

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN TERHADAP KADAR SOD
DAN MDA CEREBRUM PADA MENCIT YANG DIINDUKSI
*STREPTOZOTOCIN***

SKRIPSI

Oleh :

MUHAMMAD MASDUQI

NIM. 15620005



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

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN TERHADAP KADAR SOD
DAN MDA SEREBRUM PADA MENCIT YANG DIINDUKSI
*STREPTOZOTOCIN***

SKRIPSI

Oleh:

MUHAMMAD MASDUQI

NIM. 15620005

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 ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN TERHADAP KADAR
SOD DAN MDA SEREBRUM PADA MENCIT YANG DIINDUKSI
STREPTOZOTOSIN**

SKRIPSI

Oleh :
MUHAMMAD MASDUQI
NIM. 15620005

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal : 17 Desember 2021

Pembimbing I



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

Pembimbing II



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



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

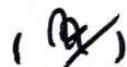

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 197410182003122002

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN TERHADAP KADAR
SOD DAN MDA SEREBRUM PADA MENCIT YANG DIINDUKSI
STREPTOZOTOSIN**

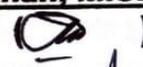
SKRIPSI

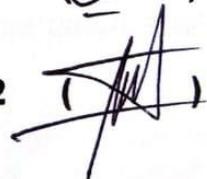
Oleh :
MUHAMMAD MASDUQI
NIM. 15620005

Telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan
diterima sebagai salah satu persyaratan untuk
memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 20 Desember 2021

Ketua Penguji : Kholifah Holil, M.Si ()
NIP. 19751106 200912 2 002

Anggota Penguji 1 : Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si ()
NIP. 19671113 199402 2 001

Anggota Penguji 2 : Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si ()
NIP. 19710919 200003 2 001

Anggota Penguji 3 : Mujahidin Ahmad, M.Sc ()
NIP. 19860512 201903 1 002



Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi


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

HALAMAN PERSEMBAHAN
Dengan mengucapkan rasa Syukur



Dengan usaha, kerja keras, doa dan syukur yang teramat besar

Ku persembahkan sebuah karya sederhana untuk:

Ayahku (SAMPURI) dan Ibuku (ZULIATI) yang telah sabar mendidik, mendukung, mendoakan dan memberikan segalanya untuk penulis semoga Allah senantiasa memberkati dan merahmatinya.

Guru – Guru yang saya muliakan dan semua guru yang selalu sabar menasehati mendukung dan mengingatkan setiap langkah dan keputusan yang penulis ambil..

Bapak, Ibu dosen, laboran dan staf administrasi jurusan biologi, yang senantiasa meluangkan waktu untuk mendidik dan memberikan ilmu serta pengalaman yang luar biasa kepada penulis.

Kakak-kakak, Teman-teman, Adek-adek Tim Soal Olimpiade Biologi, terimakasih telah menjadi bagian dalam perjalanan kisah penulis, semoga acara Olimpiade Biologi dengan bertahun soal semakin berkualitas.

Teman-teman Biologi genetis' 15 UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, banyak pelajaran berharga yang dapat penulis ambil hikmahnya.

Teman-teman semua terima kasih atas semua dukungannya dalam membantu menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

“Ucapan terima kasih dari penulis tak akan cukup untuk membalasnya, semoga Allah SWT memberikan balasan yang baik berupa amal kebaikan dan surga, Aamiin”

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Muhammad Masduqi

NIM : 15620005

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Nanopartikel Pegagan Terhadap Kadar SOD & MDA Cerebrum pada Mencit yang Diinduksi Streptozotocin

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

Malang, 06 Desember 2021

Yang membuat pernyataan



Muhammad Masduqi
NIM. 15620005

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak di publikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

MOTTO

**UTAMAKANLA AGAMA DAN ADABMU TERLEB3H DULU.
SERTA JAGALAH L3SANMU.**

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji dan syukur senantiasa kita panjatkan kehadirat Allah karena atas rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Nanopartikel Pegagan Terhadap Gambaran Histologi, Kadar Sod & Mda Cerebrum pada Mencit yang Diinduksi Streptozotocin”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Agung Muhammad, yang selalu kita nantikan syafa'atnya hingga hari kiamat. Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang membantu dan mendukung dalam penyelesaian skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A. 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 Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Prof. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Fakultas, karena atas bimbingan, pengarahan, dan kesabarannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama, karena atas bimbingan, pengarahan, dan kesabarannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Prof. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si M.Si selaku dosen wali yang selalu memberikan motivasi kepada penulis selama menempuh studi di Universitas Islam Negeri (UIN) Maliki Malang. Terima kasih atas waktu, bimbingan, arahan dan kesabaran selama membimbing penulis.
7. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengajarkan banyak hal dan memberikan pengetahuan yang luas kepada penulis. Seluruh laboran dan

staf administrasi Biologi atas segala kontribusinya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

8. Kedua orangtua dan segenap keluarga tercinta yang senantiasa memberikan do'a dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan ketidaksempurnaan, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah khazanah Ilmu Pengetahuan serta bermanfaat kepada para pembaca khususnya kepada penulis secara pribadi.

Amin Ya RaBBal Alamin

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, 12 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iv |
| ORISINALITAS PENELITIAN | v |
| PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI | vi |
| MOTTO | vii |
| KATA PENGANTAR | viii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| ABSTRAK | xv |
| ABSTRACT | xvi |
| مستخلص البحث | xvii |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 9 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 10 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 10 |
| 1.5 Batasan Masalah | 11 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 13 |
| 2.1 Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) | 13 |
| 2.1.1 Deskripsi Tanaman..... | 13 |
| 2.1.2 Klasifikasi..... | 15 |
| 2.1.3 Kandungan dan Manfaat | 15 |
| 2.1.4 Potensi Pegagan..... | 18 |
| 2.2 Mencit (<i>Mus musculus</i>) | 19 |
| 2.2.1 Definisi | 19 |
| 2.2.2 Ciri..... | 20 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.3 Klasifikasi..... | 21 |
| 2.3 Nanopartikel..... | 21 |
| 2.4 Diabetes Melitus..... | 32 |
| 2.4.1 Klasifikasi Diabetes Melitus | 33 |
| 2.4.2 Diabetes Melitus Tipe 2 | 34 |
| 2.5 Radikal Bebas..... | 37 |
| 2.5.1 Melonialdehida (MDA)..... | 40 |
| 2.5.2 Hubungan Diabetes dengan Radikal Bebas | 42 |
| 2.6 Antioksidan | 45 |
| 2.6.1 Superoksida Dismutase (SOD)..... | 48 |
| 2.7 Streptozotocin | 50 |
| 2.8 Serebrum | 52 |
| 2.9 Hubungan ROS dengan Apoptosis | 53 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 55 |
| 3.1 Rancangan Penelitian | 55 |
| 3.2 Variabel Penelitian | 55 |
| 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian | 55 |
| 3.4 Populasi dan Sampel | 56 |
| 3.5 Alat dan Bahan | 56 |
| 3.5.1 Alat..... | 56 |
| 3.5.2 Bahan | 57 |
| 3.6 Prosedur Penelitian | 57 |
| 3.6.1 Pembuatan Ekstrak Pegagan | 57 |
| 3.6.2 Pembuatan Nanopartikel Pegagan Tersalut Kitosan | 58 |
| 3.6.3 Persiapan Hewan Coba | 58 |
| 3.6.4 Pembuatan Kondisi Mencit Diabetes..... | 59 |
| 3.6.5 Pembuatan Kelompok Sampel..... | 60 |
| 3.6.6 Pemberian Perlakuan | 60 |
| 3.6.7 Pembuatan Preparat Histologi Otak Mencit | 60 |
| 3.6.8 Pengukuran Antioksidan | 61 |
| 3.6.8.1 Pengukuran SOD | 61 |
| 3.6.8.2 Pengukuran MDA | 63 |

| | |
|--|------------|
| 3.7 Analisi data | 65 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 67 |
| 4.1 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar SOD Cerebrum Mencit | 68 |
| 4.2 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar SOD Cerebrum Mencit | 76 |
| BAB V PENUTUP | 87 |
| 5.1 Kesimpulan | 87 |
| 5.2 Saran | 87 |
| DAFTAR PUSTAKA | 89 |
| LAMPIRAN..... | 107 |

DAFTAR TABEL

- Tabel 4.1 Rerata pengaruh induksi naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes 68
- Tabel 4.2 Uji ANOVA pengaruh induksi naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes 69
- Tabel 4.3 Uji BNT (5%) pengaruh naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes 70
- Tabel 4.4 Rerata pengaruh naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes 77
- Tabel 4.2 Uji ANOVA pengaruh induksi naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes 78
- Tabel 4.3 Uji BNT (5%) pengaruh induksi naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes 79

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema Tumbuhan Pegagan

14

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|-----|
| Lampiran 1. Kerangka Penelitian | 107 |
| Lampiran 2. Penentuan dan Perhitungan Dosis | 108 |
| Lampiran 3. Analisis Statistika Kadar SOD | 110 |
| Lampiran 4. UJI SOD dengan DNMRT | 114 |
| Lampiran 5. Analisis Statistika Kadar MDA | 116 |
| Lampiran 6. UJI SOD dengan DNMRT | 120 |

Pengaruh Nanopartikel Pegagan Terhadap Kadar SOD dan MDA Serebrum pada Mencit yang Diinduksi Streptozotosin

Muhammad Masduqi. Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin ahmad

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

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan terhadap kadar SOD (*Superoxide Dismutase*)-MDA (*Malondialdehyde*) cerebrum mencit (*Mus musculus*) diabetes. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan dimana peneliti memberikan perlakuan streptozotosin dan nanopartikel pegagan terhadap hewan coba mencit (*Mus musculus*) di laboratorium. Penelitian ini terbagi menjadi 5 perlakuan yakni : kontrol negatif tanpa induksi STZ, Kontrol Positif dengan induksi STZ, N1 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 120 mg/kg BB, N2 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 180 mg/kg BB, dan N3 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 240 mg/kg BB. Data pengukuran SOD dan MDA kemudian di uji ANOVA. Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan terapi nanopartikel pegagan berpengaruh terhadap meningkatnya nilai SOD dan menurunnya nilai MDA dalam cerebrum mencit . Dosis yang menunjukkan kadar SOD tertinggi dan kadar MDA paling rendah adalah pada perlakuan N3 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 240 mg/kg BB).

Kata Kunci : nanopartikel, diabetes, pegagan, cerebrum

Effect of Gotu Kola Nanoparticles on Cerebrum SOD and MDA Levels in Streptozotocin Induced Mice

Muhammad Masduqi. Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

Biology Program Study, Faculty of Science dan Technology, The State Islamic of University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of gotu kola nanoparticles on the levels of SOD (Superoxide Dismutase)-MDA (Malondialdehyde) in the cerebrum of diabetic mice (*Mus musculus*). This study is a laboratory experimental study using a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 4 replications where the researchers gave streptozotocin and gotu kola nanoparticles treatment to experimental mice (*Mus musculus*) in the laboratory. This study was divided into 5 treatments, namely: negative control without STZ induction, Positive control with STZ induction, N1 (STZ induction + gotu kola nanoparticles 120 mg/kg BW, N2 (STZ induction + gotu kola nanoparticles 180 mg/kg BW, and N3 (induction of gotu kola). STZ + gotu kola nanoparticles 240 mg/kg BW. The measurement data of SOD and MDA were then tested by ANOVA. Based on the results of statistical analysis showed that gotu kola nanoparticle therapy had an effect on increasing the SOD value and decreasing the MDA value in the cerebrum of mice. The dose that showed the highest SOD levels and the lowest MDA levels was in the N3 treatment (STZ induction + gotu kola nanoparticles 240 mg/kg BW).

Keywords: nanoparticles, diabetes, gotu kola, cerebrum.

تأثير جزيئات *Gotu Kola* النانوية على مستويات SOD و MDA في الفئران التي يسببها الستربتوزوتوسين

محمد مصدقي. بيبة المخترمة. مجاهدين احمد

قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تأثير جزيئات *gotu kola* النانوية على مستويات SOD (Superoxide Dismutase) (MDA (Malondialdehyde-Dismutase) في مخ الفئران المصابة بداء السكري (Mus musculus). هذه الدراسة عبارة عن دراسة تجريبية معملية باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) مع 5 علاجات و 4 مكررات حيث قام الباحثون بإعطاء ستربتوزوتوسين وجوتو كولا علاج الجسيمات النانوية لفئران التجارب (Mus musculus) في المختبر. تم تقسيم هذه الدراسة إلى 5 معالجات ، وهي: التحكم السلبي بدون تحريض STZ ، التحكم الإيجابي مع تحريض STZ ، N1 (تحريض STZ + جسيمات نانوية غوتو كولا 120 مجم / كجم من وزن الجسم ، N2 (تحريض STZ + جوتو كولا النانوية 180 مجم / كجم من وزن الجسم ، و N3 (تحريض غوتو كولا) STZ + *gotu kola nanoparticles* mg / kg BW 240 ثم تم اختبار بيانات قياس SOD و MDA بواسطة ANOVA. بناءً على نتائج التحليل الإحصائي أظهر أن العلاج بالجسيمات النانوية *gotu kola* كان له تأثير على زيادة قيمة SOD وتقليل قيمة MDA في مخ الفئران. كانت الجرعة التي أظهرت أعلى مستويات SOD وأدنى مستويات MDA في علاج N3 (تحريض STZ + جسيمات نانوية غوتو كولا 240 مجم / كجم من وزن الجسم).

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية ، السكري ، غوتو كولا ، المخ

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nekrosis merupakan suatu keadaan sel mengalami kematian akibat adanya trauma atau kerusakan sel akut seperti cedera mekanis, kekurangan oksigen, dan perubahan suhu yang ekstrem. Kematian sel yang terjadi secara tidak terkontrol menyebabkan rusaknya sel, respon peradangan, dan berpotensi menyebabkan masalah kesehatan yang serius. Kumpulan sel yang mengalami kematian ditandai dengan adanya enzim-enzim lisis yang melarutkan berbagai unsur sel dan diikuti dengan adanya peradangan. Leukosit dalam sistem imun akan membantu mencerna sel-sel yang mati dan diikuti perubahan secara morfologis (Kumar; Cotran&Robbin, 2008).

Nekrosis neuron otak menyebabkan kehilangan daya ingat, kemunduran daya pikir, rasionalitas atau demensia. Beberapa bentuk demensia yang paling umum diantaranya demensia vaskuler dan penyakit Alzheimer. Ini adalah penyakit menurunnya kemampuan otak secara berangsur-angsur. Dengan mengecilnya atau menghilangnya sel-sel otak, bahan-bahan abnormal bertumpuk membentuk kekusutan di tengah sel otak dan sebagian lapisan di luar otak. Sel-sel abnormal itu mengganggu jalannya pesan-pesan di dalam otak dan merusak hubungan antar sel otak. Sel otak pada akhirnya mati dan ini berarti informasi tidak dapat diterima atau dicerna sehingga fungsi-fungsi atau kemampuan otak menghilang (Ide, 2008).

Diabetes mellitus merupakan sindrom yang ditandai hiperglikemia kronis dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan berkurangnya sekresi insulin oleh sel-sel beta pulau Langerhans atau karena kerusakan jaringan akibat stress oksidatif, yang timbul bila kecepatan pembentukan radikal bebas melebihi kapasitas sel untuk menetralkannya (Gustaviani, 2006). Pada kondisi hiperglikemia glukosa dapat mengalami autooksidasi dengan menghasilkan sejumlah *Spesies Oksigen Reaktif* (ROS). Jumlah ROS yang berlebihan ini menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA) dan dapat menurunkan kapasitas enzim

antioksidan intraselular *Superoksida dismutase (SOD)*, *Glutation peroksidase (GSH-Px)*, dan katalase.

Komplikasi kronik diabetes mellitus, khususnya kerusakan mikrovaskular terjadi dalam kurun waktu 10-15 tahun. Untuk itu dilakukan konversi usia manusia ke usia tikus, dimana 10 tahun kurun waktu pada manusia sama dengan 1 bulan (4 minggu) kurun waktu tikus. Diperkirakan dalam kurun waktu 4 minggu sudah terjadi kerusakan mikrovaskular yang menyebabkan terjadinya nekrosis akut pada neuron otak yang ditandai dengan terjadinya oedema intraseluler (Djari, 2008).

Sebagaimana diketahui bahwa di dalam tubuh manusia dapat terbentuk radikal bebas. Radikal bebas berupa atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Winarsih, 2007). Radikal bebas dapat menarik elektron yang ada di dalam tubuh dan menyebabkan ketidakstabilan sehingga sulit untuk dideteksi. Adanya radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan terjadinya gangguan kesehatan dan dapat menimbulkan beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, hipertensi, dan kanker (Silalahi, 2006). Dalam keadaan normal suatu radikal bebas dapat dinetralsir dengan menggunakan zat antioksidan. Senyawa antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi molekul yang stabil dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan radikal bebas (Tandon *et al.* 2005).

Antioksidan merupakan senyawa atau zat dalam kadar rendah mampu memperlambat atau menghambat stres oksidatif pada molekul target sehingga dapat melawan atau menetralsir radikal bebas. Antioksidan enzim antara lain superoksida dismutase (SOD), glutation peroksidase (GSH-Px), dan katalase. Sedangkan antioksidan nonenzimatik (ekstraseluler) diantaranya adalah vitamin E, vitamin C, beta-karoten, glutation, ceruloplasmin, albumin, asam urat dan selenium (Priyanto, 2007).

Tubuh dapat memproduksi senyawa antioksidan sendiri, yang disebut antioksidan endogen, tetapi bila jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebih, maka antioksidan endogen tidak akan mampu mengendalikan jumlah radikal bebas sehingga terjadi keadaan stres oksidatif. Oleh karena itu, tubuh memerlukan

antioksidan dalam jumlah yang lebih besar. Hal ini dapat dilakukan dengan memberi asupan antioksidan dari luar tubuh yang disebut antioksidan eksogen, baik dari sumber alami maupun sintetik untuk membantu dalam proses pengendalian radikal bebas dalam tubuh. Pengendalian radikal bebas dalam tubuh pun dapat dibantu dengan mengkonsumsi makanan yang dapat meningkatkan produksi antioksidan endogen berupa sayur-sayuran dan buah-buahan (Park *et al.* 2002).

Nanopartikel adalah partikel koloid padat yang memiliki ukuran kisaran 10 nm hingga < 1000 nm (Rizvi & Saleh, 2018). Sistem nanopartikel terbagi menjadi *nanoristal* dan *nanocarrier*. *Nanocarrier* adalah suatu sistem pembawa berukuran nanometer yang memiliki bermacam-macam jenis diantaranya liposom, nanotube, dendrimer, misel, dan polimerik (Ting *et a.*, 2014). Ragam Jenis nanopartikel memiliki kelebihan dan kelemahan yang berbeda. Nanopartikel polimer seperti kitosan memiliki karakteristik dalam meningkatkan kelarutan obat, lebih stabil, *biodegradable*, pelepasan obat lebih terkontrol, dan mengurangi toksisitas (Wang *et al*, 2011). Sedangkan nanopartikel liposom memiliki jangka simpan yang pendek, proses enkapsulasi yang rendah, stabilitas yang buruk, proses gelasi yang tidak terprediksi, tingkat perlekatan solid lipid yang rendah (Liu *et al*, 2015).

Teknologi nanopartikel mampu mengatasi ketidakstabilan senyawa obat dan kelarutannya yang rendah di dalam air dengan penerapan yang luas, di antaranya untuk pemberian rute oral, parental, pulmonary, ocular, transdermal dan penghantaran spesifik ke sel target. Sistem penghantaran obat nanopartikel menjadi pilihan untuk meningkatkan kestabilan zat aktif terhadap degradasi kimia dan biologis, sehingga cocok untuk berbagai senyawa yang rentan terhidrolisis dan teroksidasi. Selain itu bentuk nanopartikel bisa menghantarkan zat aktif seperti antikanker ke sel target spesifik kemudian dapat meningkatkan keamanan dan efisiensi obat (Lucida, 2015).

Metode gelasi ionik umum digunakan karena prosesnya yang sederhana, tidak menggunakan pelarut organik dan mudah dikontrol. Prinsip metode ini yaitu membentuk partikel berstruktur jaringan inter- dan/atau intramolekul tiga dimensi melalui interaksi ionik antara polikation gugus amino dari kitosan dengan

polianion (Agnihotri, 2004). Pengikat sambung silang polianion yang sering digunakan adalah sodium tripolipospat, karena memiliki multivalen dan bersifat nontoksik. Dalam metode gelasi ionik, proses ikatan sambung silang dapat mencegah terjadinya kerusakan bahan aktif yang akan disalut oleh nanopartikel kitosan (Fan, 2012). Berikut gambar struktur kimia kitosan.

Kitosan merupakan polimer dari bahan alami yang tersusun atas β -(1-4)-*linked D-glucosamine* dan *N-acetyl-D-glucosamine* dengan distribusi acak. Kitosan berbentuk polisakarida linier yang diproduksi dari cangkang hewan *crustaceae* seperti udang dan rajungan melalui proses deasetilasi senyawa kitin (Sonia, 2011). Kitosan banyak digunakan pada industri kimia, pangan dan farmasi karena memiliki sifat yang *biodegradable*, mukoadhesif, biokompatibel, nontoksik dan tingkat imunogenisitas rendah. Sifat-sifat tersebut menjadikan kitosan sangat berpotensi baik untuk digunakan dalam sistem penghantaran obat sebagai *carrier* (Liu, 2006).

Tanaman obat dari bahan alami yang mengandung bahan aktif antioksidan dapat digunakan sebagai obat alternatif. Penggunaan tanaman obat dari bahan alami memiliki beberapa keunggulan diantaranya lebih murah, efek samping lebih rendah dan aman dikonsumsi dalam waktu lama. Indonesiamemiliki biodiversitas tinggi sehingga memiliki kelimpahan bahan alami yang begitu banyak (sinaga, 2011). Allah SWT berfirman dalam Al-Quran surah Asy-Syu'araa ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakan banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?" (QS:As-Syu'araa [26]: 7).

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik. Muhammad, dkk. (2011) menafsirkan ayat tersebut bahwasanya Allah SWT mengajak mereka (manusia) untuk belajar dari alam secara menyeluruh dan mendalam. Keanekaragaman yang Allah tumbuhkan beraneka ragam diantaranya berbagai macam pasang tumbuh-tumbuhan yang baik. Lafadz من كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (berbagai macam pasangan tumbuh-tumbuhan yang baik) dimaksudkan sebagai tumbuhan yang membawa banyak kemanfaatan

bagi manusia.. Shihab (2002) menyatakan bahwa kata *كريم* bermakna sesuatu yang baik dari objek yang disifati, dalam ayat ini objek yang dimaksud adalah tumbuhan.

Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki manfaat bagi makhluk hidup, pernyataan tersebut menegaskan bahwa tumbuhan yang baik yang memiliki manfaat, salah satunya tumbuhan pegagan. Wijayakusuma (2008) menyatakan bahwa tumbuhan obat merupakan tumbuhan yang seluruh atau salah satu bagiannya memiliki senyawa aktif yang bermanfaat untuk kesehatan dan mampu menyembuhkan penyakit.

Tumbuhan selain dimanfaatkan sebagai obat, dapat juga dimanfaatkan untuk kepentingan lainnya seperti sandang, pangan, dan papan. Berbagai manfaat yang ada pada suatu tumbuhan tersebut merupakan ungkapan secara tidak langsung kepada manusia atas rahmat Allah SWT yang maha kuasa lagi maha penyayang bagi hamba yang mau berpikir dan memperhatikan. Shihab (2002) menyatakan bahwa kata *يروا* (memperhatikan) dimaknai dengan "*Apabila mereka yang merenungi dan mengamati, niscaya mereka akan mendapatkan petunjuk*". karenanya sepatutnya kita sebagai hamba harus lebih mempelajari dan memahami apa yang ada di alam ini sebagai rasa syukur atas karunia yang telah diberikan. salah satunya dengan menelaah tumbuhan obat yakni tumbuhan pegagan.

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan masyarakat Indonesia yang telah terbukti banyak mengandung antioksidan. Sejak zaman dulu, pegagan telah dipergunakan sebagai obat kulit, berkhasiat untuk memperbaiki gangguan syaraf dan peredaran darah akibat radikal bebas yang berlebihan. Senyawa aktif yang terkandung dalam pegagan berupa triterpenoid saponin (*asiaticoside*) yang dapat merevitalisasi pembuluh darah sehingga peredaran darah ke otak menjadi lancar. Efek farmakologi pegagan sebagai suplemen otak diketahui berasal dari kandungan senyawa triterpenoid khususnya asiatic acid dan asiaticoside (Lee, *et al.*, 2000).

Tanaman pegagan telah terbukti berkhasiat sebagai obat melalui beberapa penelitian terdahulu. Pegagan dikenal sebagai obat yang memiliki berbagai macam efek pada sistem saraf pusat seperti stimulasi saraf, peningkatan memori serta intelegensi, penenang dan sedasi, karenanya pegagan dapat diberikan sebagai

obat untuk penderita insomnia, maupun penderita kelainan mental (Amalia dan Sulastry 2009). Pegagan bekerja baik untuk meningkatkan kemampuan kognitif dan kadar neurotransmitter monoamine pada hipokampus tikus (Annisa, 2006), meningkatkan β amyloid dalam hipokampus pada hewan coba dengan

Penggunaan pegagan didasarkan pada penelitian terdahulu yaitu oleh Kumar dan Gupta (2007), pegagan memiliki khasiat untuk meningkatkan fungsi kognitif. Memiliki aktivitas untuk menstimulasi pertumbuhan dendrit dari sel-sel saraf serta dapat meningkatkan kerja dendrit neuron saat stress, degenerasi sel-sel neuron dan akibat gangguan ingatan (Mohandas, *et al.*, 2005). Dasar perlakuan pada penelitian ini terdiri dari 5 kelompok, yaitu kontrol normal (K-), kontrol positif (K+), dan tiga kelompok perlakuan.

Streptozotosin merupakan agen antineoplastik alkilasi alami yang memiliki sifat sitotoksik bagi sel β pankreas penghasil insulin dan dapat diperoleh dari *Streptomyces achromogenes*. Berdasarkan efeknya streptozotosin sering digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 maupun tipe 2 (Goodman dan Gilman, 2008). Jika dosis tunggal 200 mg / kg BB streptozotocin dapat menyebabkan diabetes tipe 1, induksi STZ dapat secara intraperitoneal atau intravena, dan jika diberikan dengan dosis 40 mg / kgBB selama 40 hari berturut-turut, dapat menyebabkan diabetes tipe 2 (Etuk EU, 2010). Injeksi STZ secara intraperitoneal bekerja sebagai diabetogenik yang akan masuk ke sel β pankreas melalui glucose transporter (GLUT-2). Injeksi STZ menyebabkan alkilasi DNA yang membuat DNA menjadi rusak, kerusakan tersebut memicu peningkatan radikal superoksida aktif dalam mitokondria sel β pankreas. Peningkatan radikal superoksida aktif secara terus menerus akan memicu proses nekrosis pada sel β pankreas yang menyebabkan terhambatnya sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001).

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti bermaksud untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan terhadap kadar SOD dan MDA pada mencit yang diinduksi streptozotosin. Mencit diaklimatisasi hingga kondisi stabil dan penelitian dilakukan selama kurang lebih 4 minggu. Oleh karena itu, peneliti melakukan penelitian yang berjudul “pengaruh nanopartikel pegagan terhadap kadar SOD dan MDA pada mencit yang diinduksi streptozotosin”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Apakah ada pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalur kitosan terhadap kadar SOD pada cerebrum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*?
2. Apakah ada pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalur kitosan terhadap kadar MDA pada cerebrum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersulut kitosan terhadap kadar antioksidan kadar SOD pada cerebrum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersulut kitosan terhadap kadar antioksidan kadar MDA pada cerebrum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi *streptozotocin*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi kepada peneliti, pembaca dan mahasiswa mengenai pengembangan pembuatan obat menggunakan teknologi nanopartikel.
2. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) sebagai obat penurun radikal bebas (antioksidan) yang disebabkan oleh komplikasi diabetes melitus.
3. Meningkatkan kualitas pegagan (*Centella asiatica*) dalam segi ekonomi sebagai obat antioksidan alami yang bernilai jual.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) berjenis kelamin jantan yang berumur 8-12 minggu dengan berat badan 20-30 gram.
2. Dosis yang digunakan untuk *streptozotocin* menggunakan *repeated low doses* sebanyak 40 mg/kg BB selama 5 hari.
3. Pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) tersalut kitosan yang digunakan adalah 120 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 240 mg/kg BB selama 28 hari.
4. Parameter berupa kadar SOD dan MDA pada cerebrum otak mencit.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pegagan (*Centella asiatica*)

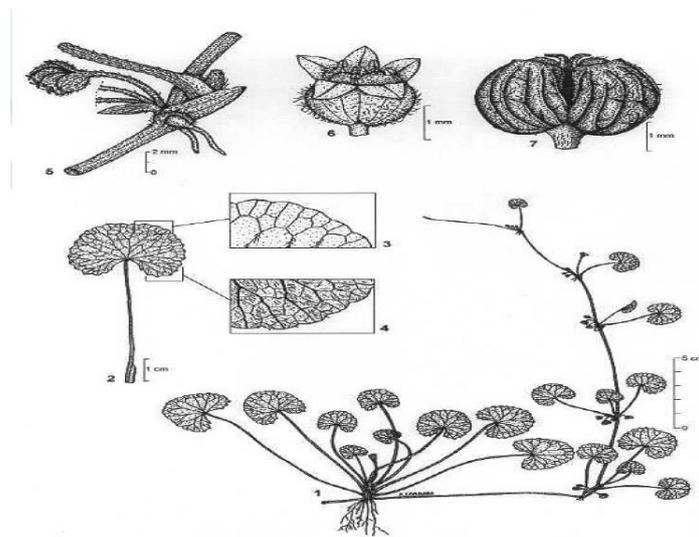
2.1.1 Deskripsi Tanaman

Pegagan (*Centella asiatica*) tumbuh pada daerah-daerah beriklim tropis dan termasuk dalam tanaman herba tahunan yang dapat tumbuh pada datara rendah hingga ketinggian 2.500m diatas permukaan laut. Pegagan dapat tumbuh di daerah lembab atau subur, baik pada daerah terbuka atau tertutup seperti padang rumput, tepi parit diantara batu-batu dan ditepi jalan (BPOM, 2010). Menurut Kumar dan Gupta (2003) Pegagan memiliki 33 spesies dari genus *Centella* yang mana tersebar didaerah tropis dan sub tropis. *Centella asiatica* memiliki 2 jenis spesies yakni pegagan hijau dan pegagan merah, perbedaan dari keduanya terletak pada warna stolon dan tangkai daunnya.

Pegagan merah memiliki ciri warna hijau kemerahan pada stolon dan tangkai daunnya, sedangkan pegagan hijau pada stolon dan tangkai daunnya hanya berwarna hijau (Lasmadiwati,2004). Zat aktif flavonoid pada pegagan merah menyebabkan warna hijau kemerahan pada stolon dan tangkai daunnya. Jayanti (2007) menyatakan bahwa flavonoid pada tumbuhan tingkat tinggi terikat pada molekul gula sebagai glukosida, fungsi flavonoid sendiri salah satunya sebagai pigmen. Flavonoid termasuk dalam kelompok fenol yangmana berperan dalam pemberian warna ungu, merah, dan sebagian warna kuning dalam tumbuhan.

Pegagan termasuk herba menahun, menjalar dan tidak berbatang. Tanaman ini termasuk dalam roset akar, perakaran rimpang pendek dan merayap panjang. Daun tunggal dengan kisaran 2-10 helai, berbentuk ginjal, lebar, tepi daun begerigi, pangkal melekuk ke dalam dan memiliki pelepah. Bunga tumbuh pada ketiak daun, berbentuk payung, berhadapan dengan daun tunggal, bertangkai yang semula tegak kemudian berangsur membengkok kebawah, memiliki 2-3 daun pembalut, daun mahkota berwarna merah dengan pangkal pucat. Buahnya pipih, berlekuk 2 tidak dalam, warna merah muda kekuningan, berusuk. Akar rimpang pendek dan merayap panjang. Tumbuh di tepi sungai, pinggir sawaah, pematang,

dan lahan lain yang dekat air. Mudah tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 2.500 dpl (Mulyani, 2006).



Gambar 2.1. Skema tumbuhan pegagan. 1) Herba pegagan dengan susunan daun dalam roset akar, Tangkai daun dengan pangkal menyerupai pelepah, 3) dan 4) Susunan tulang daun, 5) Stolon dengan tunas, bunga dan akar yang tumbuh pada buku, 6) Bunga dan 7) Buah (Sasmito, 2017).

2.1.2 Klasifikasi

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan, klasifikasi tanaman pegagan (*Centella asiatica*) adalah sebagai berikut (Sasmito, 2017):

Kingdom : Plantae
 Devisi : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Ordo : Apiales
 Family : Apiaceae
 Genus : *Centella*
 Species : *Centella asiatica* (L.) Urban.

2.1.3 Kandungan dan Manfaat

Pegagan mengandung banyak senyawa aktif yang bermanfaat bagi manusia seperti menurunkan tekanan darah, mencegah munculnya koloid pada luka, menjaga dan meningkatkan daya ingat. Senyawa aktif pegagan diantaranya

adalah triterpenoid saponin dengan unsur utamanya tersusun atas asiatikosida, genin triterpen, flavonoid, madekassosida, minyak esensial, fitosterol dan gula (Sihombing., 2015). Senyawa aktif vallerin, glikosida triterpen, dan alkaloid juga terkandung dalam pegagan (Khusnawati., 2015). Sutardi (2016) menambahkan bahwa pegagan mengandung asam madaisatik, santelosida, asam brahmik, hidrokotilin, meso-inositol, tanin, vellarin, senyawa samak, senyawa pahit vellarine, dan garam mineral seperti magnesium, fosfor, besi, kalium, pektin (17,25%), kalium, minyak atsiri (1%), natrium, asam amino, dan vitamin B.

Pegagan mengandung bahan kimia sebagai berikut: Madecassoside, Isokun glycosides, thankunside, Borneo acid, Bromethyside, Brahmoside, Madekaboside, Modawood acid, Mesomint Alcohol, gliserol, hydrotriptyline, karotenoid, garam anorganik (K, Na, Ca, Fe, Mg), asam tanat, pektin lendir, pektin, resin, fosfor, vitamin B, fosfor, sedikit minyak esensial dan vitamin C (Dalimartha, 2003; Winarto dan Maria, 2003; Wijayakusuma dan Dalimartha, 2006) dan zat vellarine yang memberikan rasa pahit (Gohil dkk, 2010).

Triterpenoid merupakan senyawa yang dapat meningkatkan fungsi mental dan efek menenangkan. Senyawa ini dapat merevitalisasi pembuluh darah, sehingga peredaran menuju otak menjadi lebih lancar. Asioktioksida adalah turunan senyawa triterpenoid yang dapat meningkatkan daya ingat untuk mengatasi pikun yang berkaitan dengan asam nukleat, meningkatkan perbaikan dan menguatkan sel kulit, meningkatkan vitalitas, antibiotik alami, dan menstimulasi sel darah dan sistem imun (Khusnawati., 2015). Selain asioktioksida menurut lachman (2009) brahmosida juga termasuk turunan triterpenoid yang memiliki fungsi dalam memperlancar aliran darah, dan merupakan protein penting bagi sel otak.

Pegagan selain mengandung asam volatil, asam lemak, alkaloid, glikosida dan flavonoid. Asam lemak tersusun atas gliserida yang berasal dari asam palmitat, asam stearat, asam lignin, asam oleat, asam linoleat dan asam linolenat. Alkaloid tersusun atas hidrokotilin ($C_{22}H_{33}NO_8$) telah diisolasi dari tanaman kering. Glikosida tersusun atas asiatikosida, madekossosida dan centellosida yang dapat diisolasi dari seluruh bagian tanaman. Selama proses hidrolisis, glikosida tersebut akan menghasilkan asam triterpen, asam asiatik, asam madegascariac dan asam

centellic. Flavanoid tersusun atas 3-glucosylquercetin, 3-glucosylkaemferol dan 7-glucosylkaemferol yang dapat diisolasi dari daun (Singh dkk, 2010). Senyawa bioaktif tanaman pegagan merupakan antioksidan yang berperan dalam meningkatkan sistem imun dan menjaga kerusakan sel-sel akibat adanya radikal bebas dalam tubuh (HeBBar., 2019).

Kandungan senyawa kimia yang terkandung di dalam suatu tanaman merupakan salah satu tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Hal ini sebagaimana dalam Al-Qur'an surah Al-Imran (3) ayat 190:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ

Artinya: “sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal” (QS: Al-Imran [3]: 190).

Kata “لَآيَاتٍ” maknanya adalah bukti yang jelas atas eksistensi Allah SWT dan kemahakuasaanNya. Sedangkan kata لِأُولِي الْأَلْبَابِ yaitu orang-orang yang berakal dan dengan akal tersebut mampu menangkap dan memahami tanda-tanda pada ciptaanNya (al-Jazairi, 2007). Ayat tersebut menjelaskan bahwa sesuatu yang ada di bumi seperti pepohonan, tumbuhan, hewan, dan lainnya merupakan tanda kekuasaan Allah SWT (Ibnu Kasir, 2000). Tanda-tanda tersebut hanya dapat ditangkap atau dipahami oleh orang-orang yang berakal, hal ini sebagai salah satu fungsi diciptakannya akal bagi manusia (Qurthubi, 2009).

Hal tersebut berkorelasi dengan manfaat yang terdapat pada suatu tumbuhan yaitu senyawa fitokimia. Apabila manusia tidak mau memperhatikan ataupun mencari tahu maka kebaikan yang terdapat pada tanaman tersebut akan menjadi sia-sia. Kebaikan Allah SWT menciptakan senyawa fitokimia yang dapat digunakan untuk berbagai kepentingan salah satunya sebagai pencegah penyakit. Dengan pemikiran dan pemahaman yang benar maka manusia dapat membuka pandangan dan menerima ayat – ayat Allah SWT pada alam semesta (Quthb, 2008).

2.1.4 Potensi Pegagan

Pegagan memiliki kandungan aantioksidan yang tinggi yang dapat menyebabkan neuropektif terhadap kerusakan oksidatif akibat adanya radikal bebas. Hal tersebut terjadi karena adanya kandungan fenolik pegagan yang tinggi sehingga proses oksidasi dalam tubuh akibat radikal bebas dapat dikurangi (Roy, 2013). Pegagan dapat menurunkan kadar glukosa darah karena adanya asam asiatic yang menyebabkan meningkatkan produksi fibrosis islet pada pankreas (Prakash, 2017). Kandungan pegagan juga dapat memperkuat mukosa lambung sehingga menghambat lesi pada lambung, serta mengurangi oksidasi akibat adanya radikal bebas (Gohil, 2010).

Bahan-bahan aktif lainnya dapat digunakan sebagai suplemen, anti infeksi, anti toksik, antirematik, pencahar kencing, pembersih darah, meningkatkan ekskresi empedu,, antipiretik, hemostasis, mempercepat penyembuhan luka, obat penenang (sedatif) dan vasodilator perifer. Khasiat sedatif melalui mekanisme koligernik pada susunan saraf pusat (Wijayakusuma, 2006). Gayathri dkk (2011) menyatakan bahwa ekstrak alkohol pegagan dapat digunakan sebagai anti hiperglikemik pada tikus diabetes.

2.2 Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1 Definisi

Hewan coba merupakan hewan yang berfungsi untuk memenuhi tujuan penelitian (Nisa,2017). Hewan coba sering digunakan dalam berbagai penelitian biomedik dan biologi seperti pengembangan obat-obatan, parasitologi, toksikologi, imunologi mikrobiologi dan vaksin (subriyah, 2017). Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan coba yang umum digunakan dalam penelitian; mudah dikembangbiakan dan dipelihara; secara garis besar fungsi, proses biokimia, dan bentuk mencit memiliki kesamaan dengan manusia (Zahrina, 2015).

Mencit merupakan hewan yang dihasilkan dari persilangan tikus putih “*outbreed*” dan “*inbreed*” (Nusa, 2016). Hewan pengerat (rodentia) yang masuk dalam kelas mamalia (Akbar, 2010). Umum digunakan sebagai hewan coba penelitian, jinak, harga ekonomis, dan tahan terhadap penyakit (Jayani,2011).

Penciptaan hewan coba dan pemanfaatannya sebagai hewan percobaan merupakan salah satu nikmat dari Allah SWT kepada makhluknya. Hal ini sebagai mana dalam Alqur'an surah Luqman ayat 20:

أَلَمْ تَرَوْا أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعْمَهُ ظَاهِرَةً وَبَاطِنَةً وَمِنَ النَّاسِ مَن يُجَادِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ وَلَا هُدًى وَلَا كِتَابٍ مُّبِينٍ

Artinya: "Tidaklah kamu Perhatikan sesungguhnya Allah telah Menundukkan untuk (kepentingan)mu. Apa yang di langit dan apa yang di bumi dan menyempurnakan untukmu nikmatnya lahir dan batin. Dan diantara manusia ada yang membantah tentang (keesaan) Allah tanpa ilmu pengetahuan atau petunjuk dan tanpa kitab yang memberi penerangan" (QS: Luqman [31]: 20).

Kata "سَخَّرَ" artinya adalah "menundukkan" (Qurthubi, 2009), bahwa Allah SWT telah menundukkan sesuatu yang ada di bumi untuk kepentingan manusia. Salah satunya yaitu dengan ditundukkannya mencit, hewan yang tergolong liar namun atas izin Allah SWT dapat dikendalikan oleh manusia untuk berbagai kepentingan salah satunya untuk penelitian. Ditundukkannya mencit dapat menghasilkan sebuah pengetahuan seperti kata "ظُهُرَةً", berarti kenikmatan dunia atau "ظُهُرَةً" apa yang dilihat mata dan kata "وَبَاطِنَةً" adalah apa yang didapatkan manusia untuk dirinya (Qurthubi, 2009). Pengetahuan yang didapat tersebut dapat bermanfaat untuk manusia.

2.2.2 Ciri

Mencit (*Mus musculus*) memiliki ciri sebagai berikut: memiliki tubuh kecil, berwarna putih, siklus estrus teratur (Akbar, 2010). Pemeliharaan mencit harus terjaga kondisi ruangnya seperti kondisi ruang yang kering, senantiasa bersih, kelembaman udara perlu terjaga antara 30-70% serta suhu ruang kisaran 18-19⁰C, dan jauh dari kebisingan (Subriyah, 2017).

2.2.3 Klasifikasi

Klasifikasi mencit berdasarkan taksonomi menurut Brotowidjoyo (2010), yaitu :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muriidae
Genus : Mus
Spesies : Mus musculus

2.3 Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel koloid padat yang memiliki ukuran kisaran 10 nm hingga < 1000 nm (Rizvi & Saleh, 2018). Sistem nanopartikel terbagi menjadi *nanoristal* dan *nanocarrier*. *Nanocarrier* adalah suatu sistem pembawa berukuran nanometer yang memiliki bermacam-macam jenis diantaranya liposom, nanotube, dendrimer, misel, dan polimerik yang dikelompokkan sebagai berikut (Ting *et al.*, 2014):

1. *Nanocarrier* berbasis polimer, seperti: nanopartikel kitosan, dendrimer.
2. *Nanocarrier* berbahan dasar lemak, seperti: mikro/nanoemulsi, *solid lipid nanoparticle (SLN)*.
3. *Nanocarrier* berbahan dasar fosfolipid, seperti: liposom, etosom, transfersom, fitosom.
4. *Nanocarrier* berbasis surfaktan, seperti: misel.

Ragam Jenis nanopartikel memiliki kelebihan dan kelemahan yang berbeda. Nanopartikel polimer seperti kitosan memiliki karakteristik dalam meningkatkan kelarutan obat, lebih setabil, *biodegradable*, pelepasan obat lebih terkontrol, dan mengurangi toksisitas (Wang *et al*, 2011). Sedangkan nanopartikel liposom memiliki jangka simpan yang pendek, proses enkapsulasi yang rendah, stabilitas yang buruk, proses gelasi yang tidak terprediksi, tingkat perlekatan solid lipid yang rendah (Liu *et al*, 2015).

Penyesuaian polimer dan sifat obat berpengaruh dalam pemilihan metode pembuatan nanopartikel. Pembagian pembuatan nanopartikel terbagi menjadi dua, yaitu proses *top-down* dan *bottom-up*. Proses *top-down* berfokus dalam pengecilan ukuran partikel dengan menggunakan teknik penggilingan yang beragam. Namun

kebutuhan energi yang tinggi dalam prosesnya menyebabkan banyak energi panas yang dihasilkan. Dampak panas yang tinggi menyebabkan bahan yang bersifat termolabil menjadi sulit diolah, sehingga dianggap tidak efisien. Sedangkan proses *bottom-up* berfokus dalam pengecilan partikel menjadi nano dengan pembentukan struktur per-atom atau per-molekul. Tahapan tersebut dengan pelarutan bahan obat menggunakan pelrut organik kemudian proses pengendapan pada penambahan *antisolvent* dan *stabilizer* (Delie, 2005; Patravale, 2004).

Pembuatan nanopartikel perlu memilih metode yang sesuai dengan polimer dan sifat obat. Secara luas klasifikasi pembuatan nanopartikel dibagi menjadi dua, yaitu proses *top-down* dan *bottom-up*. Proses *top-down* berupa pengecilan ukuran partikel menggunakan teknik penggilingan yang beragam. Namun proses tersebut membutuhkan energi yang tinggi dan menyebabkan banyak energi panas yang dihasilkan. Akibatnya bahan yang bersifat termolabil menjadi sulit diolah, sehingga proses ini dianggap tidak efisien. Proses *bottom-up* terdiri atas pengecilan ukuran partikel menjadi nano dengan pembentukan struktur per-atom atau per-molekul. Tahapannya dengan pelarutan bahan obat menggunakan pelarut organik kemudian diendapkan pada penambahan *antisolvent* dan *stabilizer* (Delie, 2005; Patravale, 2004).

Membahas mengenai ukuran partikel sesungguhnya Allah SWT telah berfirman dalam Surat Az-Zalzalah ayat 7 sebagai berikut:

لَهَا يَوْمَئِذٍ مِثْقَالُ ذَرَّةٍ خَيْرًا يَرَهُ

Artinya: “Barangsiapa yang mengerjakan kebaikan seberat dzarrahpun, niscaya dia akan melihat (balasannya).” (Q.S. Az-Zalzalah [99] 7).

Ayat di atas menurut studi literatur dari Rokhmah (2018) menjelaskan bahwa Allah SWT memberikan motivasi (*targib*) dan peringatan (*tarhib*) agar manusia berperilaku baik, sehingga menjadi stimulus bagi hamba-Nya agar selalu mengamalkan perbuatan baik sekecil apapun dan tidak menyepelkan perbuatan buruk sekecil apapun. Setiap perbuatan yang baik maupun buruk akan mendapat balasan yang setimpal. Sebagaimana Allah SWT menyebut kalimat مِثْقَالِ ذَرَّةٍ secara bergandengan baik dalam ayat 7 Az-Zalzalah, ayat 8 dan An-Nisa’ ayat مِثْقَالِ 40 dapat diartikan sebagai timbangan atau alat pengukur berat dan ذَرَّةٍ berarti semut

kecil yang masih di tahap awal pertumbuhan. Sehingga arti kalimat tersebut jika dihubungkan maka merupakan perumpamaan untuk sesuatu yang sangat kecil.

Ibnu Al-Jauziyyah (2002) mengumpulkan beberapa penafsiran ulama' mengenai makna implisit ذَرَّةٌ di antaranya yaitu kepala semut merah (riwayat Ibnu ABBas ra), butiran tanah (riwayat Yazid bin Al-A'sham dari Ibnu ABBas), biji khardalah atau tanaman mustard (menurut At-Tsa'labi) dan titik debu yang nampak di udara yang terlihat ketika ada celah dinding terkena sinar matahari (menurut At-Tsa'labi). Ibnu Al-Jauziyyah menyimpulkan bahwa penyebutan dzarrah merupakan ungkapan yang diberikan agar mudah ditangkap oleh logika manusia, dan bukan untuk menjelaskan jenis benda. Melainkan untuk menggambarkan sesuatu yang sangat dan paling kecil yang mampu dipahami ketika zaman ayat ini turun. Nanopartikel memang bukan ukuran terkecil di era sekarang, namun secara implisit nanopartikel termasuk dalam kategori ukuran terkecil yang sedang dikembangkan dan banyak diteliti terutama di bidang pengobatan.

Teknologi nanopartikel mampu mengatasi ketidakstabilan senyawa obat dan kelarutannya yang rendah di dalam air dengan penerapan yang luas, di antaranya untuk pemberian rute oral, parental, pulmonary, ocular, transdermal dan penghantaran spesifik ke sel target. Sistem penghantaran obat nanopartikel menjadi pilihan untuk meningkatkan kestabilan zat aktif terhadap degradasi kimia dan biologis, sehingga cocok untuk berbagai senyawa yang rentan terhidrolisis dan teroksidasi. Selain itu bentuk nanopartikel bisa menghantarkan zat aktif seperti antikanker ke sel target spesifik kemudian dapat meningkatkan keamanan dan efisiensi obat (Lucida, 2015).

Pembuatan sediaan nanopartikel cenderung terjadi agregasi, agglomerasi dan ketidakstabilan fisika lainnya. Ukuran partikel yang diperkecil melalui proses *nanomilling* maupun *high pressure homogenizer* memerlukan jenis teknik yang optimal, komposisi bahan penstabil (seperti *surfaktan* dan *kosurfaktan*) serta lama proses yang tepat (Lucida, 2015). Beberapa teknologi dapat dikombinasikan untuk mengatasi kelemahan yang dimiliki berbagai jenis nanopartikel (Hu & Kwon, 2011).

Nanopartikel *crosslink* termasuk dalam sistem *nanocarrier* yang terbentuk dari proses ikatan sambung silang antara elektrolit dengan pasangan ionnya (Vauthier, 2003). Manfaat dari pembentukan ikatan sambung silang yaitu dapat memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk (Park & Yeo, 2007). Sistem *nanocarrier* ini dibutuhkan pada proses enkapsulasi bahan alam untuk mencapai target pengobatan (Rachmawati, 2007). Proses pembuatan nanopartikel *crosslink* biasanya menggunakan metode gelas ionik, karena pasangan ion yang digunakan sesuai untuk protein. Hal tersebut dapat menghindari pengadukan yang berlebihan dan panas tinggi (Vauthier, 2003).

Metode gelas ionik umum digunakan karena prosesnya yang sederhana, tidak menggunakan pelarut organik dan mudah dikontrol. Prinsip metode ini yaitu membentuk partikel berstruktur jaringan inter- dan/atau intramolekul tiga dimensi melalui interaksi ionik antara polikation gugus amino dari kitosan dengan polianion (Agnihotri, 2004). Pengikat sambung silang polianion yang sering digunakan adalah sodium tripolipospat, karena memiliki multivalen dan bersifat nontoksik. Dalam metode gelas ionik, proses ikatan sambung silang dapat mencegah terjadinya kerusakan bahan aktif yang akan disalut oleh nanopartikel kitosan (Fan, 2012). Berikut gambar struktur kimia kitosan.

Kitosan merupakan polimer dari bahan alami yang tersusun atas β -(1-4)-*linked D-glucosamine* dan *N-acetyl-D-glucosamine* dengan distribusi acak. Kitosan berbentuk polisakarida linier yang diproduksi dari cangkang hewan *crustaceae* seperti udang dan rajungan melalui proses deasetilasi senyawa kitin (Sonia, 2011). Kitosan banyak digunakan pada industri kimia, pangan dan farmasi karena memiliki sifat yang *biodegradable*, mukoadhesif, biokompatibel, nontoksik dan tingkat imunogenisitas rendah. Sifat-sifat tersebut menjadikan kitosan sangat berpotensi baik untuk digunakan dalam sistem penghantaran obat sebagai *carrier* (Liu, 2006). Penggunaan kitosan dalam sistem partikulat merupakan alternatif yang baik untuk menghindari kemungkinan toksisitas dari pereaksi elektrostatik dari ikatan silang secara kimia (Irianto, 2011). Allah SWT berfirman di dalam Al- Qur'an Surat Al-Jatsiyah ayat 13 berikut:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: “Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir.” (QS: Al-Jathiyah [45]: 13).

Ayat di atas dijelaskan dalam tafsir Al-Wajiz (Az-Zuhaili, 2002 M/1422 H) bahwa Allah SWT menciptakan (menundukkan) segala makhluk seperti awan, matahari, air hujan, dan lain-lain (apa yang ada di langit) maupun berbagai macam hewan, tumbuhan, sungai, dan sebagainya (apa yang ada di bumi) supaya dapat diambil manfaat serta pelajaran oleh manusia. Demikian sesungguhnya terdapat tanda dan bukti keesaan Allah SWT, namun hanya bisa diketahui oleh manusia yang memikirkannya. Kutipan makna ayat “apa yang di bumi” وَمَا فِي الْأَرْضِ secara implisit mencakup kitosan, yakni suatu polimer sakarida yang berasal dari cangkang hewan krustasea. Kitosan ternyata memiliki kandungan dan manfaat yang baik di bidang pengobatan. Selain itu, bentuk nanopartikel dianggap sebagai sistem penghantar obat yang menjanjikan untuk meningkatkan bioavailabilitas molekul bahan alam, karena mampu berdifusi dan melakukan penetrasi dengan lebih baik ke dalam lapisan mukus (Takeuchi, 2001).

Husein, dkk., (2011) menafsirkan ayat 13 pada Surat Al-Jatsiyah berdasarkan Tafsir Tahlili yaitu sebagaimana seseorang bila mau memperhatikan alam semesta dan hubungan satu jenis makhluk dengan makhluk lainnya, maka dapat mengetahui bahwa masing-masing kesatuan yang berkaitan memiliki proses yang tidak berdiri sendiri. Seperti proses terjadinya hujan (apa yang ada di langit) berhubungan dengan air laut (apa yang ada di bumi), kapal berlayar di laut memerlukan hembusan angin atau bahan bakar seperti minyak atau batu bara. Keseluruhan dapat terjadi atas Kuasa Allah, sehingga manusia akan dapat menggunakan dan merasakan kelimpahan nikmat Allah dengan berusaha mencari tahu lebih mendalam dan mempelajarinya. Misalnya mengenai fungsi kitosan, ternyata dapat digunakan sebagai penyalut dan penghantar obat dalam sistem nanopartikel (Lee, 2006).

Cara memformulasi nanopartikel yaitu dengan melarutkan kitosan dengan asam asetat, kemudian ditambahkan ekstrak (curcumin) sambil dihomogenkan. Dituang tween 80 pada larutan kitosan-ekstrak kemudian diaduk selama 10 menit. Proses *cross linking* dimulai sejak penambahan *sodium tripolipospat* dan diaduk menggunakan *magnetic stirer* pada suhu ruang untuk proses pengecilan ukuran. Selanjutnya disentrifugasi dan dibekukan untuk melakukan proses pembentukan serbuk (Jahromi, 2014; Suryani, 2014). Akibat kompleksasi antara muatan yang berbeda, kitosan mengalami presipitasi membentuk partikel bulat seperti bola (Irianto, 2011).

Kemampuan pelepasan obat dari nanopartikel berbasis kitosan dipengaruhi oleh kekuatan struktur hasil *crosslinking*, ukuran dan densitas partikel, sifat fisikokimia bahan obat. Sedangkan pelepasan obat secara *in vitro* dipengaruhi oleh pH, polaritas dan kemampuan disolusi bahan obat (Irianto, 2011).

Kekurangan pembentukan nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik adalah secara umum memiliki distribusi ukuran partikel yang luas (artinya indeks polidispersitas tinggi/ukuran tidak seragam) dan tingkat stabilitas rendah, di mana hal tersebut tidak dianjurkan dalam aplikasi nanopartikel kitosan untuk sistem penghantaran obat. Tingginya konsentrasi kitosan dalam reaksi elektrostatis dengan TPP menyebabkan banyaknya partikel padat yang terbentuk, sehingga bergerombol membentuk agregat dan menjadi berukuran mikro. Hal ini ditandai dengan terlihat adanya kabut suspensi pada suatu larutan reaksi, sehingga konsentrasi kitosan harus di bawah 0,3% (Mardliyati, 2012).

Hasil penelitian Mardliyati (2012) dalam pembentukan nanopartikel kitosan menggunakan metode gelasi ionik menunjukkan bahwa konsentrasi terbaik kitosan yaitu 0,2 % dan TPP sebesar 0,1% dengan rasio volume kitosan-TPP 5:1. Nanopartikel kitosan yang terbentuk mampu mencapai ukuran kurang dari 100 nm, cukup seragam dan relatif stabil. Sedangkan dalam pembuatan nanopartikel, pelarutan kitosan menggunakan asam asetat karena kitosan bersifat tidak larut air dan hanya mampu terlarut dalam kondisi pH asam (Yudhasmita dan Nugroho, 2017). TPP selain berperan sebagai zat pengikat silang juga dapat memperkuat matriks nanopartikel kitosan sehingga lebih stabil dan sulit terpecah. Sedangkan untuk mengatasi kekurangan dari nanopartikel kitosan digunakan

stabilizer berupa tween 80 yang mampu memproduksi partikel emulsi dalam larutan dan membentuk partikel kecil yang stabil. Kemudian alat *magnetic stirrer* membantu proses ikatan sambung silang dan menghasilkan keseragaman ukuran partikel (Hermanus, 2012; BPPT, 2010; Rachmania, 2011). Berikut gambar mekanisme metode gelasi ionik dalam pembuatan nanopartikel.

Ultrasonikasi dilakukan untuk memecah molekul polimer menjadi ukuran yang lebih kecil dengan menggunakan gelombang ultrasonik (Sidqi, 2011). Generator listrik sonikator memanfaatkan gelombang ultrasonik (20 KHz-10 MHz) dengan membuat sinyal listrik yang diubah menjadi getaran fisik yang kuat. Kuatnya getaran fisik akan menimbulkan efek kavitasi yang menyebabkan temperatur dan tekanan tinggi, sehingga terjadi reaksi kimia dan pemecahan molekul pada larutan kemudian partikel menjadi berukuran lebih kecil (Wardiyati et al., 2004; Tardos, 2005).

Pirung (2007) menyatakan bahwa teknik ultrasonik paling efektif dalam pencampuran, proses reaksi serta pemecahan bahan menggunakan energi suara berfrekuensi tinggi. Kelebihan menggunakan teknik sonikasi untuk memperkecil ukuran partikel yaitu dapat mencegah terjadinya proses sedimentasi atau creaming selama masa penyimpanan, luas permukaan lebih besar sehingga zat aktif mudah tersebar dan lebih cepat menetrasi (Tardos, 2005). Zat aktif lebih mudah melalui lapisan kulit dengan semakin kecilnya ukuran partikel (Basera et al., 2015).

Menurut penelitian Kencana (2009), partikel ekstrak temulawak mampu ditekan dengan energi ultrasonikasi sehingga masuk ke dalam kitosan melalui pori-pori hasil ikatan silang dari kitosan dan TPP. Selain itu lama waktu sonikasi dan besar amplitudo berpengaruh terhadap pengecilan ukuran partikel. Hasil penelitian Ariyandi dkk (2007) memperoleh ukuran partikel terkecil (482 ± 59) nm dengan distribusi ukuran terbaik menggunakan amplitudo 40% dan waktu 8 menit.

Menurut Tripler (1998), gelombang ultrasonik memiliki rentang frekuensi lebih dari 20 KHz dan termasuk gelombang mekanik longitudinal. Penggunaan ultrasonikasi terbagi menjadi dua bagian berdasarkan rentang kekuatan suara sebagai berikut (Mason *et al.*, 2002):

1. Suara berfrekuensi tinggi dan amplitudo rendah Energi ini disebut gelombang energi rendah yang dapat memberikan efek fisik medium. Digunakan sebagai analisis untuk mengukur kecepatan serta koefisien absorpsi gelombang dengan medium rentang 2-10 MHz.

2. Suara berfrekuensi rendah dan amplitudo tinggi Energi ini disebut gelombang energi tinggi yang dapat digunakan untuk sonokimia, pembentukan plastik dan pembersihan menggunakan medium rentang 20-100 KHz.

Semakin lama waktu sonikasi dan tinggi amplitudo akan menurunkan nilai kekeruhan pada larutan. Biasanya sebelum formula herbisida disonikasi memiliki visual berwarna putih tulang dan keruh, namun setelah melalui proses sonikasi akan terjadi perubahan warna menjadi transparan. Hal tersebut terjadi karena larutan menjadi lebih homogen dan ukuran partikel sangat kecil, sehingga kondisi homogen akan lebih bertahan saat masa penyimpanan. Alat ultrasonikator memanfaatkan gelombang amplitudo sehingga terjadi pengecilan ukuran partikel. Partikel dengan ukuran lebih kecil menyebabkan larutan herbisida lebih mudah terlarut dalam air saat diaplikasikan (Rusdiana dkk, 2018; Du *et al.*, 2016).

Pembuatan sediaan nanopartikel cenderung terjadi agregasi, agglomerasi dan ketidakstabilan fisika lainnya. Ukuran partikel yang diperkecil melalui proses *nanomilling* maupun *high pressure homogenizer* memerlukan jenis teknik yang optimal, komposisi bahan penstabil (seperti *surfaktan* dan *kosurfaktan*) serta lama proses yang tepat. Oleh karena itu perlu parameter evaluasi seperti ukuran dan morfologi partikel (Lucida, 2015). Menurut Guterres, dkk (2007), morfologi suatu permukaan nanopartikel berpengaruh terhadap kemampuannya dalam menembus suatu membran sel target. Jika nanopartikel memiliki permukaan yang bulat akan mempermudah nanopartikel tersebut untuk memasuki sel.

2.4 Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan suatu kondisi penurunan sensitifitas reseptorhormon insulin pada sel (Arulselvan dkk., 2006). Kerusakan pada sel-sel pulau langerhans menyebabkan kelainan metabolisme dalam kelenjar pankreas yang menyebabkan sedikitnya jumlah hormon insulin, bahkan tidak sama sekali (Price dan Wilson, 2005). Gangguan diabetes melitus ditandai dengan

hiperglikemi akibat adanya gangguan sekresi insulin oleh sel β pankreas, gangguan produksi glukosa darah oleh sel otot dan sel hati (Ramaiah., 2003). Kelainan tersebut ditandai dengan adanya polifagia (banyak makan), polidipsia (banyak minum), dan poliuria (banyak kencing) (Misnadiarly, 2006:10). Kadar glukosa darah dalam tubuh menentukan alur glikolisis siklus asam sitrat dan pembentukan ATP. Konsentrasi ATP yang meningkat akan menghambat saluran K^+ karena sensitifitasnya, sehingga menyebabkan depolarisasi membran sel beta dan meningkatkan saluran masuk Ca^{2+} yang sensitif terhadap voltase. Penghambatan K^+ dan peningkatan Ca^{2+} menyebabkan stimulasi eksositosis insulin (Opara, 2005).

Kemampuan sekresi insulin oleh sel β pankreas dipengaruhi oleh tiga faktor utama yakni, *voltage-sensitive calcium channels* sel β pankreas, kadar glukosa darah, dan *ATP-sensitive K channels*. Kadar glukosa darah setelah mengkonsumsi makanan akan meningkat, kemudian glukosa ditangkap oleh sel β melalui *glucose transporter 2* (GLUT 2) dan disalurkan ke dalam sel. Sebaliknya Kadar glukosa darah saat berpuasa akan menurun, *ATP-sensitive K channels* pada membran sel β akan terbuka sehingga ion kalium keluar dari sel β untuk mempertahankan potensial membran dalam keadaan hiperpolar sehingga *Ca-channels* menutup. Penutupan *Ca-channels* menyebabkan kalsium tidak dapat masuk ke dalam sel β , sehingga rangsangan sel β untuk mensekresi insulin menurun (Ganong, 2008). *glucose transporter 2* (GLUT 2) pada sel hepar dan sel β pankreas mempunyai afinitas yang rendah terhadap glukosa sehingga kinerja GLUT 2 terjadi saat hiperglikemi. Hal ini dapat mencegah timbulnya pelepasan insulin dan pengambilan glukosa oleh hepar pada saat puasa (Opara, 2005).

Pemakaian glukosa di jaringan otot dan lemak dapat menurunkan konsentrasi glukosa karena insulin yang dilepaskan ke dalam darah serta penekanan glukosa oleh hati. Produksi insulin yang terhenti atau terganggu berkaitan dengan sel β pankreatis, kekurangan produksi insulin dapat menyebabkan keadaan hiperglikemik yang dapat mengurangi kemampuan metabolisme karbohidrat sehingga menyebabkan diabetes mellitus (Soewolo, 2000).

2.4.1 Klasifikasi Diabetes Melitus

Diabetes melitus terbagi menjadi beberapa klasifikasi, yaitu (American Diabetes Association., 2015):

1. Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes Melitus Tipe 1 disebabkan karena kerusakan sel beta pankreas sehingga menyebabkan defisiensi insulin, populasi penderita diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. DM tipe 1 terjadi karena kerusakan sel-sel β pulau Langerhans sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin yang disebabkan oleh reaksi autoimun.

2. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes Melitus Tipe 2 disebabkan karena gangguan sekresi insulin sehingga menyebabkan resistensi insulin, populasi penderita DM Tipe 2 lebih umum dari DM Tipe 1 yakni sekitar 90-95% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. Tahap awal penderita DM Tipe 2 umumnya memiliki kadar glukosa yang tinggi dan jumlah insulin yang cukup dalam darahnya, namun sel-sel sasaran insuli yang tidak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan tersebut dinamakan “Resistensi Insulin” karena gaya hidup yang kurang gerak (*sedentary*), obesitas, dan penuaan.

3. Gestasional Diabetes Melitus (GDM)

Gestasional Diabetes Melitus (GDM) merupakan keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang muncul selama masa kehamilan, berlangsung sementara atau temporer, umumnya terdeteksi pada trimester kedua atau setelahnya. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita GDM.

2.4.2 Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes Melitus Tipe 2 merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan kenaikan gula darah akibat penurunan atau gangguan sekresi insulin oleh sel β pankreas (resistensi insulin) (Departemen Kesehatan, 2005. Diabetes Melitus Tipe 2 adalah penyakit hiperglikemi akibat insensivitas sel terhadap insulin, dan dianggap sebagai non insulin dependent diabetes melitus karena insulin tetap dihasilkan oleh sel β pankreas dengan jumlah sedikit menurun atau dalam rentang normal (Slamet, 2006).

Resistensi insulin banyak terjadi akibat dari obesitas, kurangnya aktivitas fisik, dan penuaan. Pasien yang menderita diabetes tipe 2, dapat juga terjadi produksi glukosa hepatic yang berlebihan, tetapi tidak ada kerusakan autoimun sel β Langerhans seperti diabetes tipe 1, sedangkan kekurangan fungsi insulin pada diabetes tipe 2 hanya relatif, Tidak absolut. Tahap awal perkembangan diabetes tipe 2, sel β menunjukkan tahap pertama sekresi insulin mengalami gangguan, yang berarti sekresi insulin tidak dapat mengkompensasi resistensi insulin. Jika tidak ditangani dengan baik, sel beta pankreas akan mengalami kerusakan pada langkah perkembangan selanjutnya. Kerusakan progresif pada sel beta pankreas biasanya menyebabkan defisiensi insulin, sehingga pada akhirnya pasien membutuhkan insulin eksogen. Pada penderita diabetes tipe 2 biasanya ditemukan dua faktor tersebut yaitu resistensi insulin dan defisiensi insulin (Harding, 2003).

Sekresi insulin pada penderita non diabetes meliputi dua tahap, tahap awal (tahap 1) yang terjadi dalam waktu 3-10 menit pertama setelah makan. Insulin yang disekresi pada tahap ini adalah insulin yang disimpan dalam sel β , dan tahap akhir (tahap 2) adalah sekresi insulin yang dimulai 20 menit setelah stimulasi glukosa. Pada tahap pertama, pemberian glukosa akan meningkatkan sekresi insulin, sehingga mencegah kadar gula darah, kemudian peningkatan gula darah akan merangsang tahap kedua untuk meningkatkan produksi insulin. Semakin tinggi kadar gula darah setelah makan maka semakin banyak insulin yang dibutuhkan, namun kemampuan ini terbatas pada kadar gula darah dalam kisaran normal (Merentek, 2006).

Sekresi insulin pada diabetes tipe 2 tahap pertama tidak dapat menurunkan gula darah, sehingga merangsang tahap kedua untuk memproduksi lebih banyak insulin, tetapi tidak dapat meningkatkan sekresi insulin seperti orang normal. Sekresi sel β yang terganggu akan menghambat sekresi insulin fase 1 dan menurunkan kadar insulin dalam darah, yang akan meningkatkan glukosa yang diproduksi oleh hati dan meningkatkan kadar glukosa darah puasa. Pada fase 2, kemampuan memproduksi insulin secara bertahap akan menurun. Oleh karena itu, perjalanan DM tipe 2 dimulai dengan penyakit stadium 1 yang menyebabkan hiperglikemia, kemudian DM tipe 2, di mana tidak terjadi hiperinsulinemia, tetapi penyakit sel beta (Masharani, 2001).

Bila kadar glukosa darah puasa 80-140 mg maka kadar insulin puasa meningkat tajam, namun bila kadar glukosa darah puasa melebihi 140 mg maka kadar insulin tidak dapat ditingkatkan lagi. Pada tahap ini kerusakan sel β mulai berkurang fungsinya. Ketika kadar insulin puasa mulai menurun, efek penghambatan insulin terhadap produksi glukosa hati (terutama glukoneogenesis) mulai menurun, sehingga meningkatkan produksi glukosa hati dan menyebabkan hiperglikemia selama puasa. Faktor yang dapat menurunkan fungsi sel β dianggap sebagai faktor yang didapat, termasuk penurunan massa sel β , malnutrisi pada kehamilan dan bayi, deposisi amilyn dalam sel β , dan efek toksik glukosa (toksisitas glukosa) (Groop, 2001).

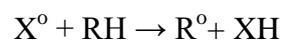
2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan senyawa kimia berupa atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada lapisan luarnya, jumlah elektron bebas dengan jumlah banyak dapat menyebabkan stres oksidatif. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan menyebabkan stres oksidatif yang berpotensi menimbulkan kerusakan sel dan organ (Danusantoso, 2003). Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogenous) maupun luar tubuh (eksogenous). Radikal bebas dari dalam tubuh (endogenous) terbentuk dari reaksi reduksi normal dalam mitokondria, fagositasi, detoksifikasi senyawa xenobiotik, peroksisom, dan metabolisme obat-obatan. Sedangkan Radikal bebas dari luar tubuh (eksogenous) berasal dari radiasi, refursi, asap rokok, karsinogen, olahraga yang berlebihan, dan inflamasi (Tejasari, 2000).

Sifat radikal bebas hampir sama seperti oksidan yakni sebagai penerima atau penarik elektron, namun radikal bebas memiliki reaktifitas yang tinggi dan kecenderungan untuk membentuk radikal bebas yang baru sehingga lebih berbahaya dari pada oksidan. kecenderungan tersebut menjadikan radikal bebas mudah dalam membentuk radikal bebas baru apabila bertemu dengan molekul lain sehingga membentuk reaksi rantai (Nedeljkovic, dkk. 2003). Ketidakseimbangan jumlah radikal bebas yang lebih tinggi daripada antioksidan menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan sehingga menimbulkan stress oksidatif dalam tubuh (Kaleem dkk., 2006; Halliwell 2006).

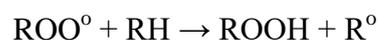
Peroksida lipid sebagai akibat stres oksidatif merupakan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lebih lanjut yang dapat merusak jaringan dan dapat menimbulkan penyakit degeneratif, diabetes, inflamasi, kanker, penuaan dan lain-lain. Tahap peroksidasi lipid terbagi menjadi tiga tahap reaksi berantai yaitu (Murray dkk., 2000):

1. Inisiasi merupakan proses terlepasnya atom hidrogen dari molekul asam lemak atau *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) pada membran sel sehingga terbentuk radikal bebas alkil dan menyebabkan kerusakan pada sel. Tahap inisiasi dikatalis oleh adanya ion logam.

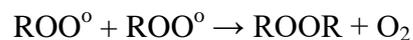


2. Propagasi merupakan hasil produksi inisiasi bereaksi dengan oksigen atmosfer membentuk radikal bebas peroksi yang terbentuk bereaksi dengan atom hidrogen hidrogen yang terlepas dari asam lemak tidak jenuh yang lain membentuk hidroperoksida (ROOH) dan radikal bebas yang baru. Radikal bebas yang baru akan bereaksi dengan oksigen atmosfer membentuk radikal bebas peroksi.

Hasil reaksi tahap propagasi akan menjadi inisiator baru agar bereaksi dengan asam lemak yang lain sehingga membentuk produk radikal baru.



3. Terminasi merupakan Penggabungan radikal-radikal bebas membentuk produk nonradikal yang stabil. Sters oksidatif muncul akibat adanya reaksi metabolik yang menggunakan oksigen sehingga mengakibatkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan sel.



Penyebab stres oksidatif karena ketidakseimbangan prooksidan (*free radical*) dan antioksidan didalam tubuh (Agarwal, dkk. 2005). Ketidakmampuan antioksidan intrasel dalam menetralsir kelebihan jumlah produksi radikal bebas sangat berpotensi menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan ini seringkali dinamakan kerusakan oksidatif akibat adanya reaksi dengan radikal bebas yang merusak biomolekul penyusun sel. komponen penyusun membran sel memiliki

dampak negatif akibat peningkatan stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan lipid membran membentuk malonaldehida (MDA), kerusakan karbohidrat, protein, dan DNA (Kevin *et al.*, 2006).

Gangguan metabolit dan gangguan sel berupa gangguan fungsi DNA dan protein akibat adanya radikal menyebabkan mutasi atau sitotoksik dan perubahan laju aktivitas enzim. Adanya radikal bebas mempengaruhi peningkatan peroksida yang menyebabkan dekomposisi menjadi malondialdehyde (MDA) dalam darah. Gambaran MDA dalam serum dapat digunakan sebagai penanda kerusakan seluler dan mengukur peroksidasi yang terjadi pada membran lipid akibat adanya radikal bebas (Inoue, 2001).

Stres oksidatif dideskripsikan sebagai suatu keadaan ketidaksetimbangan antara proses oksidasi oleh radikal bebas dan proses penetralan oleh antioksidan dalam tubuh. Kondisi stress oksidatif membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang tersusun dari radikal bebas oksigen (super oksida) dan derivatnya (radikal hidroksil) berupa O_2^- , OH dan H_2O_2 . *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan senyawa atau molekul yang memiliki satu atau lebih yang tidak berpasangan pada lintasan luarnya. Senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan sangat reaktif dalam mencari elektron pasangannya, dengan mengikat dan menyerang elektron molekul yang ada di sekitarnya.

Kecenderungan sifat tersebut sangat berbahaya jika elektron yang terikat radikal bebas berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, maka ikatan tersebut akan digunakan secara bersama-sama pada orbit luarnya. Suatu senyawa yang memiliki ikatan kovalen umumnya berupa makromolekul seperti protein, lipid, karbohidrat, dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh merupakan molekul yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas, serta serangan radikal bebas pada membran sel yang merusak asam lemak tak jenuh ganda dapat menyebabkan kerusakan sel (Winarsi, 2007).

2.5.1 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida (MDA) adalah produk akhir dari peroksidasi lipid, terbentuk dari degradasi radikal bebas hidroksil (OH^\cdot) terhadap asam lemak tak jenuh yang selanjutnya dirubah menjadi radikal yang sangat reaktif. Tahap awal

terbentuknya MDA ketika radikal bebas oksigen (O_2) dihasilkan melalui reaksi enzimatik dan non-enzimatik. monosit, makrofag, dan polimorfonukleer merupakan sel-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas O_2 dan H_2O_2 (Halliwell, 2003).

Yustika (2013) menambahkan bahwa pembentukan MDA melalui peroksidasi lipid diawali dengan pembuatan lipid bersifat radikal dengan menghilangkan atom hidrogen (H) dari molekul lipid tak jenuh rantai panjang dari gugus radikal hidroksil (OH), selanjutnya lipid bereaksi dengan atom oksigen (O_2) membentuk radikal peroksil (OO) yang akan menghasilkan MDA (dengan ikatan tak jenuh lebih dari tiga).

Produk oksidatif yang terbentuk dari reaksi radikal bebas dalam tubuh dapat digunakan sebagai marker untuk menilai stress oksidatif. Pengukuran marker dalam tubuh dapat mengetahui kondisi patologi yang diderita, biomarker dapat ditemukan dalam urin, darah, dan cairan tubuh lainnya yang dapat memberikan nilai diagnostik. Beberapa marker penanda diantaranya yaitu malondialdehid, 8-hidroksiguanin dan thiaminglikol akibat kerusakan DNA, isoprostan akibat kerusakan asam arakidonat, dan 4-hidroksenal akibat peroksidasi lipid (Janero, 1990).

Kadar malondialdehid (MDA) yang tinggi dapat dipengaruhi oleh dekomposisi asam amino, biosintesis prostaglandin, kompleks karbohidrat, heksosa, dan pentosa. Serta tingginya kadar peroksidasi lipid yang mana MDA sebagai produk akhirnya. Peroksida dari asam lemak yang memiliki banyak ikatan ganda khusus arakidonat diyakini sebagai sumber utama penyebab kadar MDA menjadi tinggi. Analisa radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan, karena ketidakstabilan radikal bebas, reaksi ini berlangsung sangat cepat sehingga pengukurannya sangat sulit dilakukan jika dalam bentuk senyawa radikal bebas. Analisa kadar radikal bebas yang terbentuk dapat ditentukan dengan analisa malondialdehid (MDA) sebagai metode analisa secara tidak langsung (Leily, *et al.*, 2007). Menurut Winarsi (2007) menyatakan bahwa analisis malondialdehid (MDA) merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan lebih mudah dalam menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. MDA sebagai produk

dekomposisi dari PUFA menunjukkan deteksi *free oxygen radical* dalam berbagai macam kondisi patologi.

Winarsi (2007) menyatakan bahwa ada beberapa alasan terkait kesesuaian MDA sebagai biomarker untuk stres oksidatif, diantaranya adalah: (1) peningkatan pembentukan MDA berbanding lurus dengan peningkatan stres oksidatif, (2) MDA relatif stabil dalam sampel cairan tubuh ketika diisolasi, (3) penentuan kadar MDA dapat diukur secara akurat menggunakan berbagai metode yang telah tersedia, (4) MDA merupakan produk spesifik dari peroksidasi lipid, (5) hasil pengukuran tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan kandungan lemak dalam diet, (6) penentuan referensi interval dapat ditentukan karena jumlahnya yang dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis.

2.5.2 Hubungan Diabetes dengan Radikal Bebas

Keterkaitan diabetes dengan radikal bebas berpusat pada kontrol gula darah dalam tubuh, yang mana jika kontrol diabetes rendah akan menyebabkan berbagai komplikasi seperti kerusakan saraf tepi (neuropati diabetik), penyakit jantung, penyakit mikrovaskular pada mata yang menyebabkan degenerasi retina (retinopati diabetik) dan kebutaan, kerusakan ginjal penyebab gagal ginjal, penyakit vaskular sistemik (percepatan aterosklerosis), dan katarak (Halliwell, 2003).

Perluasan komplikasi diabetes sejalan dengan konsentrasi glukosa darah, sehingga konsentrasi glukosa yang berlebih menjadi faktor utama dalam kerusakan jaringan. Kecendrungan tersebutlah yang menyebabkan keterlambatan deteksi dini diabetes, saat pendeteksian diabetes biasanya penderita telah mengalami satu atau dua komplikasi (Rahman, 2007). Peristiwa tersebut terjadi karena kemampuan hiperglikemia secara *in vivo* dalam modifikasi oksidatif berbagai substrat. Hiperglikemia juga terlibat dalam pembuatan radikal bebas (Droge, 2002).

Hiperglikemia menyebabkan glikasi protein, autooksidasi glukosa, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang akan mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa tersebut dapat meningkatkan modifikasi DNA, protein, dan lipid pada berbagai jaringan (Ueno, 2002). Peningkatan

modifikasi berbagai jaringan tersebut menyebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas yang digunakan sebagai pertanda awal kerusakan oksidatif atau stress oksidatif (Nuttal, 1999). kondisi stres oksidatif memicu produksi ROS dan RNS sebagai mekanisme pertahanan dalam tubuh seperti proses fagositosis, fungsi netrofil, dan stress yang mengakibatkan vasorelaksasi. Keadaan patologik akibat stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel secara permanen (Moussa, 2008).

Kondisi stres oksidatif pada penderita DM dapat melalui beberapa jalur, yakni jalur enzimatik, jalur nonenzimatik, dan jalur mitokondria. Jalur non enzimatik cenderung mengikuti kondisi oksidatif glukosa itu sendiri, dalam keadaan hiperglikemia maka akan menyebabkan produksi ROS. Autooksidasi pada glukosa menyebabkan pembentukan radikal hidroksil. Sifat glukosa yang dapat bereaksi dengan protein membentuk *Amadori product* yang akan dilanjutkan dengan pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs). Peningkatan metabolisme glukosa saat kondisi hiperglikemi melalui jalur poliol (sorbitol) dapat mempengaruhi produksi radikal superoksida dalam tubuh (Mustofa., 2015).

Jalur enzimatik pada DM meningkatkan produksi reactive oxygen species (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) seperti jalur NADPH oxidase, NOS, dan xanthine oxidase. Radikal superoksida saat tubuh dalam keadaan normal akan dieliminasi melalui sistem imun dalam tubuh. Sumber produksi non enzimatik dari ROS dan RNS berasal dari rantai respirasi mitokondria. selama proses fosforilasi oksidatif, elektron akan ditransmisi dari pengangkut elektron NADH dan FADH₂ melewati bagian dalam membran mitokondria mengarah ke oksigen untuk membentuk ATP (Vidya dkk, 2009).

Kerusakan yang terjadi akibat radikal superoksida pada penderita DM dapat melalui pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs), Protein Kinase C (PKC), jalur heksosamin, dan jalur poliol menimbulkan komplikasi mikrovaskular (penyakit arteri koroner, pembuluh darah perifer, serebrovas-kular, dan sebagian besar aterosklerosis) dan penyakit ekstremitas bawah. Komplikasi mikrovaskular lainnya adalah nefropati, retinopati, otonom, dan neuropati perifer (Kaneto dkk, 2010).

2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai kemampuan dalam menghambat radikal bebas dan reactive oxygen species (ROS) sehingga dapat mencegah penyakit kardiovaskular, penuaan, dan karsinogenik. Karenanya dapat disimpulkan bahwa antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan dan melawan radikal bebas serta memperbaiki kerusakan oksidatif, baik radikal yang berasal dari lingkungan maupun dari metabolisme tubuh (Janero, 1990; kumar, 2009).

Antioksidan memiliki 2 sumber asalnya, yakni antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami berupa antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan yang telah diisolasi dan sering dikonsumsi. Antioksidan dalam tumbuhan memiliki kandungan vitamin E, vitamin C, karoten, polifenol, katekin, dan bioflavonoid. Antioksidan sintetis berupa antioksidan yang memiliki daya guna dalam bahan makanan, yakni berperan dalam menjaga mutu dan mencegah perubahan sifat kimia makanan akibat adanya proses oksidasi yang terjadi, terutama dalam durasi penyimpanan seperti Butylated Hidroxytoluene (BHT), Butylated Hidroxyanisol (BHA), maupun yang lainnya (Janero, 1990).

Berdasarkan reaksinya dengan radikal bebas atau oksigen dalam sistem imun, antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Christyaningsih dkk. 2003) :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer berperan dalam pencegahan pembentukan radikal bebas baru yang dapat merubah radikal bebas menjadi molekul dengan pengurangan dampak negatifnya sebelum bereaksi (Winarsih, 2007). Respon tubuh dalam memproduksi antioksidan berupa enzim yang aktif ketika didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut ko-faktor (Algameta, 2009).

Antioksidan yang berperan sebagai kofaktor diantaranya adalah Superoksida dismutase (SOD) berupa enzim yang berkerja ketika ada mineral-mineral seperti, mangan, tembaga yang berasal dari kacang-kacangan dan padi-padian. Glutathione peroksidase sebagai enzim yang memiliki peran sebagai pendukung aktivitas enzim SOD bersama dengan enzim katalase yang menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan.

Peran glutathione juga sangat penting untuk melindungi selaput-selaput sel. Katalase sebagai Enzim yang mendukung aktivitas enzim SOD juga dapat mengkatalis berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan air (Algameta, 2009).

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder berperan dalam menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak mengakibatkan kerusakan yang lebih besar. Antioksidan sekunder dari buah-buahan yakni vitamin C, vitamin E, dan betakaroten (Arulselvan dan Subramanian, 2007).

c. Antioksidan tersier

Antioksidan Tersier berperan dalam memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak akibat adanya radikal bebas, kelompok ini kebanyakan berupa enzim (winarsih, 2007). Antioksidan Tersier juga memiliki fungsi membuang berbagai molekul yang telah rusak akibat teroksidasi sebelum terakumulasi dalam tubuh dan mengganggu berbagai mekanisme didalam tubuh (Tandon *et.al.*, 2005). Produksi radikal bebas secara terus menerus sebagai hasil proses metabolisme normal dan interaksi dengan rangsangan lingkungan.

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dalam tubuh manusia terbagi menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh, berupa enzim yang dapat merubah radikal bebas menjadi radikal bebas lain atau senyawa lainnya yang lebih tidak berbahaya dalam tubuh, seperti katalase, superoksida dismutase, dan glutathione peroksidase. Sedangkan antioksidan Eksogen adalah antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh, seperti asam askorbat, vitamin A, tokoferol, dan beberapa polifenol. Senyawa-senyawa tersebut diperoleh dari mengkonsumsi tanaman atau hewan (Ming *et al.*, 2009).

penghambat oksidasi (*oxidation inhibitor*) atau disebut juga antioksidan dapat dihambat dengan beberapa metode, diantaranya dengan penggunaan temperatur rendah, mencegah masuknya oksigen, mengurangi tekanan oksigen, penggunaan pengemas yang sesuai, dan inaktivasi enzim yang mengkatalis oksidasi. Metode lain perlindungan terhadap oksigen dengan menggunakan bahan

tambahan spesifik yang dapat menghambat oksidasi secara tepat (Indrayana, 2008).

Proses terpenting adalah ketika antioksidan dengan radikal bebas. Kecenderungan antioksidan bereaksi dengan radikal bebas peroksil atau hidroksil yang terbentuk dari hidroperoksida yang berasal dari lipid. Senyawa antioksidan lain dapat menstabilkan hidroperoksida menjadi senyawa nonradikal. Penguraian hidroperoksida dapat dikatalisis oleh logam berat karena adanya senyawa-senyawa yang dapat mengikat logam juga termasuk antioksidan. Beberapa senyawa tersebut bersinergis dengan sendirinya karena tidak memiliki aktivitas antioksidan namun dapat meningkatkan antioksidan senyawa lain. Kelompok lain merupakan kelompok yang mampu menguraikan hidroperoksida melalui jalur non radikal sehingga senyawa ini dapat mengurangi kandungan radikal bebas (Indrayana, 2008).

2.6.1 Superoksida Dismutase (SOD)

Enzim superoksida dismutase (SOD) merupakan Antioksidan endogen utama pada sel-sel tubuh yang memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan oksigen yang bersifat toksik dan melindungi sel dari gangguan radikal bebas (Wresdiyati *et al.*, 2002). SOD berperan sebagai pembersih radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan reaksi enzimatik dan merubahnya menjadi produk yang lebih stabil. SOD juga mengkatalis dismutasi radikal anion superoksida sehingga menjadi hidrogen peroksida, jika jumlah SOD rendah didalam tubuh dapat menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas yang akan menurunkan produksi enzim-enzim antioksidan intrasel sehingga menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel yang terus berlanjut akan menimbulkan penyakit degeneratif (Turko, 2001).



Awal mula enzimatik stres oksidatif yang berasal dari augmentasi pada diabetes mencakup NADP Hoksidase, NOS, dan xantinoksidase. Seluruh isoform dari NOS memerlukan beberapa kofaktor/ kelompok prostetik seperti Ca^{2+} , heme, BH₄, flavin adenine di nukleotida (FAD), dan flavin mononukleotida (FMN).

Apabila salahsatu kofaktor NOS a memiliki substrat L-argine maka nos dapat memproduksi O^2 (Guzik, 2002).

Sumber enzimatik stres oksidatif dapat berupa proses biokimia yakni oksidasi glukosa, ketika kondisi hiperglikemia pembentukan ROS meningkat. Hidroksil ($\cdot OH$) dihasilkan dari glukosa yang mengalami autooksidasi, adanya protein dalam enzimatik juga bereaksi dengan glukosa menuju ke pengembangan produk amadori yang diikuti dengan pembentukan *advanced glycation end products* (AGEs). Metabolisme glukosa pada penderita hiperglikemia ditingkatkan melalui jalur poliol (sorbitol) serta menghasilkan produksi dari O_2 (Turko, 2001).

Berdasarkan uraian tersebut maka SOD dapt segera mengkonversi O_2 untuk H_2O_2 yang nantinya akan dirubah didalam mitokondria menjadi air oleh katalase dalam lisosom atau glutathione peroksidase. Enzim glutathione reduktase berperan penting dalam menghasilkan glutation sebagai donor hidrogen selama penghapusan H_2O_2 (Maritim, 2003).

Enzim SOD bekerja dengan mencegah peradangan dan melindungi sel-sel tubuh akibat adanya radikal bebas. Secara alami enzim SOD telah ada dalam tubuh, akan tetapi membutuhkan zat-zat mineral agar bisa bekerja seperti seng (Zn), mangan (Mn), dan tembaga (Cu). Karenanya dengan jumlah zat mineral yang cukup SOD dapat bekerja dan dapat menghambat penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

sistem kerja SOD dengan menangkap senyawa oksigen reaktif seperti superoksida anion radikal (O_2) menjadi hidrogen peroksida, selanjutnya glutation peroksidase merubahnya menjadi air. Mekanisme tersebut dapat berubah jika sistem imun menurun atau karena peningkatan usia yang nantinya akan menurunkan jumlah kedua enzim tersebut, sehingga radikal bebas tidak dapat tertangkap sepenuhnya. Berdasarkan mekanisme tersebut maka SOD digolongkan sebagai antioksidan primer yang dapat memutus reaksi berantai sehingga dapt mengurangi pembentukan radikal bebas baru dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Nurawati, 2002).

Kadar SOD yang rendah berimbas pada beberapa kondisi seperti reumatid arthritis, infeksi saluran pernafasan, anemia fanconi, infertile dan katarak.

Karenanya diagnosis penyakit seperti diabetes, abnormalitas hemoglobin, kanker, schizophrenia, hepatitis, depresi, dan *down syndrome* (Winarsi, 2007).

2.7 Streptozotocin (STZ)

Streptozotocin adalah agen antineoplastik alkilasi alami yang memiliki sifat sitotoksik bagi sel β pankreas penghasil insulin dan dapat diperoleh dari *Streptomyces achromogenes*. Berdasarkan efeknya streptozotocin sering digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 maupun tipe 2 (Goodman dan Gilman, 2008). Jika dosis tunggal 200 mg / kg BB streptozotocin dapat menyebabkan diabetes tipe 1, induksi STZ dapat secara intraperitoneal atau intravena, dan jika diberikan dengan dosis 40 mg / kgBB selama 40 hari berturut-turut, dapat menyebabkan diabetes tipe 2 (Etuk EU, 2010).

Injeksi STZ menembus sel β Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aktivitas STZ intrasesuler menghasilkan perubahan DNA sel β pankreas. Kerusakan pada sel β pankreas akibat adanya Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea. Kerusakan sel tersebut karena peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP akibat kecenderungan STZ sebagai donor NO (*nitric oxide*) yang diproduksi ketika STZ mengalami metabolisme dalam sel. Kinerja STZ juga dapat memicu oksigen reaktif yang mana sebagai peran utama dalam kerusakan sel β pankreas. Aksi STZ dalam peningkatan aktivitas xantin oksidase dan mitokondria mengakibatkan terbentuknya anion superoksida. Hal tersebut karena STZ menghambat *siklus krebs* dan menurunkan konsumsi oksigen di mitokondria. Kurangnya oksigen menyebabkan produksi ATP yang terhambat, selanjutnya mengakibatkan pengurangan secara drastis pada nukleotida sel β pankreas (Szkudelski, 2001).

Defosforilasi ATP yang meningkat akan memicu peningkatan substrat untuk enzim xantin oksidase yang kemudian meningkatkan produksi asam urat. Reaksi pembentukan anion superoksida aktif akibat proses katalisi Xantin oksidase. Proses tersebut menyebabkan terbentuknya hidrogen peroksida dan radikal superoksida. Oksigen reaktif tersebut dan NO (*nitric oxide*) merupakan penyebab utama dalam rusaknya sel β pankreas (Szkudelski, 2001).

Injeksi STZ secara intraperitoneal bekerja sebagai diabetogenik yang akan masuk ke sel β pankreas melalui glucose transporter (GLUT-2). injeksi STZ menyebabkan alkilasi DNA yang membuat DNA menjadi rusak, kerusakan tersebut memicu peningkatan radikal superoksida aktif dalam mitokondria sel β pankreas. Peningkatan radikal superoksida aktif secara terus menerus akan memicu proses nekrosis pada sel β pankreas yang menyebabkan terhambatnya sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001).

2.8 Serebrum

Cerebrum (otak besar) adalah suatu bagian sistem syaraf pusat yang paling besar yang memenuhi *cavitas cranii*. Susunan *cerebrum* terdiri dari diencephalon(depan-tengah) dan telencephalon (kanan-kiri). Komponen lapisan luar *cerebrum* terbentuk dari massa berwarna gelap (*substantia grisea*) yang menjadi cortex, sedangkan pada lapisan bagian dalam terbentuk dari massa berwarna putih (*substantia alba*). Susunan permukaan otak berupa tonjolan (*gyrus*) dan lekukan (*sulcus*), adanya *gyri* dan *sulci* (bentuk jama' dari *gyrus* dan *sulcus*) menyebabkan luas permukaan otak lebih besar dari pada massa otak yang permukaannya rata (Wibowo, 2011).

Cerebrum memiliki peran dalam seluruh pengaturan aktifitas mental berupa ingatan (memori), kesadaran, kepandaian (intelegensi), dan pertimbangan. Terdapat dua belahan atau *hemisfer cerebri* yaitu kanan dan kiri. Otak kanan mengatur segala macam hal yang bersifat irasional, sedangkan otak kiri mengatur hal-hal yang bersifat rasional seperti proses berbahasa dan matematis (Masykur, 2007). Bagian dalam *cerebrum* terdapat *thalamus* dan *hypothalamus*, fungsi *thalamus* untuk merelai rangsangan sensori ke *cortex cerebri* sedangkan *hypothalamus* mengatur kebutuhan dasar tubuh, misalnya tidur, pencenaan, suhu badan, pelepasan

2.9 Hubungan ROS dan Apoptosis

Apoptosis diinduksi oleh berbagai rangsangan fisiologis dan patologis. Mitokondria dan caspase 3 berperan dalam proses apoptosis. ROS adalah penyebab apoptosis di jalur intrinsik melalui interaksi dengan protein di luar

membran mitokondria (Ryter, 2007) Menurut Argawal 2012, apoptosis terjadi melalui peningkatan ROS. Mekanisme terjadinya apoptosis terbagi menjadi 4 tahap, yaitu : 1). Membuka Saluran Ion, dalam tahap ini ROS merangsang Ca^{2+} dari retikulum endoplasma yang menyebabkan membran mitokondria menjadi tidak stabil sehingga menghentikan produksi ATP. 2) Lipid Peroksidase, Peroksidase lipid meningkat di daerah dengan ikatan asam lemak tak jenuh ganda (polyunsaturated). Ikatan rantai ini kemudian bereaksi dengan O_2 , menghasilkan radikal bebas peroksi dan menyebabkan kerusakan sel. 3). Modifikasi Protein, Modifikasi protein melalui proses oksidasi asam amino. Asam amino mengalami kerusakan akibat oksidasi yang menyebabkan pembentukan gugus karbonil. 4 Oksidasi DNA Mitokondria, Karena adanya O_2 dalam rantai transpor elektron (ETC) serta kurangnya perlindungan histon dan mekanisme perbaikan DNA, DNA mitokondria menjadi sangat rentan terhadap ROS.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian pengaruh nanopartikel pegagan terhadap gambaran histologi, kadar SOD dan MDA cerebrum mencit yang diinduksi streptozotosin merupakan penelitian eksperimental dan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Pemberian dosis terapi nanopartikel pegagan yaitu 120 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 240 mg/kg BB. Perlakuan dalam penelitian ini merupakan hasil dari kombinasi dari seluruh faktor taraf perlakuan yaitu terdiri atas 5 kelompok perlakuan termasuk kontrol positif dan kontrol negatif dengan masing-masing terdiri dari 4 kali ulangan.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi 3 variabel sebagai berikut: 1) variabel bebas dalam penelitian ini berupa dosis pemberian nanopartikel pegagan. Pemberian terapi nanopartikel pegagan terbagi menjadi 3 dosis yaitu: 120 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 240 mg/kg BB; 2) variabel terikat dalam penelitian ini berupa kadar SOD & MDA *cerebrum* mencit diabetes; 3) variabel kontrol dalam penelitian ini berupa mencit (*Mus musculus*) jantan yang diberi makan pellet dan diberi minum secara ad libitum, sehat dan bergerak aktif.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2019 sampai Maret 2020 yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan, jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Populasi dan Sampel

penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) dari strain balb/c, jenis kelamin jantan berumur 2-3 bulan, dengan berat badan 20-25 gram. Sampel yang digunakan sebanyak 20 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, setiap kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor mencit sebagai ulangan. Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus freeder yaitu:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t: jumlah kelompok; n: jumlah tikus tiap kelompok.

karena $t = 5$, maka $n = 5$, sehingga total sampel sebanyak 25 ekor mencit.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sendok, pisau, *beaker glass* (Iwaki) 500 mL dan 1000 mL, gelas ukur (Iwaki) 10 mL dan 250 mL, pipet tetes, pengaduk kaca, plastik *wrap*, kantong plastik dan karet gelang, *shaker* (H-SR-200), corong gelas, *erlenmeyer* (Iwaki) 500 mL, timbangan analitik (Sartorius), *vacuum rotary evaporator*, spatula, cawan petri (pyrex), *hot plate* (Barnstead/Thermolyne), *magnetic stirrer*, kertas saring, kertas label, kantong plastik, botol plastik, toples, aluminium foil, *homogenizer* (IKA T-25 Ultra Turrax), tube 15 mL dan 5 mL, lemari es, alat tulis, pinset, jarum, alu, mortar, *sentrifuge* (Heraeus Labofuge 200), , *oven* (Heraeus), *ultrasonicator* (Cole Pamer CV188), spuit, glukometer (easy touch), kasa, kapas, *vortex* (Barnstead/Thermolyne), *cotton swab* (Onemed 6" size S), inkubator (Memmert UNB 400), rak tabung, mikropipet (BIO-RAD), *white tip*, *blue tip*, *yellow tip* (nesco), spektrofotomer UV-Vis (BIO-RAD), kuvet, kertas mikrotom, *water bath*, dan mikroskop binokuler.

1.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu serbuk simplisia pegagan (*Centella asiatica*), kitosan, sodium tripolipospat, asam asetat glasial, tween 80, aquades, aquabidest, etanol 70% dan 96%, buffer asam sitrat, kit SOD, kit MDA, PBS, pakan mencit BR1, sekam, NaCl fisiologis, formalin 10%, pewarna hematoxilin-eosin, xylol, kaca benda, dan kaca penutup.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Ekstraks Pegagan

Serbuk simplisia pegagan sebanyak 100 g dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan 500 mL etanol 70%, dicampur sampai rata dan ditutup dengan alumuniumfoil yang direndam selama 24 jam. Sampel yang direndam di homogenkan menggunakan *shaker* kecepatan 300 rpm (Yanie, 2013). Sampel selanjutnya di saring menggunakan penyaring Buchner dan kertas saring, ampas yang dihasilkan dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sebanyak 3 kali pengulangan. Filtrat yang dihasilkan kemudian di pekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* berkecepatan 65 rpm dengan suhu 50°C sampai dihasilkan ekstrak kental dan disimpan untuk pemberian perlakuan (Azzahra, 2018; Putri, 2017).

3.6.2 Pembuatan Nanopartikel pegagan tersalut kitosan

Kitosan 0,5% sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan asam asetat glasial 0,5% yang telah ditambahkan aquades hingga 100 mL dan keduanya dihomogenkan. Selanjutnya ditambahkan sodium tripolipospat 0,5% sebanyak 20 ml dan ekstrak pegagan sebanyak 0,1 gram dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* masing-masing selama 10 menit pada setiap penambahan bahan dengan kecepatan 1000 rpm. Kemudian ditambahkan 1 ml tween 80 yang dihomogenizer pada kecepatan 4000 rpm selama 60 menit. Hasil pencampuran larutan tersebut di sonikasi selama 90 menit pada frekuensi 20 kHz (amplitudo 80%). Selanjutnya hasil sonikasi dimasukkan ke dalam tes tube 15 ml untuk di sentrifugasi dalam 5000 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang dan diambil peletnya kemudian dimasukkan ke dalam deep freezer selama \pm 12 jam dan diliofilisasi untuk memperoleh serbuk nanopartikel (Mardliyati, 2012; Pakki *et al.*, 2016).

3.6.3 Persiapan Hewan Coba

Pemeliharaan hewan coba meliputi kandang, tempat pakan, serbuk kayu, dan tempat minum. Selama 1 minggu sebelum perlakuan hewan coba diaklimatisasi dalam kandang dengan suhu 20-25°C dan fotoperiode 13/11 jam siklus gelap terang. Selama proses aklimatisasi hewan coba diberi makan pellet dan diberi air minum secara *ad libitum* (Wu dan Youmin, 2008). Selanjutnya

mencit dibagi bebrapa kelompok yang terdiri atas kelompok perlakuan (mencit menderita diabetes mellitus) dan kontrol (mencit normal).

3.6.4 Pembuatan Kondisi Mencit Diabetes Mellitus Kronis

Pemberian *streptozotocin* saat induksi mencit dilakukan secara berturut-turut selama 5 hari dengan *Multiple Low Dosage* (MLD) sebesar 40 mg/kg BB. STZ dilarutkan dalam buffer sitrat (pH 4.5) dan diinjeksikan ke mencit secara intraperitoneal (Han dkk, 2017). Hari ke-6 mencit dipuasakan selama 6 jam, kemudian dilakukan pengecekan gula darah pada mencit dengan memotong sedikit ujung ekor mencit hingga mengeluarkan darah dan darah yang keluar di tampung di strip gula darah dan diukur dengan Easy touch glucose strips.

Upaya dalam membuat mencit mengalami diabetes melitus kronis yang dapat menyebabkan kerusakan mikrovaskular, maka dilakukan konversi usia manusia ke usia mencit yang mana 10 tahun kurun waktu manusia sama dengan 1 bulan mencit (Djari, 2005). Diabetes melitus menyebabkan kerusakan mikrovaskuler pada manusia teradi pada kurun waktu 10-15 tahun. Sehingga mencit dibiarkan selama 1 bulan untuk menunggu terjadinya kerusakan mikrovaskular yang menyebabkan kerusakan pada otak mencit.

3.6.5 Pembagian Kelompok Sampel

Kelompok mencit yang telah diinduksi *streptozotocin* dibagi menjadi 8 kelompok yang masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit sebagai ulangan. Kelompok sampel tersebut, antara lain:

1. Kelompok I (kontrol negatif) : mencit tanpa pemberian STZ dan dan tanpa pemberian terapi pegagan.
2. Kelompok II (kontrol positif) : mencit diinduksi streptozotocin tanpa pemberian terapi pegagan kemudian dibedah pada hari ke- 28.
3. Kelompok III : mencit dinduksi dengan streptozotocin dan diberi nanopartikel pegagan dengan dosis 120 mg/kg BB selama 28 hari dibedah pada hari ke- 29.

4. Kelompok IV : mencit diinduksi dengan streptozotocin dan diberi nanopartikel pegagan dengan dosis 180 mg/kg BB selama 28 hari dibedah pada hari ke- 29.
5. Kelompok V : mencit diinduksi dengan streptozotocin dan diberi nanopartikel pegagan dengan dosis 240 mg/kg BB selama 28 hari dibedah pada hari ke- 29.

3.6.6 Pemberian Perlakuan

Nanopartikel pegagan tersalut kitosan diberikan pada mencit jantan secara oral selama 28 hari setelah diinduksi dengan STZ. Nanopartikel pegagan diberikan dengan dosis 120, 180, dan 240 mg/kg BB berdasarkan pembagian kelompok dan volume yang ditentukan agar tidak melebihi daya tampung gastrik mencit. Selanjutnya pada hari ke- 29 dilakukan pembedahan otak mencit untuk pengukuran antioksidan serta pembuatan histologi.

3.6.7 Pengukuran Antoksidan

3.6.8.1 Pengukuran SOD

Pengukuran kadar (SOD) menggunakan *Superoxide Dismutase (SOD) typed activity assay kit (hydroxylamine method)* Catalog no. E-BC-K022-S mengacu pada Elabscience (2018). Pengukuran terdiri dari persiapan reagen dan operasi pelaksanaan .

1. Persiapan Reagen

Pengenceran reagen terbagi menjadi 7 jenis reagen:

- a. Reagen 1 (buffer solution) 12 mL x 1 vial: reagen diencerkan dengan aquabidest dengan rasio 1 : 9, kemudian homogenkan sehingga tercampur seluruhnya.
- b. Reagen 2 (Nitrosogenic agent) 12 mL x 1 vial: reagen digunakan secara langsung tanpa ada penambahan lainnya.
- c. Reagen 3 (substrate solution): reagen digunakan secara langsung tanpa ada penambahan lainnya.
- d. Reagen 4 (working solution solution): reagen a (enzyme stock solution) dicampurkan dengan reagen b (enzyme diluent) dengan rasio 1:19 saat

sebelum pengujian. Hasil pencampuran reagen dapat disimpan selama 3 hari pada suhu 2-8C.

- e. reagen 5 (chromogenic agen a): reagen dilarutkan dengan 90 mL aquabidest dengan suhu 70C-80C, Reagen yang telah terlarutkan dapat disimpan selama 1 bulan dengan suhu 4C pada ruang yang redup.
- f. Reagen 6 chromogenic agen b): reagen dilarutkan dengan 90 mL aquabidest, Reagen yang telah terlarutkan dapat disimpan selama 1 bulan dengan suhu 4C pada ruang yang redup.
- g. Reagen 7 (chromogenic agen C): reagen dicampurkan dengan reagen 5 dan reagen 6 dengan rasio 3:3:2 sebelum pengujian. Reagen dapat disimpan disuhu 4C pada ruang gelap.

2. Operation step

Tahapan dilakukan dengan menyiapkan organ otak yang telah dipotong kecil, kemudian menimbang dan menyeragamkan antara berat organ dengan PBS (0,01 M, pH 7.4). Volume PBS (mL) : berat jaringan (g) = 9 :1, homogenat jaringan kemudian disentrifugasi pada 1500g selama 10 menit. Lakukan hal serupa pada setiap perlakuan dan ulangan organ yang akan diuji. Penambahan reagen untuk uji dibagi menjadi 4 kelompok. Pembagian kelompok reagen terdiri dari Blank tube, Standar tube, Sampel tube, Control tube.

- a. Sample tube: tube berisi reagen 1 1000 mL, sampel uji 100 mL, reagen 2 100 mL, reagen 3 100 mL, dan reagen 4 100 mL. Homogenkan semua reagen dalam tube dengan *vortex mixer selama 40* menit dengan suhu 37C. Setelah tercampur sepenuhnya kemudian tambahkan reagen 7 2000 mL homogenkan kembali dan biarkan selama 10 menit dalam suhu ruang.
- b. Control tube: tube berisi reagen 1 1000 mL, aquabidest 100 mL, reagen 2 100 mL, reagen 3 100 mL, dan reagen 4 100 mL. Homogenkan semua reagen dalam tube dengan *vortex mixer selama 40* menit dengan suhu 37C. Setelah tercampur sepenuhnya kemudian tambahkan reagen 7 2000 mL homogenkan kembali dan biarkan selama 10 menit dalam suhu ruang. Hasil kelompok sampel tube dan control tube kemudian diukur kadar ODnya menggunakan spectrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm.

3.6.8.2 Pengukuran MDA

Tahap pengukuran kadar *Malondialdehyde* (MDA) menggunakan *Colorimetric Assay Kit* (TBA Method) Catalog no. E-BC-K025-S mengacu pada Elabscience (2018). Tahapan terdiri dari persiapan reagen dan operasi pelaksanaan.

1. Persiapan Reagen

Pengenceran reagen terbagi menjadi 4 jenis reagen:

- a. Reagen 1 (clarificant) 24 mL x 1 vial: perendam reagen direndam dalam water bath pada suhu 37C karena reagen akan memadat berada pada suhu dingin.
- b. Reagen 2 (acid reagent) 12 mL x 1 vial: reagen diencerkan dengan aquabidest dengan rasio 1.2 : 34, kemudian homogenkan sehingga tercampur seluruhnya.
- c. Reagen 3 (Chromogenic agent): reagen dilarutkan dengan 30 mL aquabidest dengan suhu 90C-100C, kemudian ditambahkan 30 mL asam asetat glasial \geq 99.5%, homogenkan sampai tercampur seluruhnya dan simpan pada suhu ruang. Reagen dyang telah terlarutkan dapat disimpan selama 1 bulan dengan suhu 4C pada ruang yang redup.
- d. Reagen 4 (10 nmol/mL Standard: reagen digunakan secara langsung tanpa ada penambahan lainnya

2. Operation step

Tahapan dilakukan dengan menyiapkan organ otak yang telah dipotong kecil, kemudian menimbang dan menyeragamkan antara berat organ dengan PBS (0.01 M, pH 7.4). Volume PBS (mL) : berat jaringan (g) = 9 :1, homogenat jaringan kemudian disentrifugasi pada 10000g selama 10 menit. Lakukan hal serupa pada setiap perlakuan dan ulangan organ yang akan diuji. Penambahan reagen untuk uji dibagi menjadi 4 kelompok. Pembagian kelompok reagen terdiri dari Blank tube, Standar tube, Sampel tube, Control tube.

- a. Blank tube: tube berisi etanol absolut 100 mL, reagen 1 100 mL, reagen 2 3000 mL, dan Reagen 3 1000 mL.

- b. Standard tube: tube berisi Reagen 4 100 mL, reagen 1 100 mL, reagen 2 3000 mL, dan Reagen 3 1000 mL.
- c. Sample tube: tube berisi homogenat sampel 100 mL, reagen 1 100 mL, reagen 2 3000 mL, dan Reagen 3 1000 mL.
- d. Control tube: tube berisi homogenat sampel 100 mL, reagen 2 3000 mL, Reagen 3 1000 mL, dan asam asetat glasial 50% 100 mL.

Kelompok reagen dihomogenkan seluruhnya lalu diinkubasi dalam waterbath selama 40 menit dengan suhu 95C. Kemudian tabung ditiriskan dan didinginkan pada suhu ruang dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3100 g. Supernatan hasil sentrifugasi di pindah ke kuvet untuk diuji nilai OD menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data dalam bentuk angka hasil perhitungan (kuantitatif) berupa jumlah antioksidan dan nilai skoring perubahan histologi organ otak mencit (nilai kualitatif). Semua data kelompok diolah menggunakan program komputer *SPSS for windows* yang dikemukakan dalam bentuk *Mean ± Standar Deviation*. Data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas, apabila data pengujian terdistribusi normal dan homogen serta memenuhi syarat parametrik maka dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*. Apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$ maka H_0 diterima. Jika terjadi perbedaan data yang tidak memenuhi syarat parametrik (nonparametrik) maka dianalisis dengan menggunakan uji *kruskal-wallis*. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan pada data parametrik ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan* sedangkan untuk data nonparametrik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf signifikan 0,05 untuk mengetahui perbedaan histologi otak dari tiap kelompok perlakuan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Diabetes Melitus Tipe 2 merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan kenaikan gula darah akibat penurunan atau gangguan sekresi insulin oleh sel β pankreas (resistensi insulin) (Departemen Kesehatan, 2005). Diabetes Melitus Tipe 2 adalah penyakit hiperglikemi akibat insensivitas sel terhadap insulin, dan dianggap sebagai non insulin dependent diabetes melitus karena insulin tetap dihasilkan oleh sel β pankreas dengan jumlah sedikit menurun atau dalam rentang normal (Slamet, 2006).

Resistensi insulin banyak terjadi akibat dari obesitas, kurangnya aktivitas fisik, dan penuaan. Pasien yang menderita diabetes tipe 2, dapat juga terjadi produksi glukosa hepatic yang berlebihan, tetapi tidak ada kerusakan autoimun sel β Langerhans seperti diabetes tipe 2, sedangkan kekurangan fungsi insulin pada diabetes tipe 2 hanya relatif, Tidak absolut (Harding, 2003). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh induksi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersulut kitosan terhadap kadar SOD dan MDA otak mencit diabetes. Pengukuran tersebut dapat diketahui dengan menggunakan Kit berupa *Superoxide Dismutase (SOD) typed activity assay kit (hydroxylamine method)* Catalog no. E-BC-K022-S (Elabscience, 2018) dan *Colorimetric Assay Kit (TBA Method)* Catalog no. E-BC-K025-S (Elabscience, 2018).

4.1. Pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersulut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit.

Pengukuran kadar SOD dihitung untuk mengetahui antioksidan endogen di dalam tubuh. Menurut Wresdiyati *et al* (2002) SOD sebagai Antioksidan endogen utama pada sel-sel tubuh yang memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan oksigen yang bersifat toksik dan melindungi sel dari gangguan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan menggunakan reaksi enzimatik agar menjadi produk yang lebih stabil. Rerata nilai kandungan SOD pada otak mencit diabetes yang diinduksi nanopartikel pegagan adalah sebagaimana berikut:

Table 4.1 Rerata pengaruh induksi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes.

| Perlakuan | Ulangan | | | | RERATA ± SD |
|-----------|---------|-------|-------|-------|----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| K- | 11.42 | 12.12 | 12.69 | 12.23 | 12.11 ± 0.52 |
| K+ | 23.08 | 17.20 | 11.19 | 16.97 | 17.11 ± 4.85 |
| N1 | 48.37 | 32.90 | 30.47 | 30.59 | 35.58 ± 8.59 |
| N2 | 43.52 | 33.13 | 34.28 | 33.94 | 36.21 ± 4.89 |
| N3 | 51.95 | 46.87 | 45.94 | 47.10 | 47.96 ± 2.7 |

Berdasarkan table 4.1 dapat diketahui bahwa nilai SOD otak mencit diabetes yang diinduksi nanopartikel pegagan pada N3 memiliki nilai rerata Paling tinggi yaitu 47.96 . Kadar SOD otak mencit diabetes yang diinduksi nanopartikel paling tinggi berturut-turut adalah N3 (47.96), N2 (36.21), N1 (35.58), K+ (17.11), dan K- (12.11). berdasarkan data tersebut kita dapat mengetahui bahwa nanopartikel pegagan memiliki nilai SOD lebih tinggi dari pada kontrol normal. Data rereta kadar SOD yang telah didapat kemudian dilakukan uji statistik dengan SPSS 16.0 *for Windows*. Berdasarkan hasil uji normalitas kadar SOD otak mencit melalui tes *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikansi $0.184 > \alpha = 0,05$ (Lampiran 3), yang mana dapat dinyatakan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas variansi dengan tes *Homogenitas Levene*. Uji Homogenitas menghasilkan data yang signifikansi $0.08 > \alpha = 0,05$ (Lampiran,3), hal tersebut menunjukkan bahwa data terindikasi homogen. Kemudian data dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA menggunakan taraf signifikansi 5%.

Table 4.2 Uji ANOVA pengaruh induksi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes.

| SK | Db | JK | KT | F Hitung | F Tabel (5%) | Sig. |
|-----------|----|----------|---------|----------|--------------|------|
| Perlakuan | 4 | 3497.311 | 874.328 | 33.861* | 2.947 | .000 |
| Galat | 15 | 387.313 | 25.821 | | | |

| | | |
|-------|----|----------|
| Total | 19 | 3884.624 |
|-------|----|----------|

Keterangan: (*) berpengaruh nyata

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui nilai F hitung (33.861) > F tabel (.000) pada taraf signifikansi 5%. Oleh karenanya, dapat diketahui bahwa hipotesis nol (H0) ditolak dan hipotesis 1 (H1) diterima. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa induksi nanopartikel pegagan tersalut kitosan berpengaruh terhadap peningkatan kadar SOD pada otak mencit diabetes.

Tahapan selanjutnya data hasil pengolahan di lakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dan tingkat kepercayaan (α) sebesar 5% (Lampiran,3) untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh maupun yang tidak berpengaruh terhadap kadar SOD otak mencit. Uji lanjut ditentukan berdasarkan nilai koefisien keragaman yang diperoleh yaitu 2,96%. Menurut Hanafiah (2016), Apabila hasil perhitungan menunjuka nilai KK kecil (maksimal 5% untuk data homogen dan maksimal 10% untuk data heterogen), maka data dapat diuji lanjut menggunakan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) atau Tukey. Pengujian BNT diperoleh dari rerata kadar SOD otak mencit sehingga diperoleh notasi BNT dengan tingkat kepercayaan (α) 5% adalah sebagai berikut:

Table 4.3 Uji BNT (5%) pengaruh naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes.

| No | Perlakuan | Rerata \pm Standart Deviasi | Notasi |
|----|--|-------------------------------------|--------|
| 1. | K- (mencit nomal) | 12.11 \pm 0.52 | a |
| 2. | K+ (mencit diabetes) | 17.11 \pm 4.85 | a |
| 3. | N1 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 120 mg/kg BB | 35.58 \pm 8.59 | b |
| 4. | N2 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 180 mg/kg BB | 36.21 \pm 4.89 | b |

| | | | |
|----|--|-------------|---|
| 5. | N3 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 240 mg/kg BB) | 47.96 ± 2.7 | c |
|----|--|-------------|---|

Berdasarkan hasil uji BNT 5% (tabel 4.3) diatas, dapat diketahui bahwa pengaruh induksi naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes pada masing-masing perlakuan yaitu K- (12.11 ± 0.52) memiliki notasi yang sama dengan K+ (17.11 ± 4.85), yang artinya pada kedua perlakuan tersebut memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata. Begitu pula dengan N1 (35.58 ± 8.59) yang memiliki notasi sama dengan N2 (36.21 ± 4.89). secara ringkas dalam hasil Uji BNT ini terbagi menjadi 3 kelompok data yang menunjukkan perbedaan pengaruh yang signifikan antar sesamanya dengan merujuk dari notasi yang ada, ketiga perlakuan tersebut yaitu (K1 dan K2), (N1 dan N2), dan (N3).

Dalam penelitian ini, penggunaan streptozotosin pada hewan coba untuk membuat kondisi diabetes. Pemberian induksi mencit dilakukan secara berturut-turut selama 5 hari dengan *Multiple Low Dosage* (MLD) sebesar 40 mg/kg BB. STZ dilarutkan dalam buffer sitrat (pH 4.5) secara intraperitoneal. Berdasarkan hasil pengamatan kadar antioksidan SOD pada otak mencit yang diinduksi streptozotosin pada kelompok kontrol positif dari penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kadar SOD otak mencit yang mengalami nekrosis setelah diinduksi nanopartikel pegagan (N1, N2, dan N3) mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan mencit normal tanpa perlakuan dan mencit normal yang diinduksi streptozotosin (K- dan K+).

Data yang telah diperoleh dapat diakibatkan karena adanya aktivitas antioksidan setelah induksi nanopartikel pegagan dalam tubuh, secara umum pegagan mengandung senyawa tripenoid yang dapat meningkatkan regenerasi sel. Menurut Ganachari (2004) Pegagan memiliki kelompok triterpenoid yang beragam seperti *alcohol aldehyd* atau *karboksilat* dan *triterpen*, kelompok tersebut dapat diekstraksi dengan *methanol*. Perbedaan kontrol negatif dengan kontrol positif yang memiliki pengaruh tidak berbeda nyata diduga akibat mekanisme tubuh untuk selalu berada dalam keadaan homeostasis. Jumlah *Reaktif Oksigen Spesies* (ROS) yang kecil akan merangsang sintesis protein yang

berperan untuk pertahanan sel antara lain SOD yang berfungsi sebagai antioksidan endogen atau juga karena pemakaian antioksidan yang bertambah dan antioksidan dari luar tubuh terus diberikan.

Dalam penelitian ini digunakan streptozotosin sebagai pemicu terjadinya nekrosis neuron otak hewan coba karena aktivitas streptozotosin yang merupakan salah satu sarana untuk membuat diabetes yang mana akan meningkatkan radikal bebas dan dapat merusak potensial membran sel. streptozotosin merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian streptozotosin merupakan cara yang tepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemia) pada binatang percobaan. Untuk menghindari hal tersebut digunakan dosis yang lebih rendah, sehingga hanya merusak sebagian sel beta pankreas pulau langerhans dosis 40 mg/kg BB dan menurunkan aktivitas kerja enzim *Superoksida* dismutase (SOD).

Diabetes mellitus diindikasikan dengan tingginya kadar glukosa dalam darah. Pengaturan kadar glukosa dalam darah berkaitan erat dengan jumlah insulin dan sensitifitas reseptor insulin. Rendahnya produksi insulin mengakibatkan terganggunya keseimbangan kadar glukosa dalam tubuh. Diabetes mellitus juga berperan dalam penurunan fungsi dan struktur pada system saraf tepi dan system saraf pusat. Banyak kerusakan yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif sel otak pada diabetes karena tingginya kerusakan lipid pada otak, sehingga menyebabkan terjadinya gangguan pada membran dan berakibat terjadinya neurodegenerasi (Tehranipour dan Erfani, 2011).

Menurut Wibowo (2009), komplikasi pada diabetes mellitus dapat diawali dari kondisi hiperglikemi, yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas dalam darah serta memudahkan terjadinya inflamasi pada dinding pembuluh darah. Radikal bebas yang beragam akan bereaksi dengan komponen seluler seperti karbohidrat asam amino, DNA, fosfolipid mengakibatkan percepatan kematian sel. Selanjutnya akibat hipoksia dan keseimbangan ion Ca^{++} yang terganggu serta keberadaan radikal bebas akan merusak fungsi *mitochondria* di otak. Radikal bebas dapat dinetralisir oleh senyawa antioksidan eksogen maupun endogen. Antioksidan endogen berperan penting dalam tubuh karena dapat menetralisasi

radikal bebas dalam tubuh dengan cara memberikan satu elektronnya sehingga terbentuklah molekul yang setabil dan mengakhiri reaksi radikal bebas.

Kondisi tubuh dipengaruhi oleh antioksidan internal yang bertugas untuk menghindari terjadinya stress oksidatif berupa ketidak keseimbangan oksigen radikal dan non-radikal yang dapat merusak sel-sel dengan berbagai mekanisme. Antioksidan dapat diperoleh dari tubuh dalam bentuk enzim, antara lain *Superoksida dismutase (SOD)*, *glutathione peroksidase (GSH-Px)* dan katalase. Ketiga senyawa tersebut bekerja dengan cara menghilangkan potensi radikal atau dengan cara mentransformasikan *Reactive Oksigen Species (ROS)* menjadi senyawa yang relative stabil (Kumalaningsih, 2008). Selain itu antioksidan juga dapat diperoleh dari produk alami seperti rempah-rempah, sayuran herbal, buah dan juga terdapat pada tanaman pegagan.

Antioksidan akan menangkap radikal bebas yang dihasilkan selama tahap propagasi yang akan merusak lemak. Kemampuan antioksidan untuk mendonorkan hidrogen merupakan aktivitasnya sehingga mampu memperlambat oksidasi. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid sangat bergantung pada jumlah dan lokasi gugus fenolik (-OH) yang berperan untuk menetralkan radikal bebas (Algameta, 2009). Enzim antioksidan intrasel seperti *superoksida dismutase (SOD)*, *glutathione peroksidase (GSH-Px)* dan katalase merupakan antioksidan endogen yang berperan penting dalam melindungi terhadap kerusakan oksidatif. Enzim ini bekerja dengan cara mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

SOD terkenal sebagai enzim serta antioksidan endogen (Kabel, 2014). Karenanya SOD digunakan sebagai indikator pembentukan senyawa radikal dengan molekul tubuh (Mukholifah, 2015). Ketika keadaan normal, kadar SOD di dalam tubuh cenderung seimbang antara antioksidan dan radikal bebas (Dewi, 2008). Keseimbangan ini akibat adanya aktivitas antioksidan enzimatik yaitu perubahan radikal bebas menjadi senyawa lain yang tidak membahayakan tubuh. Salah satunya yaitu superoksida dismutase (SOD), SOD mengkatalisis reaksi dismutasi radikal bebas anion superoksida (O_2^-) menjadi H_2O_2 dan molekul oksigen sehingga tidak berbahaya bagi sel (Halliwell, 2006).

Ketidakseimbangan antara pembatasan aliran elektron dan input elektron yang tinggi mengakibatkan reduktivitas yang berlebih pada kompleks I dan III rantai respirasi, hal ini menjadi dasar kompleks-kompleks yang tereduksi bereaksi dengan oksigen untuk membentuk *reactive oxygen species* (ROS). Mukholifah (2015) menambahkan bahwa penurunan oksigen pada kompleks I dan III akan menghasilkan radikal anion superoksida yang nantinya akan terdismutasi menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen dalam intraseluler oleh enzim superoksida dismutase (MnSOD).

Untuk menghindari penurunan Kadar SOD maka diperlukan sarana penghantar obat yang dapat secara efektif menyalurkan obat secara optimal. Dalam penelitian ini dilakukan induksi pegagan secara nanopartikel pada perlakuan N1, N2, N3.. Perlakuan N3 merupakan nanopartikel pegagan yang memberikan pengaruh paling optimal. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Sufiana (2014) bahwasanya kandungan konsentrasi zat bioaktif yang tinggi pada tanaman, maka semakin tinggi pula daya kerja antioksidannya.

Puspadewi (2013) mengemukakan bahwa kandungan metabolit sekunder dari pegagan adalah sebagai berikut : kuinon, triterpenoid, antosianin, flavonoid dan eleutherine. I Wayan (2012) menambahkan bahwa flavonoid dari pegagan secara tidak langsung meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktifitas *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga dapat meningkatkan gen dalam sintesis enzim antioksidan endogen. Bhuiyan (2009) menjelaskan bahwa Nrf2 adalah pengatur utama dalam keseimbangan redoks seluler.

4.2. Pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit.

Pengukuran kadar MDA bertujuan untuk mengetahui radikal bebas di dalam tubuh. Menurut Halliwell, (2003) MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, terbentuk dari degradasi radikal bebas hidroksil (OH^\cdot) terhadap asam lemak tak jenuh yang selanjutnya dirubah menjadi radikal yang sangat reaktif. Tahap awal terbentuknya MDA ketika radikal bebas oksigen (O_2^\cdot) dihasilkan melalui reaksi enzimatik dan non-enzimatik. monosit, makrofag, dan

polimorfonuklir merupakan se-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas O_2 dan H_2O_2 . Rerata nilai kandungan MDA pada otak mencit diabetes yang diinduksi nanopartikel pegagan adalah sebagaimana berikut:

Table 4.4 Rerata pengaruh naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes.

| Perlakuan | Ulangan | | | | RERATA \pm SD |
|-----------|---------|-------|-------|-------|--------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| N1 | 10.09 | 12.12 | 13.21 | 11.94 | 11.84 \pm 1.29 |
| N2 | 13.97 | 12.59 | 12.21 | 12.41 | 12.79 \pm 0.79 |
| N3 | 15.06 | 14.09 | 11.65 | 11.21 | 13 \pm 1.86 |
| K- | 14.21 | 14.47 | 12.94 | 12.82 | 13.61 \pm 0.85 |
| K+ | 18.65 | 14.12 | 14.41 | 14.38 | 15.39 \pm 2.17 |

Berdasarkan table 4.4 dapat diketahui bahwa nilai MDA otak mencit diabetes yang diinduksi nanopartikel pegagan pada N3 memiliki nilai rerata rendah yaitu 13. Kadar MDA otak mencit diabetes yang diinduksi nanopartikel paling rendah tertinggi berturut-turut adalah N1 (11.84), N2 (12.79), N3 (13), K- (13.61), dan K+ (15.39). berdasarkan data tersebut kita dapat mengetahui bahwa nanopartikel pegagan memiliki nilai MDA lebih rendah dari kontrol normal. Data rerata kadar MDA yang telah didapat kemudian dilakukan uji statistik dengan SPSS 16.0 *for Windows*. Berdasarkan hasil uji normalitas kadar MDA otak mencit melalui tes *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikansi $0.173 > \alpha = 0,05$ (Lampiran 4), yang mana dapat dinyatakan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas variansi dengan tes *Homogenitas Levene*. Uji Homogenitas menghasilkan data yang signifikansi $0.127 > \alpha = 0,05$ (Lampiran,), hal tersebut menunjukkan bahwa data terindikasi homogen. Kemudian data dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA menggunakan taraf signifikansi 5%.

Table 4.5 Uji ANOVA pengaruh induksi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes.

| SK | Db | JK | KT | F Hitung | F Tabel (5%) | Sig. |
|-----------|----|--------|-------|----------|--------------|------|
| Perlakuan | 4 | 27.742 | 6.936 | 3.079* | 3.079 | .049 |
| Galat | 15 | 33.793 | 2.253 | | | |
| Total | 19 | 61.535 | | | | |

Keterangan: (*) berpengaruh nyata

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui nilai F hitung (3.079) > F tabel (.000) pada taraf signifikansi 5%. Oleh karenanya, dapat diketahui bahwa hipotesis nol (H0) ditolak dan hipotesis 1 (H1) diterima. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa induksi nanopartikel pegagan tersalut kitosan berpengaruh terhadap peningkatan kadar MDA pada otak mencit diabetes.

Tahapan selanjutnya data hasil pengolahan di lakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNT) dan tingkat kepercayaan (α) sebesar 5% (Lampiran,4) untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh maupun yang tidak berpengaruh terhadap kadar MDA otak mencit. Uji lanjut ditentukan berdasarkan nilai koefisien keragaman yang diperoleh yaitu 2,96%. Menurut Hanafiah (2016), Apabila hasil perhitungan menunjuka nilai KK kecil (maksimal 5% untuk data homogen dan maksimal 10% untuk data heterogen), maka data dapat diuji lanjut menggunakan uji BNT (Beda Nyata Jujur) atau Tukey. Pengujian BNT diperoleh dari rerata kadar MDA otak mencit sehingga diperoleh notasi BNT dengan tingkat kepercayaan (α) 5% adalah sebagai berikut:

Table 4.3 Uji BNT (5%) pengaruh induksi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes.

| No | Perlakuan | Rerata \pm Standart Deviasi | Notasi |
|----|--|-------------------------------------|--------|
| 1. | N1 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 120 mg/kg BB) | 11.84 \pm 1.29 | a |
| 2. | N2 (induksi STZ + nanopartikel) | 12.79 \pm | ab |

| | | | |
|----|--|-----------------|----|
| | pegagan 180 mg/kg BB | 0.79 | |
| 3. | N3 (induksi STZ + nanopartikel pegagan 240 mg/kg BB | 13 ± 1.86 | ab |
| 4. | K- (mencit normal) | 13.61 ± 0.85 | ab |
| 5. | K+ (mencit diabetes) | 15.39 ± 2.17 | b |

Berdasarkan hasil uji BNT 5% (tabel 4.3) diatas, dapat diketahui bahwa pengaruh induksi naopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes pada masing-masing perlakuan yaitu N1 (11.84 ± 1.29) memiliki notasi yang sama dengan N2 (12.79 ± 0.79), yang artinya pada kedua perlakuan tersebut memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata. Begitu pula dengan N3 (13 ± 1.86) dan K- (13.61 ± 0.85)). Sedangkan pada N1 (11.84 ± 1.29) dan K+ (15.39 ± 2.17) menunjukkan perbedan pengaruh yang signifikan yang ditunjukkan oleh notasi kedua perlakuan tersebut dibandingkan perlakuan yang lainnya.

Potensi N2 terhadap penurunan kadar MDA otak mencit memiliki pengaruh yang sama dengan N1 dan N3. Hal ini biasa disebabkan karena konsentrasi nanopartikel pegagan pada N1 dan N3 yang terlalu tinggi sehingga meningkatkan kerja insulin dalam tubuh yang menyebabkan kadar MDA otak mencit menjadi menurun. Hal ini berberbanding lurus dengan pernyataan Alaiyah (2015) bahwa semakin tingi kosentrasi dosis yang dikonsumsi maka semakin cepat pula penurunan MDA dalam tubuh. Nurhidayah (2009) menambahkan bahwa semakin besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat mempengaruhi laju oksidasi. Masrifah (2017) menguatkan bahwa pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi bergantung pada kondisi, struktur antioksidan, dan sampel yang diuji.

Hasil analisis menandakan keberhasilan induksi ekstrak pegagan dan nanopartikel pegagan yang diberikan. Hal ini dapat diketahui dari tinggi rendahnya kadar MDA sebagai tolak ukur jumlah radikal bebas yang terkandung dalam tubuh (Ngadiwiyana, 2011). Sedangkan pada K+ dengan kadar nilai yang

tinggi menunjukkan bahwa mencit yang diinduksi streptozotosin memiliki potensi yang lebih tinggi dalam memicu peningkatan radikal bebas reaktif oksigen spesies (ROS) dari pada K- yang tidak diinduksi streptozotosin. Tingginya radikal bebas ini akan meningkatkan pemakaian enzim SOD, GSH-Px dan katalase sehingga kemampuan enzim antioksidan yang ada di dalam sel berkurang untuk menetralkan *reaktif oksigen spesies* (ROS).

Soeharto (2008) mengemukakan bahwa radikal bebas merupakan molekul atau atom yang tidak stabil dan sangat tinggi reaktif akibat adanya elektron tidak berpasangan, secara umum radikal bebas terbagi menjadi 2 yaitu radikal berbasis oksigen dan radikal berbasis nitrogen. Manco (2008) menyatakan bahwa radikal bebas oksigen, seperti radikal hidroksil, superoksida, dan radikal peroksil, dengan penambahan non-radikal, seperti asam hipoklorit, hidrogen peroksida dan ozon, dinyatakan sebagai spesies oksigen reaktif (ROS), yang didapat saat proses metabolisme oksigen. Wijayanti (2018) menambahkan bahwa selama proses Ulcerative Colitis maka ROS terbentuk sebagai dampak dari penumpukan mediator inflamasi berupa TNF- α .

Produksi TNF- α yang semakin banyak menyebabkan peningkatan produksi ROS dan peroksida lipid dalam menghasilkan MDA. Mukherjee (2011) menyatakan bahwa ROS mengoksidasi asam lemak tidak jenuh sehingga menyebabkan lipid peroksidasi membentuk *4-hydroxynonenal* (HNE) dan *malondialdehyde* (MDA). Chicho (2014) menambahkan bahwa MDA merupakan salahsatu senyawa toksik yang dihasilkan ketika proses peroksida lipid akibat adanya pemutusan rantai karbon asam lemak. Menurut Sakaguchi (2011) perambatan peroksida lipid menjadi lipid hidroperoksida memiliki karakteristik yang stabil. Tetapi jika terjadi transisi metal, maka radikal peroksi (L-O*) akan mengkatalisa substitusi tersebut sehingga membentuk MDA sebagai produk akhir. Oleh karena itu, pengukuran kadar MDA digunakan sebagai biomarker untuk pembentukan radikal bebas (Wu, 2009).

Menurut Muchtaromah (2010), kondisi diabetes dalam waktu yang lama (kronis) dan tidak segera mendapatkan pengobatan dapat menyebabkan kematian sel otak. Kematian sel otak dapat diakibatkan oleh berbagai hal, salah satunya adalah nekrosis. Penyakit Alzheimer merupakan penyakit menurunnya

kemampuan fungsi otak secara berangsur-angsur karena menghilangnya sel-sel otak ataupun karena adanya sel yang abnormal. Sel-sel abnormal ini akan bertumpuk membentuk *Neurofibrillary tangles* (NFTs) di tengah dan di luar sel otak. Sel-sel abnormal itu mengganggu jalannya pesan-pesan di dalam otak dan merusak hubungan antar sel otak. Sel otak pada akhirnya mati dan ini berarti tidak dapat diterima atau dicerna. Karena penyakit Alzheimer berefek pada setiap area di otak, fungsi-fungsi atau kemampuan-kemampuan tertentu hilang. Salah satu kemampuan yang hilang yaitu kemampuan kognitif yang dikendalikan oleh *cerebrum* (Hernandez, 2007).

Senyawa antioksidan digunakan untuk menghambat proses oksidasi, salah satunya adalah senyawa flavonoid. Flavonoid pada *centella asiatica* sebagai inhibitor enzim HMG-KoA reduktase yang mensintesis kolesterol penyebab peroksida lipid menjadi menurun. Flavonoid sedikitnya memiliki dua gugus hidroksil pada posisi para dan orto, serta termasuk dalam antioksidan dengan aktivitas yang tinggi (Kuntorini, 2013). Flavonoid pada pegagan memiliki turunan kuinon sebagai antioksidan yang berperan sebagai akseptor elektron (Kuntorini, 2010). Antioksidan tersebut memiliki kemampuan untuk berikatan dengan radikal bebas (Taheri, 2012). Flavonoid mereduksi atom logam dan melepaskan ion hidrogen secara langsung sehingga mampu menetralkan efek toksik radikal bebas.

Hasil penelitian Kefer (2009) menjelaskan mekanisme radikal lipid yang tidak stabil berubah menjadi stabil akibat triterpenoid yang menangkap radikal bebas, yang mana triterpenoid merupakan kandungan dalam tumbuhan sebagai antioksidan alami. Karakteristik triterpenoid yaitu mampu memodifikasi enzim MDA endogen, karenanya radikal bebas mengalami konversi ikatan atomnya menjadi ikatan lebih stabil (Alaiya, 2015). Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini, yang mana kadar MDA pada otak mencit meningkat dan kadar MDA pada otak mencit menurun. Selain itu Nuranti (2015) menambahkan bahwa alkaloid pada pegagan memiliki fungsi yang sama dengan flavonoid yaitu sebagai pendonor ion hidrogen.

Yuswi (2017) menjelaskan bahwa pegagan memiliki antosianin yaitu senyawa fenol turunan dari flavonoid. Tubuh yang memiliki kadar antosianin yang tinggi di dalam tubuh dapat berubah menjadi prooksidan. Prochazkova (2011)

menambahkan bahwa antosianin ini mengoksidasi substrat dan berpotensi menimbulkan radikal bebas baru. Selain itu pegagan memiliki bahan aktif dalam pegagan bekerja baik untuk meningkatkan granulasi jaringan, protein dan total kolagen. Hal ini didukung oleh Arpia (2007) Bahwa bahan aktif pegagan juga sangat berpengaruh pada perkembangan jaringan-jaringan konektif pada pembuluh darah, pegagan memiliki kemampuan untuk memperbaiki kerusakan saraf khususnya bagian axon lebih cepat dari pada kelompok perlakuan kontrol.

Menurut Kumar (2011) Efek farmakologi dari pegagan diantaranya adalah sebagai tonik stimulus bagi saraf, regenerasi, sedative dan bersifat dapat meningkatkan intelegensi. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dilibatkan sebagai pelindung bagi dendrit neuron di daerah hippocampus dan amygdala. Tanaman ini juga dapat digunakan untuk menyembuhkan anak yang mengalami keterbelakangan mental. Tanaman ini juga dapat menurunkan stress oksidatif. *Asiaticoside*, merupakan bahan aktif yang terdapat dalam pegagan yang digunakan sebagai pengobatan demensia dan meningkatkan fungsi kognitif (Kumar et.al., 2011). Peningkatan kadar MDA serta penurunan kadar MDA berpusat pada perbaikan kondisi stress oksidatif, oleh karenanya diperlukan suatu keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas yang ada didalam tubuh untuk mencegah timbulnya stress oksidatif dan kerusakan jaringan pada tubuh.

Berdasarkan kemanfaat tumbuhan yang memiliki kandungan antioksidan yang tersedia di alam, Allah SWT akan menyembuhkan hambanya dari suatu penyakit apabila mereka selalu berusaha dan bertawakal untuk kesembuhannya. Salah satu usaha untuk menari kesembuhan adalah dengan berobat, baik kepada tabib ataupun dengan mengkonsumsi obat. Allah SWT berfirman dalam QS. Ar-ra'du ayat 11 sebagai mana sebagai berikut:

لَهُ مُعَقِّبَاتٌ مِّن بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنفُسِهِمْ ۗ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ ۗ وَمَا لَهُمْ مِّن دُونِهِ مِن وَالٍ

Artinya: Bagi manusia ada malaikat-malaikat yang selalu mengikuinya bergiliran, di muka dan di belakangnya, maka menjaganya atas perintah Allah. Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka

mengubah keadaan yang ada pada mereka sendiri. Dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap suatu kaumnya, dan sekali-sekali tak ada pelindung bagi mereka selain dia (QS: Ar-Ra'du [13]: 11).

Ayat ini menunjukkan makna bahwasanya segala perbuatan manusia selalu diawasi oleh para malaikat yang mencatat amal ibadah yang dilakukannya baik itu siang maupun malam, dan Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum atau seseorang melainkan mereka berusaha untuk kebaikan mereka sendiri. baik dalam kesehatan maupun ilmu pengetahuan. Akan tetapi apabila Allah menghendaki suatu keburukan dan manusia yang tidak mau berusaha serta berputus asa, maka manusia itu tidak akan bias menghindari keburukan yang akan menimpanya.

Hal tersebut selaras dengan Saifudin, dkk. (2010) bahwasanya Allah SWT menjelaskan nasib suatu manusia atau kaum bergantung amal perbuatan mereka sendiri. Ditakrifkan dalam tafsir Al-Muyassar bahwa setiap hamba mempunyai malaikat-malaikat yang telah diperintahkan oleh Allah untuk menjaganya secara silih berganti serta mencatat dan menghitung segala amalperbuatan yang dilakukannya. Dan Allah tidak akan mengubah atau mengurangi nikmat yang telah diberikan kepadanya, kecuali mereka melanggar perintah dari Allah. Mereka tidak memiliki penolong selain Allah SWT dalam menjauhi keburukan dan mencari kebaikan (Shalih, 2013).

Berkaitan dengan ayat Ar-Ra'du ayat 13 bahwa Allah telah menunjukan beberapa tanda kekuasaan-Nya (nikmat dan azab) sebagai ujian untuk hambanya atas keimanan mereka. Apabila dia kafir kepada kuasa Allah, maka dia akan berada dalam kesesatan dan tidak memperoleh kemanfaatan apapun (Saifudin, dkk., 2010). Karenanya dalam penelitian ini selain sebagai pengetahuan diharapkan menjadi sarana untuk mengembangkan bahan obat antioksidan secara nano untuk mendukung kesehatan manusia. Serta manusia hendaknya selalu berusaha dan belajar dan menjauhi berputus asa sebagai bentuk syukur atas karunia yang telah diberikan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian nanopartikel pegagan berpengaruh terhadap peningkatan kadar SOD pada otak mencit. Dosis perlakuan nanopartikel pegagan yang paling berpengaruh terhadap peningkatan kadar SOD pada otak mencit adalah N3.
2. Pemberian nanopartikel pegagan berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada otak mencit. Dosis perlakuan nanopartikel pegagan yang paling berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada otak mencit adalah N3.

5.2 Saran

Adapun Saran untuk pengembangan penelitian selanjutnya yaitu :

1. perlu dilakukan uji insilico untuk mesinkronkan hasil dari uji invivo, sehingga akan memerkuat kebenaran terhadap hasil penelitian.
2. Perlu dilakukan uji histologi otak mencit yang diberi perlakuan untuk mengetahui kerusakan pada jaringan otar yang diakibatkan oleh radikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboitiz, F. et.al. 2003. The evolutionary origin of the mammalian isocortex: Towards an integrated developmental and functional approach". *Behav. Brain Sciences*. 26 (5): 535–52.
- Agarwal, Ashok.,2005 Oxidative stress and antioxidants in male infertility: a difficult balance. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* Vol. 3, No.1 : 1-8.
- Agarwal, Megha, Mukesh Kumar Agarwal1, Nalini Shrivastav, Sarika Pandey, Ritu Das, dan Priyanka Gaur. 2018. Preparation of Chitosan Nanoparticles and their In-vitro Characterization. *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res.*
- Agnihotri, S., Malikarjuna, N. & Aminabhavi, T. 2011. Recent Advances on Chitosan-Based Miro and Nanoparticles in Drug Delivery. *J. of Controlled Release*, Volume 100, pp. 5-28.
- Akbar, Budhi. 2010. Tumbuhan dengan Senyawa Aktivitas yang Berpotensi sebagai bahan antifertilitas. Jakarta : Adabia Press.
- Al Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al Qurthubi*. Jakarta : Pustaka Azzam.
- Al Quthb, Sayyid. 2004. *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an*. Jakarta : Gema Insani.
- Al-Ali, Samer Hasan Hussein, Aminu Kura, Mohd Zobir Hussein, dan Sharida Fakurazi. 2016. Preparation of Chitosan Nanoparticles as a Drug Delivery System for Perindopril Erbumine. *Polymer Composites*, 39(2).
- Algameta, Elfara Diaz. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Tablet Everescent Dewandaru (*Eugenia unifolia* L.) dan Sambiloto (*Andrographis paniculate* L.) pada Tikus yang Dibebani Glukosa. Skripsi. Solo: UMS.

Allan. 2006. A Possible Link Between Alzheimer's Disease and diabetes Part XXVII of a XXVII Article on AD. *www.therubins.com*. Diakses tanggal 7 Juni 2011.

Al-Qur'an Al-Karim.

Amalia, Rizki. 2009. Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Efek Sedasi pada Mencit Balb/c. *Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan*. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

American Diabetes Association. 2015. Diabetes Care. The Journal of Clinical and Applied Research and Education. Vol 38.

Annisa, Chyntia, Fabianto, 2014, Hipoksia Berpeluang Mencegah Kerusakan Sel β Pankreas pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2: Tinjauan Biologi Molekular, vol 41 No 3.

Argawal, A., Aponte-Mellado,A., Premkumar,B.J Shaman,A. Dan Gupta,S. 2012.The Effects of Oxidative Stress on Female Reproduction: AReview. *Eproductive Biology andEndocrinology*

Arifin, Muhammad bin Badri MA. 2011. Syarat Pengobatan yang Manjur: Almanhaj (dari Majalah Al-Furqan, Edisi VIII, 1432 H. Lajnah Dakwah Ma'had Al-Furqon Al-Islami). *almanhaj.or.id* (Diakses pada 25 Juni 2020).

Ariyandi, N., Sudaryanto & M. Kurniati, dkk. 2007. Pembuatan Nanosfer Berbasis Biodegradabel Polilaktat (PLA) dengan Metode Ultrasonik. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 8 (2): 182-186.

Arpia. Dkk. 2007. *Centella asiatica*. *Alternative Medicine Review*. Volume 12 Number 1.

- Arulselvan, S., Perumal Pillai, E.B., Subramanian, K. and Santhakumar, A.R. 2006. "Strength Behaviour in Brick Joints". Proceedings of National Conference on 2006 Coimbatore Institute of Technology.
- Azzahra, Atika. 2018. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng). Skripsi. Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Az-Zuhaili, Wahbah. 1422 H. Tafsir Al-Wajiz ala Hamisyil Qur'anil 'Adziimi wa ma'ahu Asbabun Nuzuuli wa Qowaa'idu At-Tartiil. Penerjemah: Much. Alfi Nazlil Chanif. Darul Fikri al-Ma'asir. tafsirweb.com (Diakses 10 Agustus 2019, pukul 15.30).
- Basera, K., Bhatt G. & Kothiyal P. *et al.* 2015. Nanomulgel: A Novel Formulation Approach for Tropical Delivery of Hydrophobic Drugs. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4 (10): 1872-1876.
- Bhuiyan, M.A.R., M. Z. Hoque and S.J. Hossain. 2009. Free Radical Scavenging Activities Of *Zizyphus maaurtiana*. *World Journal Agricultural Sciences*. 5(3).
- BPOM-Balai Pengawasan Obat Makanan. (2010). Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia Badan Pengawas Obat Makanan RI.
- Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, 2008, Diagnosis of neurological disease. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, eds. *Bradley: Neurology in Clinical Practice*. 5th ed. Philadelphia, Pa: Butterworth-Heinemann Elsevier; 2008:chap 1.
- Brotowidjoyo, Mukayat D. 2010. *Taksonomi Hewan Vertebrata*. Jakarta : Erlangga.
- Buzea, C, Phacheco II, RoBBie K. 2007. Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases*., 2(4): 17-71.

- Cambell, N.E. and Reece, J.B. Biologi Edisi Kedelapan Jilid 3. Jakarta. Penerbit Erlangga.
- Christyaningsih J, Suwandito, Purnomo SU. 2003. Pengaruh suplementasi vitamin E dan C terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dalam eritrosit tikus yang terpapar asap rokok kretek. JBP 5: 87-91.
- Dalimartha,, Setiawan. 2003. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid 3. Jakarta, Puspa Swara
- Danusantoso H (2003). Peran radikal bebas terhadap beberapa penyakit paru. Jurnal kedokteran trisakti. Jurnal kedokteran trisakti, 22(1): 31-36.
- De Groot, Jack. 1997. Neuroanatomy Korelatuf. Jakarta: EGC.
- De Jong Wim H. dan Borm Paul J. A. 2008. Drug Delivery and Nanoparticles: Applications and Hazards. Int J Nanomedicine., 3(2): 133–149.
- Delie, F. & Blanco, M. J., 2005. Polymeric Particulate to Improve Oral Bioavailability of Peptide Drugs. Molecules, Volume 10, pp. 65-75.
- Dellman, H.D., and Brown, E.M. 1989. Buku Teks Histologi Veteriner. Edisi ke-3. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- DepKes RI, 2005, Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Meliitus Direktorat Bina Farmasi Komunitas Dan Klinik, Direktorat Jendral Bina Kefarmasian Dan Alat Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, 21-34, Jakarta.
- Dewi, S. 2008. Ekspresi Gen Manganese Superoxide Dismutase pada Jantung, Otak, dan Darah Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik. *Tesis*. Fakultas Kedokteran. Jakarta. Universitas Indonesia.
- Ditjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 3-5, 10-11.

- Djari, Ponco. 2005. Pengaruh Pemberian Antioksidan Likopen, Karoten dan Vitamin C dalam Melawan Sinar UV. *Artikel Penelitian Bagian Biokomia UMM*. Malang: UMM Press.
- Doerflinger DMC. Mental status assessment in older adult: MoCA versi 7.1. Boltz M, editor. 2012.
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
- Duss, Peter. 1996. *Diagnosis Topik Neurologi-Anatomi, Fisiologi, Tanda, Gejala*. Jakarta: EGC.
- Eleazu, Chinedum Ogbonnaya, Kate Chinedum Eleazu, Sonia Chukwuma, dan Udem Nelson Essien. 2013. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journa of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(1): 60.
- Emilan, Tommy, Ashfar K. & Budi U., dkk. 2011. *Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Eroschenko, Victor P. 2003. *Atlas Histologi di Fiore*. Jakarta: EGC.
- Eroschenko, Victor.P. 2007. *difiore's Atlas of Histology with Functional Correlations 17th Edition*. Philadelphia. Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams and Wilkins.
- Etuk, E.U. (2010). *Animals Models for Studying Diabetes Mellitus*. *Agriculture and Biology Journal of North America*.1(2):130-134.
- Fan, W., Yan W, Xu Z & Ni H, 2012. Formation Mechanism of Monodisperse, Low Molecular Weight Chitosan Nanoparticles by Ionic Gelation Technique. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 1(90), pp. 21-27.

- Ganachari, M.S. et.al. 2004. Neuropharmacology of an Extract Derived from *Centella asiatica*. *Pharmaceutical Byology* 42:3. 246-252.
- Ganong, WF. 2008, *Fisiologi Kedokteran Edisi 22*. Jakarta : EGC.
- Gayathri, V., P. Lekshmi, dan R. Winarto N. Padmanabhan. 2011. Anti-diabetic Activity of Ethanol Extract of *Centella asiatica* (L.) Urban (Whole Plant) in Streptozotocin-induced Diabetic.
- Ginting, E. 2013. Carotenoid Extraction Of Orange-Fleshed Sweet Potato And Its Application As Natural Food Colorant. *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 24.
- Gohil, Kahsmira J., Jagruti A. Patel and Anuradha K. Gajjar. 2010. Pharmacological Review on *Centella asiatica*: A Potential Herbal Cureall. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol 1.
- Gohil, Kashmira J., Jagruti A. Patel dan Anuradha K. Gajjar. 2010. Pharmacological Review on *Centella asiatica*: A Potential Herbal Cure-all. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(5).
- Goleman, D. 1995. *Emotional Intelligence: Why it Can Matter More Than IQ*. New York: Bantam Book.
- Goodman Dan Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi Volume 2*. Terjemahan. Amalia Hanif. Jakarata: EGC
- Goud, Busineni Jayasimha, Dwarakanath.V, dan B.K.Chikka swamy. 2015. Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models. *International Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Research*, 31(1).
- Groop LC. 2001. *Type 2 diabetes mellitus: Pathogenesis and Treatment*. In *Endocrinology and Metabolism*. Mc Graw-Hill, England. 2001: pp 607-14.

- Gustaviani, Reno. 2006. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi IV: Diagnosa dan Klasifikasi Diabetes Millitus. Jakarta: FKUI.
- Guterres, S., Alves, M. & Pohlmann, A., 2007. *Polymeric Nanoparticles; Nanospheres and Nanocapsules for Cutaneous Applications, Drug Target Insights*. p. 147–157
- Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, Sadowski J, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM, 2002, Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, , 105(14):1656-1662.
- Halliwell B. 2006. Reactive Spesies and Antioxidants. Rodox biology is a fundamental thema of aerobic life. *Plant Physiology* 141: 312-322.
- Halliwell, 2003 *Free Radical in Biology and Medicine*, New York.: Oxford University Press,.
- Halliwell, 2003 *Free Radical in Biology and Medicine*, New York.: Oxford University Press.
- Han, Xue, Yu-Long Tao, Ya-Ping Deng , Jia-Wen Yu , Jian Cai , Guo-Fei Ren dan Yuan Nan Sun , Guo-Jun Jiang. 2017. Metformin Ameliorates Insulitis in STZ-induced Diabetic Mice. *PeerJ.*, 5.
- Harding, Anne Helen, 2003. Dietary Fat adn Risk of Clinic Type Diabetes. *American Journal of Epidemiology*. 15(1).
- Hartono R. 1989. *Histologi Veteriner*. Bogor. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat Institut Pertanian Bogor.
- Hartono R. 1989. *Histologi Veteriner*. Bogor. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat Institut Pertanian Bogor.

- HeBBar, Srinivas. 2019. RP-HPLC Method Development and Validation of Asiatic Acid Isolated From the Plant *Centella asiatica*. *Int J App Pharm.* Vol 11. Issue 3.
- Heffner, Linda J. dan Danny J. Schust. 2008. *At A Glance Sistem Reproduksi* (Penerjemah: Vidhia Utami). Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Hermanus, D.K.N. 2012. Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Kulit Kayu Mahoni (*Switenia macrophylla* King.) sebagai Bahan Suplemen Antihiperkolestromia. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institusi Pertanian Bogor.
- Hernandez, F and Avila J. 2007. Tauopathies. *Cellular Molecular Life Sciences.* Vol 64. No 33.
- Hoffman, L., Anderson,G., Sharma,A., Clarke, S., &voelcker, N. (2011). New Insights into the Structure of PAMAM Dendrimer/Gold Nanoparticle Nanocomposites. *Langmuir*, 27(11), 6759-6767.<https://doi.org/10.1021/la1050964>.
- Hu, Z. Chan W. L. dan Szeto Y.S. 2007. Nanocomposite of Chitosan and Silver Oxide and Its Antibacterial Property. *Journal Appl Polym Sci.*, 108: 52-56.
- Huerta PT and Lisman JE. 1993. Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature* . 364 (6439): 723–5.
- Huh, AJ & Kwon YJ. 2011. Nanoantibiotics: A New Paradigm For Treating Infectious Diseases Using Nanomaterials In The Antibiotics Resistant Era. *J Control Release*. 156 (2):128–145.
- Husein, I., dkk., 2011. *Al-Qur'an dan Tafsirnya Jilid IX (Tafsir Tahlili)*. Jakarta: Widya Cahaya (Departemen Agama RI).

- Ide, Pangkalan. 2008. *Gaya Hidup Penghambat Alzheimer*. Jakarta: PT Alex Media Koputindo.
- Indrayana, Rony. 2008. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Salam (*syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) pada Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (ccl4)
- Inoue M, 2001, Protective Mechanisms Against Reactive Oxygen Species, In: Arias IM The Liver Biology And Pathobiology Lippincott Williams and Wilkins 4th ed. Philadelphia.
- Irianto, H. E. & Muljanah, I., 2011. Proses dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan sebagai Penghantar Obat. *Squalen*, 6(1).
- Jackson, JC. et.al . 2006. Hippocampal sharp waves and reactivation during awake states depend on repeated sequential experience. *Journal Neurosci*. 26 (48): 12415–26.
- Jahromi, M. A. M. et. al. 2014. Curcumin-loaded Chitosan Tripolyphosphate Nanoparticles as a Safe, Natural and Effective Antibiotic Inhibits the Infection of *Staphylococcus aureus*.
- Janero DR (1990) Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indexes of lipid-peroxidation and peroxidative tissue-injury. *Free Radic. Biol. Med*. 9: 515-540.
- Jayani, Debby Piara. 2011. Pengaruh Perbedaan Lama Pemberian Diet Kolestrol Terhadap Perlemakan Hati (Fatty Liver) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Jayanti, Henny Dwi. 2007. Pegagan. Karya ilmiah. Padang : Jurusan Kimia Universitas Negeri Padang.
- Juwono, T. 1996. Pemeriksaan Klinik dan Neurologi dalam Praktik. Jakarta: EGC.

- Kabel, Ahmed M. 2014. Free Radical and Antioxidant: Role Of Enzymes and Nutrition. *World Journal Nutrition and Healthy*. 2(3):35-38.
- Kaleem, M. 2006. Antidiabetic and Antioxidant Activity of *Annona squamosa* Extract in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. Aligarh: Aligarh Muslim.
- Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, dan Matsuoka T 2010. Role of Reactive Oxygen Species in the Progression of Type 2 Diabetes and Atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2010. 2010: 453892.
- Kawashima, K. dan Fuji T. 2000. Extraneuronal Cholinergic System in Lymphocytes. *Pharmacol Ther.*, 86(1): 29-48.
- Kencana, A. L. 2009. Perlakuan Sonikasi terhadap Kitosan: Viskositas dan Bobot Molekul. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kevin C, Kregel, Hannah J, Zhang. 2006. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 292:R18-R36.
- Khusnawati, Nikmah Nur., Suwijo Pramono, Ediati Sasmito. 2015. Effect of 50% Ethanolic Extract of Pegagan Herb (*Centella asiatica* (L.) Urban) on Cell Proliferation of Lymphocytes in Balb/c Male Mice Induced By Hepatitis B Vaccine. *Trad. Med. J*. Vol. 20. No. 3.
- Khusnawati, Nikmah Nur., Suwijo Pramono, Ediati Sasmito. 2015. Effect of 50% Ethanolic Extract of Pegagan Herb (*Centella asiatica* (L.) Urban) on Cell Proliferation of Lymphocytes in Balb/c Male Mice Induced By Hepatitis B Vaccine. *Trad. Med. J*. Vol. 20. No. 3.
- Kumalaningsih,S. Antioksidan, Sumber dan Manfaatnya. <http://www.antioxidantcentre.com>. 10 Januari 2012.

- Kumar, Anil. et.al. 2011. Centella asiatica Attenuates D-Galactose-Induced Cognitive Impairment, Oxidative and Mitochondrial Dysfunction in Mice. *International Journal of Alzheimer's Disease*. Vol.9.
- Kumar, MH Veerendra and YK Gupta. 2003. Effect of centella asiatica on Cognition and Oxidative Stress in an Intracerebroventricular Streptozotocin Model of Alzheimer's Disease in Rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and physiology*. 30: 336-342.
- Kumari, A., S. Kumar dan S. K. Yadav. 2012. Nanotechnology: A Tool to Enhance Therapeutic Values of Natural Plant Products. *Trends in Medical Res.*, 7:34-42.
- Kuntorini, E. M., Astuti M.D., Nugroho L.H. 2010. Struktur Anatomi Aktivitas Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) dari Daerah Kalimantan Selatan. *Berk. Penel. Hayati*. 16(1-7).
- Kuntorini, E.M., Astuti M.D., Nugroho L.H. 2009. Structural Development and Bioactive Content of Red Bulb Plant (*Eleutherine americana* Merr.) : A Traditional Medicines For Local Kalimantan People. *Biodiversitas*. 11(2):102-106.
- Kuntorini, Evi Mintowati. 2008. Perkembangan Bulbus dan Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) serta Kandungan Senyawa Bioaktif Turunan Naftokuinon. *Tesis*. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Lachman, Jaromir., 2009. Major factors influencing antioxidant contents and antioxidant activity in grapes and wines. *International Journal of Wine Research*. Vol 1. No 1.
- Lasmadiwati, Endah. 2004. Pegagan : Meningkatkan Daya Ingat, Membuat Awet Muda, Menurunkan Gejala Stress dan Meningkatkan Stamina. Jakarta : Penebar Swadaya.

- Lee, M.K, *et.al.* 2000. Asiatic Acid Derivatives Protect Cultured Cortical Neurons From Glutamate Induced Exitotoxicity. *Res. Coummum. Mol. Pathol. Phamacol.* 108: 7586.
- Leily Amalia, Ikeu Ekayanti. 2007, Effectiveness of Various Antioxidant Supplements on Reducing Oxidative Status (Level of Plasma Malondialdehyd (MDA) among Extension Students of Bogor Agriculture University).
- Leksono, Amien S. 2011. Keanekaragaman Hayati. Malang: UB Press.
- Liu, Y, Tee J.K. & Chiu G.N. 2015. Dendrimers In Oral Drug Delivery Application: Current Explorations, Toxicity Issues And Strategies For Improvement. *Curr Pharm Des.*21 (19): 2629-2642.
- Lucida, Henny. 2015. Abstrak Book: Nanopartikel Untuk Sediaan Farmasi. Pertemuan Ilmiah Tahunan & RAKERNAS IAI 2015. Sumatera Selatan. (http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/35774/1/ISMIAR_NI%20KOMALA%20-%20FKIK). Diakses 13 Agustus 2019, pukul 07.42.
- Malsch N. H. 2005. Biomedical Nanotechnology. New York: Taylor & Francis Group.
- Manco, M., Bottazo G.F., Devito R., Marcellini M., Mingrone G., dan Nobili V. 2008. Nonalcoholic Fatty Liver Disease In Children. *Journal of American College of Nutrition.* 27(6).
- Mardiati R. 1996. Buku Kuliah Sistem Otak Manusia. Edisi ke 1. Jakarta. CV Agung Setyo.
- Mardliyati, E., Muttaqien, S. E. & Setyawati, D. R., 2012. *Sintesis Nanopartikel Kitosan-Tripolyphosphate dengan Metode Gelasi Ionik: Pengaruh Konsentrasi dan Rasio Volume terhadap Karakteristik Partikel.* Serpong, Pusat Teknologi Farmasi dan Medika - BPPT ..

- Maritim A, Sanders R, Watkins JI: Effects of alpha-lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr Biochem* 2003, 14(5):288-294.
- Masharani U., Karam J.H. 2001. Pancreatic hormones & diabetes mellitus. In Greenspan F.S., Gardner D.G., eds. *Basic & clinical endocrinology*. 6th ed. New York: Mc. Graw Hill. p. 623-48.
- Mason, Timothy James. 2002. *Handbook of Green Chemistry and Technology: Sonochemistry Chapter 16 (Ultrasound Application)*. Blackwell Science Ltd.
- Masrifah, Nurdin R., Paulus H. 2017. Uji Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.). *J.Akademika Kim.* 6(2).
- Masykur, M. 2007. *Mathematical Intelligence*. Jakarta: EGC.
- Merentek, E., 2006, Resistensi Insulin Pada Diabetes Mellitus Tipe 2, *Cermin Dunia Kedokteran*, No 150, 39-41, Poliklinik Endrokrin Metabolik, Bagian Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Gowa, Makasar.
- Ming M, Guanhua L, Zhanhai Y, Guang C, Xuan Z. 2009. Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides administration on blood lipid metabolism and oxidative stress of mice fed high-fat diet in vivo. *Food Chemistry* 113: 872–877.
- Misnadiarly. 2006. *Diabetes Melitus: ulcer, Gangrene, Infeksi*, Jakarta: Pustaka Obor.
- Mohandas, K.G., Muddanna, S., Gurumadhva, S., 2005. *Centella asiatica* (linn) Induced Behavioural Changes During Growth Spurt Period In Neonatal Rats. *Neuroanatomy* (2005) 4: 18-23.
- Mohanraj, V. J. & Chen, Y. 2006. A Review: Nanoparticles. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1).

- Moussa SA 2008. Oxidative stress in Diabetes mellitus. Romanian, J Bhiophys, Vol. 18, No. 3, P. 225–236, Bucharest.
- Muhammad, A. S., dkk. 2011. *Al-Qur'an dan Tafsirnya Jilid VII (Tafsir Tahlili)*. Jakarta: Widya Cahaya, Kementrian Agama (Lajnah Pentashihan Mushaf Qur'an). quran.kemenag.go.id. (Diakses 10 Agustus 2019, pukul 16.14).
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 7. No. 2.
- Mulyani, Sri dan Didik Gunawan. 2006. *Ramuan Tradisional untuk Penderita Asma*. Jakarta: Penebar.
- Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. 2000. *Harper's Illustrated Biochemistry* (25th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Mustofa, 2015, Pemendekan Telomer Pada Penderita Diabetes Melitus (DM), *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 23 (3).
- Mustofa, 2015, Pemendekan Telomer Pada Penderita Diabetes Melitus (DM), *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 23 (3).
- Ngadiwiyana, Ismiyanto, Norbasid, dan Purbowatiningrum. 2011. Potensi Sinamaldehyd Hasil Isolasi Minyak Kayu Manis sebagai Senyawa Antidiabetes. *Majalah Farmasi Indonesia*. 22(1).
- Nisa El P. 2016. Pengaruh Pemberian Dosis Bertingkat Ekstrak Kulit Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus*) terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar Mencit Balb/c yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk Bakar. Skripsi. Universitas Negeri Semarang.
- Nuranti, Neisha Nadya. et. al. 2015. Uji Aktivitas Antihiperkolestolemia Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertner.) Voss) Terhadap Mencit Swiss Webster Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. ISSN 2460-6472.

- Nurawati, D. 2002. Profil Imunohistokimia Enzim Antioksidan Copper, zinc superoksida dismutase (Cu, Zn-SOD) pada ginjal tikus hiperkolesterolemia. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, IPB.
- Nurhidayah, S. 2009. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daging Pisang Raja (*Musa AAB'pisang raja'*) dengan Vitamin A, Vitamin C, dan Katekin Melalui Perhitungan Bilangan Peroksida. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.
- Nuttal SL, Dunne F, Kendal MJ, Martin U. 1999, Age-independent oxidative stress in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med*;92:33-8.
- Opara, Imanuel. 2005. Nutrition and Diabetes Pathophysiology and Management. London: Taylor and Francis.
- Pakki, Ermina, Sumarheni, Aisyah F., Ismail, Syarfina Safirahidzni. 2016. Formulasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherin americana* (Aubl) Merr) dengan Variasi Konsentrasi Kitosan-Tripolifosfat (TPP). *J. Trop. Pharm. Chem.* 3 (4): 15-19.
- Pandey, Ankita dan Govind Pandey. 2013. Usefulness of Nanotechnology for Herbal edicines. *Plant Archives*, 13(2): 617-621.
- Park, K., Yeo, Y. & Swarbrick, J. 2007. *Microencapsulation Technology in: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare USA, Inc.
- Patravale, V., Date, A. & Kulkarni, R. 2004. Nanosuspensions: A Promising Drug Delivery Strategy. *J Pharm Pharmacol* , 56(7), pp. 827-40..
- Prakash, Ved., Nishita Jaiswal and Mrinal Srivastava. 2017. A Review on Medicinal Properties of *Centella asiatica*. *Asian J Pharm Clin Res*. Vol 10. Issue 10.

- Price, S and Wilson, L. 2005. Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6. Jakarta: EGC.
- Priyanto. 2007. Toksisitas Obat, Zat Kimia dan Terapi Antidotum. Leskonfi. Depok. Hal 43-44, 48, 51,53.
- Prochazkova, D., I. Bousova, N. Wilhelmova. 2011. Antioxidant dan prooxidant Properties Of Flavonoid. *Elsiever*. 85(4).
- Putra, A. A. B., Bogoriani, N. W., Diantariani, N. P., Sumadewi, N. L. U. 2014. Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks, Dan Sokletasi. *Jurnal Kimia*. 8, 113 – 119.
- Putri, GhaBBy Maharani & Sri Atun. 2017. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) pada Berbagai Variasi Komposisi Alginat. *Jurnal Kimia Dasar*. 6 (1).
- Rachmania, D. 2011. Karakteristik Nanokitosan Cangkang Udang *Vannamei* (*Litopenaes vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rachmawati, H. *et al.* 2007. Chemical Modification of Interleukin10 with Mannose 6-Phosphate Groups Yield a Liver-Selective Cytokine. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemical*, Volume 35, pp. 814-821.
- Rahman, S., M, RaBBani., Sahidullah., Muhammad., Iqbal. 2007. Studies on In vitro Culture Characteristics of adherent baby Hamster Kidney-21 (BHK-21) Cell lines. *International Journal of Agriculture and Biology*.
- Ramaiah, S. 2003. Diabetes. Jakarta :Penebar Swadaya.
- Rizvi, S. A. A. & Saleh, A. M. 2018. Applications of Nanoparticles System in Drug Delivery Technology. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 26: 64-70.

- Rokhmah, I. 2018. Teori Belajar dalam Al-Qur'an Surat Az-Zalzalah Ayat 7-8 (Kajian Tafsir At-Tahrir wa At-Tanwir). *Skripsi*. PAI, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Roy, Dipankar Chandra., Shital Kumar Barman, Md. Munan Shaik. 2013. Current Updates on *Centella asiatica*: Phytochemistry, Pharmacology and Traditional Uses. *Medicinal Plant Research*. Vol.3, No.4, 20-36.
- Rubin, Allan. 2006. A Possible Link Between Alzheimer's Disease and diabetes Part XXVII of a XXVII Article on AD. *www.therubins.com*. Diakses tanggal 7 Juni 2020.
- Rusdiana, Ika Agustin, Eriliza H. & Mulyorini Rahayuningsih. 2018. Pengaruh Sonikasi terhadap Sifat Fisik Formula Herbisida yang Ditambahkan Surfaktan Dietanolamida. *Agroradix*. 1 (2): 34-40.
- Ryter,S.W., Kim H.P., Hoetzel,A., Park, J.W.,Nakahira., Wang,X dan Choi, A.M., 2007. Mechanism Of Cell, Death In Oxydative Stress., Antioxidants and Redox Signaling, 9(1), hal. 49-89.
- Saifudin, M., dkk., 2010. *Syaamil Al-Qur'an Miracle of The Reference*. Bandung: Sygma Publishing, (Kementrian Agama RI).
- Sakaguchi, S., Takahashi S., Sasaki T., Kumagai, T., Nagata K. 2011. Progression Of Alcoholic And Non-Alcoholic Steatohepatitis: Common Metabolic Aspects Of Innate Immune System And Oxidative Stress. *Drug Metab. Pharmacokinet*. 26(1).
- Sandy, Ika Maya. 2009. Pengaruh Tingginya Kadar Gula pada Tikus Strain Istar Diabetik (Injeksi Alloxan) terhadap Peningkatan nekrosis Neuron Otak. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Sari, Putri Junita. 2015. Studi Awal: Histoteknik Perfusi PBS-Formalin dan Gambaran Histologi Organ Hepar, Pankreas, dan Ginjal Tikus Strain Sprague Dawley. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

- Sasmito E, editor. (2017). *Imunomodulator Bahan Alami*. Yogyakarta: Rapha Publishing. hlm 58.
- Shalih, bin Abdul Aziz Alusy. 2013. *Tafsir Al-Muyassar 1420 H*. Penerjemah: USt. Uus Suhendrik. Solo. Ar-Ra'du ayat 11. (tafsirweb.com). Diakses 22 Mei 2020.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sidqi, T. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Temulawak dengan Metode Ultrasonikasi. *Tugas Akhir Sarjana Science*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sihombing, Wahyu., Muslim Akmal, Sri Wahyuni. 2015. Efek Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Perkembangan Sel Spermatid Tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterania*. Vol. 9. No. 1.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Kanisius. Yogyakarta. Hal 40.
- Sinaga et al., 2011. Perbandingan Daya Sitotoksik Ekstrak Rimpang 3 Jenis Tumbuhan Zingiberaceae Terhadap Sel Kanker Mcf-7. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 5 (3): 125 -133.
- Singh, Sakshi., Asmita Gautam, Abhimanyu Sharma and Amla Batra. 2010. *Centella asiatica* (L.): A Plant With Immense Medicinal Potential but Threatened. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Volume 4. Issue 2. ISSN 0976 – 044X.
- Slamet. 2006. *Diabetes melitus di Indonesia Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Soewolo. 2000. *Pengantar Fisiologi Hewan*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.

- Sonia, T. A. & Chandra P. Sharma. 2011. Chitosan and Its Derivat for Drug Delivery Perspective. *Advance Polymer Science*. 243: 23-54.
- Subriyah. 2017. Pengaruh Kombinasi Jus Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) terhadap Kadar Suproksida Dismutase (SOD) dan Gambaran Histologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) Akibat Paparan Asap Rokok. *Skripsi*. Malang.
- Sulaiman, Muhammad Al-Asyqar. 2012. Zubdatut Tafsir. Penerjemah: Daris Musthofa. Darun Nafais. tafsirweb.com (Diakses 25 Juni 2020).
- Sulastry, Feni. 2009. Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Mencit Balb/c. *Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan*. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Suryani, Wahyuni, Ariastika, D. & Rahmanipu. 2014. Formulasi Nanopartikel Kurkumin dengan Teknik Gelasi Ionik Menggunakan Kitosan, Tripolipospat dan Natrium Aginat serta Uji Stabilitasnya Secara In Vitro. *Majalah Farmasi Sains dan Kesehatan*, 2(1), pp. 17-21.
- Sutardi. 2016. Bioactive Compounds in Pegagan Plant and Its Use for Increasing Immune System. *Jurnal Litbang Pertanian*. Vol.35. No. 3.
- Sutriyo, Joshita, D., Indah, R. 2005. Perbandingan Pelepasan Hidroklorida dari Matrik Kitosan, Etil Selulosa (EC) dan Hidroksi Propil Metil Selulosa (HPMC). *Majalah Ilmu Kefarmasia*,. 3: 145-157.
- Swadaya. Sihombing, Wahyu., Muslim Akmal, Sri Wahyuni. 2015. Efek Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Perkembangan Sel Spermatid Tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterania*. Vol. 9. No. 1.
- Szkudelski T. 2001. The mecanism of alloxan and streptozotocin action in betha cell oft ratp. *Physiology*. 50 : 536-546.

- Tafsir Ibnu Katsir. 2015.<http://www.ibnukatsironline.com/2015/05/tafsir-surat-alanam-ayat-141.html>. di akses pada tanggal 20 Mei 2019 pukul 16.02.
- Taheri, Ehsaneti. 2012. The Relationship Between The Activities Of Antioxidant Enzymes In Red Blood Cell and Body Mass Index In Iranian Type 2 Diabetic and Healthy Subject. *Journal Of Diabetic and Metabolic Disorder*.
- Takeuchi, Hirofumi, Hiromitsu Yamamoto & Yoshiaki Kawashima. 2001. Mucoadhesive Nanoparticulate System for Peptide Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery Review*. 47 (1): 39-54.
- Tandon VR, Verma S, Singh JB, Mahajan A. 2005. Antioxidants and cardiovascular health. *JK Science* 7: 61-64.
- Tardos, T. F. 2005. *Applied Surfactants: Surfactants in Nanoemulsion*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Tehranipour, M., and Erfani M. 2011. The Effect of Curcuma longa Alcoholic Extract on Cell Regeneration (Neuron and Neuroglia) After Sciatic Nerve Injury in Diabetic Rats. *Journal of Pharmacology*: 3(8): 299- 305.
- Tejasari. 2000. Efek proteksi bioaktif oleoresin rimpang jahe (Zingiber officinale roscoe) terhadap fungsi limfosit secara in- vitro [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Ting, Y, Jiang Y, Ho, Huang Q. 2014. Common Delivery System for Enhancing In Vivo Bioavailability and Biological Efficacy of Nutraceuticals. *J.Funct. Foods*. 7: 112-128.
- Tiyaboonchai, W. 2003. Chitosan nanoparticles: A promising system for drug delivery. *Naresuan University Journal* 11 (3): 51–66.
- Turko IV, Marcondes S, Murad F: 2001 Diabetes-associated nitration of tyrosine and inactivation of succinyl-CoA:3-oxoacid CoA transferase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 281(6):H 2289-2294.

- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. 2002, Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr*;132:897-900.
- Umayaparvathi, S., Arumugam, M., Meenakshi, S. dan Balasubramanian, T., 2013, Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Oyster *Saccostrea Cucullata* (Born, 1778): Study of in-Vitro Antimicrobial Activity, *International Journal Of Science and Nature*, 4(1): 199–203.
- Vauthier, C. *et al.* 2003. Poly(alkylcyanoacrylates) as Biodegradable Materials For Biomedicak Application. *Adv. Drug Deliv. Rev*, Volume 33, p. 519–548.
- Vidya AR, Yadev AK, Dhanbal SP 2009. Antioxidant and antimicrobial activity of rhizome of *Curcuma aromatica* and *Curcuma zeodaria*, Leaves of *Arbutilon indicum*. *Arch. Pharm. Res.* 1(1): 14-19.
- Wahyudi, A., Amalia, D., Sariman dan Rochani, S. 2010. Sintesis Nanopartikel Zeolit Secara Top Down Menggunakan Planetary Ball Mill dan Ultrasonikator. *M & E*. Vol. 8. No. 1: hal 32 – 36.
- Wang, et al. 2011. Recent Advances of Chitosan Nanoparticles as Drug Carriers. *International Journal of Nanomedicine*. 6: 765.
- Wardiyati, Siti. 2004. Pemanfaatan Ultrasonik dalam Bidang Kimia. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan*. ISSN: 1411-2213.
- Warsiati, Wijiasih, Febriani, A., W.D.Rizka, A. 2010. Acuan Sediaan Herbal Edisi Pertama Volume Kelima. Jakarta: BPOM RI; Skripsi Indra Farida, 2013. Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Alang-Alang (*Imperata cylindrical*) Sebagai Larvasida Nyamuk (*Aedes aegypti* L.) Instar III.
- Wibowo, Bayu Aji. dkk. 2009. Aplikasi Vitamin E Terhadap Tikus Penderita Diabetes: Histomorfologi Organ Otak dan Ginjal. Artikel Ilmiah. Bogor: IPB .

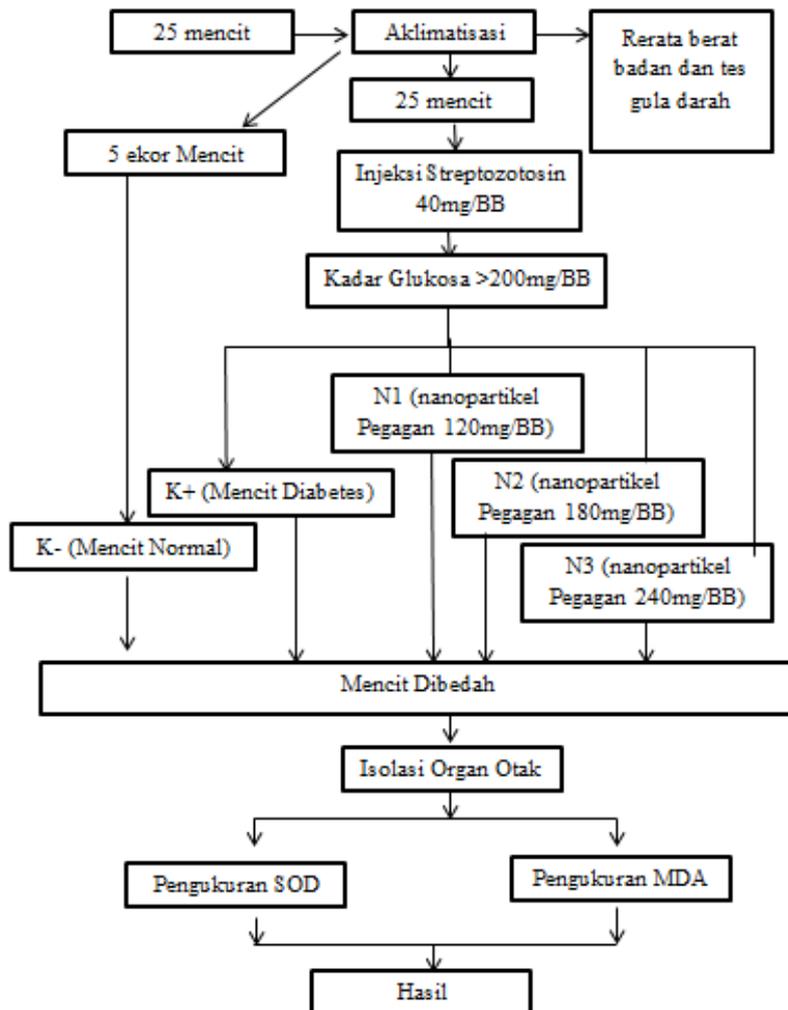
- Wibowo, Daniel S. 2011. *Neuroanatomi Untuk Mahasiswa Kedokteran*. Malang: Banyumedia Publisihing.
- Wijayakusuma, H.M.H. 2008. *Ramuan Lengkap Herbal Taklukan Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Wijayakusuma, Hembing dan Setiawan Dalimartha. 2006. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Winarsi, Henry, 2007, *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*, Yogyakarta : Kanisius.
- Winarto, W.R dan Maria Surbakti. 2003. *Khasiat dan Manfaat Pegagan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Wresdiyati T, Mamba K, Adnyane IKM, Aisyah US. 2002. The effect of stress condition on the intracellular anti-oxidant copper, zinc-superoxide dismutase in the rat kidney: an immunohistochemical study. *Hayati* 9: 85-88.
- Wu, D.; Cederbaum, A.I. 2009. Oxidative Stress and Alcoholic Liver Disease. *Semin Liver Dis.* 29(1).
- Wu, Kenneth K. dan Youming Huan. 2008. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current Protocols in Pharmacology* 5.47.1-5.47.14.
- Yudhasasmita, S. & Nugroho, A. P. 2017. Sintesis dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Adsorben Cd dan Antibakteri Koliform. *Biogenesis*, 5(1), pp. 42-48.
- Yustika. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi Pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A, *KIMIA. Student Journal Universitas Brawijaya Malang*. Vol.1. No. 2, pp. 222-228.

Zahrina, A. D. 2015. Uji Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Etanol 70% Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) pada Tikus Jantan Galur Sprague-Dawley Secara In Vivo. *Skripsi*. Jakarta. Universitas Islam Negeri Hidayatullah.

Zamrodi, M. 2011. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Penelitian



Lampiran 2. Penentuan dan Perhitungan Dosis

1. Perhitungan STZ

Dosis STZ menggunakan repeated lowdose yaitu 40 mg/BB

Dosis untuk mencit 30 gram:

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

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

$$n = \frac{12000}{1000}$$

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

Proses pelarutan STZ dalam Buffer sitrat 0.02 M:

STZ 500 mg dilarutkan dalam 50 ml buffer sitrat 0.02 M (dalam 1 ml Larutan mengandung 10 mg STZ)

-Untuk 1 ekor dalam 1 hari : 1.2 mg STZ dalam 0.12 ml asam sitrat

-Untuk 25 ekor dalam 1 hari : 30 mg STZ dalam 3 ml asam sitrat

2. Perhitungan dosis terapi nanopartike pegangan tersalut kitosan

- Dosis 120 mg/kgBB untuk 1 ekor mencit dengan berat badan 30 gram

$$120 = 1000$$

$$n = 30 \text{ gram}$$

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

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

$$n = \frac{3600}{1000} = 3.6$$

- Dosis 180 mg/kgBB untuk 1 ekor mencit dengan berat badan 30 gram

$$120 = 1000$$

$$n = 30 \text{ gram}$$

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

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

$$n = \frac{5400}{1000} = 5.4$$

- Dosis 240 mg/kgBB untuk 1 ekor mencit dengan berat badan 30 gram

$$120 = 1000$$

$$n = 30 \text{ gram}$$

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

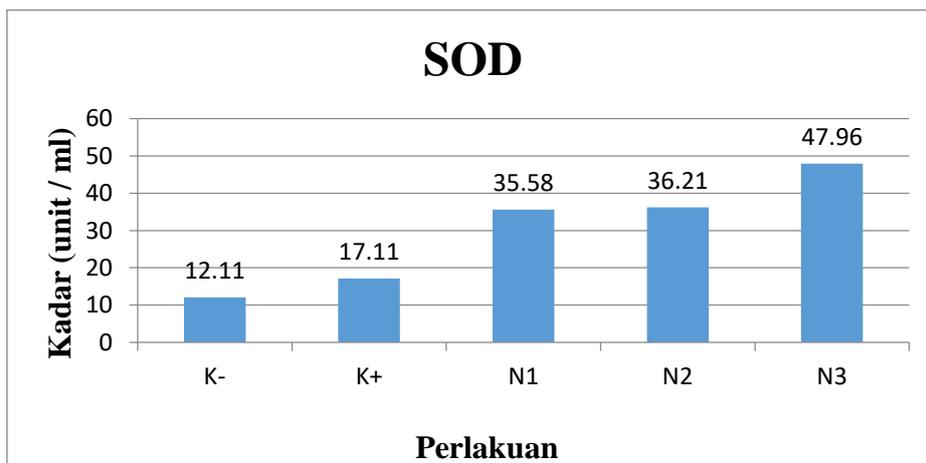
$$n = \frac{240}{1000} \times 30$$

$$n = \frac{7200}{1000} = 7.2$$

Lampiran 3. Analisis Statistika Kadar SOD

Data SOD

| Descriptive Statistics | | | | | | |
|------------------------|---|---------|---------|--------|---------|----------------|
| | N | Minimum | Maximum | Sum | Mean | Std. Deviation |
| POSITIF | 4 | 11.19 | 23.08 | 68.44 | 17.1100 | 4.85507 |
| NEGATIF | 4 | 11.42 | 12.69 | 48.46 | 12.1150 | .52501 |
| N1 | 4 | 30.47 | 48.37 | 142.33 | 35.5825 | 8.59804 |
| N2 | 4 | 33.13 | 43.52 | 144.87 | 36.2175 | 4.89217 |
| N3 | 4 | 45.94 | 51.95 | 191.86 | 47.9650 | 2.70358 |
| Valid N (listwise) | 4 | | | | | |



Gambar 4.1. Grafik rerata pengaruh pemberian nanopartikel Pegagan tersalut kitosan terhadap kadar SOD otak mencit diabetes

| Perlakuan | Ulangan | | | | TOTAL | RERATA | sd | notasi |
|-----------|---------|------|------|------|-------|--------|------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | | | | |
| K- | 11.4 | 12.1 | 12.6 | 12.2 | 48.46 | 12.11 | 0.52 | a |
| | 2 | 2 | 9 | 3 | | | | |
| K+ | 23.0 | 17.2 | 11.1 | 16.9 | 68.44 | 17.11 | 4.85 | a |

| | | | | | | | | |
|----|------|------|------|------|-------|-------|------|---|
| | 8 | 0 | 9 | 7 | | | | |
| N1 | 48.3 | 32.9 | 30.4 | 30.5 | 142.3 | | 8.59 | b |
| | 7 | 0 | 7 | 9 | 3 | 35.58 | | |
| N2 | 43.5 | 33.1 | 34.2 | 33.9 | 144.8 | | 4.89 | b |
| | 2 | 3 | 8 | 4 | 7 | 36.21 | | |
| N3 | 51.9 | 46.8 | 45.9 | 47.1 | 191.8 | | 2.7 | c |
| | 5 | 7 | 4 | 0 | 6 | 47.96 | | |

A. Uji normalitas

| One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test | | |
|---|--------------------------|-------------------|
| | | Kadar SOD |
| N | | 20 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 29.8210 |
| | Std. Deviation | 14.29874 |
| | Most Extreme Differences | |
| | Absolute | .161 |
| | Positive | .161 |
| | Negative | -.131 |
| Test Statistic | | .161 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .184 ^c |
| a. Test distribution is Normal. | | |

Keterangan : syarat data normal (5%) = >0.05

Sig. 0.184 > 0.05, dilanjutkan dengan uji Homogenitas

B. Uji homogenitas

| Test of Homogeneity of Variances | |
|---|--|
| Kadar SOD | |

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---------------------|-----|-----|------|
| 2.481 | 4 | 15 | .088 |

Keterangan : syarat data homogen (5%) = >0.05

Sig. $0.08 > 0.05$, dilanjutkan dengan Uji *One Way* ANOV

C. Uji ANOVA

| ANOVA | | | | | |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Kadar SOD | | | | | |
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 3497.311 | 4 | 874.328 | 33.861 | .000 |
| Within Groups | 387.313 | 15 | 25.821 | | |
| Total | 3884.624 | 19 | | | |

Keterangan : syarat data berpengaruh (5%) = <0.05

Sig. 0.00 <0.05 , menunjukkan data berpengaruh

D. Uji Lanjut Tukey

| Kadar SOD | | | | |
|--|---|-------------------------|---------|---------|
| Tukey HSD ^a | | | | |
| Kelompok perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| K- | 4 | 12.2300 | | |
| K+ | 4 | 17.1100 | | |
| N1 | 4 | | 35.5825 | |
| N2 | 4 | | 36.2175 | |
| N3 | 4 | | | 47.9650 |
| Sig. | | .661 | 1.000 | 1.000 |
| Means for groups in homogeneous subsets are displayed. | | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000. | | | | |

| Multiple Comparisons | | | | | | |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------|-------|----------------------------|----------------|
| Dependent Variable: Kadar SOD | | | | | | |
| Tukey HSD | | | | | | |
| (I) Kelompok perlakuan | (J) Kelompok perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| K- | K+ | -4.88000 | 3.59311 | .661 | -15.9753 | 6.2153 |
| | N1 | 23.35250* | 3.59311 | .000 | 34.4478 | 12.2572 |
| | N2 | 23.98750* | 3.59311 | .000 | 35.0828 | 12.8922 |
| | N3 | 35.73500* | 3.59311 | .000 | 46.8303 | 24.6397 |
| K+ | K- | 4.88000 | 3.59311 | .661 | -6.2153 | 15.9753 |
| | N1 | 18.47250* | 3.59311 | .001 | 29.5678 | -7.3772 |
| | N2 | 19.10750* | 3.59311 | .001 | 30.2028 | -8.0122 |
| | N3 | 30.85500* | 3.59311 | .000 | 41.9503 | 19.7597 |
| N1 | K- | 23.35250* | 3.59311 | .000 | 12.2572 | 34.4478 |
| | K+ | 18.47250* | 3.59311 | .001 | 7.3772 | 29.5678 |
| | N2 | -.63500 | 3.59311 | 1.000 | 11.7303 | 10.4603 |
| | N3 | 12.38250* | 3.59311 | .025 | 23.4778 | -1.2872 |
| N2 | K- | 23.98750* | 3.59311 | .000 | 12.8922 | 35.0828 |
| | K+ | 19.10750* | 3.59311 | .001 | 8.0122 | 30.2028 |

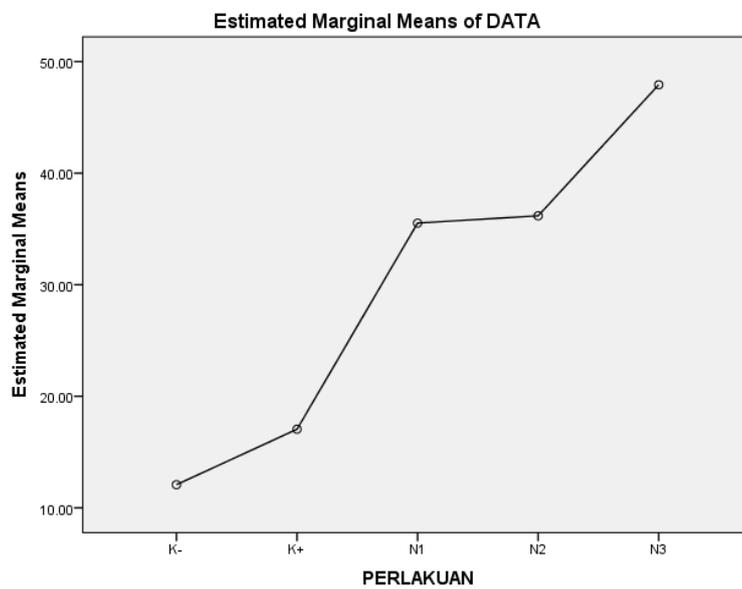
| | | | | | | |
|--|----|-----------|---------|-------|---------|---------|
| | N1 | .63500 | 3.59311 | 1.000 | - | 11.7303 |
| | N3 | - | 3.59311 | .036 | - | -.6522 |
| | | 11.74750* | | | 22.8428 | |
| N3 | K- | 35.73500* | 3.59311 | .000 | 24.6397 | 46.8303 |
| | K+ | 30.85500* | 3.59311 | .000 | 19.7597 | 41.9503 |
| | N1 | 12.38250* | 3.59311 | .025 | 1.2872 | 23.4778 |
| | N2 | 11.74750* | 3.59311 | .036 | .6522 | 22.8428 |
| *. The mean difference is significant at the 0.05 level. | | | | | | |

Lampiran 4. UJI SOD DENGAN DNMRT

| Tests of Between-Subjects Effects | | | | | |
|---|-------------------------------|----|----------------|---------|------|
| Dependent Variable: DATA | | | | | |
| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Corrected Model | 3514.630 ^a | 4 | 878.657 | 34.035 | .000 |
| Intercept | 17701.250 | 1 | 17701.250 | 685.670 | .000 |
| PERLAKUAN | 3514.630 | 4 | 878.657 | 34.035 | .000 |
| Error | 387.240 | 15 | 25.816 | | |
| Total | 21603.120 | 20 | | | |
| Corrected Total | 3901.870 | 19 | | | |
| a. R Squared = .901 (Adjusted R Squared = .874) | | | | | |

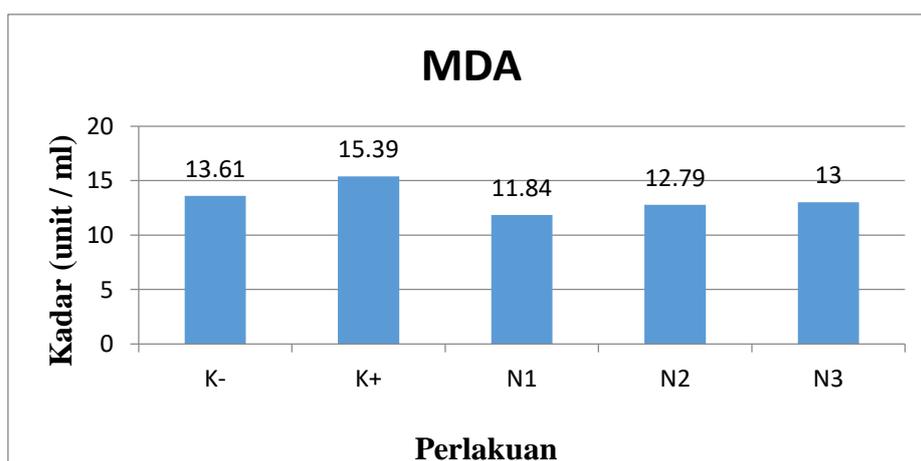
| DATA | | | | |
|--|---|---------|---------|---------|
| Duncan ^{a,b} | | | | |
| PERLAKUAN | N | Subset | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| K- | 4 | 12.0750 | | |
| K+ | 4 | 17.0500 | | |
| N1 | 4 | | 35.5250 | |
| N2 | 4 | | 36.1750 | |
| N3 | 4 | | | 47.9250 |
| Sig. | | .186 | .859 | 1.000 |
| The error term is Mean Square(Error) = 25.816. | | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000. | | | | |

b. Alpha = 0.05.



Lampiran 5. Analisis Statistika Kadar MDA
Data MDA

| Descriptive Statistics | | | | | | |
|------------------------|---|---------|---------|-------|---------|----------------|
| | N | Minimum | Maximum | Sum | Mean | Std. Deviation |
| POSITIF | 4 | 14.12 | 18.65 | 61.56 | 15.3900 | 2.17723 |
| NEGATIF | 4 | 12.82 | 14.47 | 54.44 | 13.6100 | .85100 |
| N1 | 4 | 10.09 | 13.21 | 47.36 | 11.8400 | 1.29458 |
| N2 | 4 | 12.21 | 13.97 | 51.18 | 12.7950 | .79856 |
| N3 | 4 | 11.21 | 15.06 | 52.01 | 13.0025 | 1.86711 |
| Valid N (listwise) | 4 | | | | | |



Gambar 4.2. Grafik rerata pengaruh pemberian nanopartikel Pegagan tersalut kitosan terhadap kadar MDA otak mencit diabetes

| Perlakuan | Ulangan | | | | TOTAL | RERATA | sd | notasi |
|-----------|---------|------|-------|------|-------|--------|------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | | | | |
| N1 | 10.0 | 12.1 | | 11.9 | | | 1.29 | a |
| | 9 | 2 | 13.21 | 4 | 47.36 | 11.84 | | |
| N2 | 13.9 | 12.5 | | 12.4 | | | 0.79 | ab |
| | 7 | 9 | 12.21 | 1 | 51.18 | 12.79 | | |
| N3 | 15.0 | 14.0 | | 11.2 | | | 1.86 | ab |
| | 6 | 9 | 11.65 | 1 | 52.01 | 13 | | |
| K- | 14.2 | 14.4 | | 12.8 | | | 0.85 | ab |
| | 1 | 7 | 12.94 | 2 | 54.44 | 13.61 | | |
| K+ | 18.6 | 14.1 | | 14.3 | | | 2.17 | b |
| | 5 | 2 | 14.41 | 8 | 61.56 | 15.39 | | |

A. Uji Normalitas

| One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test | | |
|------------------------------------|----------------|-------------------|
| | | Kadar MDA |
| N | | 20 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 13.3275 |
| | Std. Deviation | 1.79963 |
| | | |
| Most Extreme Differences | Absolute | .163 |
| | Positive | .163 |
| | Negative | -.089 |
| Test Statistic | | .163 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .173 ^c |
| Test distribution is Normal. | | |

Keterangan : syarat data normal (5%) = >0.05

Sig. 0.173 >0.05 , dilanjutkan dengan uji Homogenitas

B. Uji homogenitas

| Test of Homogeneity of Variances | | | |
|----------------------------------|-----|-----|------|
| Kadar MDA | | | |
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| 2.132 | 4 | 15 | .127 |

Keterangan : syarat data homogen (5%) = >0.05

Sig. $0.127 > 0.05$, dilanjutkan dengan Uji *One Way* ANOVA

C. Uji Anova

| ANOVA | | | | | |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Kadar MDA | | | | | |
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 27.742 | 4 | 6.936 | 3.079 | .049 |
| Within Groups | 33.793 | 15 | 2.253 | | |
| Total | 61.535 | 19 | | | |

Keterangan : syarat data berpengaruh (5%) = <0.05

Sig. $0.049 < 0.05$, menunjukkan data berpengaruh

D. Uji Lanjut Tukey

| Kadar MDA |
|-----------|
|-----------|

| Tukey HSD ^a | | | |
|------------------------|---|-------------------------|---------|
| Kelompok perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | |
| | | 1 | 2 |
| N1 | 4 | 11.8400 | |
| N2 | 4 | 12.7950 | 12.7950 |
| N3 | 4 | 13.0025 | 13.0025 |
| K- | 4 | 13.6100 | 13.6100 |
| K+ | 4 | | 15.3900 |
| Sig. | | .481 | .157 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

| Multiple Comparisons | | | | | | |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------|------|-------------------------------|----------------|
| Dependent Variable: Kadar MDA | | | | | | |
| Tukey HSD | | | | | | |
| (I) Kelompok perlakuan | (J) Kelompok perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| K+ | K- | 1.78000 | 1.06133 | .475 | -1.4973 | 5.0573 |
| | N1 | 3.55000* | 1.06133 | .031 | .2727 | 6.8273 |
| | N2 | 2.59500 | 1.06133 | .157 | -.6823 | 5.8723 |
| | N3 | 2.38750 | 1.06133 | .215 | -.8898 | 5.6648 |
| K- | K+ | -1.78000 | 1.06133 | .475 | -5.0573 | 1.4973 |
| | N1 | 1.77000 | 1.06133 | .481 | -1.5073 | 5.0473 |
| | N2 | .81500 | 1.06133 | .936 | -2.4623 | 4.0923 |
| | N3 | .60750 | 1.06133 | .977 | -2.6698 | 3.8848 |
| N1 | K+ | -3.55000* | 1.06133 | .031 | -6.8273 | -.2727 |
| | K- | -1.77000 | 1.06133 | .481 | -5.0473 | 1.5073 |
| | N2 | -.95500 | 1.06133 | .893 | -4.2323 | 2.3223 |
| | N3 | -1.16250 | 1.06133 | .806 | -4.4398 | 2.1148 |

| | | | | | | | |
|--|----|----------|---------|-------|--------|--------|--|
| N2 | K+ | -2.59500 | 1.06133 | .157 | - | .6823 | |
| | | | | | 5.8723 | | |
| | K- | -.81500 | 1.06133 | .936 | - | 2.4623 | |
| | | | | | 4.0923 | | |
| | N1 | .95500 | 1.06133 | .893 | - | 4.2323 | |
| | | | | | 2.3223 | | |
| | N3 | -.20750 | 1.06133 | 1.000 | - | 3.0698 | |
| | | | | | 3.4848 | | |
| N3 | K+ | -2.38750 | 1.06133 | .215 | - | .8898 | |
| | | | | | 5.6648 | | |
| | K- | -.60750 | 1.06133 | .977 | - | 2.6698 | |
| | | | | | 3.8848 | | |
| | N1 | 1.16250 | 1.06133 | .806 | - | 4.4398 | |
| | | | | | 2.1148 | | |
| | N2 | .20750 | 1.06133 | 1.000 | - | 3.4848 | |
| | | | | | 3.0698 | | |
| *. The mean difference is significant at the 0.05 level. | | | | | | | |

Lampiran 6. UJI MDA DENGAN DNMRT

| Tests of Between-Subjects Effects | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Dependent Variable: DATA | | | | | |
| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Corrected Model | 27.742 ^a | 4 | 6.936 | 3.079 | .049 |
| Intercept | 3552.445 | 1 | 3552.445 | 1576.866 | .000 |
| PERLAKUAN | 27.742 | 4 | 6.936 | 3.079 | .049 |
| Error | 33.793 | 15 | 2.253 | | |
| Total | 3613.980 | 20 | | | |
| Corrected Total | 61.535 | 19 | | | |

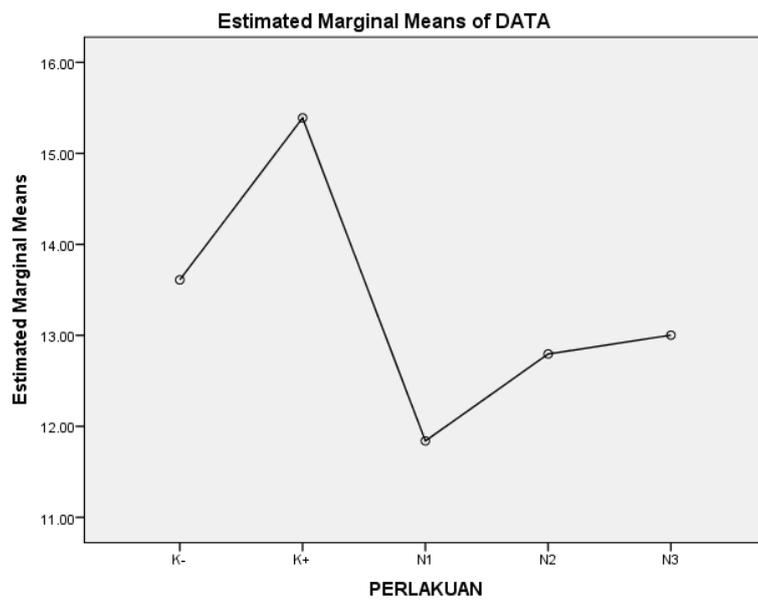
a. R Squared = .451 (Adjusted R Squared = .304)

| DATA | | | |
|-----------------------|---|---------|---------|
| Duncan ^{a,b} | | | |
| PERLAKUAN | N | Subset | |
| | | 1 | 2 |
| N1 | 4 | 11.8400 | |
| N2 | 4 | 12.7950 | |
| N3 | 4 | 13.0025 | |
| K- | 4 | 13.6100 | 13.6100 |
| K+ | 4 | | 15.3900 |
| Sig. | | .144 | .114 |

The error term is Mean Square(Error) = 2.253.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = 0.05.





**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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Muhammad Masduqi
NIM : 15620005
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Pegagan Terhadap Kadar SOD dan MDA Serebrum pada Mencit yang Diinduksi Streptozotosin

| No | Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd. Pembimbing |
|----|-------------------|-----------------------------|--------------------|
| 1. | 5 / 9 / 2019 | Penentuan Tema Proposal | |
| 2. | 29 / 3 / 2021 | Penyusunan Proposal | |
| 3. | 23 / 4 / 2021 | Progres Proposal Penelitian | |
| 4. | 26 / 4 / 2021 | Revisi Proposal Penelitian | |
| 5. | 13 / 12 / 2021 | Progress Skripsi | |
| 6. | 14-15 / 12 / 2021 | Revisi Bab IV | |
| 7. | 16 / 12 / 2021 | Acc naskah skripsi | |

Malang, 21 Desember 2021

Pembimbing Skripsi,

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

Ketua Program Studi,



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



**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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

ma : Muhammad Masduqi
/ : 15620005
ogram Studi : S1 Biologi
nester : Genap TA 2020/2021
nbimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
tul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Pegagan Terhadap Kadar
SOD dan MDA Serebrum pada Mencit yang
Diinduksi Streptozotosin

| Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd. Pembimbing |
|----------------|--|--------------------|
| 02 / 12 / 2020 | Konsultasi Integrasi Ayat dan Hadits BAB I dan II | |
| 01 / 5 / 2021 | Revisi Integrasi Ayat dan Hadits BAB I dan II | |
| 11 / 5 / 2021 | ACC Integrasi Ayat dan Hadits BAB I dan II | |
| 06 / 12 / 2021 | Konsultasi Integrasi Ayat dan Hadits BAB I, II, dan IV | |
| 16 / 12 / 2021 | Acc naskah skripsi | |

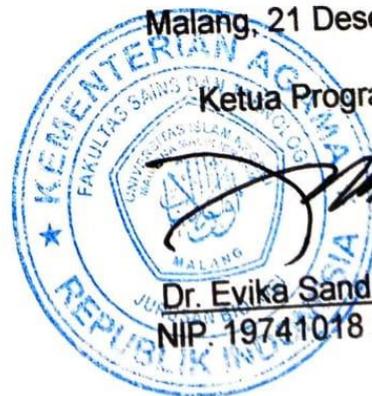
Malang, 21 Desember 2021

Pembimbing Skripsi,

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

Ketua Program Studi,

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





**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 SKRIPSI

Nama : MUHAMMAD MASDUQI
NIM : 15620005
Judul : Pengaruh Nanopartikel Pegagan Terhadap
Kadar SOD dan MDA Serebrum Otak Mencit
yang Diinduksi Streptozotosin

| No | Tim Cek Plagiasi | Tgl Cek | Skor Plagiasi | TTD |
|----|-----------------------------|---------|---------------|-----|
| 1 | Azizatur Rohmah, M.Sc | | | |
| 2 | Berry Fakhry Hanifa, M.Sc | | 21% | |
| 3 | Bayu Agung Prahardika, M.Si | | | |

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi,

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

