan obat.
2. Sebagai sumber informasi pembaca dan masyarakat mengenai potensi tumbuhan pegagan (*Centella asiatica*) sebagai obat dalam memperbaiki kerusakan sel yang diakibatkan komplikasi diabetes.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu:

1. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.
2. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

1.6 Batasan Masalah

Dalam penelitian ini batasan masalah yang ditetapkan diantaranya:

1. Profil histologi glomerulus mencit (*Mus musculus*) yang diamati meliputi tahap kerusakan sel (piknosis, karioreksis dan kariolisis) serta pelebaran jarak glomerulus dan kapsula bowman.
2. Profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dimaksud adalah tubulus proksimal dan tubulus distal yang diamati berdasarkan kerusakan sel meliputi piknosis, karioreksis dan kariolisis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pegagan (*Centella asiatica*)

2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tumbuhan obat yang tumbuh alami pada iklim tropis yang termasuk dalam family Apiaceae. Tumbuhan ini berasal dari negara Asia diantaranya India, Cina, Sri Lanka, Malaysia dan Indonesia (Orhan, 2012). Tanaman ini tumbuh liar pada tempat yang lembab dan teduh dengan ketinggian hingga 7000 kaki, biasanya ditemukan di sepanjang tepi sungai, kolam atau ladang. Selain itu dapat pula tumbuh pada daerah berbatu pada ketinggian 2000 kaki (Chandrika & Kumarab, 2015). Klasifikasi tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) menurut (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Bangsa	: Apiales
Suku	: Apiaceae
Marga	: Centella
Jenis	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban



Gambar 2.1 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) (Chandrika, 2015)

Nama umum tanaman Pegagan diantaranya Asiatic pennywort, Indian pennywort (Inggris), dan Gotu Kola (Sri Lanka) (Chandrika & Kumarab, 2015). Pegagan di Indonesia memiliki sebutan tersendiri pada berbagai daerah diantaranya, pegagan (Jakarta), pegaga (Aceh), pugago (Minangkabau), calingan rambut (Jawa), gan-gagan (Madura), anatanan gede (Sunda), panggaga (Bali), wisu-wisu (Makasar), dan sandanan (Irian), kalotidi manora (Maluku), bebile (Lombok), kori-kori (Halmahera). Di beberapa negara disebut brahma butu (India), Indian hydrocotyle (India), takip-kohot (Filiphina), ji xue cao (Tiongkok), bevilaque (Perancis) (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010; Sutardi, 2016).

Pegagan merupakan tanaman aromatik yang hidup sepanjang tahun, tanaman ini tumbuh secara horizontal dengan perkembangbiakan melalui stolon yang menjalar diatas tanah, stolonnya berwarna hijau kemerahan, pada setiap ruas stolon akan muncul tunas yang akan berkembang menjadi tanaman baru (Orhan, 2012). Pegagan memiliki batang yang pendek dengan ciri tanpa rambut-rambut (*glabrous*) dan beruas, akarnya muncul pada bagian simpul batang dan tumbuh dibawah tanah, daun pegagan tersusun alternate mengelompok dengan satu daun pada setiap ruas batang (Chandrika & Kumarab, 2015).

Allah ﷻ menciptakan beraneka ragam tumbuhan dengan keunikan bentuk dan cirikhasnya masing-masing. Setiap tumbuhan memiliki cirikhas morfologi yang membedakan tumbuhan tersebut dengan tumbuhan yang lainnya. Penjelasan keanekaragaman tumbuhan dengan ciri khas morfologinya secara tidak langsung dijelaskan pada QS: Al-An'am [6]: 99 sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ٩٩

Artinya:

Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman. (QS: Al-An'am [6]: 99).

Diantara makna Surat Al-An'am ayat 99 terdapat kata “فَأَخْرَجْنَا بِهٖ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ” kata tersebut memiliki arti “lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan”, makna kata tersebut menurut Ibnu Katsir (2003) yakni seluruh jenis tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya. kata “فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا” memiliki arti “maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau” kata tersebut bermakna tanaman dan pepohonan yang hijau. kata tersebut menjelaskan ciri morfologi tanaman yang dapat dilihat dari penampakan warnanya yaitu berwarna hijau, seperti halnya warna daun tanaman pegagan yang berwarna hijau. Menurut Orhan (2012) daun pegagan berwarna hijau kekuningan, dengan bentuk daun bulat seperti ginjal (*reniform*) dan daging daun tipis seperti kertas, pertulangannya berbentuk palmate dengan jumlah tujuh alur tulang setiap daun.

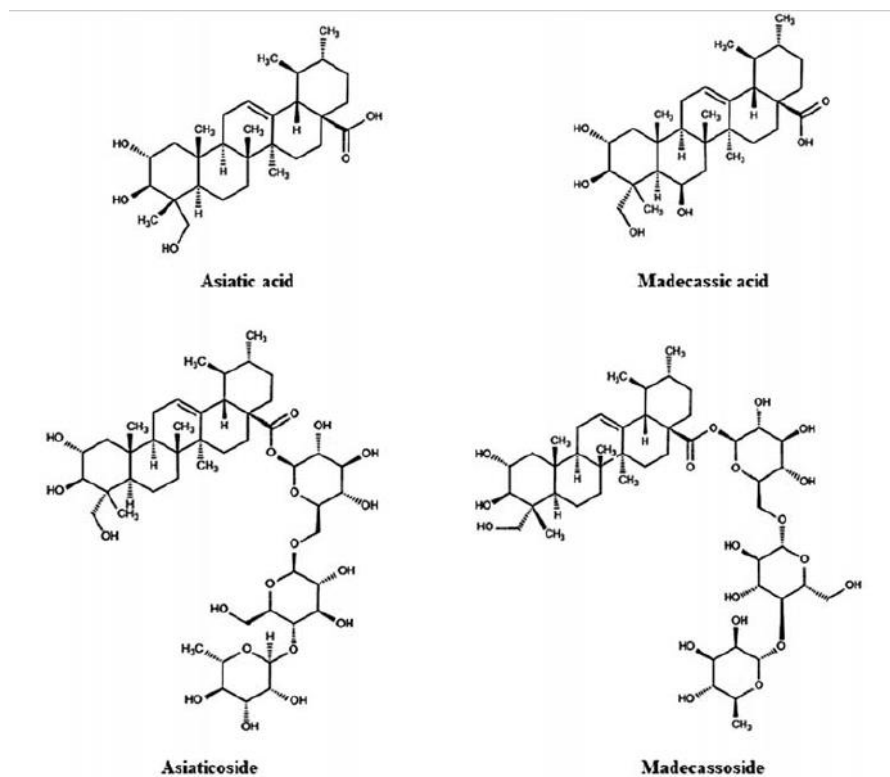
Pegagan memiliki panjang daun antara 2,5 - 4,2 cm dengan lebarnya antara 5,3-7,3 cm, merupakan daun tunggal yang tekstur permukaan atas daunnya licin dan permukaan bawahnya kasar, pangkal daunnya berbentuk lengkung (*curved*) (Maratul *et al.*, 2020). Tepi daun beringgit (*crenate*) dengan panjang tangkai daun 2-6 cm. Tangkai daun berwarna hijau kekuningan dan pangkalnya menyerupai pelepah. Pegagan memiliki tinggi 15 cm dengan sistem perakaran tunggang. Susunan bunganya berbentuk umbel (bertumpuk), terdiri dari tiga sampai empat bunga berwarna putih keunguan atau merah muda, berbunga pada bulan April sampai Juni (Chandrika & Kumarab, 2015).

Pegagan memiliki buah dengan morfologi yang khas, sebagaimana pada Surat Al-An'am ayat 99 terdapat kata “اَنْظُرُوْا اِلَى ثَمَرِهٖ” yang memiliki arti “Perhatikanlah

buahnya di waktu pohonnya berbuah” menurut Ibnu Katsir (2003) kata ini bermakna untuk selalu memperhatikan kekuasaan Allah ﷻ yang mampu menciptakan sesuatu dari tidak ada hingga ada. Pada awalnya berupa tumbuha kemudian tumbuh menjadi pohon hingga dapat dihasilkan buah dari berbagai jenis tumbuhan serta pohon yang berbeda-beda warna serta bentuknya. Hal ini memberikan makna bahwa diperintahkan untuk mengamati bagaimana beragam bentuk morfologi buah sebagai bentuk kekuasaan Allah ﷻ, sebagaimana bentuk morfologi buah pegagan yang memiliki ciri khas tersendiri. Menurut (Chandrika & Kumarab, 2015) buah pegagan memiliki panjang sekitar 2 inchi, berbentuk lonjong atau bulat dengan bentuk dinding buah (*pericarp*) yang tebal, buahnya akan terlihat pada musim tertentu. Menurut (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010) buahnya berlekuk dua berwarna kuning kecoklatan.

2.1.2 Kandungan Senyawa Aktif

Pegagan (*Centella asiatica*) kaya akan berbagai senyawa aktif seperti yang ditunjukkan pada tabel 2.1, namun terdapat komponen utama yang terkandung dalam pegagan yaitu golongan senyawa triterpen diantaranya asam *asiatic*, asam *madecassic*, *asiaticoside*, dan *madecassoside* (Razali *et al.*, 2019; Maruzy dkk, 2020). Struktur kimianya seperti pada gambar 2.2. 40% komposisi ekstrak murni *Centella asiatica* adalah *asiaticoside* dan 60% sisanya adalah campuran asam *asiatic* dan asam *madecassic*. Ekstrak standart lain dari *Centella asiatica* mengandung setidaknya 80% *asiaticoside* dan *madecassoside* (Anukunwithaya *et al.*, 2017). Senyawa *asiaticoside* dan *madecassoside* pada pegagan sebagian besar mendominasi pada bagian daun dan ditemukan lebih rendah pada bagian akar (Chandrika & Kumarab, 2015). Asiatikosida merupakan aglikon triterpen pada pegagan, memiliki dua molekul gula diantaranya dua glukosa dan satu rhamnosa. Asiatikosida memiliki, glikol, satu karboksilat yang teresterifikasi dengan gugus gula dan gugus alkohol primer (Sutardi, 2016).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Senyawa Triterpen *Centella asiatica* (Razali, 2019)

Selain triterpen *Centella asiatica* ditemukan memiliki senyawa fenolik lain seperti flavonoid (quercetin dan kaempferol), fitosterol (caempesterol, sitosterol, dan stigmasterol), asam gulonat, asam ferulic dan asam klorogenat, tetapi nilai nutrisi dan pengobatan tanaman ini terutama dikaitkan dengan keberadaan triterpen (Razali *et al.*, 2019). Pegagan diketahui juga mengandung asam anorganik, tanin, gula, resin, dan asam amino seperti asam glutamat, α -alanin, asam aspartat, glisin, dan fenilalanin. Tanin sendiri bertindak sebagai antioksidan, sehingga memberikan nilai yang signifikan pada kandungan fitonutrientnya (Chandrika & Kumarab, 2015).

Pegagan mengandung sekitar 36% minyak atsiri dan lemak. Lemak tersebut terdiri dari gliserida asam palmitat, stearat, lignoserat, linoleat, dan linolenat. Konsisten minyak utama pada pegagan terdiri dari asetat terpenik, dengan kandungan minyak yang lainnya seperti β -Caryophyllene, farnesene, trans β -farnesene, bicyclogermacrene, dan sesquiterpene (Chandrika & Kumarab, 2015).

Tabel 2.1 Senyawa Aktif Utama *Centella asiatica*

Kelompok	Senyawa Aktif	Referensi
Terpenoid	Triterpen, asiatikosida, centelloside, madecassoside, asam centellic, asam centoic, brahmoside, brahminoside (saponin glikosida), asam asiatikentoat, asam madecassic, asam terminolic, asam betulic. β -caryophyllene, β -pinene, germacrene D (sesquiterpenes), trans β - farnesene, dan α -pinene.	(Yasurin <i>et al.</i> , 2016)
Fenol	Flavonoid: kaempferol-3-o- β -d-glukuronida, kaempferol, quercetin, quercetin-3-o- β -d-glukuronida, apigenin, patuletin, rutin, castillicetin, luteolin, castilliferol, naringin, castillicetin, dan myricetin.	(Orhan, 2012; Chong & Aziz, 2013)
Fenol	Fenilpropanoid: asam klorogenat, asam rosmarinic, 3,4-di-o-caffeoyl asam kuinat, asam kuinat 1,5-di-o-caffeoyl, asam kuinat 3,5-di-o-caffeoyl, 4,5-di-o-caffeoyl quinic acid, asam isoklorogenik.	(Chong & Aziz, 2013)
Fenol	Tannin: tannin, phlobatannin	(Chong & Aziz, 2013)
Sterol	sitosterol 3-O- β -glucoside, 11-oxoheneicosanil-cyclohexane, dotriacont-8-en-1-oicacid, stigmasterol 3-O- β -glucoside, and castasterone	(Orhan, 2012)

2.1.3 Manfaat Pegagan

Centella asiatica merupakan tumbuhan fungsional yang dimanfaatkan karena potensinya yang sangat banyak. Tumbuhan ini memiliki potensi antioksidan, antimikroba, pelindung saraf dan aktivitas lainnya. Manfaat tersebut banyak diklaim berkaitan dengan sifat kerja bioaktif pada tumbuhan tersebut, yaitu senyawa asam triterpen (asam madekassosida dan asam asiatik), triterpen saponin (madekassosida dan asiatikosida), flavonoid dan senyawa fenolik lainnya (Chandrika & Kumarab, 2015). Asam asiatik pada pegagan berperan sebagai agen anti septik dan berpotensi sebagai anti jamur (Irham *et al.*, 2018).

Pegagan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 84%, sebanding dengan ekstrak biji anggur (83%) dan vitamin C (88%) (Hashim dkk., 2011). Tingkat aktivitas antioksidan bervariasi pada jenis jaringan tanaman. Daun *Centella asiatica* menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dan mengandung kandungan fenolik tertinggi. Antioksidan sendiri bermanfaat bagi organisme hidup sebagai penangkal kerusakan akibat spesies oksigen reaktif (ROS) (Chandrika & Kumarab, 2015). Asam asiatik pada pegagan mampu mengurangi stress oksidatif dan menurunkan produksi NO yang berlebihan sejalan dengan penurunan aktivitas iNOS pada tikus sindrom metabolik yang diinduksi karbohidrat tinggi (Pakdeechote *et al.*, 2014). NO, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil merupakan jenis utama ROS yang merupakan produk sampingan dari metabolisme sel yang berasal dari metabolisme oksigen. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air, ekstrak methanol, dan infus air *Centella asiatica* memiliki efek antioksidan (Razali *et al.*, 2019).

Asam asiatik pada pegagan memiliki manfaat melindungi dari nefropati diabetik melalui penghambatan stress oksidatif. Asam asiatik mampu mengurangi temuan patologis abnormal dari podosit pada jaringan ginjal tikus diabetes, selain itu dapat meningkatkan ekspresi nefrin dan menurunkan ekspresi desmin, serta penekanan aktivitas jalur pensinyalan JNK. Nefrin adalah protein penting pada struktur membran podosit sebagai adhesi dan pensinyalan sel. Pensinyalan JNK (*c-Jun amino-terminal kinase*) diaktifkan oleh tekanan stress seluler serta memainkan peran penting dalam

peradangan, proliferasi sel, dan kematian sel, yang menyebabkan cedera ginjal kronis (Chen *et al.*, 2018).

Penelitian menunjukkan *Centella asiatica* juga efektif melawan diabetes melitus dengan mekanisme penurunan kadar gula darah (Tulung dkk., 2021). Pegagan memiliki aktivitas anti-hiperglikemik tanpa menyebabkan hipoglikemia. Sifat anti-hiperglikemik *Centella asiatica* terjadi melalui penghambatan enzim disakaridase usus maupun melalui α -amilase. Pencernaan sukrosa terhambat pada sepanjang saluran pencernaan. *Centella asiatica* dikatakan mengandung *oligosaccharide centellose*, resin dan sejumlah besar serat makanan yang tidak larut. Serat makanan memberikan penghalang yang lebih besar untuk difusi yang disebabkan karena viskositasnya yang tinggi serta kemampuannya untuk mengikat glukosa. *Centella asiatica* terbukti telah mengurangi katabolisme sukrosa dan pati melalui penghambatan katabolik pada proses pemecahan karbohidrat kompleks dan disakarida menjadi monosakarida. Maka setiap penghambatan proses katabolik akan menghambat penyerapan gula dan pada akhirnya menurunkan glikemik (Kabir *et al.*, 2014).

Senyawa madekosida pada pegagan berpotensi sebagai agen anti-inflamasi yang bermanfaat dalam sintesis kolagen untuk memperbaiki kerusakan sel. Serat kolagen berperan dalam penyembuhan luka atau jaringan yang rusak (Irham *et al.*, 2019). Asam asiatik pegagan juga mampu memperbaiki cedera ginjal yang diinduksi cisplatin, hal tersebut dikaitkan dengan tindakan anti-inflamasi dan meningkatkan fungsi ginjal dengan mengurangi jumlah apoptosis sel. Asam asiatik menghambat ekspresi mRNA dari sitokin proinflamasi termasuk TNF- α dan IL-1 β serta menekan aktivasi NF- κ B, yang dapat mengurangi jumlah kerusakan sel, sehingga tidak terjadi penurunan sel pada ginjal (Yang *et al.*, 2018).

2.2 Nanopartikel Tersalut Kitosan Metode Gelasi Ionik

Pegagan merupakan tanaman berdaun hijau yang banyak digunakan dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena khasiat dan kandungannya (Chandrika & Kumarab, 2015). Pemanfaatan pegagan sebagai obat herba banyak dalam bentuk segar,

kering atau ekstrak, namun terdapat keterbatasan obat herba dalam bentuk ekstrak kasar diantaranya menunjukkan potensi yang kurang baik secara *in-vivo*. Ekstrak tersebut menunjukkan kelarutan lemak yang buruk dan ukuran molekul yang tidak tepat, sehingga mengakibatkan penyerapan, proses *delivery* obat, dan bioavailabilitasnya rendah (Yasurin *et al.*, 2016). Inovasi dalam biomedis dilakukan dengan mengembangkan teknologi nanopartikel sebagai upaya peningkatan potensi obat herba (Fahmi, 2020).

Nanoteknologi dapat menjadi salah satu solusi untuk meningkatkan potensi suatu obat. Hal tersebut berkaitan dengan ukuran partikel yang dihasilkan dalam rekayasa nanoteknologi. Dalam nanoteknologi partikel yang dihasilkan akan berskala nano yang ukuran partikelnya sangat kecil. Ukuran partikel yang sangat kecil ini akan memudahkan partikel dalam menembus sel, sehingga akan meningkatkan manfaat suatu obat (Fahmi, 2020). Dalam penjelasan tersebut dapat diketahui bahwa di muka bumi ini terdapat suatu zat atau partikel yang tidak dapat kita lihat secara langsung dengan mata telanjang karena ukurannya yang sangat kecil dan keterbatasan pandangan kita, namun semua itu tidak akan luput dari Pandangan Allah ﷻ, karena Allah ﷻ Maha Mengetahui atas segala sesuatu meliputi sekecil apapun ukuran suatu partikel. Seperti halnya secara tersirat dijelaskan dalam QS: Saba' [34]: 3, sebagai berikut:

وَقَالَ الَّذِينَ كَفَرُوا لَا تَأْتِينَا السَّاعَةُ قُلْ بَلَىٰ وَرَبِّي لَتَأْتِيَنَّكُمْ عَالِمِ الْغَيْبِ لَا يَعْزُبُ عَنْهُ مِثْقَالُ ذَرَّةٍ فِي السَّمَوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَلَا أَصْغَرُ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرُ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُّبِينٍ

۳

Artinya:

Dan orang-orang yang kafir berkata: "Hari berbangkit itu tidak akan datang kepada kami". Katakanlah: "Pasti datang, demi Tuhanku Yang Mengetahui yang ghaib, sesungguhnya kiamat itu pasti akan datang kepadamu. Tidak ada tersembunyi daripada-Nya sebesar zarrahpun yang ada di langit dan yang ada di bumi dan tidak ada (pula) yang lebih kecil dari itu dan yang lebih besar, melainkan tersebut dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)" (QS: Saba' [34]: 3).

Kata ذَرَّةٌ menurut Shihab (2002) digunakan dalam Al-Quran untuk menunjukkan sesuatu yang kecil. Menurut masyarakat Jahiliah kata tersebut dipahami sebagai kepala semut atau debu yang terlihat beterbangan dibawah sorot cahaya matahari. Namun pada masa sekarang kata tersebut digunakan dalam arti atom. Dan Allah mengetahui segala sesuatu dan telah tercatat dalam Lauh Mahfudz. Kata *dzarrah* tersebut dimaknai sesuatu yang berukuran sangat kecil seperti halnya ukuran partikel pada nanopartikel, untuk mengamati ukuran partikel pada skala nano harus dilakukan menggunakan alat tidak dapat diamati secara langsung dengan mata. Allah ﷻ menciptakan dan mengetahui segala sesuatu yang terdapat di bumi walaupun sesuatu tersebut berukuran sangat kecil, sebagaimana kecilnya ukuran partikel skala nano yang dihasilkan dalam bidang nanoteknologi.

Nanopartikel adalah partikel koloid padat yang memiliki ukuran diameter antara 10-1000 nm (Safitri, 2014). Pegagan sebagai tumbuhan yang berpotensi obat banyak dimanfaatkan dengan teknologi nanopartikel. Penelitian Wilson *et al.*, (2015) menunjukkan nanopartikel pegagan dengan metode perak memiliki aktivitas antioksidan kuat dan aktivitas antidiabetes dengan cara penghambatan terhadap enzim α -amilase. Enzim α -amilase berfungsi melakukan hidrolisis terhadap ikatan alfa dari polisakarida seperti glikogen menjadi gula sederhana seperti glukosa atau maltosa. Penelitian Muchtaromah *et al.*, (2021) menunjukkan bentuk sediaan nanopartikel pegagan tersalut kitosan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan sediaan ekstrak pegagan.

Nanopartikel dapat mengoptimalkan kelarutan zat aktif, memperbaiki bioavailabilitasnya, meningkatkan stabilitas zat aktif, meningkatkan absorpsi senyawa makromolekul, mengurangi iritasi pada saluran cerna akibat zat aktif, serta dapat meningkatkan sifat farmakologis dan terapeutik obat (Abdassah, 2017). Ukuran nanopartikel yang kecil memiliki keunggulan pada aktivitas penyerapan dibandingkan dengan ekstrak. Menurut Husniati (2014), nanopartikel yang memiliki ukuran di bawah 500 nm memiliki daya serap 3 kali lebih besar jika dibandingkan ekstrak dengan ukuran

molekul di atas 1000 nm. Menurut Martien dkk., (2012) Kelebihan penggunaan nanopartikel dapat menembus ruang antar sel yang hanya bisa dilewati partikel koloid, dan terjadi kenaikan afinitas karena partikel berukuran lebih kecil sehingga meningkatkan ukuran luas permukaan kontak.

Nanopartikel menurut jenisnya dibedakan menjadi nanokristal dan nanokarier. Nanokristal memanfaatkan gabungan dari beberapa molekul yang akan membentuk suatu Kristal. Nanokristal biasanya dimanfaatkan untuk pemberian melalui jalur tertentu seperti contohnya cairan infus, obat suntik dan obat tetes mata. Nanokarier sendiri merupakan sistem nanopartikel dengan memanfaatkan suatu sistem pembawa dengan ukuran nano. Nanokarier dibedakan menjadi beberapa jenis diantaranya *nanotube* merupakan lembaran atom yang diatur berbentuk tube yang digunakan dalam transformasi sel bakteri untuk elektroporesi sel, nanoliposom merupakan sistem pembungkusan cairan dengan membran lipid lapis ganda dari fosfolipid alam, dan nanopartikel polimerik yang memanfaatkan polimer padat dengan senyawa obat yang terdispersi didalamnya (Abdassah, 2017).

Biopolimer memiliki keunggulan dapat membentuk jaringan yang dikembangkan sebagai sistem pembawa dalam bentuk matriks, bersifat inert terhadap bahan aktif, selain itu memiliki banyak gugus fungsi sehingga pengikatan molekul obat dapat dimaksimalkan, dapat dikatakan memiliki efisiensi penyerapan obat tinggi (Martien dkk., 2012). Kitosan adalah jenis biopolimer yang banyak digunakan. Kitosan merupakan polisakarida polimer alami yang terdiri dari glukosamin deasetilasi dan *N-acetyl-d-glucosamin* (Souto *et al.*, 2019). Kitosan merupakan polisakarida putih, keras, tidak elastis dan mengandung nitrogen. Kitosan memiliki tiga gugus fungsional yaitu, gugus amino dan gugus hidroksil primer dan hidroksil sekunder pada posisi C2, C3 dan C6 seperti gambar 2.3. Kitosan merupakan solusi ramah lingkungan terhadap pencemaran yang disebabkan oleh industri pengolahan hasil laut, karena setiap tahun 60 sampai 80 ribu ton limbah cangkang diproduksi secara global (Divya & Jisha, 2018).

Kitosan diproduksi dengan proses deasetilasi senyawa kitin, yang merupakan komponen utama kutikula serangga, dinding sel jamur, cangkang kepiting dan udang

(Divya & Jisha, 2018). Dapat diketahui kitosan berasal dari proses pemanfaatan limbah cangkang hewan yang banyak mengandung kitin. Hal tersebut merupakan salah satu karunia dari Allah ﷻ menurunkan manfaat pada hewan-hewan yang Ia ciptakan untuk dapat dimanfaatkan manusia. Sebagaimana secara tersirat Allah ﷻ berfirman dalam QS: Yasin [36]: 72-73, sebagai berikut:

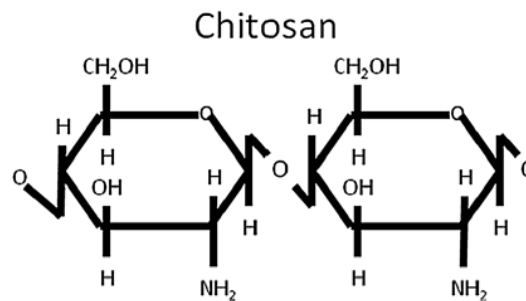
وَدَلَّلْنَاهَا لَهُمْ فَمِنْهَا رَكُوبُهُمْ وَمِنْهَا يَأْكُلُونَ ۖ وَلَهُمْ فِيهَا مَنَافِعُ وَمَشَارِبٌ أَفَلَا يَشْكُرُونَ

ۖ۳

Artinya:

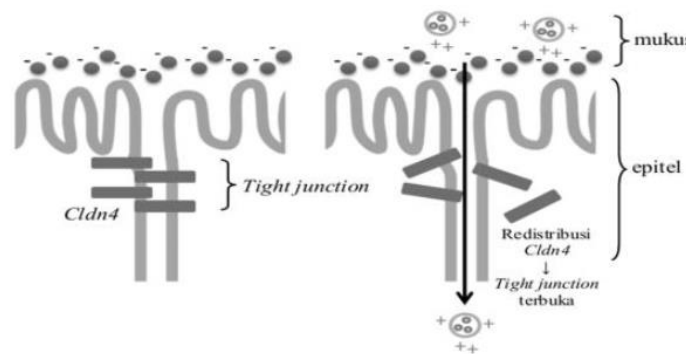
Dan Kami tundukkan binatang-binatang itu untuk mereka; maka sebahagiannya menjadi tunggangan mereka dan sebahagiannya mereka makan. Dan mereka memperoleh padanya manfaat-manfaat dan minuman. Maka mengapakah mereka tidak bersyukur? (QS: Yasin [36]: 72-73)

Quran Surat Yasin ayat 71 menurut Ibnu Katsir (2003) menjelaskan bahawa Allah ﷻ memberikan nikmat kepada makhluk-Nya berupa binatang yang ditundukkan untuk mereka. Kalimat وَلَهُمْ فِيهَا مَنَافِعُ memiliki arti *dan mereka memperoleh padanya manfaat-manfaat* menurut tafsir Ibnu Katsir (2003) binatang-binatang tersebut dapat memberikan manfaat sebagai barang-barang rumah tangga atau barang-barang dagangan hingga batas waktu tertentu. Atas nikmat yang telah Allah ﷻ berikan maka hendaklah selalu bersyukur dengan Sang Maha Pencipta dan Pengatur segala urusan. Pada penelitian ini digunakan Kitosan yang merupakan hasil pemrosesan dari senyawa kitin yang didapat dari kutikula serangga atau cangkang udang, yang merupakan manfaat yang dapat diambil dari sumber pemanfaatan hewan yang telah Allah ﷻ persiapkan untuk makhluk-Nya. Karena kitosan diambil dari bahan hewan yang didapat dari alam, sehingga kitosan memiliki sifat yang aman dan baik digunakan untuk biopolimer nanopartikel.



Gambar 2.3 Struktur Kitosan

Kitosan menunjukkan sifat ideal biokompatibilitas, biodegradabilitas, mukoadhesivitas, non-toksisitas, dan antimikroba (Divya & Jisha, 2018; Souto *et al.*, 2019). Sifat khas polimer kitosan yang tidak dimiliki polimer lain yaitu kemampuannya dalam membuka kaitan antar sel (*tight junction*) pada membran usus seperti pada gambar 2.4. Muatan positif pada gugus ammonium kitosan dapat melakukan interaksi ionik dengan asam sialat yang ada di membran intestinal saluran gastrointestinal (Martien dkk., 2012), selain itu kitosan terbukti memiliki kemampuan mukoadhesivitas pada *GI track* (Souto *et al.*, 2019).

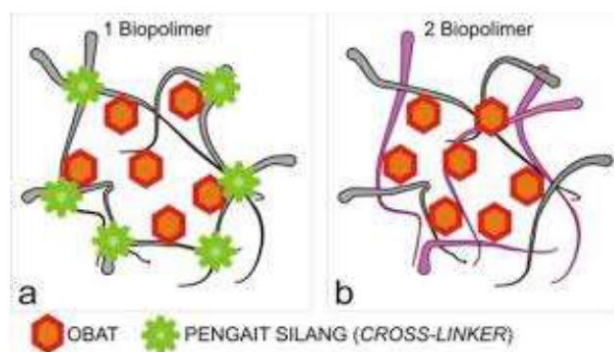


Gambar 2.4 pembukaan *tight junction* oleh nanopartikel kitosan (Martien, 2012)

Terdapat lima jenis metode yang digunakan dalam membuat nanopartikel kitosan diantaranya mikroemulsi yang dilakukan dengan melarutkan surfaktan dalam N-heksana dan kitosan dalam larutan asetat dan glutaraldehid, metode ini memiliki kerugian karena penggunaan antigenik glutaraldehid. Kemudian ada metode difusi pelarut emulsifikasi, menggunakan prinsip pembentukan emulsi dari injeksi fasa

organik ke dalam larutan kitosan, kerugian metode ini adalah penggunaan pelarut organik. Metode selanjutnya adalah metode kompleks polielektrolit, yang terbentuk dengan penyusunan polimer bermuatan kationik dengan DNA plasmid. Selanjutnya terdapat metode *reverse micellar*, dilakukan dengan menambahkan larutan kitosan pada pelarut organik yang mengandung surfaktan dengan proses agitasi konstan. Metode terakhir adalah metode gelasi ionik yang menggunakan prinsip *cross link* atau ikatan sambung silang antara elektrolit dan pasangan ionnya (Divya & Jisha, 2018).

Metode Gelasi ionik memanfaatkan interaksi ikatan elektrostatik gugus amina kitosan yang bermuatan positif dengan muatan negatif pada gugus polianion (tripolifosfat) (Divya & Jisha, 2018). Kitosan pertama dilarutkan dalam larutan yang memiliki pH asam salah satunya asam asetat, sehingga gugus aminanya ($-NH_2$) berubah menjadi terionisasi positif ($-NH_3^+$). Muatan positif tersebut membentuk interaksi ionik dengan gugus polianion yang bermuatan negatif. Penambahan *cross linker* berfungsi menstabilkan muatan positif, *Cross linker* yang digunakan berupa polianion seperti tripolifosfat (TPP). Ikatan antara kitosan dan TPP yang terbentuk mereduksi ukuran partikel molekul obat ekstrak pegagan. Kompleksasi antara polimer kitosan dengan molekul obat yang memiliki muatan berlawanan, serta distabilkan oleh polianion dapat dilihat pada gambar 2.5 (Martien, 2012).



Gambar 2.5 Matrik Nanopartikel Metode Gelasi Ionik (Abdassah, 2017)

Pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik dapat dimodifikasi dengan metode ultrasonikasi, yang bertujuan memberikan efek mekanik pada proses

homogenisasi sehingga terbentuk getaran untuk mengecilkan ukuran partikel (Nugroho dkk., 2020). Metode ini memiliki prinsip terjadi pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga dibentuk partikel dengan ukuran nano. Sonikasi dilakukan dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik pada frekuensi 20 KHz sampai 10MHz yang melebihi batas pendengaran manusia. Gelombang ultrasonik merupakan suatu gelombang mekanik longitudinal, sehingga membutuhkan medium perambatan untuk berinteraksi dengan molekul. Medium yang digunakan diantaranya medium padat, cair dan gas. Gelombang ultrasonik yang melewati medium menimbulkan getaran partikel medium dengan amplitude yang sejajar arah rambat (Candani dkk., 2018).

2.3 Tinjauan Mencit (*Mus musculus*)

Allah ﷻ menciptakan berbagai jenis makhluk hidup baik manusia, tumbuhan ataupun hewan. Makhluk hidup yang diciptakannya memiliki bentuk, ukuran, sifat, ciri fisiologi yang berbeda-beda. Perbedaan-perbedaan tersebut menjadikan makhluk hidup dapat dikelompokkan berdasarkan ciri mendasarnya. Perbedaan tersebut juga memperlihatkan keberagaman bentuk makhluk hidup ciptaan Allah, salah satunya berbagai jenis hewan yang Allah ﷻ ciptakan dengan bermacam karakternya. Sebagaimana Allah ﷻ menjelaskan dalam QS: An-Nur [24]: 45 sebagai berikut:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ ۖ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ ۚ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ۝

Artinya

Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu. (QS: An-Nur [24]: 45).

Allah ﷻ menciptakan berbagai jenis hewan seperti dalam Surat An-Nur ayat 45. Menurut Ibnu Katsir (2003), Allah ﷻ mengungkapkan kebesarannya dalam menciptakan makhluknya yang memiliki berbagai macam bentuk, yang Ia ciptakan dari air. Diantara makna Surat An-Nur ayat 45 terdapat kata “وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ” yang

artinya “sedangkan sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki”, menurut tafsir Ibnu Katsir (2003), ayat tersebut menjelaskan hewan ternak dan hewan lain yang memiliki empat kaki. Kemudian disebutkan dalam ayat selanjutnya yang bermakna apa yang Ia kehendaki pasti ada, sedangkan apa yang tidak Ia kehendaki pasti tidak ada. Pada makna tersebut dijelaskan kelompok hewan yang memiliki empat kaki sebagai alat geraknya, sebagaimana mencit yang masuk kedalam kelompok hewan berkaki empat.

Hewan coba merupakan hewan model yang sengaja dipelihara sebagai pembelajaran untuk mengembangkan berbagai bidang ilmu yang dilakukan pada skala pengamatan laboratorium atau penelitian biologis dan biomedis. Hewan coba yang sering digunakan adalah mencit (*Mus musculus*). Mencit merupakan mamalia pengerat yang mudah dikembang biakan, mencit dapat hidup hingga umur satu sampai tiga tahun, namun usia mencit dapat dipengaruhi oleh jenis galur, lingkungan dan penyakit. Mencit dapat menghasilkan kurang lebih satu juta keturunan dalam kurun satu tahun, dengan produktivitas seksualnya selama tujuh hingga delapan bulan dan rata-rata anak setiap kelahiran sebanyak enam sampai sepuluh anak. Berikut klasifikasi mencit (Tolistiawaty, 2019):

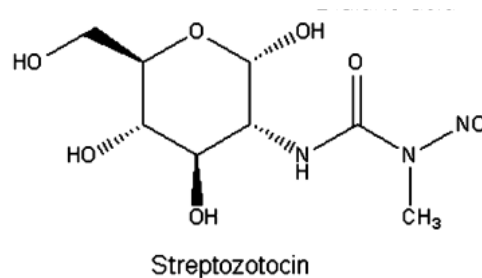
Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub-Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

Mencit digunakan sebagai hewan coba karena mudah dipelihara dengan jumlah yang banyak, memiliki karakteristik anatomi dan fisiologis yang baik, variasi genetiknya besar, relative murah, penanganan mudah, siklus hidup yang singkat sehingga dimungkinkan melakukan penelitian proses biologis pada semua siklus hidup,

memiliki masa kebuntingan singkat sekitar 19 – 20 hari dan perkembangbiakannya cepat karena memiliki daur estrus teratur, memiliki keselarasan pertumbuhan seperti kondisi manusia (Maryanto *et al.*, 2005; Putri, 2018). Keunggulan Mencit strain Balb C relative tahan terhadap diet dan induksi alergi dalam eksperimental serta kebal dengan tanggapan bias sehingga sering digunakan dalam percobaan laboratorium. Strain ini memiliki ciri tubuh yang kecil, berwarna putih, albino, dengan siklus estrus empat sampai lima hari (Dlar, 2009).

2.4 Agen Diabetogenik Streptozotosin

Streptozotosin (STZ) merupakan derivate N-nitrosurea dari D-glukosamin, yang digunakan sebagai agen diabetogenik dengan kemampuan yang dapat merusak sel beta pankreas. Streptozotosin didapat dari bakteri *Streptomyces acharomogenes* (Raza, 2013). Streptozotosin menyebabkan kerusakan integritas membran, interaksi enzim (enzim glukokinase) dan fragmentasi DNA pada sel β pankreas, dengan melakukan perusakan pada GLUT-2 yang berfungsi sebagai pengangkut glukosa untuk memasuki sel β pankreas (Bilous & Donelly, 2015).



Gambar 2.6 Struktur Kimia Streptozotosin

Beberapa mekanisme streptozotosin menyebabkan kematian sel beta pankreas dijelaskan oleh beberapa mekanisme diantaranya, streptozotosin dapat merusak DNA melalui proses metilasi DNA sehingga terbentuk ion karbonium yang akan menyebabkan penurunan NAD^+ yang sangat besar sehingga menyebabkan penghentian energi yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel beta pankreas (Eleazu *et al.*, 2013). Keterlibatan *Nitric oxide* juga mengusulkan sebagai mekanisme efek diabetogenik pada streptozotosin yang bersifat toksik terhadap sel beta pankreas.

Streptozotosin digunakan untuk menginduksi diabetes dengan *multiple low doses*. Setelah beberapa kali injeksi STZ dosis rendah, proses degenerasi sel beta pada pankreas langsung memulai respons inflamasi. Sel-sel mononuclear bermigrasi dari aliran darah menuju jaringan, di mana mereka berdiferensiasi menjadi makrofag. Sel-sel ini memfagositosis sel beta pankreas (Rodrigues *et al.*, 2018).

Streptozotosin yang bekerja pada sel β pankreas dengan aksi sitotoksi dipengaruhi oleh Reaksi oksigen spesies (ROS) sehingga memicu tingginya produksi radikal bebas yang menimbulkan stress oksidatif (Tatto dkk., 2017). Karena sifat khusus streptozotosin yang lebih stabil sehingga agen ini banyak menjadi pilihan untuk induksi dari keadaan metabolik diabetes pada hewan percobaan. Streptozotosin pada dasarnya membuat model hewan coba seperti sindrom diabetes tipe 1 yang menyebabkan ketergantungan insulin akibat kematian sel (nekrotik) (Lenzen, 2008).

2.5 Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis jangka panjang yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah, yang diakibatkan tubuh tidak dapat memproduksi cukup insulin atau sel tubuh tidak efektif merespon insulin atau disebut resistensi insulin (IDF, 2019). Diabetes melitus berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari dua kata, yang berarti saluran pengeluaran cairan dan madu. Insulin merupakan hormon yang dapat menurunkan kadar gula dalam darah agar tetap stabil (Bilous & Donnelly, 2015), serta berfungsi dalam metabolisme lemak serta protein. kurangnya penghasilan insulin serta penurunan kepekaan sel dalam merespon insulin menyebabkan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia) yang dapat diindikasikan dengan indikator klinis yaitu salah satunya kadar glukosa darah puasanya diatas 7 mmol/L atau diatas 126 mg/dL (IDF, 2019).

Pada 2019 diperkirakan 463 juta orang menderita diabetes. Angka tersebut meningkat yang diketahui pada tahun 2017 penderita diabetes masih sebesar 425 juta orang. Jumlah anak-anak dan remaja (yaitu hingga 19 tahun) yang hidup dengan diabetes melitus meningkat setiap tahun. Pada 2019 diketahui lebih dari satu juta anak

dan remaja menderita diabetes tipe 1, dan diperkirakan 136 juta orang dengan usia diatas 65 tahun menderita diabetes (IDF, 2019).

Klasifikasi diabetes berdasarkan pada etiologi penyakit. Klasifikasi pertama yaitu diabetes tipe 1 yang disebabkan hancurnya sel beta di pankreas. Diabetes tipe 1 diklasifikasikan kembali berdasarkan penyebabnya, diantaranya disebabkan autoimun atau disebabkan idiopatik (tidak ditemukan autoimun). Pada autoimun, antibody dari sel beta pankreas akan melakukan penghancuran terhadap sel beta. Orang dengan diabetes tipe 1 membutuhkan injeksi insulin dari luar setiap harinya, untuk menjaga kadar glukosa dalam darah tetap stabil. Gambaran klinis diabetes tipe 1 diantaranya, rasa haus yang berlebih dan ketoasidosis (muntah, dehidrasi, hiperventilasi), penurunan berat badan, ketoasis spontan, penanda auto imun ditemukan pada sel pulau pankreas (Bilous & Donelly, 2015).

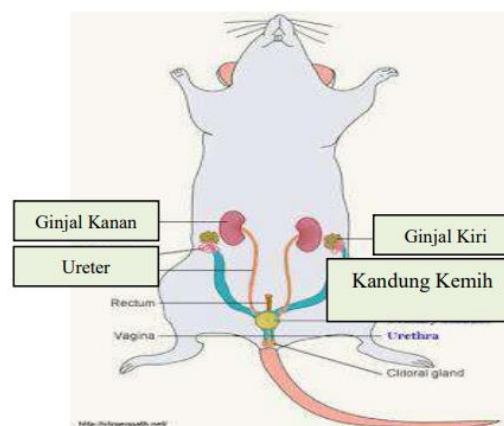
Klasifikasi selanjutnya adalah diabetes tipe 2, disebabkan ketidakmampuan sel-sel tubuh untuk merespon insulin. Resistensi insulin menyebabkan hormon tidak aktif dalam menyimpan glukosa, sehingga kadar glukosa tetap tinggi, hal tersebut menginisiasi meningkatnya penghasilan insulin. Insulin yang tidak memadai dapat berkembang sebagai akibat dari kegagalan sel beta pankreas memenuhi permintaan. Pada awalnya diabetes tipe 2 sering menyerang orang yang tua atau lanjut usia, namun meningkatnya tingkat obesitas, serta penurunan aktivitas fisik dan pengaturan diet yang buruk menyebabkan anak-anak dan orang yang lebih muda juga dapat terjangkit penyakit ini (IDF, 2019).

Hiperglikemia pada penderita diabetes mempengaruhi sistem pembuluh darah. Terutama komplikasi mikrovaskular seperti menyebabkan kerusakan mata (retinopati), kerusakan ginjal (nefropati) dan kerusakan saraf (neuropati) serta penyakit makrovaskular seperti aterosklerosis. Penyakit mikrovaskuler terbukti kuat berhubungan dengan durasi dan tingkat keparahan hiperglikemia, baik pada diabetes tipe 1 atau tipe 2. Seiring lamanya diabetes yang diderita pasien, prevalensi retinopati, nefropati, dan neuropati terus meningkat pada pasien yang memiliki kontrol glikemik

buruk (Bilous & Donelly, 2015). Kerusakan mikrovaskuler pada komplikasi kronik diabetes dapat terjadi dalam kurun 10-15 tahun (Djari, 2008).

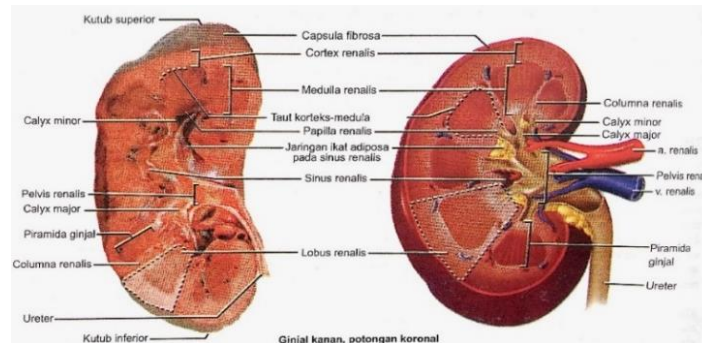
2.6 Struktur Histologi dan Fungsi Ginjal

Ginjal terletak pada belakang rongga abdomen, sejajar mulai dari vertebra torakalis ke-12 sampai vertebra lumbalis ke-13. Posisi ginjal kiri lebih tinggi dibanding ginjal kanan karena terdapat hati. Ginjal diselubungi oleh kapsul ginjal, diantaranya perirenal fascia yang juga menyelubungi kelenjar adrenal, diantara kapsul dan perirenal fascia terdapat jaringan ikat yang sangat longgar yaitu kapsul adiposa (Callaghan, 2009).

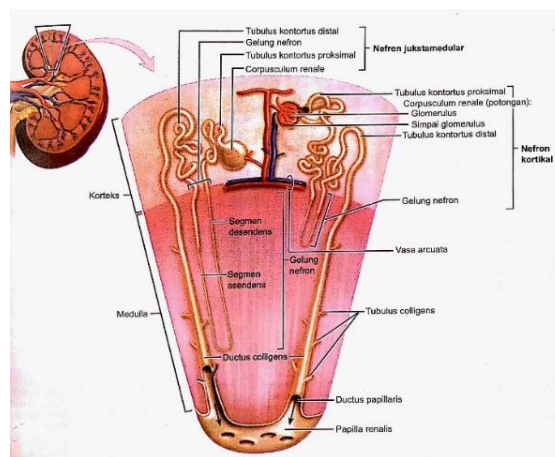


Gambar 2.7 Letak Anatomi Ginjal Mencit (Tambupol, 2014).

Bagian ginjal jika dibelah secara coronal memperlihatkan bagian korteks pada sisi luarnya dan bagian medulla pada sisi yang lebih dalam seperti gambar 2.8. Pada setiap medulla tersusun atas struktur piramida ginjal yang berjumlah 8-15 buah, yang setiap piramida ini dipisahkan oleh juluran columna renalis. Setiap ginjal memiliki 1-1,4 juta unit fungsional disebut nefron, cabang setiap nefron terdiri dari korpuskel ginjal, tubulus proksimal, gelung nefron, tubulus distal, serta tubulus colligens. Tubulus colligens yang berasal dari beberapa nefron kemudian berkumpul dan menjadi satu dalam ductus colligens. Gambar Nefron ginjal dapat dilihat pada gambar 2.9 (Mescher, 2017).



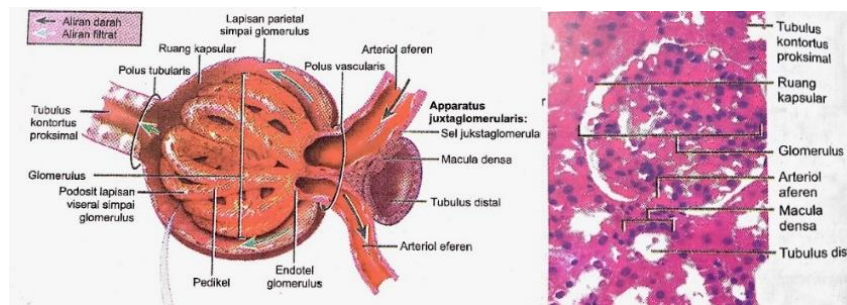
Gambar 2.8 Potongan Koronal Ginjal Kanan (Mescher, 2017)



Gambar 2.9 Nefron (Mescher, 2017)

Korpuskel ginjal memiliki diameter 200 μm , yang memiliki berkas kapiler glomerulus, serta dikelilingi oleh epitel simpai bowman yang dapat dilihat pada gambar 2.10 (Mescher, 2017). Secara histologi bagian ini berbentuk bundar dan berwarna lebih gelap daripada sel di sekitarnya, karena memiliki sel yang lebih padat. Pada permukaan luar terdapat epitel selapis tipis disebut simpai bowman atau disebut lapisan parietal. Dibawah simpai bowman lapis parietal terdapat ruang kosong berfungsi menampung cairan ultrafiltrat. Terdapat kutub vaskuler pada glomerulus yang merupakan tempat masuk dan keluarnya aliran darah melewati arteriol. Arteriol yang membawa aliran darah masuk ke glomerulus disebut vasa aferen yang selanjutnya bercabang menjadi sekitar lima kapiler glomerulus. Kapiler glomerulus diselubungi oleh sel podosit yang disebut lapisan visceral. Antara sel endotel dan sel podosit glomerulus sulit untuk

dibedakan pada pengamatan histologi glomerulus dengan mikroskop cahaya. Pembuluh kapiler glomerulus yang sebelumnya bercabang-cabang, ketika akan keluar dari korpuskel ginjal akan bersatu kembali menjadi satu jalan keluarnya darah dari glomerulus yang disebut vasa eferen (Wonodirekso, 2013).



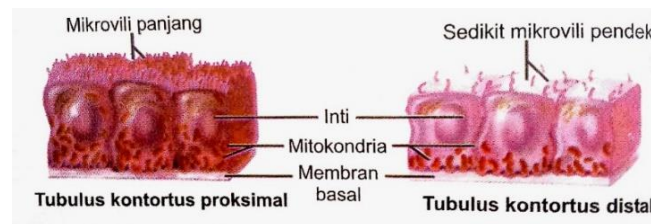
Gambar 2.10 Korpuskel Ginjal (Mescher, 2017)

Kapsula bowman atau lapisan parietal terdiri dari sel epitel selapis pipih, lamina basalis serta selapis serat reticular yang tipis pada bagian luarnya. epitel yang awalnya pipih pada kapsula bowman kemudian pada bagian kutub tubular epitel berubah menjadi selapis kuboid yang merupakan ciri khas epitel pada tubulus proksimal, sedangkan sel pada lapis viseral disebut podosit dengan badan sel yang menjulur membentuk prosesus primer kemudian menjulur kembali menjadi prosesus sekunder yang disebut pedikel dengan posisi memeluk kapiler glomerulus. Pedikel ini saling mengunci dan membentuk celah filtrasi dengan lebar kurang lebih 30-4 nm (Mescher, 2017).

Di antara sel endotel glomerulus dan sel podosit, terdapat membran basal glomerular tebal kurang lebih 0,1 μm . Membran ini berfungsi sebagai filtrasi yang memisahkan darah dalam kapiler dengan ruang kapsuler, selain itu korpuskel ginjal juga memiliki sel mesangial. Sel mesangial tidak mudah dibedakan dari pengamatan glomerulus karena tercampur dengan podosit, tetapi sebenarnya sel mesangial memiliki warna yang lebih gelap jika diwarnai. sel mesangial dan matriks disekitarnya disebut sebagai mesangium (Mescher, 2017).

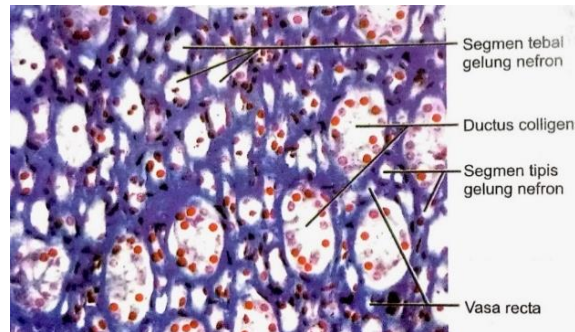
Filtrat urin yang telah terbentuk pada glomerulus kemudian disalurkan ke tubulus, terjadi perubahan volume dan isi dari filtrate akibat proses reabsorpsi dan

sekresi (Callaghan, 2009). Tubulus yang berhubungan langsung dengan simpai bowman adalah tubulus proksimal. ukuran panjang tubulus proksimal lebih pajang jika dibandingkan tubulus distal, sehingga tubulus proksimal lebih sering ditemukan pada potongan korteks ginjal. sifat sitoplasma dari sel tubulus proksimal adalah asidofilik (kemerahan) yang dipengaruhi oleh banyaknya jumlah mitokondria. Bagian sel yang menghadap lumen ditemukan mikrovili yang disebut *Brush border* seperti pada gambar 2.11, yang berfungsi dalam proses reabsorpsi. Dinding sel tubulus proksimal tersusun oleh sel epitel selapis kuboid dengan batas sel yang kurang jelas. Memiliki inti berbentuk bundar berwarna biru dengan letak antar inti sel terlihat berjauhan, karena ukuran selnya besar, sehingga pada satu potongan melintang tubulus proksimal hanya ditemukan 3-5 inti. *Brush border* pada sediaan histologi terlihat kurang teratur dan seperti serabut yang mengisi lumen (Wonodirekso, 2013; Mescher, 2017).



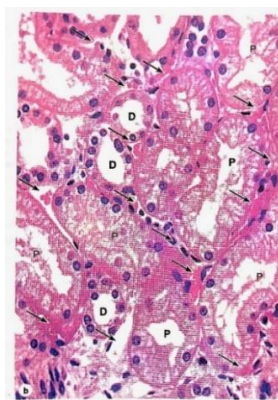
Gambar 2.11 Sel Tubulus Proksimal dan Tubulus Distal (Mescher, 2017)

Seiring dengan tubulus proksimal lurus maka berubah menjadi ansa henle segmen desendens (Callaghan, 2009). Ansa henle ini terdapat pada bagian medula ginjal. Jaringan medula terdiri dari saluran-saluran lurus yang berfungsi sebagai reabsorpsi dan sekresi seperti pada gambar 2.12. Saluran yang terdapat di bagian medula diantaranya Ansa henle segmen tebal turun (pars desenden) dengan gambaran histologi mirip tubulus kontortus proksimal dengan perbedaan terletak pada garis tengah yang terlihat kecil. Selanjutnya ada Segmen tipis ansa henle dengan gambaran seperti kapiler darah yang memiliki epitel selapis sel pipih dan sitoplasma yang jelas terlihat. Selanjutnya Ansa henle (pars asenden) dengan gambaran seperti tubulus kontortus distal dengan garis tengah terlihat kecil (Wonodirekso, 2013).



Gambar 2.12 Potongan Melintang Medula Ginjal (Mescher, 2017)

Saat akan memasuki korteks ginjal, pars asenden menjadi jalinan yang lurus, kemudian bersambung menjadi tubulus kontortus distal yang berkelok. Tubulus distal memiliki selapis sel epitel yang berbentuk kuboid dan berukuran lebih kecil jika dibanding ukuran sel epitel tubulus proksimal. Inti selnya berbentuk bundar berwarna biru. Sitoplasmanya berwarna basofil (kebiruan). Setiap potongan melintang tubulus distal terlihat memiliki inti lebih banyak dan jarak antar inti lebih dekat, karena ukuran sel yang lebih kecil seperti pada gambar 2.13. Bagian tubulus distal yang lurus berkontak dengan kutub vascular korpuskel ginjal dan membentuk struktur khusus yang disebut apparatus juxtaglomerularis. Urin kemudian mengalir dari tubulus kontortus distal menuju tubulus colligens dengan saluran yang lebih besar dan lurus, kemudian berjalan pada tepian piramida ginjal menuju calyx minor (Wonodirekso, 2013; Mescher, 2017).



Gambar 2.13 Histologi Tubulus Proksimal dan Tubulus Distal (Mescher, 2017)

Fungsi terpenting ginjal yaitu sebagai pengatur homeostasis kadar air dan ion darah (keseimbangan cairan dan elektrolit). Ginjal mempertahankan kadar ion dan air

dalam darah normal dengan menyeimbangkan antara asupan zat-zat tersebut dengan ekskresi dalam bentuk urin. Terdapat enam kelompok fungsi ginjal diantaranya (Silverthorn *et al.*, 2014):

- a) Pengaturan volume cairan ekstraseluler dan tekanan darah, bila volume cairan ekstraseluler (CES) berkurang maka tekanan darah juga berkurang, sehingga tubuh tidak dapat mempertahankan aliran darah yang cukup ke otak.
- b) Pengaturan osmolaritas dengan cara mengaktifkan hormon yang mendorong rasa haus untuk mempertahankan osmolaritas.
- c) Mempertahankan keseimbangan ion dengan kehilangan melalui urin.
- d) Pengaturan homeostasis pH, bila cairan ekstraseluler menjadi terlalu asam ginjal akan membuang H^+ dan mempertahankan ion bikarbonat (HCO_3^-).
- e) Ekskresi limbah seperti obat-obatan dan toksin.
- f) Pembentukan hormon, seperti hormon *eritropoietin* (sintesis sel darah merah), *renin* (homeostasis keseimbangan natrium dan tekanan darah).

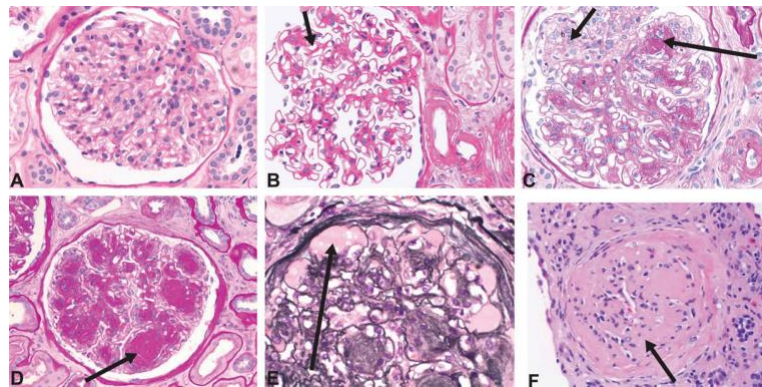
2.7 Hubungan Diabetes melitus dengan Kerusakan Ginjal (Nefropati Diabetik)

Diabetes melitus dapat berkembang menjadi komplikasi penyakit pada ginjal, diketahui sekitar 20-40% penderita diabetes melitus tipe II dan sekitar 30% pasien diabetes melitus tipe I dapat berkembang menjadi komplikasi pada ginjal (Stephens *et al.*, 2020). Hiperglikemia yang terjadi pada penderita diabetes melitus berkontribusi terhadap komplikasi ginjal dengan menyebabkan terjadinya inflamasi dan fibrosis pada glomerulus dan tubulus ginjal, sehingga terjadi kerusakan fungsi ginjal (Tjekyan, 2014).

Derajat hiperglikemia dapat menyebabkan komplikasi jaringan karena berhubungan dengan gangguan mikrovaskuler pada organ, seperti gangguan terhadap organ ginjal atau biasa disebut nefropati diabetik (Bilous & Donnelly, 2015). Diabetes melitus menyebabkan dinding arteriol, yang merupakan bagian terkecil dari arteri, mengalami kerusakan (sklerosis). Terjadinya sklerosis menyebabkan penyempitan

dinding kapiler darah, sehingga pasokan oksigen yang sampai ke jaringan tidak cukup dapat menyebabkan luka jaringan (Cintari, 2008).

Perkembangan nefropati diabetik dikaitkan dengan banyak perubahan dalam struktur beberapa kompartemen ginjal. Perubahan paling awal yang konsisten adalah penebalan membran basal glomerulus yang terlihat dalam 1,5 sampai 2 tahun diagnosis DM 1. Penumpukan membran basal glomerulus terjadi akibat penumpukan bahan matriks seperti kolagen dan laminin tipe IV, selain itu penumpukan ini dapat terjadi pada mesangium glomerulus menyebabkan terjadinya ekspansi mesangial, yang dapat membentuk perkembangan Kimmelstiel-Nodul Wilson (Alicic *et al.*, 2017).



Gambar 2.14 Glomerulopathy pada penderita Diabetes

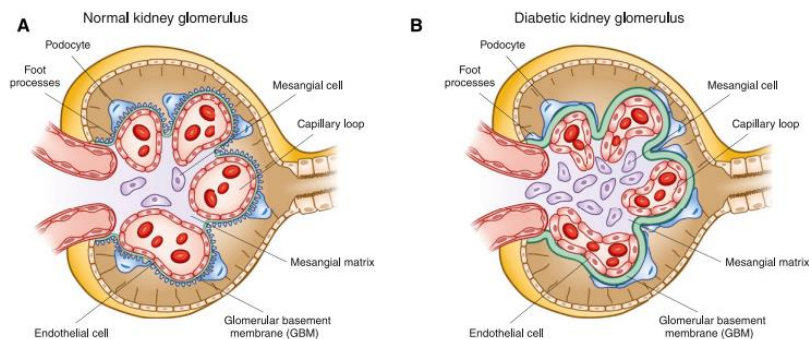
A=glomerulus normal; B=Mesangial expansion; C=awal pembentukan nodul; D=Nodul; E=Dilatasi Kapiler; F=Lesi glomerulus



Gambar 16.4 Mikrograf elektron glomerulus dari pasien diabetes, menunjukkan penebalan membran basalis (GBM) dan perluasan mesangium disertai penumpukan matriks ekstrasel (MES).

Gambar 2.15 Penebalan membran basalis glomerulus (Bilous & Donelly, 2015)

Perubahan pada glomerulus lainnya diantaranya hilangnya sel epitel podosit dengan penipisan pada jalinannya. Penurunan podosit memungkinkan terjadinya peningkatan filtrasi albumin yang menandai nefropati progresif. Pada kapsul bowman dan tubulus proksimal juga terlihat deposit subepitel (terjadi lesi) (Alicic *et al.*, 2017). Kadar gula darah yang tinggi menyebabkan kerja sel tubulus dalam mereabsorpsi lebih berat, hal tersebut menyebabkan terjadinya sel tubulus menjadi hipertrofi, pada tahap selanjutnya terjadi penebalan membran basalis tubulus dan dilatasi tubulus, kemudian akan menyebabkan atrofi sel tubulus dan fibrosis peritubuler (Singh & Farrington, 2010). Pada tubulus proksimal dan distal terjadi proses reabsorpsi dan sekresi, sehingga menjadi bagian pada nefron yang mudah terpapar zat toksik, selain itu pada tubulus proksimal secara khusus terjadi reabsorpsi glukosa. Apabila glukosa terakumulasi banyak akan mengganggu sistem metabolik pada sel tubulus (Kamaliani, 2019).



Gambar 2.16 Morfologi ginjal normal dan perubahan struktur pada diabetes melitus (Alicic *et al.*, 2017)

Penelitian menunjukkan bahwa aliran darah yang masuk ke ginjal meningkat disertai dilatasi relative arteriola aferen glomerulus dibanding eferen pada penderita diabetes melitus. Hal tersebut menyebabkan terjadi peningkatan pada kapilar glomerulus karena blok angiotensin II merelaksasi arteriola eferen. Terjadinya nefropati diabetik juga dipengaruhi oleh proses hemodinamik diantaranya hiperfiltrasi, peningkatan tekanan kapiler glomerulus, dan hipertensi sitemik (Bilous & Donelly, 2015).

Hiperglikemia dapat menyebabkan komplikasi pada ginjal atau nefropati diabeti akibat dari beberapa mekanisme jalur metabolik dan *second messenger*, diantaranya melalui jalur poliol. Pada jalur poliol terdapat enzim aldoreduktase merupakan enzim pembatas kadar yang salah satunya ditemukan di tubulus dan glomerulus ginjal, yang berfungsi mengurangi glukosa yang terikat pada alkohol gula menjadi sorbitol. Jalur ini biasanya tidak aktif, namun keadaan hiperglikemia menyebabkan peningkatan fluks glukosa yang mengarah pada penumpukan glukosa. Sorbitol yang dihasilkan tidak dapat berdifusi dengan mudah menembus membran sel dan kerusakan terjadi akibat tekanan osmotik. Selain itu terjadi penurunan kadar NADPH sehingga berdampak pada pengaktifan protein kinase C dan peningkatan pembentukan *advanced glycation endproduct*, menyebabkan peningkatan tekanan oksidatif pada sel (Bilous & Donnelly, 2015).

Advanced glycation endproduct atau disingkat AGE merupakan hasil reaksi glukosa dan senyawa yang terglykasi lain. *Advanced glycation endproduct* dapat menyebabkan kerusakan endotel sel dan menyebabkan komplikasi diabetes melalui dua cara, yang pertama akibat taut-silang protein matriks seperti kolagen dan laminin, sehingga pembuluh darah menjadi kaku dan menyebabkan terjadinya permeabilitas dan elastisitas pembuluh darah. Kedua dengan cara AGE yang berikatan dengan reseptornya yaitu RAGE pada beberapa jenis sel seperti monosit atau makrofag, sel mesangium glomerulus, dan sel endotel. Pengikatan tersebut mengarah pada pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), pengaktifan *second messenger* seperti protein kinase C (PKC), pelepasan faktor transkripsi NF κ B serta perangsangan sitokin dan pembentukan faktor pertumbuhan VCAM-1 yang menyebabkan adhesi sel peradangan (Bilous & Donnelly, 2015).

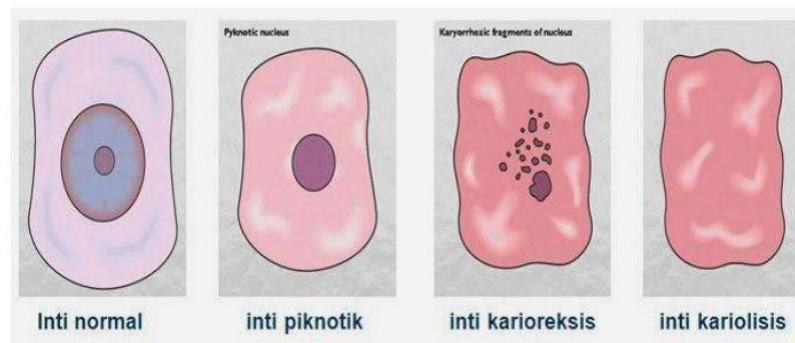
2.8 Nekrosis Sel Ginjal

Nekrosis merupakan proses kematian sel yang terjadi secara tidak terkontrol akibat adanya trauma fisik, terkena racun, kekurangan oksigen akibat terputusnya asupan darah, atau perubahan suhu ekstrim. Sel nekrosis terlihat membengkak,

organel-organel sel rusak, dan pada akhirnya sel pecah. Isi sel yang keluar, termasuk keluarnya enzim pencernaan dapat merusak sel disekitarnya sehingga akan timbul peradangan (Barret *et al.*, 2015). Menurut Cotran *et al.* (2007) selama seminggu setelah proses nekrosis pada jaringan ginjal akan tampak proses regenerasi sel epitel yang akan terbentuk lapisan sel epitel kuboid yang rendah, serta akan terjadi proses mitotik pada sel tubulus yang tidak nekrosis. Proses regenerasi tetap berjalan apabila membran basalin tidak rusak.

Proses perubahan mikroskopik sel nekrosis dapat terjadi pada sitoplasma dan bagian organl-organel sel, namun tanda proses nekrosis sel dapat dilihat pada tiga tahapan perubahan nuklear seperti pada gambar 2.17 (Kevin, 2010):

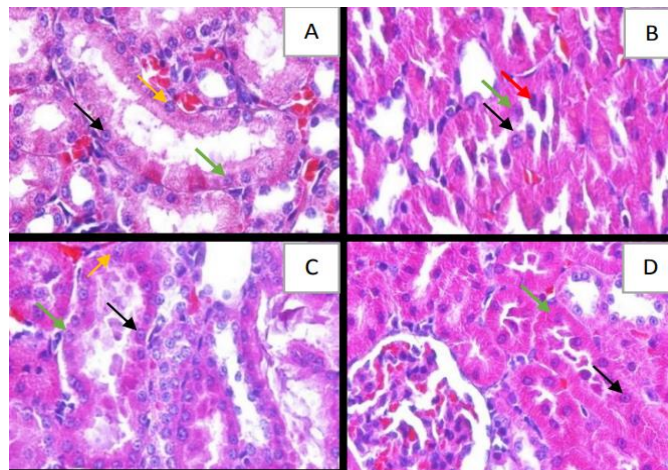
- a) Piknosis, yaitu menyusutnya inti sel hingga terlihat mengkerut, terjadi penggumpalan serta densitas kromatin meningkat, batas yang tidak teratur serta berwarna hitam.
- b) Karioreksis, menunjukkan membran pada nukleus robek dan materi kromatin tersebar dalam sel karena inti sel telah hancur.
- c) Kariolisis, Inti sel telah tercerna sehingga tidak dapat terwarnai dan tidak nampak.



Gambar 2.17 Tahapan Nekrosis Sel (Kevin, 2010)

Organ ginjal merupakan organ penting yang berfungsi sebagai penyaring untuk mengeluarkan zat-zat toksik dalam tubuh melalui penyaringan darah. Terkait fungsi ginjal tersebut, ginjal menjadi organ yang mudah terpapar oleh radikal bebas akibat mekanisme hiperglikemia darah dan zat-zat toksik yang dibawa, sehingga sel-sel ginjal sangat rentan mengalami kerusakan dan menyebabkan ginjal gagal berfungsi.

Nefropati diabetik pada ginjal dapat menyebabkan terjadinya proses inflamasi sel pada sel glomerulus, dan timbulnya nekrosis sel pada sel-sel tubulus proksimal dan tubulus distal yang mengganggu proses reabsorpsi filtrat di ginjal (Esther & Manonmani, 2014; Sancar *et al.*, 2015). Nekrosis timbul setelah suplai darah hilang atau terjadi paparan toksin sehingga terjadi kerusakan sel akibat stimulus yang berat dan tidak dapat ditolerir oleh sel karena telah melebihi kapasitas adaptif sel (Kevin, 2010).



Gambar 2.18 Nekrosis sel pada Tubulus Proksimal

(Panah hitam=inti normal, panah merah=inti piknosis, panah kuning= inti karioreksis; panah hijau=inti kariolisis) (Deakandi dkk., 2017)

Penelitian Kamaliani dkk. (2019) yang menginduksi tikus wistar dengan streptozotosin, sebagai model tikus diabetes melitus, menunjukkan histopatologi glomerulus dan tubulus ginjal mengalami nekrosis pada semua kelompok perlakuan. Proses nekrosis yang terlihat pada sel tubulus diantaranya terjadi inti piknosis, karioreksis, kariolisis, rusaknya epitel, hingga membran basalis yang lepas. Nekrosis sel ginjal yang terjadi pada diabetes melitus diakibatkan oleh proses penyumbatan pembuluh darah yang sering dialami penderita diabetes, disebabkan viskositas atau kekentalan darahnya yang tinggi. Penyumbatan tersebut dapat terjadi pada pembuluh darah di ginjal, sehingga suplai oksigen serta nutrisi menuju jaringan menjadi terhambat menyebabkan proses kematian sel.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan desain rancangan acak lengkap (RAL) pada lima perlakuan dan lima ulangan. Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) berjenis kelamin jantan, dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian mengenai pembuatan nanopartikel pegagan tersalut kitosan dilakukan pada bulan Maret 2019. Pemberian terapi nanopartikel pegagan terhadap mencit diabetes komplikasi dengan induksi STZ serta pengumpulan data dengan pegamatan histologi dilakukan pada bulan November 2020 - Juni 2021 yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini :

1. Variabel bebas : nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dengan dosis 120, 180, 240 mg/kg BB secara oral.
2. Variabel Terikat : histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) meliputi kerusakan sel (piknosis, karioreksis, dan kariolisis) serta pelebaran kapsula bowman. Histologi tubulus proksimal dan distal ginjal mencit (*Mus musculus*) meliputi kerusakan sel (piknosis, karioreksis, dan kariolisis).
3. Variabel Konrol : mencit (*Mus musculus*) galur Balb, dengan jenis kelamin jantan berumur 2-3 bulan dan berat badan 25-30 gram yang diaklimatisasi selama dua minggu dan diberi minum dan makan pellet BR1 dan minum secara *ad libitum*.

3.4 Sampel Penelitian

Hewan coba menggunakan mencit (*Mus musculus*) galur Balb C berjenis kelamin jantan, yang berumur 2-3 bulan dengan berat 25-30 gram. Hewan coba yang digunakan diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Jalan Soekarno Hatta. Penelitian ini menggunakan lima kelompok perlakuan, yang terdiri dari lima ulangan, sehingga total semua sampel mencit yang digunakan dalam penelitian sebanyak 25 ekor.

3.5 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya, timbangan analitik, beaker glass 1000ml, Erlenmeyer 500 ml, corong buncher, kertas saring, tube 15 ml, shaker, aluminium foil, gelas ukur, corong gelas, pengaduk kaca, rotary evaporator, spatula, hot plate, oven, incubator, sentrifuge, stirrer, *Sonikator*, *homogenizer* (Ultra turrax), cawan petri, kertas whatmann, mikropipet, pinset, lemari es, *vortex*, kertas label, plastik wrap, kantong palstik, karet gelang, wadah hewan coba, alu, mortar, saringan mesh, *easytouch glucose test strip*, spuit, alat bedah, papan bedah, mikrotom, mikroskop, deck glass, cover glass.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian diantaranya mencit jantan (*Mus musculus*) galur Balb C berumur 4 bulan, serbuk simplisia pegagan, aquades, Asam Asetat Glacial (AAG), sTPP (sodium tripolifosfat), tween 80, kitosan, etanol 70%, buffer sitrat, streptozotocin (STZ), sekam, pakan mencit BR1, minum mencit, NaCl 0,9%, paraffin, xylene, hematoxilin-eosin, etanol (80%, 90%, 96% dan absolut), dan formalin.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) diawali dengan merendam 200 gram simplisia pegagan halus dengan pelarut ethanol 70% dengan perbandingan 1:5 (1000 ml), larutan kemudian dihomogenkan dengan shaker selama 24 jam, hasilnya disaring dengan vacuum menggunakan corong buncher. Ampas hasil penyaringan

dimaserasi kembali dengan pelarut ethanol 70% dan dihomogenkan dengan shaker dengan berkecepatan 130 rpm selama 24 jam. Filtrat yang telah homogen dipekatkan dengan rotary evaporator dengan suhu 50°C (Muchtaromah dkk., 2021). Hasil ekstrak kental ditempatkan pada Erlenmeyer 250 ml dan disimpan di lemari pendingin.

3.6.2 Pembuatan Nanopartikel

Pembuatan nanopartikel pegagan tersalut kitosan dilakukan menurut Muchtaromah *et al.*, 2021). Diawali dengan dilarutkannya 3 ml AAG 0,5 % dalam 600 ml aquades. Kemudian ditambahkan kitosan sebanyak tiga gram serta larutan sTPP 0,5 % sebanyak 120 ml. Campuran yang dihasilkan dihomogen dengan kecepatan 1000 rpm. Setelah proses homogen selama 10 menit kemudian ditambahkan 0,6 gram ekstrak pegagan ke dalam larutan dan dihomogekan kembali. Sampel kemudian ditambahkan 6 ml tween 80 dan dihomogenkan selama 90 menit. Penambahan tween 80 berfungsi sebagai penstabil (Irianto dkk., 2011). Larutan yang telah homogen disonikasi dengan amplitudo 80% dan frekuensi 20 kHz, serta rentang waktu 90 menit. larutan hasil sonikasi di sentrifugasi. Pellet yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam deep freezer. Pelet yang sudah beku dinkubasi selama 24 jam dengan suhu 50°C. Pelet yang sudah kering digerus kemudian disimpan dan digunakan. Sesuai dengan uji pendahuluan, kandungan pegagan (*Centella asiatica*) dalam nanopartikel pegagan tersalut kitosan yang sudah dibuat diketahui sebanyak 1:6. Sehingga pada 6 gram nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan didalamnya terkandung pegagan 1 gram.

3.6.3 Persiapan Hewan Coba

Mencit jantan yang akan digunakan sebagai hewan coba ditempatkan pada kandang yang berisi empat ekor pada setiap kandangnya, kemudian mencit tersebut diaklimatisasi. Aklimatisasi yaitu proses mmelihara hewan coba agar hewan coba dapat melakukan adaptasi dilingkungan baru (Hasanah, 2015). Aklimatisasi dilakukan selama 14 hari, apabila selama 14 hari ada hewan coba yang sakit, mati atau BB turun lebih dari 10% maka hewan tersebut dikeluarkan dari penelitian. Selama aklimatisasi

mencit diberi makan dengan pellet BR1 dan minum secara *ad libitum*. Setelah aklimatisasi mencit ditimbang untuk melihat berat badannya.

3.6.4 Pembagian Kelompok Sampel

Pembagian kelompok sampel pada penelitian ini sebagai berikut:

- a) Kelompok kontrol positif (K⁺): mencit diinduksi STZ tanpa pemberian terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan.
- b) Kelompok kontrol negatif (K⁻): mencit sehat (diinduksi pelarut aquades).
- c) Kelompok perlakuan I (N1): mencit diinduksi STZ dan diberi terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan sebanyak 120 mg/kgBB.
- d) Kelompok perlakuan II (N2): mencit diinduksi STZ dan diberi terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan sebanyak 180 mg/kgBB.
- e) Kelompok perlakuan III (N3): mencit diinduksi STZ dan diberi terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan sebanyak 240 mg/kgBB.

3.6.4 Pembuatan Mencit Model Diabetes Komplikasi dengan Induksi Streptozotosin

Mencit yang telah diaklimatisasi selama 14 hari kemudian diinduksi Streptozotosin untuk membuat model tikus diabetes komplikasi, sedangkan kelompok K⁻ hanya diinduksi pelarut yaitu aquades. Pembuatan mencit model diabetes komplikasi dilakukan dengan diinjeksi STZ dengan *multiple low dose* secara intraperitoneal seperti menurut (Lukiati *et al.*, 2019) dengan modifikasi. Selama tiga hari pertama diinjeksi dengan dosis 40 mg/kgBB, kemudian dua hari selanjutnya diinjeksikan dengan 60 mg/kgBB. Setelah diinjeksi STZ selama lima hari, mencit dibiarkan selama sembilan hari tanpa ada pengobatan apapun. Pada hari ke 14 dilakukan pengecekan kadar gula darah mencit yang telah dipuasakan selama 16 jam, dengan cara pengambilan darah melalui ekor mencit, apabila kadar gula darah masih normal yaitu dibawah 126 mg/dL pada saat kadar gula puasa, maka dilakukan injeksi STZ satu kali dengan dosis 40 mg/kgBB. Setelah dipastikan kadar gula darah puasa mencit diatas 126 mg/dL maka mencit dibiarkan hingga hari ke 28 untuk mendapatkan

mencit dengan kondisi diabetes komplikasi. Menurut Nanda (2018) kriteria kadar gula darah puasa (GDP) pada penderita diabetes melitus adalah ≥ 126 mg/dl.

3.6.5 Pemberian Nanopartikel Pegagan

Mencit yang telah diberi perlakuan induksi STZ kemudian diberikan terapi larutan nanopartikel pegagan. Pembuatan larutan terapi dilakukan dengan dilarutkan nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan kering dengan buffer sitrat. Hasil larutan diberikan secara oral pada mencit dengan tiga dosis berbeda yaitu kelompok perlakuan satu sebanyak 120 mg/kgBB, kelompok perlakuan dua sebanyak 180 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan tiga 240 mg/kgBB. Untuk mencit kelompok kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+) hanya diberi air biasa (aquadest).

3.6.6 Pembedahan Mencit dan Pengambilan Organ Ginjal

Mencit yang telah diberikan terapi nanopartikel pegagan selama 28 hari serta mencit kelompok kontrol negatif dan kontrol positif pada hari ke 29 akan dibedah. Proses pembedahan dilakukan dengan pembiusan kloroform. Mencit yang pingsan akibat kloroform diletakkan diatas papan bedah untuk dibedah dan diambil organ ginjalnya guna pembuatan preparat histologi. Organ ginjal yang diambil dicuci dengan NaCl fisiologis (0,9%), kemudian dilakukan fiksasi organ dengan cara dicelupkan pada formalin 10%. Organ ginjal yang telah difiksasi diproses untuk dibuat preparat histologinya (Utomo, 2012).

3.6.6 Pembuatan Preparat Histologi

Preparat histologi dibuat menurut Utomo (2012), tahap pertama dalam pembuatan preparat histologi adalah coating, yaitu dengan cara ditandai objek glas menggunakan kikir kaca, kemudian direndam selama semalam dengan alkohol 70%. Objek glass selanjutnya direndam dalam larutan gelatin 0,5% selama 40 detik. Objek glass yang telah direndam diposisikan miring agar gelatin tidak menggumpal pada kaca.

Tahap kedua adalah tahap dehidrasi. Organ ginjal yang telah difiksasi dicuci menggunakan alkohol selama dua jam. Selanjutnya organ dicuci dengan larutan alkohol bertingkat (alkohol 90%, 95%, etanol absolut) masing-masing larutan selama 20 menit, serta menggunakan xylol sebanyak tiga kali selama 20 menit pula.

Tahap *infiltrasi* dilakukan dengan merendam organ ginjal dengan paraffin selama 30 menit sebanyak tiga kali. Tahap *embedding* merupakan pencetakan organ pada suatu wadah. Dilakukan dengan meletakkan organ pada wadah kemudian dituangkan paraffin kedalamnya dan diletakkan di suhu ruang selama 24 jam, kemudian diletakkan di freezer untuk memastikan paraffin benar-benar telah keras.

Blok sudah keras dipotong menggunakan mikrotom. Dipanaskan cutter terlebih dahulu agar blok paraffin sedikit meleleh, kemudian dijepitkan pada mikrotom putar dan disejajarkan dengan pisau mikrotom. Pemotongan organ ginjal dilakukan dengan ketebalan lima mikrometer. Hasil irisan diambil dan dimasukkan ke air dingin agar lipatan terbuka, kemudian diletakkan pada air hangat. Irisan kemudian diletakkan pada objek glass yang sudah tercoating, dan dikeringkan pada atas hot plate. Tahap berikutnya dilakukan untuk menghilangkan paraffin dengan cara dimasukkan preparat pada xylol selama lima menit dilakukan sebanyak dua kali. Preparat kemudian direhidrasi dengan larutan etanol 95%, 90%, 80% dan 70% selama masing-masing lima menit. Preparat yang sudah terrehidrasi direndam menggunakan aquades selama sepuluh menit.

Pewarnaan preparat dilakukan dengan hematoxilin dibiarkan selama tiga menit. Pencucian preparat dilakukan dengan air mengalir selama 30 menit dan dibilas menggunakan aquadest. Selanjutnya preparat direndam dengan pewarnaan eosin alkohol selama 30 menit, kemudian dibilas aquadest lima menit. Setelah dibilas dimasukkan preparat pada ethanol bertingkat (80%, 90%, 95% dan ethanol absolute 2x) selama masing-masing lima menit. Kemudian dimasukkan pada xylol 2x selama lima menit, kemudian dikeringkan. Tahap terakhir adalah *mounting* dengan entellan. Hasil preparat histologi diamati dibawah mikroskop cahaya, dilakukan scoring dan didokumentasikan penampang histologinya.

3.6.7 Pengumpulan Data

Gambaran profil histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) ditentukan berdasarkan pengamatan dibawah mikroskop. Dilakukan skoring untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap gambaran profil histologi ginjal mencit (*Mus musculus*). Skoring dilakukan pada bagian glomelurus dan tubulus (tubulus proksimal dan tubulus distal) dengan berdasarkan pengamatan kerusakan selnya, yang meliputi kerusakan piknosis, karioreksis dan kariolisis. Pengamatan yang dilakukan menggunakan perbesaran 40x pada lima lapang pandang dalam setiap preparat (Muchtaromah *et al.*, 2019). Skoring yang dilaukan seperti pada tabel 3.1. Hasil skoring dari lima lapang pandang setiap preparat kemudian dijumlahkan.

Tabel 3.1 Skoring pada masing-masing bagian ginjal yang diamati secara histologis.

Skor	Glomelurus	Tubulus
1	Tidak terdapat kerusakan sel pada setiap lapang pandang	Tidak terdapat kerusakan sel pada setiap lapang pandang
1,5	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) kurang dari 25% pada setiap lapang pandang	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) kurang dari 25% pada setiap lapang pandang
2	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) 25% sampai kurang dari 50% pada setiap lapang pandang	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) 25% sampai kurang dari 50% pada setiap lapang pandang
2,5	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) 50% sampai kurang dari 75% pada setiap lapang pandang	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) 50% sampai kurang dari 75% pada setiap lapang pandang

3	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) lebih dari sama dengan 75% pada setiap lapang pandang	Kerusakan sel (meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis) lebih dari sama dengan 75% pada setiap lapang pandang
3,5	Jumlah sel yang menurun sangat banyak ditandai dengan pelebaran jarak antara glomelurus dan simpai bowman (diukur jarak terjauh dari sisi glomelurus hingga sisi kapsula bowman)	Jumlah sel yang menurun sangat banyak ditandai dengan pelebaran jarak antar tubulus (diukur jarak terjauh dari tepi tubulus sampai tepi tubulus lainnya)

3.7 Analisis data

Hasil data skoring yang didapat kemudian diuji normalitas dan homogenitas. Setelah data diketahui normal dan homogen kemudian diuji dengan analisis parametrik menggunakan uji *one way anova* apabila data percobaan diketahui signifikan maka pengujian dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf signifikansi lima persen untuk melihat kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

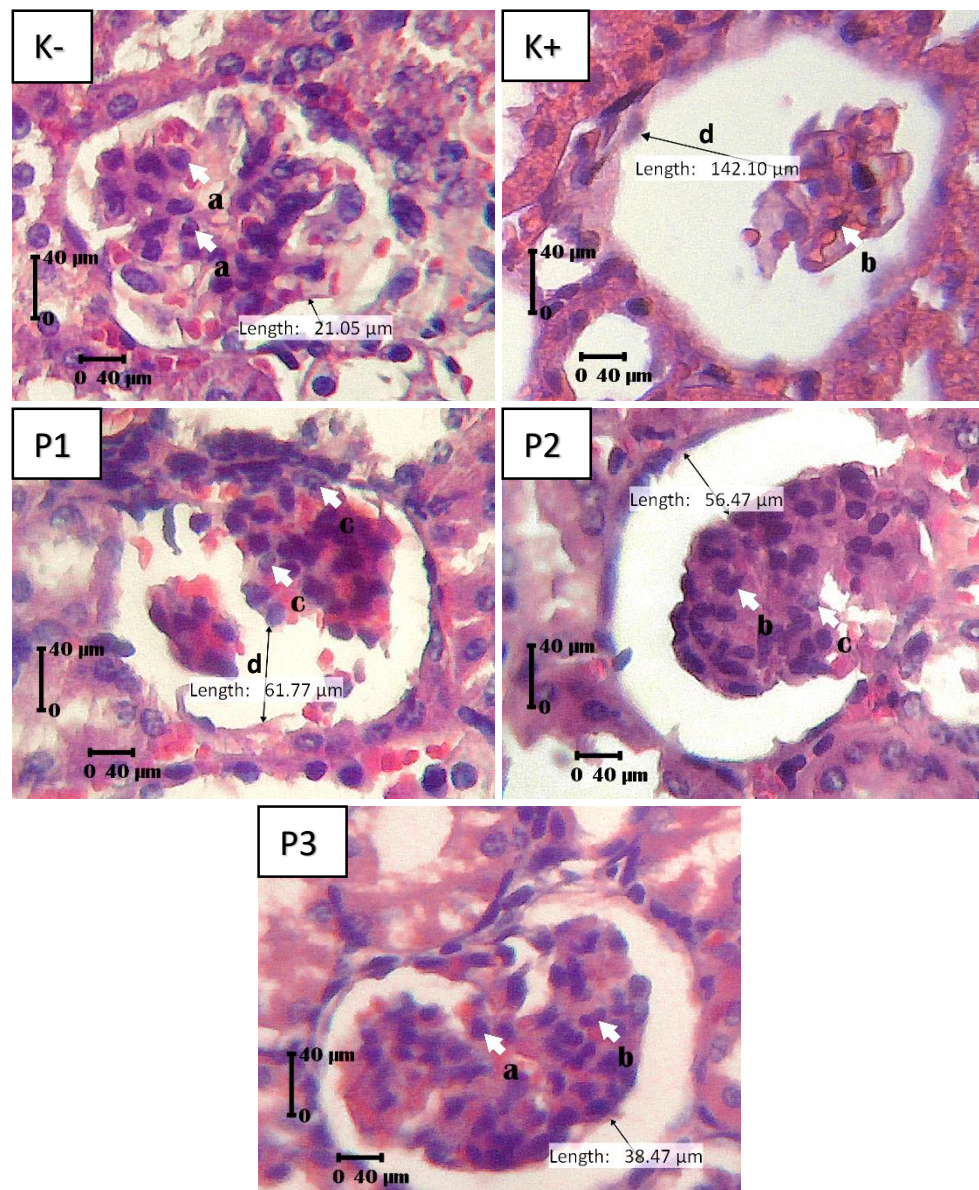
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalut Kitosan Terhadap Profil Histologi Glomerulus Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) Diabetes Komplikasi

Hasil penelitian mengenai pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap profil histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi yang diamati dengan mikroskop komputer menggunakan perbesaran 400x menunjukkan profil histologi yang beragam pada setiap perlakuan, seperti yang dapat dilihat pada gambar 4.1.

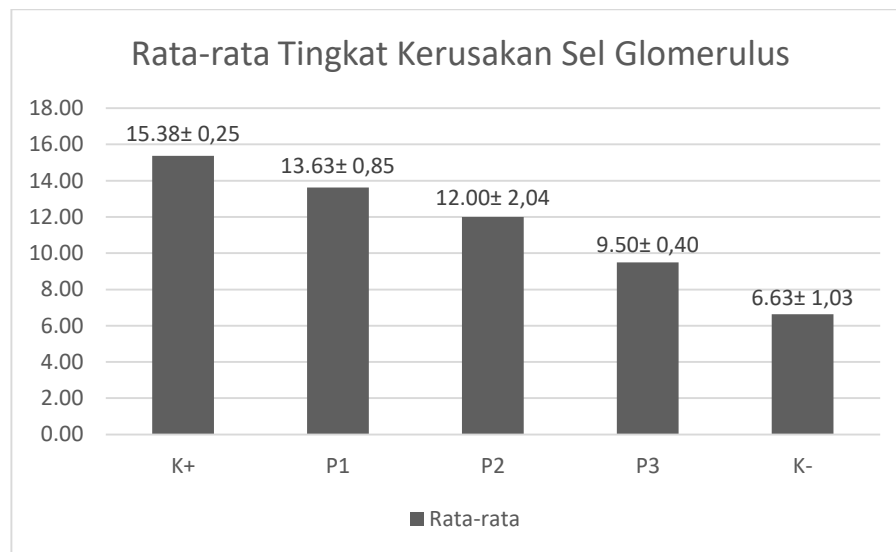
Profil histologi yang ditunjukkan pada glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) pada kelompok K- (kontrol negatif) menunjukkan sel glomerulus normal tidak mengalami kerusakan sel, ditunjukkan dengan ciri inti sel berbentuk bulat padat berwarna keunguan. Jarak antara glomerulus dan kapsul bowman sebesar 21,05 μm , jarak tersebut termasuk normal tidak mengalami pelebaran. Berbeda pada kelompok K+ (kontrol positif) yang diinduksi streptozotocin, terlihat mengalami pelebaran jarak antara glomerulus dan kapsul bowman mencapai 142,10 μm yang disebabkan karena sel-sel pada jaringan glomerulus mulai menghilang akibat banyak sel yang mengalami kerusakan. Pada kelompok ini juga terlihat tahap kerusakan inti sel berupa inti piknosis, ditandai dengan bentuk inti yang tidak bulat utuh akibat terjadi penyusutan inti. Pada perlakuan pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan kelompok P1 masih terdapat pelebaran jarak antara glomerulus dan kapsul bowman, namun pelebaran jarak mulai menurun hingga 61,77 μm dan terdapat tahap kerusakan inti sel karioreksis yang ditandai dengan inti sel mulai memudar. Pada kelompok P2 pelebaran jarak antara glomerulus dan kapsul bowman lebih kecil lagi, yaitu sebesar 56,47 μm namun masih terdapat kerusakan inti sel piknosis dan karioreksis. Kelompok P3 sudah mengalami perbaikan pada jarak antara glomerulus dan kapsul bowman yaitu sebesar 38,47 μm , serta paling sedikit terjadi kerusakan sel dibanding kelompok P1 dan P2.



Gambar 4.1 Hasil pengamatan profil histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) dengan perbesaran 400x. Keterangan: (a) sel normal, (b) inti piknosis, (c) inti karioreksis, (d) pelebaran jarak antara kapsula bowman dan glomerulus.

Pengamatan terhadap glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) dilihat berdasarkan tingkat kerusakan yang terjadi pada jaringan glomerulus. Nilai rata-rata tingkat kerusakan sel glomerulus ginjal mencit yang telah diberi perlakuan

nanopartikel pegagan tersalut kitosan dengan dosis 120 mg/kgBB pada P1, dosis 180 mg/kgBB pada P2, dosis 240 mg/kgBB pada P3 serta K- (kontrol negatif) dan K+ (kontrol positif) ditunjukkan pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Diagram batang pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dengan dosis P1 (120 mg/kgBB), P2 (180 mg/kgBB), P3 (240 mg/kgBB) terhadap tingkat kerusakan sel glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

Nilai rata-rata tingkat kerusakan glomerulus mengalami penurunan mulai dari kelompok K+ (kontrol positif) sebesar $15,38 \pm 0,25$, P1 sebesar $13,63 \pm 0,85$, P2 sebesar $12,00 \pm 2,04$, P3 sebesar $9,50 \pm 0,40$, hingga K- (kontrol negatif) sebesar $6,63 \pm 1,03$. Kelompok yang memiliki nilai rata-rata tingkat kerusakan glomerulus yang paling rendah adalah kelompok K- (kontrol negatif) dan kelompok yang nilai rata-rata tingkat kerusakan glomerulusnya paling tinggi adalah kelompok K+ (kontrol positif).

Profil histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) yang telah diberi perlakuan diamati kerusakannya berdasarkan nilai skoring yang meliputi pelebaran jarak antara glomerulus dan kapsul bowman, tahap kerusakan inti sel piknosis, kariorexis dan kariolisis. Nilai skoring yang didapat kemudian dianalisis secara statistik dengan uji Anova satu arah menggunakan taraf signifikansi 5% untuk mengetahui

apakah terdapat perbedaan yang signifikan diantara rerata pada semua kelompok. Hasil ringkasan pengujian dengan Anova satu arah disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Anova pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dengan dosis P1 (120 mg/kgBB), P2 (180 mg/kgBB), P3 (240 mg/kgBB) terhadap tingkat kerusakan glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rata-rata Kuadrat	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	190,075	4	47,519	38,399	3,06
Galat	18,562	15	1,238		
Total	208,638	19			

Syarat untuk hipotesis 1 (H_1) dapat diterima adalah nilai F hitung harus lebih besar daripada F tabel. Hasil tabel 4.1 menunjukkan bahwa nilai F hitung ($38,399$) > F tabel ($3,06$), sehingga hipotesis 1 (H_1) diterima dan hipotesis 0 (H_0) ditolak, hal ini menunjukkan pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan memberikan pengaruh terhadap profil histologi glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi. Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang paling berpengaruh terhadap perbaikan kerusakan sel pada glomerulus dan bagaimana bentuk hubungan diantara kelompok dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan atau DMRT (*Duncan's multiple range test*) dengan nilai signifikansi 5% yang hasilnya ditampilkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Duncan 5% pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap tingkat kerusakan glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

Perlakuan	Rerata	Notasi Uji Duncan (5%)
K-	$6,63 \pm 1,03$	a
P3	$9,50 \pm 0,40$	b
P2	$12,00 \pm 2,04$	c
P1	$13,63 \pm 0,85$	c
K+	$15,38 \pm 0,25$	d

Tabel 4.2 menunjukkan rerata hasil pada kelompok K- berbeda nyata dengan kelompok P3, kelompok P3 berbeda nyata dengan kelompok P2, sedangkan kelompok P2 tidak berbeda nyata dengan kelompok P1, dan kelompok P1 berbeda nyata dengan kelompok K+ dilihat berdasarkan notasi uji Duncan taraf 5%. Hasil tersebut menunjukkan kelompok P3 dengan dosis pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan sebanyak 240 mg/kgBB memberikan hasil yang paling baik dalam menurunkan kerusakan sel glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi. Pada penelitian ini menunjukkan semakin besar dosis yang diberikan semakin baik pula keadaan profil histologi glomerulus ginjal mencit, ditandai dengan semakin berkurangnya kerusakan sel yang diamati. Hal tersebut disebabkan karena semakin banyak zat aktif pegagan yang terkandung menyebabkan semakin banyak sel pada jaringan glomerulus yang dapat melakukan regenerasi, sehingga semakin sedikit sel yang mengalami tanda nekrosis.

Hasil profil glomerulus perlakuan K+ (kontrol positif) pada gambar 4.1 menunjukkan terjadinya perluasan jarak antara glomerulus dan kapsula bowman. Hal tersebut menunjukkan banyak sel pada jaringan glomerulus yang mengalami kerusakan sehingga sel glomerulus berkurang menyebabkan jarak antara glomerulus dan kapsula bowman semakin lebar. Kerusakan sel pada glomerulus ginjal mencit yang mengalami diabetes komplikasi berkaitan dengan tingginya kadar gula dalam darah. Organ ginjal sebagai penyaring darah sangat dapat terpapar dengan keadaan ini, hingga menyebabkan kerusakan sel pada ginjal serta penurunan fungsinya. Kadar glukosa yang tinggi pada darah menyebabkan volume darah yang masuk ke ginjal semakin banyak sehingga tekanan yang masuk ke arteriola aferen glomerulus meningkat menyebabkan peningkatan laju filtrasi pada glomerulus. Laju filtrasi yang terus menerus tinggi pada glomerulus menekan sel-sel pada glomerulus menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel epitel glomerulus. Bilous & Donelly (2015) menyatakan bahwa aliran darah yang masuk ke ginjal pada penderita diabetes melitus meningkat disertai dilatasi pada arteriola aferen glomerulus.

Kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes juga berkaitan dengan sistem RAA (Renin-Angiotensin-Aldosterone) sehingga menyebabkan perubahan hemodinamik yaitu hiperfiltrasi pada glomerulus. Novaes *et al.* (2019) menyatakan tingginya glukosa dapat merangsang sintesis Angiotensin II. Angiotensin II merupakan protein yang dibentuk dari Angiotensin I oleh bantuan *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE), Angiotensin I dibentuk dari protein angiotensinogen oleh bantuan enzim renin. Angiotensin II dapat merangsang vasokonstriksi pada arteriola eferen glomerulus sehingga terjadi penurunan diameter arteriola eferen dan meningkatkan tekanan kapiler glomerulus yang menyebabkan laju filtrasi di dalam glomerulus semakin tinggi. Hiperfiltrasi menurut Chagnac *et al.* (2019) dapat mempertinggi tegangan geser pada sel epitel (podosit) glomerulus. Tekanan mekanis tersebut menyebabkan kerusakan pada sel podosit dan kemampuan podosit untuk tumbuh menjadi terbatas.

Keadaan model mencit diabetes komplikasi pada penelitian ini dilakukan dengan menginduksi streptozotocin dengan cara *multiple low dose* pada dosis 40 mg/kgBB dan 60 mg/kgBB secara intraperitoneal. Induksi streptozotocin mengakibatkan defisiensi insulin karena menghancurkan beberapa populasi sel beta pada pankreas dan menyebabkan diabetes melitus. Ketika hormon insulin yang dihasilkan rendah, glukosa dalam darah tidak dapat disimpan, sehingga menyebabkan kadar glukosa dalam darah tinggi. keadaan hiperglikemia menyebabkan pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yaitu radikal bebas yang menyebabkan stress oksidatif sehingga menyebabkan kerusakan pada sel. Seperti hasil gambar 4.2 yang menunjukkan perlakuan pada kontrol positif memiliki rata-rata tingkat kerusakan sel glomerulus paling tinggi karena perlakuan induksi streptozotocin tanpa mendapat perlakuan nanopartikel pegangan tersalut kitosan.

Terjadinya nekrosis sel glomerulus pada diabetes komplikasi diakibatkan oleh terbentuknya *Advanced glycation endproduct* (AGE) pada keadaan hiperglikemia. AGE merupakan hasil reaksi glukosa dan senyawa yang terglykasi lain. AGE menyebabkan kerusakan sel endotel melalui dua cara, yang pertama melalui tautan

silang dengan proteins matriks seperti kolagen dan laminin sehingga menyebabkan rusaknya sel. Jalur kedua melalui AGE yang berikatan dengan reseptornya (RAGE) yang banyak terdapat pada mesangium glomerulus dan sel endotel. Aktivitas pengikatan AGE dan RAGE mengarah pada pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) sehingga menyebabkan peradangan kronis dan keadaan inflamasi pada ginjal yang berpuncak pada hilangnya fungsi ginjal secara bertahap. Stimulasi RAGE pada AGE selain itu memunculkan aktivasi protein kinase C yang menyebabkan permeabilitas dan aliran darah meningkat pada arteriola aferen glomerulus. Faktor transkripsi seperti NF- κ B juga diaktivasi oleh stimulasi RAGE. NF- κ B merangsang pembentukan VCAM-1, merupakan faktor pertumbuhan, yang menyebabkan adhesi sel peradangan dan menyebabkan inflamasi sel serta memicu terjadinya nefropati diabetik (Bilous & Donelly, 2015; Sanajou *et al.*, 2018).

Rata-rata tingkat kerusakan glomerulus pada gambar 4.2 menunjukkan terjadi penurunan tingkat kerusakan sel glomerulus pada P1 jika dibandingkan dengan rata-rata tingkat kerusakan sel glomerulus pada perlakuan K⁺ (kontrol positif). Pada tabel 4.2 juga menunjukkan antara perlakuan P1 dan K⁺ (kontrol positif) menunjukkan hasil rerata yang berbeda secara signifikan, hal ini menunjukkan pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan mulai dari perlakuan P1 dengan dosis 120 mg/kgBB berpengaruh dalam memperbaiki sel glomerulus mencit (*Mus musculus*) yang mengalami kerusakan akibat hiperglikemia pada diabetes komplikasi. Pengaruh perbaikan sel glomerulus pada pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan pada dosis P1 (120 mg/kgBB) tidak terlalu banyak, karena dosis yang diberikan terlalu kecil. Terlihat dari gambar 4.1 yang menunjukkan masih terjadi pelebaran jarak antara glomerulus dan kapsula bowman pada P1, sedangkan pada perlakuan dengan dosis P3 (240 mg/kgBB) menunjukkan jarak antara glomerulus dan kapsula bowman telah mengalami perbaikan hingga jaraknya hanya 38,47 μ m. Hal tersebut menunjukkan pada penelitian ini pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dengan dosis 240 mg/kgBB paling optimal dalam memperbaiki kerusakan sel glomerulus akibat diabetes komplikasi. Sesuai dengan

penelitian Chen *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa asam asiatic yang merupakan salah satu senyawa utama dalam pegagan diketahui dapat melindungi dari nefropati diabetik pada tikus melalui penghambatan stress oksidatif. Muchtaromah *et al.* (2021) menyatakan kandungan antioksidan pada nanopartikel pegagan tersalut kitosan lebih tinggi sehingga meningkatkan potensi pegagan sebagai tanaman obat.

Hussain *et al.* (2020) menyatakan sistem pengantaran obat dengan teknologi nanopartikel meningkatkan modifikasi struktur senyawa sehingga meningkatkan bioavailabilitas dan khasiat senyawa tersebut serta dapat menjadi faktor sifat anti-diabetes yang kuat. Nanopartikel kitosan yang digunakan sebagai faktor pembawa ekstrak pegagan (*Centella asiatica*), memiliki potensi besar sebagai pengobatan komplikasi diabetes. Singh *et al.* (2019) menjelaskan bahwa nanopartikel kitosan-alginat ekstrak *Centella asiatica* yang dibuat dengan menggunakan prinsip gelasi ionik memberikan stabilitas fisik yang lebih baik dibanding tanpa nanopartikel. Hal tersebut menyebabkan senyawa yang terkandung dalam pegagan (*Centella asiatica*) dapat terlindungi dengan baik dengan pemanfaatan teknologi nanopartikel.

Perbaikan yang terjadi pada sel glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi yang diberi perlakuan nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terjadi berkaitan dengan manfaat senyawa pegagan yang terlindungi dengan baik dengan nanopartikel kitosan sehingga dapat menurunkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) sebagai radikal bebas yang menyebabkan stress oksidatif dan kerusakan sel. Penurunan ROS terjadi melalui jalur penghambatan terhadap AGE (*Advanced glycation endproduct*).

Setiap obat yang memiliki kemampuan menghambat pembentukan AGE dapat berpotensi mengurangi stress glikasi dan menghambat perkembangan penyakit diabetes komplikasi. Pegagan memiliki senyawa aktif seperti flavonoid dan asam asiatic yang mampu mengikat AGE (Lv *et al.*, 2018). Kandungan senyawa pada pegagan tersebut menjadikan pegagan berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat dalam mengatasi diabetes komplikasi. Hal tersebut menjadi karunia yang Allah ﷻ berikan yang menjamin bahwa setiap penyakit yang datang Allah ﷻ pasti menyediakan

pula penawarnya, seperti yang diriwayatkan Rasulullah yang tertuang dalam Hadist Imam bukhari berikut ini:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya:

“Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan untuk penyakit itu obatnya” (HR Al-Bukhari no. 5354).

Secara bahasa kata شِفَاءً artinya obat atau penawar. Menurut Al-Qayyim (2010) Allah ﷻ menciptakan obat untuk menyembuhkan segala jenis penyakit, sehingga manusia sebagai makhluk yang berakal diperintahkan untuk terus menggali informasi berbagai macam obat serta pengobatan yang memiliki potensi dalam penyembuhan, sekaligus Allah ﷻ memerintahkan untuk melakukan pengobatan ketika sakit sebagai bentuk rasa tawakal. Sehingga dalam hal ini kerusakan sel akibat radikal bebas yang melebihi sistem pertahanan antioksidasi tubuh perlu diobati dengan cara menambahkan konsumsi zat yang kaya akan antioksidan untuk menambah kadar antioksidan eksogen ke dalam tubuh, sehingga dapat menetralkan radikal bebas yang berlebih, sebagai bentuk tawakal dalam proses penyembuhan diabetes komplikasi (Serang & Febrianto, 2018).

Muchtaromah *et al.* (2021) menyatakan pada pengujian senyawa aktif nanopartikel ekstrak *Centella asiatica* ditemukan senyawa golongan triterpen pentasiklik diantaranya asam asiatic, asam madecasic, asiaticosida, serta triterpen jenis lain seperti asam betulinat, umbelliferone, brahmoside, asam isotankunic, asam terminolik, centellasaponin, scheffuroside dan asam betulinic. Menurut Yin (2015) triterpen pentasiklik dapat menurunkan kadar AGE di ginjal dengan cara menghambat aktivitas ekspresi enzim aldose reduktase (AR) dan sorbitol dehidrogenase (SDH). Enzim AR dan SDH berperan dalam pembentukan AGE melalui jalur poliol. Penghambatan pada AGE dapat mengurangi terjadinya stress oksidatif pada sel glomerulus dan mencegah terjadinya nekrosis sel.

Senyawa asam asiatic dalam pegagan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yang dapat menghambat atau memperlambat pembentukan produk akhir glikasi (AGE)

(Lv *et al.*, 2018). Penelitian Hung *et al.*, (2015) mengungkapkan bahwa pemberian asam asiatic dapat menurunkan ROS, AGE dan RAGE serta dapat mengurangi interaksi AGE dan RAGE sehingga lebih sedikit aktivasi NF- κ B yang merupakan faktor transkripsi yang dapat meningkatkan permeabilitas vascular dan adhesi sel peradangan. Studi docking yang dilakukan Legiawati *et al.*, (2020) menunjukkan beberapa senyawa yang terdapat pada pegagan seperti asiaticosida, asam madasiat, dan asam madekasik terikat pada tempat pengikatan AGE, sehingga senyawa tersebut mampu mencegah AGE untuk mengikat RAGE secara langsung. Selain itu senyawa lain pada pegagan seperti asam asiatic dan *isothankunic acid* dapat terikat pada binding site RAGE. Kemampuan ligan untuk mengikat domain pengikatan RAGE dapat memblokir kemampuan ligan lain untuk mengikat RAGE.

Teknologi nanopartikel pada ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan telah diuji memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding pada ekstrak pegagan (Muchtaromah *et al.*, 2021). Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi pada nanopartikel pegagan dimungkinkan oleh pengaruh ukuran partikel yang semakin kecil menyebabkan semakin luas permukaan suatu partikel, sehingga lebih banyak kontak antara partikel senyawa pegagan dengan AGE, RAGE serta ROS yang merupakan faktor radikal bebas. Dengan demikian peningkatan aktivitas antioksidan senyawa pegagan menyebabkan terjadinya peningkatan perbaikan pada sel glomerulus yang rusak akibat stress oksidatif yang ditimbulkan pada keadaan hiperglikemia diabetes komplikasi.

Teknologi nanopartikel menyebabkan peningkatan aktivitas antioksidan pegagan (*Centella asiatica*), sehingga dengan dosis yang lebih kecil akan memberikan efek farmakologis yang sama. Menurut Poelstra (2012), peningkatan kadar obat dalam darah beresiko tercapainya batas kadar toksik. Teknologi Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dapat menjadi solusi untuk menurunkan dosis pegagan yang digunakan namun akan memberikan efek yang tetap sama secara farmakologis. Pada uji pendahuluan diketahui bahwa pada 6 gram nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan didalamnya terkandung pegagan 1 gram,

atau perbandingan kandungan pegagan didalam nanopartikel pegagan tersalut kitosan adalah 1:6. Ketika digunakan dosis 120 mg/kgBB nanopartikel pegagan tersalut kitosan, sebenarnya sama dengan hanya menggunakan dosis 20 mg/kgBB pegagan, dan ketika dosis 180 mg/kgBB sama dengan 30 mg/kgBB, serta untuk dosis 240 mg/kgBB sama dengan seperti menggunakan dosis 40 mg/kgBB. Dengan kecilnya penggunaan dosis pegagan yang digunakan namun tetap memberikan efek yang baik dalam perbaikan pada sel ginjal mencit diabetes komplikasi.

Asam asiatic pada pegagan juga dilaporkan dalam penelitian sebelumnya dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin (STZ). Sifat antidiabetes asam asiatic berkaitan dengan kemampuannya dalam merangsang kadar insulin serta dapat memulihkan enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat dan lipid sehingga mengurangi proses peroksidasi lipid dan meningkatkan kadar antioksidan pada tikus diabetes yang diinduksi STZ. Asam asiatic menyebabkan penurunan glukosa dengan cara merangsang sel-sel pulau Langerhans yang masih hidup untuk melepaskan lebih banyak insulin (Ramachandran & saravanan, 2013).

Keadaan sel glomerulus yang baik yang ditunjukkan dengan berkurangnya nekrosis sel pada perlakuan P3 yang dapat dilihat pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan pada dosis 240 mg/kgBB mampu meregenerasi dan mengurangi kerusakan sel akibat diabetes komplikasi. Hiperglikemia yang terjadi terus menerus pada diabetes komplikasi dapat menyebabkan perubahan hemodinamik pada glomerulus dan merangsang terjadi kerusakan sel pada glomerulus, yang salah satunya berkaitan dengan peningkatan penghasilan hormon angiotensin II. Angiotensin II merupakan aktivator penyebab vasokonstriksi pembuluh darah dan meningkatkan volume darah. Angiotensin II dapat menyebabkan vasokonstriksi pada arteriola eferen glomerulus sehingga menyebabkan laju filtrasi semakin meningkat dan mengganggu fungsi sel terutama sel epitel glomerulus (podosit).

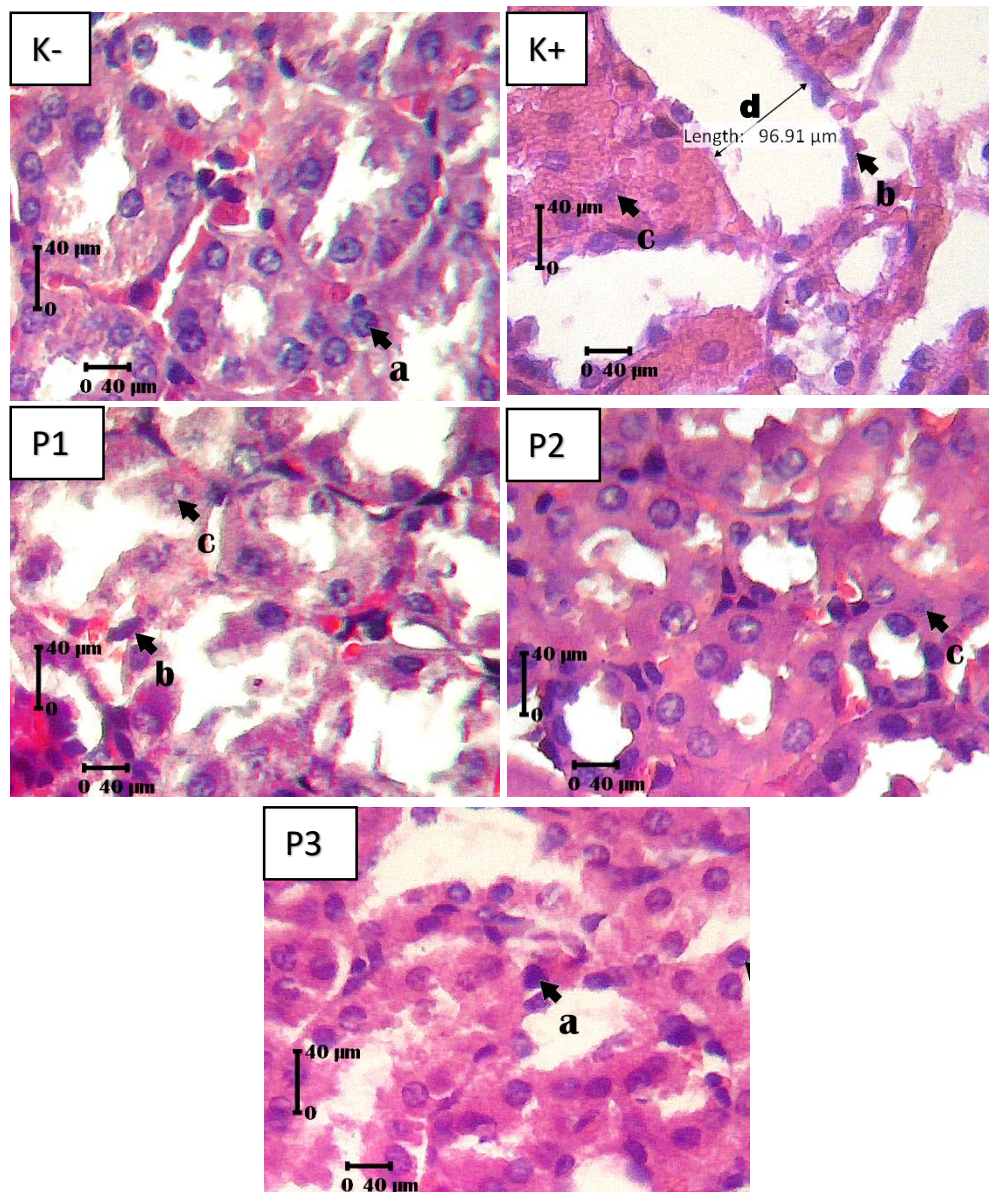
Pegagan (*Centella asiatica*) diketahui memiliki efek dapat menurunkan tekanan darah pada tikus yang diinduksi Angiotensin II secara intravena. Senyawa utama dari pegagan (*Centella asiatica*) diantaranya asam triterpen, glikosida, asam asiatik, alkaloid dan flavonoid (Mohebbati *et al.*, 2021). Senyawa flavonoid memiliki kemampuan penghambatan pada ACE yang mengakibatkan penurunan kadar angiotensin II. ACE (*Angiotensin Converting Enzym*) merupakan enzim pengubah angiotensin I menjadi angiotensin II (Widiasari, 2018). Apabila enzim ACE dihambat maka pembentukan angiotensin II dapat ditekan, sehingga laju hemodinamik pada glomerulus menurun. Hal tersebut diperkuat dengan penelitian Maneesai *et al.* (2016) yang menyatakan senyawa asam asiatik juga memiliki kemampuan dalam memperbaiki hemodinamik dengan mengurangi aktivitas renin-angiotensin.

Berdasarkan penjelasan dapat diketahui bahwa pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan rata-rata tingkat kerusakan sel pada glomerulus mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi, dengan semakin tinggi dosis yang diberikan menunjukkan semakin berkurang rata-rata tingkat kerusakan sel glomerulus. Perlakuan P3 dengan dosis pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan sebanyak 240 mg/kgBB menunjukkan rata-rata kerusakan sel glomerulus paling kecil ($9,5 \pm 0,4$) walaupun tidak sekecil pada perlakuan K- ($6,63 \pm 1,03$). Penurunan kerusakan sel glomerulus dimungkinkan berkaitan dengan potensi kandungan senyawa pada pegagan yang mampu menghambat penghasilan ROS sebagai radikal bebas serta dapat memperbaiki hemodinamik pada glomerulus dengan cara pengendalian sistem RAA, selain itu teknologi nanopartikel tersalut kitosan pada pegagan juga meningkatkan modifikasi struktur senyawa serta meningkatkan aktivitas antioksidan pegagan (Singh *et al.*, 2019; Muchtaromah *et al.*, 2021), sehingga dimungkinkan dapat meningkatkan potensi senyawa pegagan dalam memperbaiki kerusakan sel glomerulus ginjal mencit (*Mus musculus*) akibat diabetes komplikasi.

4.2 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalut Kitosan Terhadap Profil Histologi Tubulus Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) Diabetes Komplikasi

Hasil dari pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan pada profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi pada perlakuan kontrol positif (K+), P1 (dosis 120 mg/kgBB), P2 (dosis 180 mg/kgBB), P3 (dosis 240 mg/kgBB), serta kontrol negatif (K-). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x, dan kemudian dicapture dengan menggunakan aplikasi optilab pada computer. Profil histologi ditunjukkan pada gambar 4.3.

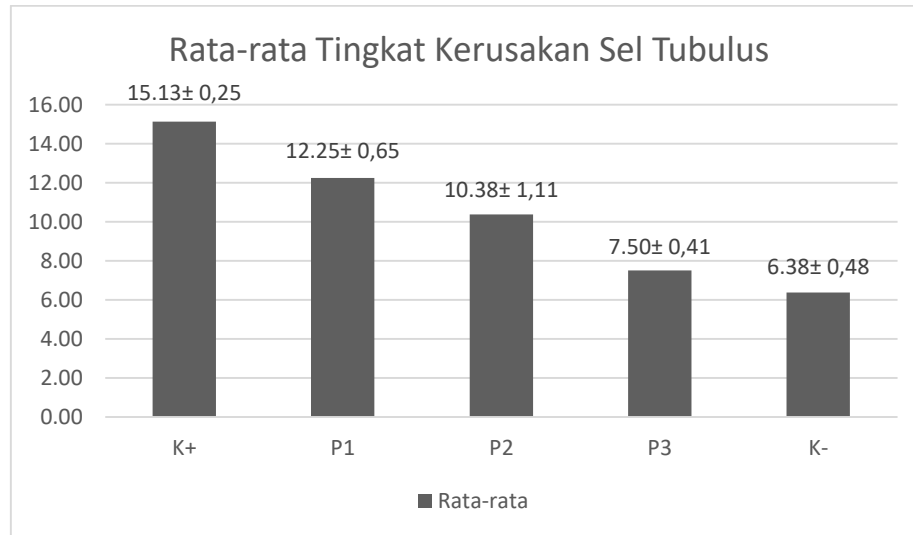
Profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diamati menunjukkan kelompok K- (kontrol negatif) memiliki profil sel tubulus yang normal dengan inti bulat utuh dan susunan jaringan yang baik, karena tidak terjadi kerusakan sel dan tidak terdapat pelebaran jarak antar tubulus. Berbeda dengan profil histologi jaringan tubulus pada kelompok K+ (kontrol positif) yang menunjukkan pelebaran jarak antar tubulus sebesar 96,91 μm yang diakibatkan oleh banyaknya kerusakan sel, serta ditemukan beberapa tahap nekrosis sel yaitu inti piknosis dan karioreksis. Kelompok P1 menunjukkan terdapat kerusakan sel berupa inti piknosis dan karioreksis serta beberapa jaringan sel yang tidak utuh, namun pada kelompok ini sudah tidak terjadi pelebaran jarak antar tubulus. Profil histologi pada kelompok P2 jaringannya semakin baik karena jaringan terlihat utuh dan tidak terjadi pelebaran jarak antar tubulus, namun masih ditemukan tahap kerusakan inti sel berupa inti karioreksis. Untuk kelompok P3 profil histologi menunjukkan telah terjadi perbaikan sel dan tidak terjadi pelebaran jarak antar tubulus.



Gambar 4.3 Hasil pengamatan profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) dengan perbesaran 400x. Keterangan: (a) sel normal, (b) inti piknosis, (c) inti karioreksis, (d) pelebaran jarak antar tubulus.

Pengamatan profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) dilihat berdasarkan tingkat kerusakan sel yang terjadi pada jaringan tubulus. Nilai rata-rata tingkat kerusakan sel tubulus ginjal mencit yang telah diberi perlakuan nanopartikel pegagan tersalut kitosan dengan dosis 120 mg/kgBB pada P1, dosis 180

mg/kgBB pada P2, dosis 240 mg/kgBB pada P3 serta K- (kontrol negatif) dan K+ (kontrol positif) ditunjukkan pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Diagram batang pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dengan dosis P1 (120 mg/kgBB), P2 (180 mg/kgBB), P3 (240 mg/kgBB) terhadap tingkat kerusakan sel tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

Gambar 4.4 menunjukkan rata-rata tingkat kerusakan tubulus semakin menurun mulai dari kelompok K+ (15,13±0,25), kelompok P1 (12,25±0,65), kelompok P2 (10,38±1,11), kelompok P3 (7,50±0,41), hingga kelompok K- (6,38±0,48). Diantara ketiga perlakuan (P1, P2, P3) pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan, kelompok P3 merupakan kelompok yang paling rendah rata-rata tingkat kerusakan tubulusnya.

Uji statistika Anova satu arah dengan signifikansi 5% dilakukan pada hasil data yang didapat untuk mengetahui apakah pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan benar berpengaruh terhadap perbaikan tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) karena rerata antar kelompok berbeda secara signifikan. Hasil uji Anova satu arah terangkum pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Anova pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dengan dosis P1 (120 mg/kgBB), P2 (180 mg/kgBB), P3 (240 mg/kgBB) terhadap tingkat kerusakan tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rata-rata Kuadrat	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	201,325	4	50,331	119,599	3,06
Galat	6,312	15	0,421		
Total	207,638	19			

Hasil tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai F hitung (119,599) > F tabel (3,06), sehingga hipotesis 1 (H_1) diterima dan hipotesis 0 (H_0) ditolak, hal ini menunjukkan pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan memberikan pengaruh terhadap profil histologi tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

Uji lanjut statistika dilakukan untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang paling berpengaruh terhadap perbaikan tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*). Uji lanjut menggunakan uji Duncan atau DMRT (*Duncan's multiple range test*) dengan nilai signifikansi 5% yang hasilnya ditampilkan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Duncan 5% pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap tingkat kerusakan tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.

Perlakuan	Rerata	Notasi Uji Duncan (5%)
K-	6,38 ± 0,48	a
P3	7,50 ± 0,41	b
P2	10,38 ± 1,11	c
P1	12,25 ± 0,65	d
K+	15,13 ± 0,25	e

Tabel 4.4 hasil uji Duncan untuk pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kerusakan tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi menunjukkan kelompok P3 (7,5±0,41) memiliki rerata

kerusakan yang paling rendah dan berbeda sangat nyata dengan kelompok P1 ($12,25 \pm 0,65$), P2 ($10,38 \pm 1,11$) dan K+ ($15,13 \pm 0,25$), sehingga menunjukkan dosis kelompok P3 yaitu 240 mg/kgBB merupakan dosis paling optimal diantara perlakuan dosis yang lain dalam menurunkan kerusakan sel pada tubulus mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi, namun keadaan tubulus kelompok P3 belum sebaik pada keadaan tubulus kelompok K- (kontrol negatif), dibuktikan dengan adanya perbedaan notasi antara kelompok K- dan P3 pada uji Duncan dengan taraf 5%. Setiap kelompok uji memiliki rerata yang berbeda sangat nyata antara kelompok yang satu dengan yang lain, ditunjukkan dengan tidak ada notasi yang sama pada setiap kelompok perlakuan. Hasil uji juga menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan yang digunakan maka semakin menurun tingkat kerusakan sel pada jaringan tubulus ginjal mencit diabetes komplikasi.

Gambar 4.1 memperlihatkan pada perlakuan K+ (kontrol positif) profil histologi tubulus ginjal menunjukkan pelebaran jarak antar tubulus serta terlihat beberapa tahap nekrosis sel diantaranya inti piknosis dan karioreksis. Pelebaran jarak antar tubulus menunjukkan banyak sel pada jaringan tubulus yang mengalami kerusakan sehingga beberapa sel epitel tubulus berkurang menyebabkan jarak antara satu tubulus dengan tubulus yang lain semakin lebar. Kerusakan sel ini terjadi berkaitan dengan keadaan hiperglikemia yang terjadi pada keadaan diabetes komplikasi.

Keadaan hiperglikemia memicu radikal bebas dan stres oksidatif pada sel epitel tubulus. Diketahui tubulus proksimal dan distal merupakan tempat reabsorpsi glukosa dan mineral lainnya, sehingga selnya rentan terhadap kerusakan akibat hiperglikemia. Kadar glukosa yang tinggi dapat menginduksi kerusakan sel melalui aktivasi Aldose Reduktase (AR) sehingga menyebabkan pembentukan AGE melalui jalur poliol. AGE dapat menginduksi kerusakan dan disfungsi ikatan silang protein matriks seperti kolagen dan laminin yang menyebabkan pengerasan dinding arteri, sehingga pasokan oksigen ke sel tubulus rendah menyebabkan kerusakan sel tubulus. AGE juga akan mengaktivasi RAGE (*receptor for advanced glycation endproduct*) menyebabkan

penurunan pertahanan antioksidan karena pembentukan ROS yang berlebih sehingga terjadi stress oksidatif dan merusak sel tubulus (Barrera & Jaisser, 2020).

Al-Hussaini & Kilarkaje (2018) menemukan pada keadaan tikus diabetes terjadi akumulasi AGE pada tubulus kontortus proksimal. Akumulasi AGE di ginjal berhubungan langsung dengan timbulnya penyakit nefropati diabetik dan penyakit ginjal stadium akhir. Disebabkan pengikatan AGE ke RAGE menghasilkan peningkatan pembentukan ROS sebagai radikal bebas. Meningkatnya kadar ROS dalam tubuh harus diimbangi dengan tingginya kadar antioksidan di dalam tubuh, karena antioksidan mampu menetralkan radikal bebas sehingga tidak terjadi stress oksidatif. Dalam hal ini antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas. Sebagaimana Allah ﷻ menjelaskan secara implisit dalam QS: Adz dzariyat [51]: 49, sebagai berikut:

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ^{٤٩}

Artinya:

Dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran Allah (Adz dzariyat [51]: 49).

Kata زَوْجَيْنِ secara bahasa bermakna berpasang-pasangan. Segala sesuatu baik makhluk hidup maupun mati telah Allah ﷻ ciptakan berpasang-pasangan supaya saling melengkapi dan selalu mengingat Allah Yang Maha Esa dan hanya Allah Yang Maha Kuasa atas segala sesuatu (Shihab, 2002). Seperti halnya Allah ﷻ menciptakan antioksidan sebagai pasangan untuk menetralkan radikal bebas di dalam tubuh, agar radikal bebas tidak dapat merusak sel dan menyebabkan penyakit di dalam tubuh. Hal tersebut merupakan suatu tanda kebesaran Allah ﷻ menciptakan segala sesuatu secara berpasangan. Menurut Serang & Febrianto (2018) antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas sehingga keadaan stress oksidatif dapat dihindari, dengan hal tersebut kerusakan sel akan menurun.

Gambar 4.4 menunjukkan terjadi penurunan rata-rata tingkat kerusakan tubulus ginjal pada kelompok P1 dibandingkan dengan kelompok K+ (kontrol positif). Antara P1 dan K+ (kontrol positif) menunjukkan hasil rerata kerusakan sel tubulus lebih

sedikit P1 yaitu $12,25 \pm 0,65$ sedangkan K+ sebesar $15,13 \pm 0,25$. Menurut tabel 4.4 hasil tersebut berbeda secara signifikan, hal ini menunjukkan pemberian nanopartikel pegagan (*Cetella asiatica*) tersalut kitosan mulai dari perlakuan dosis terkecil P1 (120 mg/kgBB) dapat menurunkan tingkat kerusakan sel tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) akibat kondisi hiperglikemia pada keadaan diabetes komplikasi. Dimungkinkan efek penurunan kerusakan ini diakibatkan oleh kandungan senyawa yang terkandung di dalam nanopartikel pegagan tersalut kitosan. Wilson *et al.* (2015) menyatakan kandungan senyawa aktif nanopartikel perak pegagan (*Centella asiatica*) diantaranya alkaloid, saponin, karbohidrat, steroid, glikosida dan protein, mampu menunjukkan sifat antioksidan yang kuat terhadap pengurangan DPPH dibanding asam askorbat (vitamin C).

Sifat antioksidan pada pegagan juga dipengaruhi oleh senyawa asam asiatik, yang merupakan senyawa triterpenoid pentasiklik utama dalam pegagan. Asam asiatik memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yang dapat menghambat atau memperlambat pembentukan produk akhir glikasi (AGE) (Lv *et al.*, 2018). AGE dihasilkan oleh perubahan pada struktur protein, lipid atau DNA yang disebabkan oleh kadar glukosa yang tinggi. Akumulasi AGE di ginjal berkorelasi positif dengan perkembangan penyakit ginjal diabetes. Sehingga penghambatan terhadap AGE menjadi faktor penting dalam memperbaiki kerusakan sel pada ginjal akibat diabetes komplikasi (Barrera & Jaisser, 2020).

Keadaan diabetes menyebabkan terjadinya akumulasi AGE pada tubulus ginjal, sehingga sistem penghantaran obat dengan tujuan pada organ yang spesifik sangat membantu dalam pengoptimalan penggunaan senyawa yang terkandung dalam obat. Diketahui menurut Chen *et al.* (2020) dan Hauser *et al.* (2021) teknologi nanopartikel dengan penggunaan makromolekul kitosan sebagai pembawa, menunjukkan molekul ini dapat menumpuk dan melepaskan obat secara khusus di ginjal, serta memiliki afinitas tinggi pada tubulus proksimal ginjal, sehingga teknologi nanopartikel pegagan tersalut kitosan, diharapkan dapat mengoptimalkan penghantaran senyawa yang terkandung dalam pegagan untuk menghambat radikal bebas yang terdapat pada ginjal

diabetes komplikasi. Dengan hal ini proses pengikatan radikal bebas dapat meningkat karena lebih banyak senyawa yang sampai pada organ ginjal.

Nanopartikel perak pegagan (*Centella asiatica*) diketahui memiliki sifat antidiabetes dalam penghambatan terhadap enzim α -amilase. Enzim ini dapat menghidrolisis polisakarida seperti glikogen dan pati menjadi glukosa dan maltosa. Dalam studi menunjukkan nanopartikel pegagan signifikan dalam menghambat aktivitas α -amilase. Penghambatan terhadap enzim ini mengakibatkan keterlambatan pencernaan karbohidrat sehingga menurunkan tingkat glukosa plasma post-prandial (Wilson *et al.*, 2015).

Penjelasan diatas menunjukkan bahwa pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan rata-rata tingkat kerusakan sel pada tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi. Diketahui semakin tinggi dosis yang diberikan menunjukkan semakin berkurang rata-rata tingkat kerusakan sel pada tubulus. Perlakuan P3 dengan dosis pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan sebanyak 240 mg/kgBB menunjukkan rata-rata kerusakan sel tubulus paling sedikit yaitu sekitar $7,5 \pm 0,41$ walaupun tidak sekecil pada perlakuan K- ($6,38 \pm 0,48$). Penurunan kerusakan sel tubulus dimungkinkan berkaitan dengan potensi kandungan senyawa pada pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan yang mampu menghambat penghasilan AGE sebagai faktor pemicu terbentuknya radikal bebas pada tubulus, selain itu teknologi nanopartikel tersalut kitosan juga meningkatkan sistem penghantaran obat pada organ ginjal karena memiliki afinitas tinggi pada tubulus proksimal ginjal (Hauser *et al.*, 2021), sehingga dimungkinkan dapat meningkatkan potensi senyawa pegagan dalam memperbaiki kerusakan sel pada tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) akibat diabetes komplikasi.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dapat menjadi pengobatan dalam mengatasi diabetes komplikasi pada ginjal dengan pengaruhnya terhadap penurunan kerusakan profil histologi glomerulus dan tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi.
2. Dosis nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan yang paling optimal dalam menurunkan kerusakan profil histologi glomerulus dan tubulus ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes komplikasi adalah dosis 240 mg/kgBB.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, peneliti memberikan saran pada penelitian selanjutnya, diantaranya:

1. Pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD dan MDA ginjal mencit (*Mus musculus*) diabetes.
2. Parameter pengujian ditambah dengan melihat kadar protein albumin pada urin mencit.
3. Pengamatan histologi ginjal mencit diabetes komplikasi dapat menggunakan mikroskop elektron untuk melihat secara detail bagaimana kerusakan sel podosit (sel epitel) glomerulus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. (2017). Nanopartikel dengan gelasi ionik. *Farmaka*. 15(1):45-52.
- Abdullah dan Abdurrahman. (2003). *Tafsir Ibnu Katsir* Jilid 3 hal 263-264. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abdullah dan Abdurrahman. (2003). *Tafsir Ibnu Katsir* Jilid 6 hal 72 dan 665. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Al-Hussaini, H., & Kilarkaje, N. (2018). Trans-resveratrol mitigates type 1 diabetes-induced oxidative DNA damage and accumulation of advanced glycation end products in glomeruli and tubules of rat kidneys. *Toxicology and applied pharmacology*, 339: 97-109.
- Alicic, R. Z., Rooney, M. T., & Tuttle, K. R. (2017). Diabetic kidney disease: challenges, progress, and possibilities. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(12):2032-2045.
- Al-Qayyim, Al-Jauziyah. (2010). *Thibbun Nabawi* Bab 6 hal 4-5. Muallij Islamiah 1.
- Anukunwithaya, T., Tantisira, M. H., Tantisira, B., & Khemawoot, P. (2017). Pharmacokinetics of a standardized extract of *Centella asiatica* ECa 233 in rats. *Planta medica*. 83(08):710-717.
- Arfian, N., Maharani, A., Latifa, E. F., Kusumaningtyas, I., Witono, M. A., Athollah, K., & Sari, D. C. R. (2020). Ethanolic Extract of *Centella asiatica* Ameliorates Kidney Ischemia/reperfusion Injury Through Inhibition of Inflammatory Process. *Malaysian Journal of Medicine and Health Science*. 16(3):71-77.
- Barrera C. J., & Jaisser, F. (2020). Pathophysiologic mechanisms in diabetic kidney disease: A focus on current and future therapeutic targets. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 22: 16-31.
- Barret K. E., Susan M.B., Scott B., Heddwen L.B. (2015). *Fisiologi Kedokteran Ganong*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Bilous R. & Richard D. (2015). *Buku Pegangan Diabetes*. Edisi Ke 4. Bumi Medika. Jakarta.
- Callaghan C., (2009). *At a Glance Sistem Ginjal*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Candani, D., Ulfah, M., Noviana, W., & Zainul, R. (2018). A Review Pemanfaatan Teknologi Sonikasi. *osf*.
- Chandrika, U.G., Prasad K., Prasad .A.A.S. (2015). Gotu Kola (*Centella asiatica*): Nutritional Properties and Plausible Health Benefits. *Advances in food and nutrition research*. 76.
- Chagnac, A., Zingerman, B., Rozen-Zvi, B., & Herman-Edelstein, M. (2019). Consequences of glomerular hyperfiltration: the role of physical forces in the pathogenesis of chronic kidney disease in diabetes and obesity. *Nephron*, 143(1): 38-42.
- Chen, Y. N., Wu, C. G., Shi, B. M., Qian, K., & Ding, Y. (2018). The protective effect of asiatic acid on podocytes in the kidney of diabetic rats. *American journal of translational research*. 10(11):3733.

- Chen, Z., Peng, H., & Zhang, C. (2020). Advances in kidney-targeted drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 119679.
- Chong, N. J., & Aziz, Z. (2013). A systematic review of the efficacy of *Centella asiatica* for improvement of the signs and symptoms of chronic venous insufficiency. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Cintari L. 2008. Pengaruh Pemberian EKtrak Air Daun Ceplikan Terhadap Kadar Kreatinin dan Ureum dalam Serum serta Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih Diabetes Mellitus. *Skripsi*. Program Studi Ilmu dan esehatan Masyarakat. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Cotran R.S., Kumar V., Robbins S.L. (2007). *Buku Ajar Patologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Deakandi, W. Y., Risandiansyah, R., & Yahya, A. (2017). Pengaruh Dekokta Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal Tikus Wistar Jantan dengan Induksi Oral Kadmium Klorida (CdCl₂) Subkronis Dosis Rendah. *JIMR-Journal of Islamic Medicine Research*, 1(1).
- Direktorat Obat Asli Indonesia. (2010). *Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat PEGAGAN Centella asiatica (L.) Urban*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Divya, K., & Jisha, M. S. (2018). Chitosan nanoparticles preparation and applications. *Environmental chemistry letters*, 16(1):101-112.
- Djari, P. (2008). Pengaruh Pemberian Antioksidan Likopen, Karoten dan Vitamin C dalam Melawan Sinar UV. *Artikel Penelitian Bagian Biokomia UMM*. Malang: UMM Press.
- Dlar. 2009. Commonly Used Mouse Strain. University of Kentucky. <https://www.research.uky.edu/uploads/commonly-used-mouse>. Diakses 15 mei 2021.
- Eleazu, CO. Elazu KC, Chukwuma. (2013). Review of the Mechanism of Cells Death Resulting from Streptozotocin Challenge in Experimental Animals, its Practical Use and Potential Risk to Humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorder*. 12(16).
- El-Hameed, Abd A. M. (2020). Polydatin-loaded chitosan nanoparticles ameliorates early diabetic nephropathy by attenuating oxidative stress and inflammatory responses in streptozotocin-induced diabetic rat. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 1-9.
- Esther, G. S., & Manonmani, A. J. (2014). Effect of *Eugenia Jambolana* on Streptozotocin-Nicotinamide induced type-2 Diabetic Nephropathy in Rats. *Int J Drug Dev & Res*, 6(1):175-187.
- Esther, G.S. & Manonmani, A.J. (2014). Effect of *Eugenia Jambolana* on Streptozotocin Nicotinamide Type 2 Diabetic Nephropathy in Rats. *International Journal of Drug Development & Research*. 6(1):175- 87.
- Fahmi, M. Z. (2020). *Nanoteknologi dalam Perspektif Kesehatan*. Airlangga University Press.

- Fan, W., Yan, W., Xu, Z., & Ni, H. (2012). Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 90:21-27.
- Gerald, S. (2107). Antioidants. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*. 61:165-170.
- Hasanah, A. (2017). Efek Jus Bawang Bombay (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). *Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*, 11(2):92-101.
- Hashim, P., Sidek, H., Helan, M.H.M., Sabery, A., Palanisamy, U.D., Ilham, M.. (2011). Triterpene composition and bioactivities of *Centella asiatica*. *Molecules*. 16(2):1310-1322.
- Hauser, P. V., Chang, H. M., Yanagawa, N., & Hamon, M. (2021). Nanotechnology, Nanomedicine, and the Kidney. *Applied Sciences*, 11(16): 7187.
- Hebbar, S. (2019). RP-HPLC Method Development and Validation of Asiatic Acid Isolated From the Plant *Centella asiatica*. *Int J App Pharm*. 11(3).
- Hung, Y. C., Yang, H. T., & Yin, M. C. (2015). Asiatic acid and maslinic acid protected heart via anti-glycative and anti-coagulatory activities in diabetic mice. *Food & function*, 6(9): 2967-2974.
- Husniati dan Eva Oktarina. (2014). Sintesis Nano Partikel Kitosan dan Pengaruhnya Terhadap Inhibisi Bakteri Pembusuk Jus Nenas. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 25(2).
- Hussain, T., Tan, B., Murtaza, G., Liu, G., Rahu, N., Kalhor, M. S., ... & Yin, Y. (2020). Flavonoids and type 2 diabetes: Evidence of efficacy in clinical and animal studies and delivery strategies to enhance their therapeutic efficacy. *Pharmacological research*, 152: 104629.
- IDF. (2019). *Diabetes atlas*. Edisi kesembilan. International Diabetes federation. Belgium.
- Irham, W. H., & Marpaung, L. (2019). Bioactive Compounds In Pegagan Leaf (*Centella asiatica* L. Urban) for Wound Healing. *Journal of Physics: Conference Series*. 1232(1):012019.
- Irianto, Hari E. dan Ijah M. (2011). Proses Dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Penghantar Obat. *Squalen*. 6(1).
- Kabir, A. U., Samad, M. B., D'Costa, N. M., Akhter, F., Ahmed, A., & Hannan, J. M. A. (2014). Anti-hyperglycemic activity of *Centella asiatica* is partly mediated by carbohydrase inhibition and glucose-fiber binding. *BMC complementary and alternative medicine*. 14(1):1-14.
- Kamaliani, B. R., Setiasih, N. L. E., & Winaya, I. B. O. (2019). Histopathological kidney overview of experimental diabetes mellitus wistar rats given ethanol extract of moringa leaf. *Buletin Veteriner Udayana*, 71-77.
- Kesornbuakao, K., & Yasurin, P. (2016). The Development of *Centella asiatica* Extract-Loaded BSA Nanoparticles Production to Improve Bioavailability. *Oriental Journal of Chemistry*. 32(5):2425.
- Kevin, C. & Wang L. (2010). Recent advances in acne Vulgaris research: insight and clinical implication. *Advance in Dermatology*. 24.

- Lathifah, N. L. (2017). Hubungan durasi penyakit dan kadar gula darah dengan keluhan subyektif penderita diabetes melitus. *Jurnal berkala epidemiologi*. 5(2):231-239.
- Legiawati, L., Fadilah, F., Bramono, K., Setiati, S., & Yunir, E. (2020). Molecular Dynamic Simulation of Centella asiatica Compound as an Inhibitor of Advanced Glycation End Products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(08): 001-007.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 51(2):216-226.
- Li, Y., Schoufour, J., Wang, D. D., Dhana, K., Pan, A., Liu, X., & Hu, F. B. (2020). Healthy lifestyle and life expectancy free of cancer, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: prospective cohort study. *bmj*, 368.
- Lukiati, B., Nugrahaningsih, N., & Arifah, S. N. (2019). The Role of Sechium edule Fruits Ethanolic Extract in Insulin Production and Malondialdehyde Level in Stz-Induced Diabetic Rat. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 4(1):11-17.
- Lv, J., Sharma, A., Zhang, T., Wu, Y., & Ding, X. (2018). Pharmacological review on asiatic acid and its derivatives: a potential compound. *SLAS TECHNOLOGY: Translating Life Sciences Innovation*, 23(2): 111-127.
- Mahmoodnia, L., Aghadavod, E., Beigrezaei, S., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). An update on diabetic kidney disease, oxidative stress and antioxidant agents. *Journal of renal injury prevention*. 6(2):153.
- Maneesai, P., Bunbupha, S., Kukongviriyapan, U., Prachaney, P., Tangsucharit, P., Kukongviriyapan, V., & Pakdeechote, P. (2016). Asiatic acid attenuates renin-angiotensin system activation and improves vascular function in high-carbohydrate, high-fat diet fed rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-11.
- Maratul, H., Supriyono, Widyastuti Y., & Yunus A. (2020). The diversity of leaves and asiaticoside content on three accessions of Centella asiatica with the addition of chicken manure fertilizer. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 21(3).
- Mardliyati, E., Muttaqien, S. E., & Setyawati, D. R. (2012). Sintesis nanopartikel kitosan-trypoly phosphate dengan metode gelasi ionik: pengaruh konsentrasi dan rasio volume terhadap karakteristik partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan*. 90-93.
- Martien, R., Adhyatmika A., Irianto I.D.K., Farida V. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*. 8(1).
- Maruzy, A., Budiarti, M., & Subositi, D. (2020). Autentikasi Centella asiatica (L.) Urb.(Pegagan) dan Adulterannya Berdasarkan Karakter Makroskopis, Mikroskopis, dan Profil Kimia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 19-30.
- Maryanto, I., Kitchener, D. J., & Prijono, S. N. (2005). Morphological analysis of house mice, *Mus musculus* (Rodentia, Muridae) in Southern and Eastern Indonesia and Western Australia. *Mammal Study*, 30(1):53-63.

- Mescher A. L. (2017). *Histologi Dasar Junqueiro Teks dan Atlas*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Mohebbati, R., Kamkar-Del, Y., Kazemi, F., Rakhshandeh, H., & Shafei, M. N. (2021). Hypotensive effect of *Centella asiatica* L. extract in acute Angiotensin II-induced hypertension. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(4), 71-80.
- Muchtaromah, B., Griana, T. P., & Hakim, L. (2013). Gambaran histologi pankreas tikus diabetes mellitus kronis yang dicekoki daun *Centella asiatica* (L.) urban dalam bentuk segar, rebusan dan ekstrak etanol. *Saintis (Jurnal Integrasi Sains dan Islam)*. 2(1).
- Muchtaromah, B., Habibie, S., Ma'arif, B., Ramadhan, R., Savitri, E. S., & Maghfuroh, Z. (2021). Comparative analysis of phytochemicals and antioxidant activity of ethanol extract of *Centella asiatica* leaves and its nanoparticle form. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 5(3):465-469.
- Muchtaromah, B., Maslikah, S. I., Mufarrichah, L., & Fitriasari, P. D. (2019). Histological description of small intestine and kidney of white rats (*Rattus norvegicus*) infected with *Salmonella typhi* by giving earthworm flour. In *AIP Conference Proceedings*. 2120(1):070003.
- Muchtaromah, B., Wahyudi, D., Ahmad, M., & Annisa, R. (2020). Nanoparticle characterization of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* as a basic of nanotechnology on jamu subur kandungan Madura. *Pharmacognosy Journal*. 12(5).
- Nanda, O. D., Wiryanto, B., & Triyono, E. A. (2018). Hubungan kepatuhan minum obat anti diabetik dengan regulasi kadar gula darah pada pasien perempuan diabetes mellitus. *Amerta Nutrition*, 2(4):340-348.
- Novaes, A. D. S., Borges, F. T., Maquigussa, E., Varela, V. A., Dias, M. V. S., & Boim, M. A. (2019). Influence of high glucose on mesangial cell-derived exosome composition, secretion and cell communication. *Scientific reports*, 9(1), 1-13.
- Nugroho, B. H., Wardhani, M. T., & Suparmi, S. (2020). Perbandingan Teknik Aerasi dan Ultrasonikasi Gelasi Ionik Nanopartikel Deksametason Natrium Fosfat. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 102-109.
- Orhan, Ilkay Erdogan. (2012). Review Article: *Centella asiatica* (L.) Urban: From TraditionalMedicine to ModernMedicine with Neuroprotective Potential. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID:946259.
- Pakdeechote, P., Bunbupha, S., Kukongviriyapan, U., Prachaney, P., Khrisanapant, W., & Kukongviriyapan, V. (2014). Asiatic acid alleviates hemodynamic and metabolic alterations via restoring eNOS/iNOS expression, oxidative stress, and inflammation in diet-induced metabolic syndrome rats. *Nutrients*. 6(1):355-370.
- Putri, F. M. S. (2018). Urgensi Etika Medis dalam Penanganan Mencit Pada Penelitian Farmakologi. *Jurnal madani medika*.
- Quthb, S. 2004. *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an* Jilid 11 hal 109. Jakarta: Gema Insani.

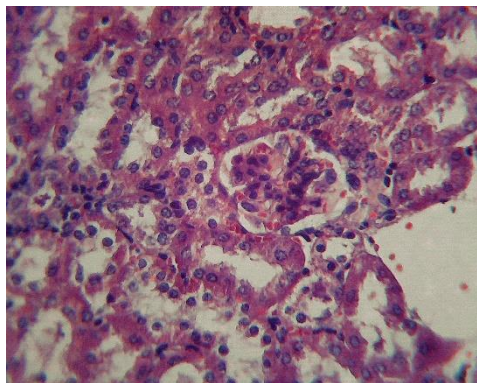
- Ramachandran, V., & Saravanan, R. (2013). Efficacy of asiatic acid, a pentacyclic triterpene on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 20(3-4): 230-236.
- Raza H, Jhon A. (2013). Streptozotocin-Induced Cytotoxicity, Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Human Hepatoma HepG2 Cells. *International Journal Mol. Sci.* 13(5):5751-5767.
- Razali, N. N. M., Ng, C. T., & Fong, L. Y. (2019). Cardiovascular protective effects of *Centella asiatica* and its triterpenes: a review. *Planta medica*. 85(16):1203-1215.
- RISKESDAS. (2018). *Riset Kesehatan Dasar*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Republik Indonesia tahun 2018.
- Rodrigues, B., Poucheret, P., Battell, M. L., & McNeill, J. H. (2018). Streptozotocin-induced diabetes: induction, mechanism (s), and dose dependency. In *Experimental models of diabetes*. 3-17.
- Safitri, M., Nurkhasanah dan Laela H. N. (2014). Pengaruh Pemberian Sediaan Nanopartikel Kitosan Ekstrak Etanol Rosela (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Pada Tikus Hiperkolesterol Terhadap Profil Lipid. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1).
- Safitri, M., Nurkhasanah dan Laela Hayu Nurani. 2014. Pengaruh Pemberian Sediaan Nanopartikel Kitosan Ekstrak Etanol Rosela (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Pada Tikus Hiperkolesterol Terhadap Profil Lipid. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1).
- Sanajou, D., Haghjo, A. G., Argani, H., & Aslani, S. (2018). AGE-RAGE axis blockade in diabetic nephropathy: current status and future directions. *European journal of pharmacology*, 833: 158-164.
- Sancar, B. S., Gezgin O., S., & Bolkent, S. (2015). Exendin-4 attenuates renal tubular injury by decreasing oxidative stress and inflammation in streptozotocin-induced diabetic mice. *Growth Factors*. 33(5-6):419-429.
- Serang, Y., & Febrianto, Y. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) pada Proteksi Pankreas Tikus Diabetes yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*. 1(2):56-62.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Vol 5 hal 75*. Lentera Hati. Jakarta.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Vol 10 hal 11-12*. Lentera Hati. Jakarta.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Vol 11 hal 346*. Lentera Hati. Jakarta.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Vol 13 hal 350*. Lentera Hati. Jakarta.
- Silverthorn, D. U., Bruce R. J., William C.O., Claire W. G., Silverthorn A. C. (2014). *Fisiologi Manusia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. . Jakarta.

- Singh, A. K., Mishra, S. B., & Verma, B. K. (2019). Impact of Nanotechnology on Diabetes: Phyto-constituents based overview. *International Journal of Pharmacy Research*. 10(1).
- Singh D.K., & Farrington K. (2010). The tubulointerstitium in early diabetic nephropathy : prime target or bystander. *International Journal of Diabetes in Developing Country*. 30(4).
- Souto, E. B., Souto, S. B., Campos, J. R., Severino, P., Pashirova, T. N., Zakharova, L. Y., & Santini, A. (2019). Nanoparticle delivery systems in the treatment of diabetes complications. *Molecules*. 24(23):4209.
- Stephens, J. W., Brown, K. E., & Min, T. (2020). Chronic kidney disease in type 2 diabetes: Implications for managing glycaemic control, cardiovascular and renal risk. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 22:32-45.
- Sutardi, S. (2016). Kandungan Bahan Aktif TanKandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan Dan Khasiatnya Untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *jurnal litbang Pertanian*. 35(3).
- Tatto, Dermiati, Niluh PD, Feiverin Tibe. 2017. Efek Antihiperkolesterol dan Antihiperglikemik Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterol Diabetes. *Jurnal Farmasi Galenika*. 3(2).
- Tjekyan, S. (2014). Prevalensi dan faktor risiko penyakit ginjal kronik di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang tahun 2012. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 46(4):275-281.
- Tolistiawaty, I. (2019). Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba. *Jurnal Vektor Penyakit*. 8(1).
- Tulung, G. L., Bodhi, W., & Siampa, J. P. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Sebagai Antidiabetes Terhadap Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Pharmakon*, 10(1): 736-742.
- Ugahari, L. E., Mewo, Y. M., & Kaligis, S. H. (2016). Gambaran kadar glukosa darah puasa pada pekerja kantor. *eBiomedik*, 4(2).
- Utomo, Y., Hidayat, A., Dafip, M., & Sasi, F. A. (2012). Studi Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Pemanis Buatan. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*. 35(2).
- Widiasari, S. (2018). Mekanisme Inhibisi Angiotensin Converting Enzym oleh Flavonoid pada Hipertensi. *Collaborative Medical Journal (CMJ)*, 1(2): 30-44.
- Wilson, S., Cholan, S., Vishnu, U., Sannan, M., Jananiya, R., Vinodhini, S., & Rajeswari, D. V. (2015). In vitro assessment of the efficacy of free-standing silver nanoparticles isolated from *Centella asiatica* against oxidative stress and its antidiabetic activity. *Der Pharmacia Lettre*. 7(12):194-205.
- Wonodirekso S., (2013). *Penuntun Praktikum Histologi*. Penerbit Dian Rakyat. Jakarta.

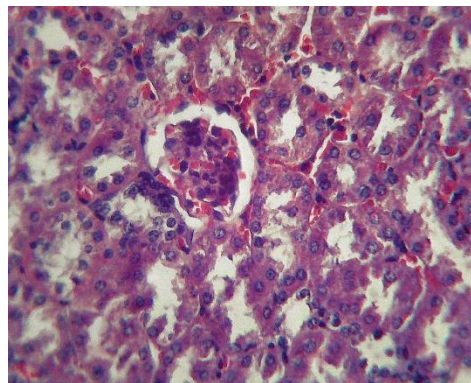
- Yang, S., Wang, J., Brand, D. D., & Zheng, S. G. (2018). Role of TNF–TNF receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications. *Frontiers in immunology*. 9:784.
- Yasuri P, Malinee S, Theerawut P. (2016). Review : The Bioavailability Activity of *Centella asiatica*. *KMUTNB International Journal of Applied Science and Technology*. 9(1):1-9.
- Yasurin P, Malinee S, Theerawut P. (2016). Review : The Bioavailability Activity of *Centella asiatica*. *KMUTNB International Journal of Applied Science and Technology*. 9(1):1-9.
- Yin, M. C. (2015). Inhibitory effects and actions of pentacyclic triterpenes upon glycation. *Biomedicine*, 5(3): 1-8.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish. Yogyakarta.

LAMPIRAN

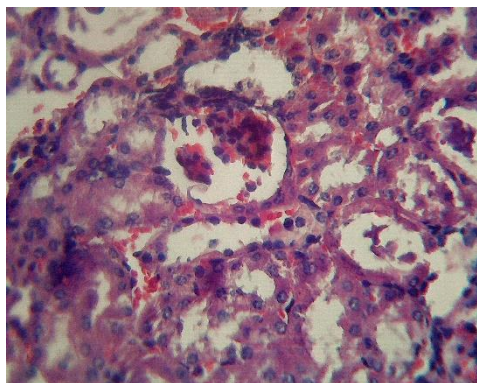
Lampiran 1. Gambar Hasil Pengamatan Histologi Glomerulus dan Tubulus Ginjal Mencit



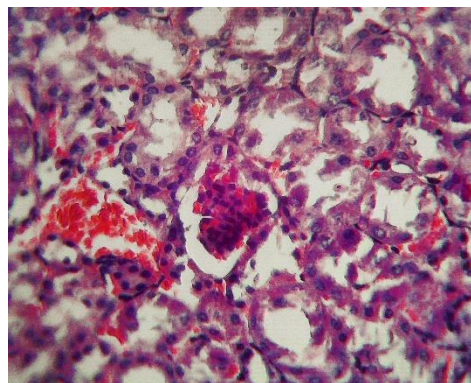
K- (Kontrol Negatif)-1



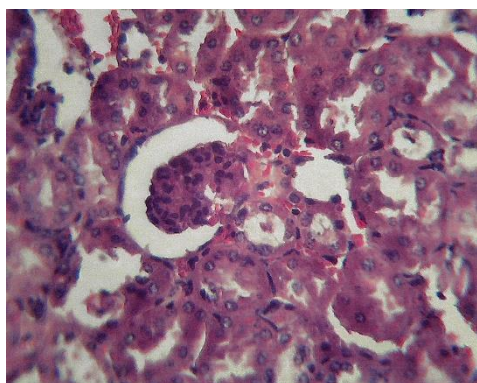
K- (Kontrol Negatif)-2



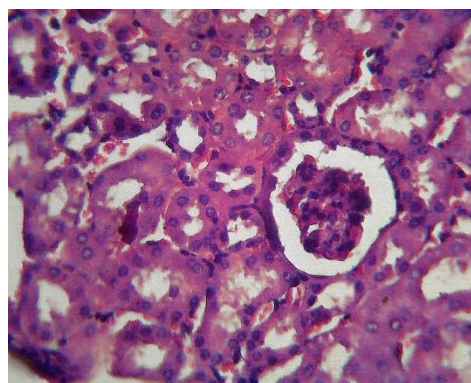
P1 (Perlakuan 1)-1



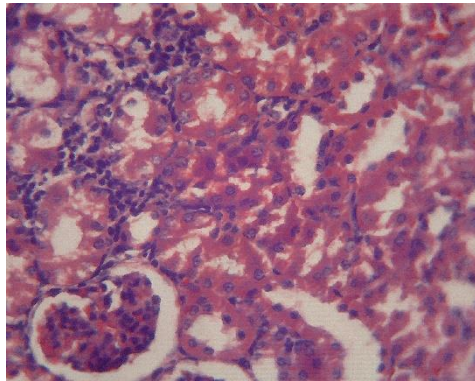
P1 (Perlakuan 1)-2



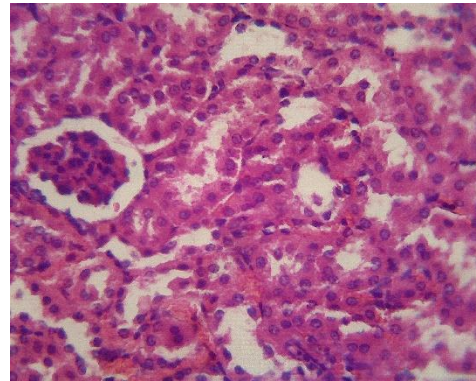
P2 (Perlakuan 2)-1



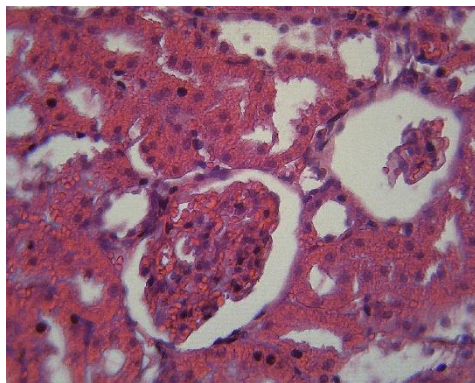
P2 (Perlakuan 2)-2



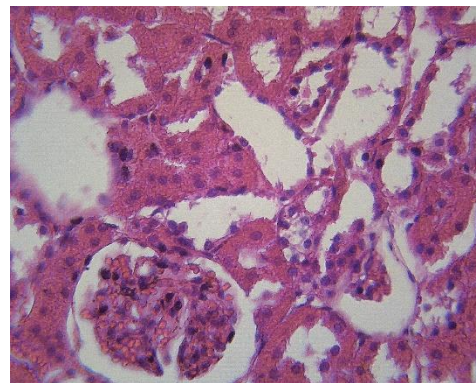
P3 (Perlakuan 3)-1



P3 (Perlakuan 3)-2



K+ (Kontrol Positif)-1



K+ (Kontrol Positif)-2

Lampiran 2. Perhitungan Dosis

1. Perhitungan Dosis Streptozotocin yang diberikan

Induksi streptozotocin menggunakan multiple low dose dengan dosis 40 mg/kgBB dan 60 mg/kgBB. Jadi dosis yang diberikan untuk mencit 30 gram:

- STZ dosis 40 mg/kgBB

$$\frac{n}{30 \text{ g}} = \frac{40 \text{ mg}}{1000 \text{ g}}$$

$$n = \frac{40}{1000} \times 30$$

$$n = \frac{1200}{1000}$$

$$n = 1.2 \text{ mg}$$

- STZ dosis 60 mg/kgBB

$$\frac{n}{30 \text{ g}} = \frac{60 \text{ mg}}{1000 \text{ g}}$$

$$n = \frac{60}{1000} \times 30$$

$$n = \frac{1800}{1000}$$

$$n = 1.8 \text{ mg}$$

2. Pembuatan larutan STZ

STZ dilarutkan dalam buffer sitrat 0,02 M.

Perbandingan STZ dengan buffer sitrat 0,02 M adalah 10 mg : 1 ml.

Kebutuhan STZ dalam satu hari untuk 20 ekor tikus = $1.2 \text{ mg} \times 20$
 $= 24 \text{ mg}$

Dosis buffer sitrat 0,02 M = $\frac{24}{10} = 2,4 \text{ ml}$

Jadi, 24 mg STZ dilarutkan pada 2,4 ml buffer sitrat 0,02 M

3. Perhitungan Dosis Terapi Nanopartikel Pegagan yang diberikan

Untuk 1 ekor mencot dengan berat badan 30 gram:

- Dosis 120 mg/kgBB

$$\frac{n}{30} = \frac{120}{1000}$$

$$n = \frac{120}{1000} \times 30$$

$$n = \frac{3600}{1000}$$

$$n = 3,6 \text{ mg/kgBB}$$

- Dosis 180 mg/kgBB

$$\frac{n}{30} = \frac{180}{1000}$$

$$n = \frac{180}{1000} \times 30$$

$$n = \frac{5400}{1000}$$

$$n = 5,4 \text{ mg/kgBB}$$

- Dosis 240 mg/kgBB

$$\frac{n}{30} = \frac{240}{1000}$$

$$n = \frac{240}{1000} \times 30$$

$$n = \frac{7200}{1000}$$

$$n = 7,2 \text{ mg/kgBB}$$

Lampiran 3. Hasil Skoring Glomerulus

Ulangan	LP	Perlakuan				
		1N	2N	3N	K+	K-
1	1	2.5	2	2	3	1.5
	2	2.5	2	1.5	3	1.5
	3	2.5	2	1.5	3	1
	4	3	2	2	3	1
	5	3.5	2.5	2	3	1
	Jumlah	14	10.5	9	15	6
2	1	3	2.5	2	3.5	1.5
	2	3	3	2	3	1.5
	3	2.5	3.5	1.5	3	1.5
	4	3	3.5	2	3	1.5
	5	3	2.5	2	3	1.5
	Jumlah	14.5	15	9.5	15.5	7.5
3	1	3	2.5	2	3	1
	2	2.5	2.5	2	3.5	1.5
	3	3	2	2	3	1
	4	2.5	2.5	2	3	1
	5	2.5	2	2	3	1
	Jumlah	13.5	11.5	10	15.5	5.5
4	1	2.5	2	1.5	3	1.5
	2	2.5	2	2	3.5	1.5
	3	2.5	2.5	2	3	1.5
	4	2.5	2	2	3	1.5
	5	2.5	2.5	2	3	1.5
	Jumlah	12.5	11	9.5	15.5	7.5

Lampiran 4. Hasil Skoring Tubulus

Ulangan	LP	Perlakuan				
		1N	2N	3N	K+	K-
1	1	2	2	1.5	3.5	1.5
	2	2.5	2.5	1.5	3	1
	3	2.5	2.5	1.5	3	1.5
	4	3	2.5	1.5	3	1.5
	5	3	2.5	1.5	2.5	1
	Jumlah	13	12	7.5	15	6.5
2	1	2	2	1	3	1.5
	2	2	2	2	2.5	1

	3	3	1.5	1.5	3.5	1.5
	4	2.5	2	1.5	3	1
	5	2	2.5	2	3.5	1
	Jumlah	11.5	10	8	15.5	6
3	1	3	1.5	1	3.5	1.5
	2	2	2.5	1.5	3	1.5
	3	2.5	2	2	2.5	1.5
	4	2.5	1.5	1.5	3	1.5
	5	2.5	2.5	1.5	3	1
	Jumlah	12.5	10	7.5	15	7
4	1	2	2.5	2	2.5	1.5
	2	2	1.5	1.5	2.5	1.5
	3	2.5	1.5	1	3.5	1
	4	3	1.5	1	3.5	1
	5	2.5	2.5	1.5	3	1
	Jumlah	12	9.5	7	15	6

Lampiran 5. Spss hasil skoring glomerulus

- Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			Data
N			20
Normal Parameters ^a	Mean		11.440
	Std. Deviation		3.3314
Most Extreme Differences	Absolute		.132
	Positive		.111
	Negative		-.132
Kolmogorov-Smirnov Z			.590
Asymp. Sig. (2-tailed)			.878

a. Test distribution is Normal.

- Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Data			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.227	3	16	.876

- **Oneway Anova 5%**

ANOVA					
Data					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	190.075	4	47.519	38.399	.000
Within Groups	18.562	15	1.238		
Total	208.638	19			

- **Uji Duncan**

Data

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	4	6.625			
3N	4		9.500		
2N	4			12.000	
1N	4			13.625	
K+	4				15.375
Sig.		1.000	1.000	.057	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 6. Spss hasil skoring tubulus

- Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Data
N		20
Normal Parameters ^a	Mean	10.3250
	Std. Deviation	3.30580
Most Extreme Differences	Absolute	.159
	Positive	.159
	Negative	-.121
Kolmogorov-Smirnov Z		.711
Asymp. Sig. (2-tailed)		.692

a. Test distribution is Normal.

- Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Data			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.141	4	15	.126

- Oneway Anova 5%

ANOVA					
Data					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	201.325	4	50.331	119.599	.000
Within Groups	6.312	15	.421		
Total	207.638	19			

- **Uji Duncan**

Data

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K-	4	6.3750				
3N	4		7.5000			
2N	4			10.3750		
1N	4				12.2500	
K+	4					15.1250
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI**

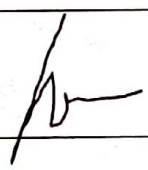
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Ana Mar'a Konita Firdaus

NIM : 17620076

**Judul : Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersulut
Kitosan Terhadap Profil Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*)
Diabetes Komplikasi**

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Maharani Retna Duhita, M.Sc	4%	


 Ketua Program Studi Biologi
Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
 NIDN 13741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ana Mar'a Konita Firdaus
NIM : 17620076
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Prof. Dr.drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersulut Kitosan Terhadap Profil Histologi Ginal Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Komplikasi

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	20 Januari 2021	Konsultasi Judul	
2.	13 Februari 2021	Konsultasi Bab 1,2, dan 3	
3.	12 April 2021	Konsultasi dan Revisi Bab 1,2, dan 3	
4.	06 Mei 2021	ACC Proposal Skripsi	
5.	30 Juni 2021	Konsultasi Hasil penelitian	
6.	05 September 2021	Konsultasi Bab 4 dan 5	
7.	08 September 2021	ACC Skripsi	
8.			
9.			
10.			

Pembimbing Skripsi,

Prof. Dr.drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 197109192000032001



Malang, 9 September 2021
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ana Mar'a Konita Firdaus
NIM : 17620076
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/ 2021
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalut Kitosan Terhadap Profil Histologi Ginal Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Komplikasi

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	11 Mei 2021	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB 1 dan 2	
2.	18 Mei 2021	ACC Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi	
3.	6 September 2021	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB 4	
4.	8 September 2021	ACC Integrasi Al-Qur'an Skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 198605122019031002

Malang, 9 September 2021
Ketua Program Studi,



Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002