

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella Asiatica* (L.) Urban)
TERSALUT KITOSAN TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID DAN
SUPEROKSIDA DISMUTASE TESTIS MENCIT (*Mus Musculus*) YANG
DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

**Oleh:
IMRO'ATUN NADZIFAH
NIM. 17620026**



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

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)
TERSALUT KITOSAN TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID
DAN SUPEROKSIDA DISMUTASE TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

**Oleh:
IMRO'ATUN NADZIFAH
NIM. 17620026**

**Diajukan kepada
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana
Sains (S.si)**

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

**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica*
(L.) Urban) TERSALUT KITOSAN TERHADAP KADAR
SUPEROKSIDA DISMUTASE DAN MALONDIALDEHID
TESTIS MENCIT YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

Oleh:
IMRO'ATUN NADZIFAH
NIM. 17620026

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:
Tanggal: 06 Desember 2021

Pembimbing I

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul
Muchtaromah, M.Si
NIP. 19710919200003 2 001

Pembimbing II

Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512201903 1 002

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang



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

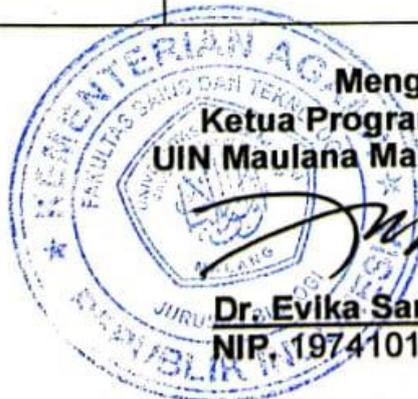
**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica*)
TERSALUT KITOSAN TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID
DAN SUPEROKSIDA DISMUTASE TESTIS MENCIT (*Mus
musculus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

Oleh:
IMRO'ATUN NADZIFAH
NIM. 17620026

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 15 Desember 2021

Penguji Utama	<u>Dr. Kiptiyah, M.Si.</u> NIP. 19731005200212 2 003	
Ketua Penguji	<u>Kholifah Holil, M.Si</u> NIP. 19751106200912 2 002	
Sekretaris Penguji	<u>Prof. Dr.drh.Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si</u> NIP. 19710919200003 2 001	
Anggota Penguji	<u>Mujahidin Ahmad, M.Sc</u> NIP. 19860512201903 1 002	



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang


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

MOTTO

“Kerja keras akan mampu mengalahkan sebuah bakat, tatkala bakat itu tidak dibarengi dengan kerja keras. Sebagaimana air sepanjang terus mau mengalir, walaupun terjebak dulu sana-sini, akhirnya akan sampai laut juga”

“ Maka Ingatlah kepada-Ku, Aku pun akan ingat kepadamu. Bersyukurlah kepada-Ku, dan janganlah kamu ingkar kepada-Ku”

- Al-Baqarah: 125 -

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah rabbil'alamin...

Puji syukur kepada Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayangatas segala rahmat, karunia, serta pertolongan yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan kewajiban dalam mencari ilmu. Skripsi ini saya persembahkan kepada orang-orang yang telah memberikan dukungan dan semangat, kepada:

1. Kepada kedua orang tua tercinta Bapak Slamet Ihwan, S.Pd.I dan Ibu Siti Rohmaisah, S.Pd.I yang tiada hentinya memberikan dukungan baik materiil dan dukungan berupa doa serta motivasi untuk menyelesaikan studi saya
2. Adik-adik saya yang saya sayangi, Zulfa Hanifil Faizah dan Najwa Khoiro Wilda yang selalu memberi segala dukungan selama saya melakukan studi.
3. Ibu Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen pembimbing skripsi saya. Terimakasih atas kesabaran dan keikhlasan dalam memberikan arahan dan nasehat kepada saya selama penyusunan skripsi.
4. Ibu Dr. Kiptiyah, M.Si, Kholifah Holil, M.Si selaku dosen penguji. Terimakasih telah memberikan saran, nasehat dan kritiknya demi kelancaran penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Basyarudin, M.Si selaku laboran, yang selalu membantu dan memberi masukan dengan sabar dan ikhlas selama proses penelitian di laboratorium.
6. Seluruh dosen dan staf administrasi di jurusan biologi yang membantu memberikan kemudahan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Last, but not least. Thank you to myself for fighting until now. Sorry if all this time, i've forced you too strong, trying hard even though the body wants to break, trying to smile behind a lot of sadness. Keep ganbatte, there are still many things that must be passed.

Semoga Allah SWT senantiasa memberikan balasan kebaikan dan menjadikan segala bantuan tersebut menjadi amal jariyah. Semoga karya ini dapatbermanfaat khususnya bagi saya dan orang lain. Aamiin.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Imro'atun Nadzifah

NIM : 17620026

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Nanopartikel Pegagan Tersalut
Kitosan Terhadap Kadar SOD dan MDA
Testis Mencit yang Diinduksi Streptozotocin

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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,



Imro'atun Nadzifah

NIM. 17620026

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar Malondialdehid dan Superoksida Dismutase Testis Mencit yang Diinduksi Streptozotocin

Imro'atun Nadzifah, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

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

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan sindrom gangguan metabolisme kronik yang banyak di derita oleh masyarakat dunia pada abad ini. Diabetes yang diderita dalam kurun waktu yang panjang dapat menyebabkan kerusakan berupa disfungsi dan kegagalan fungsi organ, salah satunya disfungsi organ reproduksi pada pria penderita diabetes. Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan salah satu herba yang memiliki potensi sebagai obat diabetes. Namun, penggunaan obat herbal memiliki kelemahan tidak stabil dalam metabolisme sehingga tidak mampu diserap secara efektif oleh tubuh. Hal ini dapat diatasi dengan membuat nanopartikel pegagan tersalut kitosan (NPK). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) tersalut kitosan terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan superoksida dismutase (SOD) testis mencit yang diinduksi *streptozotocin*. Jenis penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengelompokan dilakukan dengan membagi 20 ekor mencit jantan pada kelompok K- (Normal), K+ (STZ), N1 (STZ+NPK 120 mg/kgBB), N2 (STZ+NPK 180 mg/kgBB), N3 (STZ+NPK 240 mg/kgBB). Dosis STZ yang diberikan 40 mg/kgBB selama 3 hari dan 60 mg/kgBB selama 2 hari berturut-turut. Pemberian NPK dilakukan setelah 4 minggu setelah induksi STZ dan diberikan selama 28 hari. Pada hari ke-29, mencit dimatikan dengan metode *cervical dislocation*, kemudian sampel organ testis dikumpulkan, dan di analisis kadar SOD dan MDA menggunakan spektrofotometer. Analisis data kadar SOD dan MDA menggunakan ANOVA ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan pemberian NPK dapat mempegaruhi kadar SOD dan MDA testis mencit (*Mus musculus*) dengan meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA testis pemberian NPK dosis 240 mg/kgBB.

Kata kunci: Nanopartikel, kitosan, *Centella asiatica*, SOD,MDA testis, *streptozotocin*

Effect of Gotu Kola (*Centella Asiatica* (L.) Urban) Coated in Chitosan Nanoparticles on Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Levels in Streptozotocin-Induced Mice

Imro'atun Nadzifah, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad
Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik
Ibrahim State Islamic University Malang

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disorder of historical records that is often suffered by the world community in this century. Diabetes suffered for a long period of time can cause damage in the form of dysfunction and failure of organ function, one of the reproductive organs in men with diabetes. Gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) is one of the herbs that has potential as a diabetes drug. However, the use of herbal medicines has the disadvantage of being unstable in metabolism so that it cannot be absorbed effectively by the body. The disadvantages of this herbal treatment are overcome by making gotu kola coated chitosan nanoparticles (GCN). The purpose of this study was to determine the effect of gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) nanoparticles coated in chitosan on malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) levels of streptozotocin-induced testicular of mice. This type of experimental research used a Completely Randomized Design (CRD). The grouping was done by dividing 20 male mice into groups K- (Normal), K+ (STZ), N1 (STZ+NPK 120 mg/kgBW), N2 (STZ+NPK 180 mg/kgBW), N3 (STZ+NPK 240 mg /kgBW). The STZ dose given was 40 mg/kgBW for 3 days and 60 mg/kgBW for 2 consecutive days. NPK was given after 4 weeks after STZ induction and was given for 28 days. On the 29th day, the mice euthanasia with cervical dislocation and then the testicular organ samples were collected, and the SOD and MDA levels were analyzed using a spectrophotometer. Data analysis of SOD and MDA was carried out using ANOVA ($p < 0.05$) and continued with DMRT test. The results showed that CGN administration could affect SOD and MDA levels in mice (*Mus musculus*) by increasing testicular SOD and decreasing testicular MDA levels with a dose of 240 mg/kgBW of CGN.

Keywords: Nanoparticles, chitosan, *Centella asiatica*, SOD, MDA testicular, streptozotocin.

تأثير جزيئات غوتو كولا (*Centella asiatica* (L.) Urban) المغلفة بالشيتوزان على مستويات Superoxide Dismutase و Malondialdehyde للفئران المستحثة بالستربتوزوتوسين

امراة النظيفة، و بينة المحترمة، و مجاهدين احمد
قسم دراسة الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم مالانج

مستخلص البحث

مرض السكري هو متلازمة من الاضطرابات الأيضية المزمنة التي يعاني منها كثير من الناس في العالم في هذا القرن. يتسبب داء السكري الذي يعاني منه لفترة طويلة من الزمن في حدوث أضرار تتمثل في ضعف وفشل الأعضاء ، أحدهما هو ضعف الأعضاء التناسلية لدى الرجال المصابين بداء السكري. غوتو كولا (*Centella asiatica* (L.) Urban) هي إحدى الأعشاب التي يمكن أن تستخدم كعقار لمرض السكري. ومع ذلك ، فإن استخدام الأدوية العشبية له عيوب تتمثل في عدم استقرار عملية التمثيل الغذائي بحيث لا يمكن للجسم امتصاصها بشكل فعال. يمكن التغلب على هذا من خلال صنع غوتو كولا المغلفة بجسيمات الشيتوزان النانوية (NPK). كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير الجسيمات النانوية المغلفة بالكيتوزان (*Centella asiatica* (L.) Urban) على مستويات malondialdehyd (MDA) و superoxide dismutase (SOD) في الفئران التي يسببها الستربتوزوتوسين. استخدم هذا النوع من البحث التجريبي تصميمًا عشوائيًا تمامًا (CRD). التجميع عن طريق تقسيم 20 ذكرًا من الفئران إلى مجموعات K- (عادي) ، + K (STZ) ، N1 (STZ + NPK 120 مجم / كجم / كجم) ، N2 (STZ + NPK 180 مجم / كجم / كجم) ، N3 (STZ + NPK 240 ملغم / كجم). كانت جرعة STZ المعطاة 40 مجم / كجم لمدة 3 أيام و 60 مجم / كجم لمدة يومين متتاليين. تم إعطاء NPK بعد 4 أسابيع من تحريض STZ و إعطاؤه لمدة 28 يومًا. في اليوم 29 ، تم إنهاء الفئران ثم تم جمع عينات أعضاء الخصية ، وتم تحليل مستويات SOD و MDA باستخدام مقياس الطيف الضوئي. استخدم تحليل بيانات مستويات SOD و MDA ANOVA ($p < 0.05$) واستمر مع اختبار DMRT. أظهرت النتائج أن إعطاء NPK يؤثر على مستويات SOD و MDA في خصيتي الفئران (*Mus musculus*) عن طريق زيادة مستويات SOD وخفض مستويات MDA في الخصيتين بجرعة 240 مجم / كجم من NPK .

الكلمات المفتاحية : الجسيمات النانوية ، الشيتوزان ، *Centella asiatica* ، SOD ، MDA testis ، الستربتوزوتوسين

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan Skripsi ini dengan baik.

Tak lupa pula penulis haturkan ucapan terima kasih teriring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku pembimbing skripsi dan pembimbing agama, yang telah banyak memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Bapak dan Ibu dosen Biologi yang telah membagikan pengetahuan serta ilmunya kepada penulis.
6. M. Basyarudin, M.Si selaku Laboran Fisiologi Hewan.
7. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
8. Adik penulis, Zulfa Hanifil Faizah dan Najwa Khoiro Wilda yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Para anggota proyek penelitian nanopartikel pegagan, Mbak Meilinda, Mbak Hiba, Mas Masduqi, dan kakak tingkat lainnya. Terimakasih telah menjadi kakak tingkat yang selalu membantu, memberikan semangat dan motivasi.
10. Teman-teman santri PPRJ, Mbak Fida, Mbak Eza, Mbak Ani, Mbak Aning, Nisa', Anisatin, Ani, Diyah, Unzil, serta mbak-mbak santri lainnya yang tidak bisa saya sebut satu-persatu. Terimakasih karena selalu mensupport saya dan tiada henti mendoakan saya.
11. Sahabat-sahabatku Afida, Hilda, Wilda, Mba Asna, Atik, Nurul Yamsy, Chilvia, Aulia. Terimakasih sudah selalu ada di tiap kesulitan-kesulitan saya, dan tidak pernah bosan mendengar keluh kesah saya. Dan selalu tiada henti mendoakan saya hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
12. Teman-teman Biologi A 2017 yang telah menjadi teman, sahabat, serta keluarga dan penyemangat dalam menuntut ilmu selama di UIN Malang. Mahasiswa
13. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, dalam membantu menyelesaikan skripsi ini baik dukungan materiil maupun moril.

Semoga Allah SWT. senantiasa membalas kebaikan mereka. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, 06 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah	8
1.3 Tujuan	8
1.4 Hipotesis	9
1.5 Manfaat Penelitian	9
1.6 Batasan Masalah	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L) Urban).....	11
2.2 Nanopartikel	18
2.3 Gelasi Ionik	19
2.4 Diabetes melitus (DM)	21
2.5 Radikal Bebas	23
2.6 Pengaruh Diabetes Melitus terhadap Reproduksi Jantan	28
2.7 Antioksidan.....	34
2.8 Streptozotocin (STZ)	38
2.9 Hewan Coba	41
BAB III METODE PENELITIAN	47
3.1 Rancangan Penelitian	47
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	47
3.3. Variabel penelitian.....	47
3.4 Sampel Penelitian	47
3.5 Alat dan Bahan	48
3.6 Prosedur Penelitian	48
3.7 Teknik Analisis Data	52
BAB IV HASIL PEMBAHASAN	54
4.1. Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar SOD Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>) DM Tipe 2.....	54
4.2 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar MDA Mencit (<i>Mus musculus</i>) DM Tipe 2.....	59

4.3 Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	65
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	69
5.1 Kesimpulan	69
5.2 Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN.....	78

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil uji DMRT rerata kadar SOD testis mencit.....	55
Tabel 4.2 Hasil uji DMRT rerata kadar MDA testis mencit.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Pegagan (Tripathia et al, 2015).	12
Gambar 2 Bunga <i>C. asiatica</i> (Tripathia et al, 2015).....	13
Gambar 3 Struktur kimia golongan triterpen pada tanaman pegagan.....	15
Gambar 4 Crosslink kitosan-TPP dengan menggunakan metode gelasi ionik	21
Gambar 5 Pembentukan radikal bebas dan peran antioksidan menstabilkan radikal bebas	35
Gambar 6 Struktur kimia streptozotocin	38
Gambar 7 Mekanisme kematian sel oleh STZ	40

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 Kerangka Pemikiran	78
LAMPIRAN 2 Data Kadar SOD Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>) DM 2 setelah perlakuan NPK.....	79
LAMPIRAN 3 Data Kadar MDA Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>) DM 2 Setelah Perlakuan NPK.....	80
LAMPIRAN 4 Perhitungan Statistik Pengujian Kadar SOD dengan SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut Duncan	81
LAMPIRAN 5 Perhitungan Statistik Pengujian Kadar MDA dengan SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut DMRT	83
LAMPIRAN 6 Perhitungan Dosis	86
LAMPIRAN 7 Dokumentasi Penelitian	87

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki kekayaan hayati yang cukup tinggi. Sebanyak 30.000 spesies dari total 400.000 spesies diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat (Sunanda, 2020). Sekitar 1.000 jenis tanaman dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai tanaman obat (Mudjijono, 2015). Hal ini karena makin banyaknya masyarakat yang beralih pada gaya hidup kembali ke alam (*back to nature*) yakni dengan memanfaatkan bahan alam sebagai alternatif untuk menyembuhkan penyakit. Pengobatan dengan tanaman berkhasiat obat dianggap lebih mudah didapat, lebih terjangkau dan memiliki efek samping yang lebih bisa diterima tubuh dibandingkan efek samping yang ditimbulkan obat sintetik (Maulida, 2019).

Allah SWT telah menciptakan alam semesta untuk semua makhluk-Nya. Khususnya untuk manusia dengan berbagai macam tumbuhan yang memiliki manfaat berkhasiat obat. Beberapa dari karunia Allah telah tertulis dalam kitab-Nya, Al-quran yang harus dipelajari dan dijadikan pedoman bagi umat muslim. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat Asy - Syu'ara [26]: 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

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

Berdasarkan penjelasan tafsir Al-Mishbah ada tiga kata yang ditekankan yakni kata **إِلَى** yang mengandung makna batas akhir. Makna tersebut sebagai anjuran untuk memperluas pandangan hingga batas kemampuan memandang sampai seluruh cakupan bumi. Kata **زَوْجٍ** yang artinya pasangan termasuk pula

binatang dan manusia. dan kata كَرِيمٌ pada ayat ini yang menunjukkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang subur serta bermanfaat bagi makhluk hidup. (Shihab, 2002). Hal ini telah terbukti kebenarannya dengan ditemukannya berbagai tumbuhan yang memiliki manfaat sebagai obat berbagai macam penyakit. Hal ini sekaligus menjadi bukti bahwa Firman Allah SWT merupakan sebaik-baik petunjuk kehidupan bagi seluruh umat manusia dan menjadi perintah secara tidak langsung untuk memperhatikan ciptaan-Nya yang ada di bumi yakni tumbuhan.

Pegagan merupakan golongan tanaman gulma yang sudah lama dimanfaatkan sebagai obat herbal tradisional Indonesia (Gupta, 2017; Sakthipriya, 2018). Yasurin (2015) melaporkan bahwa *Centella asiatica* L. Urban memiliki banyak khasiat yang berhubungan dengan aktivitas antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antikanker. Hal ini karena banyaknya kandungan senyawa bioaktif dalam pegagan diantaranya polifenol, flavonoid, tannin, serta golongan terpenoid, asam asiatik, *asiaticoside*, *brahmic*, *brahmoside*, *brahminoside*, *centelloside*, *madecassoside*, *sceffoleoside*, dan thankunisida. Selain itu, pegagan dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes sekaligus mampu meningkatkan status antoksidan pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin. Pegagan tidak menimbulkan efek samping yang berarti karena dapat dicerna dalam tubuh dan toksisitasnya rendah (Tulung, 2021; Lv Junwei, 2018; Sutardi, 2016).

Diabetes melitus merupakan penyakit degeneratif yang tidak menular dan jumlahnya diperkirakan terus naik di masa mendatang. Menurut penelitian yang dilakukan Saeedi (2019) mengenai prevalensi diabetes, diketahui bahwa penyakit diabetes melitus tipe 2 adalah penyakit yang seringkali ditemukan dengan

presentase sekitar 90% kasus di dunia. *International Diabetes Federation* (2017) memprediksi bahwa jumlah penderita diabetes di seluruh dunia akan meningkat dari 425 juta jiwa pada tahun 2017 menjadi 151 juta jiwa pada tahun 2045. Hal ini menjadikan Indonesia sebagai negara atau wilayah ke-7 dari 10 negara dengan estimasi jumlah penderita diabetes melitus tertinggi (Sugiarta & Darmita, 2020).

Diabetes melitus berpengaruh buruk terhadap fungsi reproduksi pria yakni menyebabkan rendahnya kadar testosteron, disfungsi testis dan gangguan spermatogenik. Pada tikus yang dikondisikan diabetes, terjadi peningkatan jumlah sel germinal (terutama sel spermatogonia dan sperma) dalam tubulus seminiferus yang mengalami apoptosis (Kanter, 2012). Sehingga peningkatan stres oksidatif dan perubahan kapasitas antioksidan menjadi faktor utama penyebab patogenesis pada diabetes melitus kronis.

Kondisi diabetes pada mencit dapat diinduksi melalui *streptozotocin*. *Streptozotocin* merupakan salah satu agen diabetogenik. *Streptozotocin* masuk ke dalam tubuh melalui reseptor GLUT2. Selanjutnya, STZ menyebabkan alkilasi atau kerusakan untai DNA pada sel β pankreas. Ketika DNA sel β pankreas terganggu, maka produksi insulin juga terganggu. Insulin merupakan hormon yang berfungsi untuk *uptake* glukosa ke intrasel. Penurunan insulin ini menyebabkan kondisi hiperglikemia pada tubuh hewan coba (Saputra, 2018).

Mekanisme diabetes melitus yang diinduksi STZ dapat mempengaruhi fungsi testis melalui peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif (ROS) dalam tubuh seperti superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^-), hidroksil (OH^-), serta hidrogen peroksida (H_2O_2) (Agarwal, 2008). Produksi radikal bebas yang tidak

seimbang dengan jumlah antioksidan dalam tubuh menyebabkan kerusakan jaringan yang disebut stres oksidatif (Mustofa, 2015).

Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan endotel pembuluh darah dan mengakibatkan mikroangiopati yang dapat mengganggu pemberian nutrisi melalui pembuluh darah ke jaringan-jaringan pembentuk spermatozoa sehingga mengganggu proses spermatogenesis pada organ testis. Testis dalam sistem reproduksi memiliki dua peran utama yakni memproduksi hormon dan spermatozoa. Kedua peran tersebut secara anatomi berlangsung terpisah yaitu hormon testosteron dihasilkan oleh sel epitel tubulus seminiferus. Apabila sel-sel pada testis terganggu pasti tahapan spermatogenesis juga tidak berjalan dengan baik sehingga produksi spermatozoa berkurang, yang pada akhirnya berujung pada masalah infertilitas (Ko, 2014).

Kondisi stres oksidatif juga memicu produksi malondialdehid. Malondialdehida merupakan hasil oksidasi asam lemak tak jenuh ganda atau *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Senyawa ini merupakan produk dari peroksidasi lemak pada membran sel (Deslo, 2019). Berkaitan dengan infertilitas dan kualitas spermatozoa, MDA dilaporkan menjadi biomarker yang baik untuk memahami patologi penurunan motilitas sperma akibat infeksi atau peradangan urogenital. Selain itu, dilaporkan bahwa peningkatan MDA pada membran plasma spermatozoa meningkatkan rigiditas struktur dan mengubah kemampuan spermatozoa untuk berfusi dengan oosit, yang ditandai dengan penurunan motilitas sperma dan buruknya kualitas semen. Tingginya kadar radikal bebas, berdampak juga pada peningkatan kadar MDA dalam tubuh (Deslo, 2019).

Tubuh manusia memiliki mekanisme penanggulangan tersendiri dalam menangkal radikal bebas dengan antioksidan endogen. Salah satu antioksidan endogen yang diyakini dapat melindungi endotel disebut *superoksida dismutase* (SOD). SOD berperan dalam menyeimbangkan radikal bebas atau ROS melalui reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Proses perubahan ini melalui mekanisme katalisis yang dilakukan SOD dengan mengkatalisis reaksi dismutase radikal bebas anion superoksida menjadi hidroperoksida dan oksigen (Halliwell, 2007; Rahmawati, 2014). Antioksidan merupakan zat yang dapat menghambat oksidasi molekul penting seperti protein, lemak, dan DNA yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara mendonasikan elektron atau bertindak sebagai agen pereduksi (Winarsi, 2007).

Peningkatan kadar MDA yang tinggi pada kelompok hiperglikemia menunjukkan keadaan enzim antioksidan yang rendah sehingga tidak mampu mencegah reaktivitas senyawa radikal bebas (Suarsana, 2011). Kemampuan pertahanan antioksidan endogen yang rendah dapat diatasi dengan pemberian antioksidan eksogen. Penggunaan tumbuhan obat sebagai antioksidan berpotensi untuk melawan stres oksidatif dan membantu dalam memperbaiki kondisi hiperglikemia. Sehingga dapat dimanfaatkan sebagai terapi diabetes tipe 2. Pengobatan bahan alam yang berasal dari tumbuhan tidak menimbulkan efek samping yang berarti dan lebih aman digunakan dalam jangka panjang. Sebaliknya, sebagian besar obat sintetis menyebabkan efek samping yang tidak dapat diterima tubuh manusia (Maulida, 2019).

Beberapa penelitian yang telah dipaparkan sebelumnya menunjukkan bahwa pegagan mampu mencegah kerusakan oksidatif dengan meningkatkan kadar

enzim antioksidan berupa superoksida dismutase (SOD) dan secara efektif menurunkan produksi radikal bebas (Alwan, 2020; Anand, 2010; Gray, 2017). Namun, pemberian pegagan sebagai obat dalam bentuk daun segar, infusa maupun dalam bentuk ekstrak dapat menyebabkan tidak optimalnya khasiat yang dikandung pegagan, karena diperlukan dosis yang besar untuk pemberiannya sehingga menyebabkan pendistribusian obat dalam tubuh berlangsung lama. Untuk memunculkan efek farmakologis, obat herbal perlu penambahan dosis. Namun, meningkatkan dosis obat pada penghantaran sistemik pembuluh darah juga beresiko menimbulkan toksisitas (Poelstra, 2012).

Kandungan senyawa fitokimia dalam pegagan juga memiliki daya simpan yang relatif singkat. Selain itu, proses pengolahan yang tidak benar juga dapat mengurangi kandungan senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya. Oleh karena itu, dilakukan proses sintesis nanopartikel terhadap ekstrak pegagan untuk menjaga kualitas senyawa fitokimia dalam pegagan, mengatasi kelarutan zat aktif yang susah larut dan memberikan efek farmakologis pada dosis yang lebih kecil (efisien) (Hu and Li, 2011; Martien, 2012). Abdassah (2014) menjelaskan bahwa pembuatan nanopartikel mampu memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, memperbaiki absorpsi suatu senyawa makromolekul oleh tubuh dan mengurangi efek iritasi saluran cerna terhadap zat aktif.

Nanopartikel merupakan partikel koloid padat yang memiliki ukuran diameter dengan kisaran 10-1000 nm yang membuat ekstrak lebih akurat dalam mencapai target (Safitri, 2014). Proses pembuatan ekstrak nanopartikel dilakukan dengan bantuan penyalut untuk melindungi senyawa antioksidan dan mengoptimalkan penyerapan obat pada sel target dengan efek samping yang

masih ditolerir tubuh (Martien, 2012). Penyalut yang digunakan dalam nanoteknologi adalah kitosan. Kitosan mempunyai karakteristik yang menguntungkan yaitu biokompatible, biodegradable, tidak beracun dan tidak mahal (Irianto, 2011). Hal ini karena kitosan merupakan polisakarida alam yang disintesis melalui proses deasetilasi senyawa kitin yang ditemukan pada cangkang hewan laut, oleh karena itu cenderung tidak beracun pada dosis terapi (Nadia, 2014).

Metode yang digunakan dalam sintesis nanopartikel pegagan yaitu metode gelasi ionik. Kitosan dilarutkan pada larutan yang memiliki pH asam untuk mengubah gugus amina ($-NH_2$) menjadi terionisasi positif ($-NH_3^+$). Oleh karena itu biasanya digunakan TPP yang merupakan polianion untuk berikatan silang dengan kitosan yang mampu menstabilkan muatan positif yang tersisa (Bhumkar 2006; Kafshgari, 2011).

Penelitian yang telah dilakukan Muchtaromah (2020) dilaporkan bahwa nanopartikel pegagan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan pada ekstrak pegagan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Nanopartikel pegagan memiliki nilai IC_{50} sebesar 45,27 ppm dan ekstrak pegagan memiliki nilai IC_{50} sebesar 56,50 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Sebaliknya, semakin besar nilai IC_{50} menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang semakin rendah (Blois, 2010). Kemudian pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan pada penelitian pendahuluan menunjukkan peningkatan jumlah sel spermatogonium, spermatosit, dan spermatid testis pada dosis 180 mg/kg BB. Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti bermaksud untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan

(*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD dan MDA testis mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi STZ.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat disusun rumusan masalah sebagai berikut:

1. Adakah pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin?
2. Adakah pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar Malondialdehid (MDA) testis mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin ?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin.
2. Untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar malondialdehid (MDA) testis mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah serta tujuan penelitian, dapat dituliskan bahwa hipotesis yang terdapat pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) testis mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin.
2. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) terhadap kadar malondialdehid (MDA) testis mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini antara lain:

1. Dapat memberikan informasi pada pembaca dan masyarakat mengenai teknologi nanopartikel untuk pengembangan pembuatan obat
2. Dapat memberikan informasi pada pembaca dan masyarakat tentang manfaat tumbuhan pegagan (*Centella asiatica*) sebagai obat yang mampu memperbaiki kerusakan sel akibat induksi streptozotocin (STZ)
3. Dapat dijadikan acuan pada penelitian selanjutnya.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jenis kelamin jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 20-30 gram.
2. Induksi diabetes melitus menggunakan streptozotocin sebanyak 40mg/kgBB selama 3 hari pertama dan pada 2 hari selanjutnya diberi streptozotocin sebanyak 60mg/kgBB secara intraperitoneal.

3. Nanopartikel ekstrak pegagan yang digunakan dosis 120 mg/kgBB, 180 mg/kgBB, dan 240 mg/kgBB diberikan selama 28 hari.
4. Parameter yang diamati adalah kadar SOD dan MDA pada testis yang diinduksi streptozotocin.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

2.1.1 Deskripsi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Tanaman pegagan sudah lama dimanfaatkan sebagai obat herbal tradisional yang diterapkan turun menurun di berbagai Negara seperti Indonesia, Malaysia, India, dan Cina (Gupta, 2017; Sakthipriya *et al*, 2018). Pegagan merupakan tanaman herba tahunan yang dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Tanaman tumbuh pada ketinggian 100-2500 mdpl, namun tumbuh lebih optimal pada ketinggian diatas 700 mdpl. Secara umum, pegagan tumbuh pada berbagai kondisi lingkungan terutama pada tanah basah dengan suhu lembab seperti tepian sungai, selokan atau padang rumput (Prasad *et al*, 2014).

2.1.2 Klasifikasi

Berikut klasifikasi pegagan menurut *Global Biodiversity International Facility* (2017)

Kingdom: Plantae

Phylum: Tracheophyta

Class: Magnoliopsida

Order: Apiales

Family: Apiaceae

Genus: *Centella*

Spesies: *Centella asiatica* L. Urban

2.1.3 Morfologi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Pegagan memiliki daun tunggal berwarna hijau dengan bentuk bulat renniformis seperti kipas, bangun daun bulat dengan pangkal membelah dan melekuk ke dalam membentuk hati. Permukaan daun *leavis* (licin). Daging daun

seperti kertas (*papyraceae*). Tepi daun *crenate* (bergerigi) dan sedikit melengkung keatas. Tulang daun menjari berpusat di pangkal dan tersebar ke ujung. Panjang daun 1,5-4 cm dan lebar 1,5-5 cm serta berdiameter 1-7 cm. Daunnya 1-3 dari tiap ruas batang, panjang tangkai daun 2-6 cm dan lebar 1,5-5 cm (Tripathia *et al*, 2015).

Batang pegagan sangat kecil dan berwarna coklat kemerahan.. Permukaan batang kasar dan berambut halus. Batangnya lunak dan bertunas, dan menjalar sampai panjangnya satu meter. Akar pegagan berwarna putih, dengan rimpang pendek dan stolon yang merayap dengan panjang 10-80 cm. Tinggi tanaman keseluruhan mencapai 15 cm (6 inci) (Tripathia *et al*, 2015).



Gambar 1 Pegagan (Tripathia *et al*, 2015).

Bunga berbentuk umbel yang dilipat, masing-masing umbel terdiri dari 3-4 bunga berwarna putih hingga ungu atau merah muda, Perbungaan terjadi pada bulan April-Juni. Tanaman ini berbuah sepanjang musim tanam. Panjang buah kira-kira 2 inci, lonjong, berbentuk bulat dan pericarp yang sangat menebal. Biji memiliki embrio bertangkai yang tidak *strophiolate*, *hemispheric* atau dikompresi secara lateral (Tripathia *et al*, 2015).



Gambar 2. Bunga *C. asiatica* (Tripathia et al, 2015).

2.1.4 Kandungan Senyawa Aktif dan Potensi Pegagan Sebagai Obat

Pegagan merupakan golongan tanaman gulma. Tanaman gulma secara sederhana didefinisikan sebagai tumbuhan liar yang mengganggu dan seringkali hadirnya tidak dikehendaki. Tanaman gulma juga dianggap sebagai tanaman yang merugikan, karena bersaing dengan tanaman budidaya dalam memperebutkan ruang tumbuh, unsur hara, air dan udara. Namun, terdapat beberapa jenis gulma yang memiliki manfaat yang berkhasiat obat (Ngatiman & Nur Cahyono, 2016).

Hal ini memiliki kesesuaian dengan Firman Allah SWT yang tertulis dalam Q.S Ali-Imran [3]: 191 sebagai berikut:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَفُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”. (QS: Ali-Imran [3]: 191).

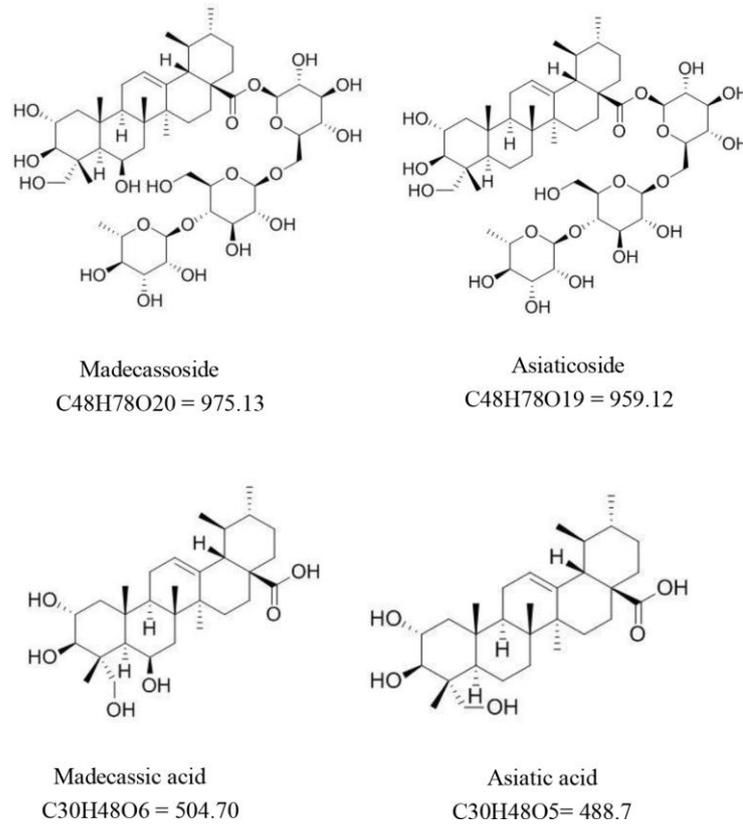
Berdasarkan Tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa Allah memuji hamba-Nya yang beriman, melalui ayat berikut, (رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ) “*Ya Rabb kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia*”. Maksud dari ayat ini bahwa Allah yang menciptakan makhluk-Nya dengan sungguh-sungguh dan adil. Ibrahim (2016) menambahkan bahwa Allah tiada mungkin menciptakan

mahluk-Nya secara sia-sia, karena tiap makhluk memiliki manfaat masing-masing. Sehingga kehidupan makhluk baik tumbuh-tumbuhan, binatang, manusia saling berkaitan satu sama lain dalam ekosistem.

Sebagaimana tanaman pegagan yang merupakan golongan gulma Dalam hal ini tanaman gulma yang dianggap mengganggu pada ekosistem, ternyata memiliki segudang manfaat dan khasiat yang berpotensi sebagai obat antidiabetes. Karena pandangan semacam inilah secara eksplisit telah menafikan hikmah Allah SWT, yang tidak pernah menciptakan makhluk apapun secara sia-sia.

Pegagan mengandung makronutrien, fitonutrien dan mikronutrien. Makronutrien di pegagan yaitu protein, karbohidrat, dan lemak. Fitonutrien yang terdapat dalam pegagan meliputi 1) golongan fenolik (polifenol, flavonoid, tanin), 2) golongan alkaloid, 3) golongan terpenoid (triterpenoid, 4) golongan glikosida (steroid, saponin, quercetin, asam asiatic, brahmosida) dan kandungan terbanyak berupa terpenoid (Djoko dkk, 2020; Jatayu *et al.*, 2018; Tulung dkk, 2021).

Centella asiatica L. Urban mengakumulasi sejumlah besar saponin triterpenoid pentasiklik, secara inklusif dikenal sebagai centelloids. Terpenoid ini termasuk asam asiatic (AA), asiaticoside, brahmic, brahmoside, brahminoside, centelloside, madecassoside, scelefoleoside, dan thankunisida (Gambar 3) yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis pegagan (Junwei lv *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2020). Mikronutrien yang terkandung dalam pegagan meliputi vitamin yakni vitamin C, vitamin B1, vitamin B2, Vitamin B3, dan Vitamin A dan mineral berupa natrium, kalium, kalsium, magnesium fosfor dan zat besi (Chandrika & Prasad Kumara, 2015). Kandungan mineral-mineral inilah yang mampu meningkatkan kinerja enzim SOD dalam tubuh (Retnaningsih dkk, 2013).



Gambar 3 Struktur kimia golongan triterpen pada tanaman pegagan (Sun et al., 2020)

Centella asiatica memiliki banyak manfaat dan khasiat yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, menyembuhkan luka, dan antikanker, juga dapat digunakan sebagai obat penyakit gula. Selain itu, pegagan mudah dicerna oleh tubuh dan memiliki toksiditas dalam tubuh yang sangat rendah. (Tulung *et al*, 2021; Yasurin *et al* (2015).

Beberapa penelitian ilmiah ekstrak pegagan yang pernah dilakukan pada hewan coba menunjukkan hasil sebagai berikut:

- a. Infusa pegagan diketahui mengandung flavonoid yang menunjukkan antioksidan tertinggi. Pemberian infusa pegagan terbukti dapat menteralkan kadar timbal pada tikus yang mengalami stres oksidatif (Tripathia *et al*, 2015).

- b. Flavonoid yang terkandung pada *Centella asiatica* L. Urban berperan sebagai inhibitor non enzimatik terhadap kinerja enzim α -amilase. Enzim α -amilase merupakan produk dari kelenjar pankreas dan saliva. Enzim ini bekerja dengan memecah molekul besar polisakarida yang tidak terlarut menjadi molekul yang dapat diserap tubuh seperti maltosa, dekstrosa, dan glukosa. Hadirnya senyawa flavonoid pada pegagan mampu menurunkan efektivitas enzim α -amilase sehingga penyerapan glukosa dalam darah dapat dikontrol dan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia) dapat dicegah (Prakash *et al.*, 2017).
- c. Kandungan minyak atsiri pada pegagan menunjukkan antioksidan yang sangat baik dan aktivitasnya sebanding dengan antioksidan sintesis (BHA). Kemudian Ekstrak metanol pada pegagan juga mampu meningkatkan kadar enzim antioksidan dan menurunkan kadar asam askorbat pada mencit yang sakit kanker getah bening (Prakash *et al.*, 2017).
- d. Kadar SOD pada liver *Cyprinus carpio* meningkat nyata setelah pemberian ekstrak *Centella asiatica* (L) Urb. dengan nilai $P < 0,05$. Perlakuan dengan 300 mg kg^{-1} C. Penelitian ini menunjukkan bahwa *Centella asiatica* memiliki efek antioksidan dengan meningkatkan mekanisme antioksidan endogen seperti SOD pada jaringan hati (Jatayu *et al.*, 2018).
- e. Asam asiatic (AA) turunannya adalah agen yang menjanjikan dalam pencegahan komplikasi diabetes Karena AA memiliki aktivitas antioksidasi kuat yang dapat menghambat atau memperlambat pembentukan AGEs yang terlibat dalam patogenesis diabetes nefropati, embriopati, dan neuropati. Asam asiatic juga mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan fibrosis pulau langerhans yang memainkan peran penting dalam mencegah terjadinya

disfungsi pulau langerhans. Hal ini dapat mempertahankan massa sel β dan mengurangi hiperglikemia pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin (STZ). Asam asiatic (AA) juga meningkatkan tingkat insulin plasma, sehingga menurunkan tingkat glukosa dan membalikkan perubahan tingkat enzim pemetabolisme karbohidrat utama, dan mencegah lipid peroksidasi sekaligus meningkatkan status antioksidan pada tikus diabetes yang diinduksi STZ (Junwei Lv *et al.*, 2018).

- f. Kandungan triterpenoid pada pegagan dapat bekerja secara efektif memperbaiki stres oksidatif pada model hewan diabetes dan model hewan obesitas dengan meningkatkan aktivitas SOD, GSH, dan CAT, mengaktifkan *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) yang berperan sebagai regulator penting repons antioksidan terhadap ROS, meningkatkan kemampuan kognitif hewan, dan selanjutnya meringankan gejala penyakit terkait (Sun *et al.*, 2020).
- g. Ekstrak etanol pada daun pegagan berpotensi sebagai antidiabetes karena kemampuannya dalam menekan kondisi hiperglikemia pada tikus yang diinduksi aloksan. Senyawa bioaktif seperti *brahmosida*, *brahminosida*, *quercetin*, β -sitosterol, dan kaempferol diketahui memiliki efek hipoglikemik dan berkhasiat sebagai antidiabetes melalui mekanisme penghambatan terhadap kerja α -glukosidase (Tulung *et al.*, 2021).

Hasil penelitian-penelitian diatas menjadi bukti bahwa tanaman pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) memiliki banyak manfaat dan berpotensi sebagai alternatif obat antidiabetes. Penggunaan tanaman pegagan sebagai alternatif obat antidiabetes sesuai dengan hadist Rasulullah SAW:

قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ : قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: "Rasulullah SAW, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah 'azza wajalla." (HR Muslim, 4085. Sumber: Muslim Kitab: Salam).

Berdasarkan hadist diatas, sebagai bukti kekuasaan Allah SWT, yakni mustahil bagi Allah menciptakan penyakit tanpa adanya obat yang menyertai. Allah SWT telah memberikan obat untuk semua penyakit termasuk diabetes. Namun, obat kimia anti-diabetes yang biasa dikonsumsi oleh penderita diabetes seringkali memiliki efek samping, dan sebagian besar obat sintetis menimbulkan efek samping yang tidak dapat diterima oleh tubuh manusia (Maulida *et al.*, 2019). Untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan terapi alternatif dengan efek samping minimal, harga terjangkau, serta sifat terapi alternatifnya tidak jauh berbeda dengan obat antidiabetik kimiawi. Metode alternatif adalah dengan mempelajari obat tradisional dari tumbuhan alami untuk mengatasi stres oksidatif (Miladiyah dkk, 2003).

2.2 Nanopartikel

Nanopartikel dapat digunakan sebagai kendaraan pengiriman obat. Umumnya, nanopartikel berukuran lebih kecil dari 100 nm setidaknya dalam satu nm dimensi, dan dihasilkan dari bahan yang mudah terurai, seperti polimer alami atau sintetis, lipid, atau logam. Strategi penerapan nanoteknologi untuk ekstrak tumbuhan sudah banyak digunakan, karena sistem struktur nano dapat meningkatkan aktivitas ekstrak tumbuhan, mempromosikan pelepasan yang konsisten konstituen aktif, mengurangi dosis yang dibutuhkan, dan mengurangi efek samping (Yasurin *et al*, 2016).

Kitosan merupakan polisakarida alam yang disintesis melalui proses deasetilasi senyawa kitin. Kitin secara luas dapat ditemukan pada cangkang serangga golongan *crustacean* antara lain udang, kepiting, dll. Kitosan memiliki 3 gugus fungsional utama pada strukturnya yaitu gugus amina, gugus hidroksil primer dan sekunder. Gugus inilah yang memberikan sifat unik pada kitosan yakni biokompabilitas yang tinggi, mudah terurai dan memiliki toksisitas yang rendah (Putri *et al.*, 2018).

Biokompabilitas kitosan dikarenakan kitosan merupakan polimer yang diperoleh dari hidrolisis polimer kitin yang berasal dari sumber alam yang sudah menjadi konsumsi umum pada cangkang hewan laut, sehingga cenderung tidak menimbulkan ketoksikan pada dosis terapan, selain dari sifatnya yang sekaligus *biodegradable* (Tiyaboonchai, 2003; Suptijah dkk, 2011; Nadia *et al.*, 2014).

Kitosan lebih banyak dipilih karena memiliki sifat khas, yaitu kemampuan untuk membuka kait antar sel (*tight junction*) pada membran usus secara sementara melalui mekanisme translokasi protein dari membran sel ke sitosol (Yeh *et al.*, 2011), sehingga mampu meningkatkan bioavailabilitas molekul biokimia ke dalam lapisan mukus. Karena itu, kitosan sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan utama pembuatan nanopartikel yang ditujukan untuk aplikasi *per oral*. Hal ini didukung kelebihan lain dari kitosan yaitu muatan pada gugus amonium yang positif dapat mengadakan interaksi ionik dengan asam sialat pada membran intestinal saluran cerna (Vilasaliu *et al.*, 2010).

2.3 Gelasi Ionik

Sintesis nanopartikel kitosan dilakukan menggunakan metode gelasi ionik. Metode gelasi ionik merupakan metode umum yang sering digunakan peneliti. Hal ini karena proses pembuatannya yang dapat dikontrol dengan mudah, langkah

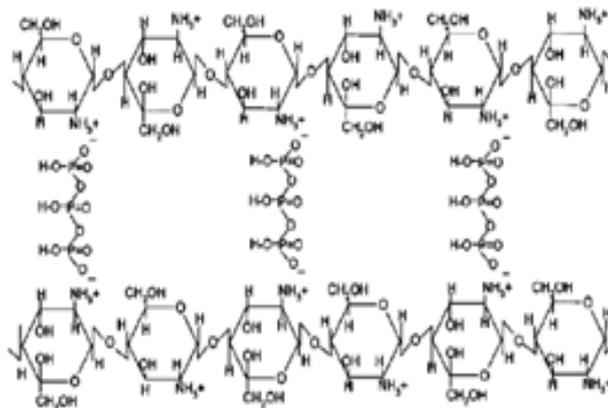
pembuatan yang sederhana dan tidak menggunakan pelarut organik (Mardiyati *et al.*, 2012).

Prinsip pembuatan partikel nano menggunakan metode gelasi ionik adalah terjadinya interaksi ionik antara gugus amino pada kitosan yang bermuatan positif dengan polianion TPP yang bermuatan negatif. Gugus amino pada kation kitosan diperoleh dengan melarutkan kitosan pada larutan asam encer. Gugus amino yang bermuatan positif akan bertaut silang dengan gugus negatif dari polianion TPP membentuk intramolekul tiga dimensi yang menyebabkan nanopartikel kitosan yang dihasilkan lebih stabil (Mardiyati *et al.*, 2012; Nadia *et al.*, 2014).

Tripolifosfat (TPP) memiliki massa molekul yang rendah sehingga ukuran molekulernya kecil yang mengakibatkan reaksi *cross-linking* lebih cepat dan lebih mudah untuk berdifusi. Penambahan TPP yang tepat dapat menurunkan ukuran nanopartikel dan meningkatkan kekuatan matriks kitosan agar lebih stabil (Nadia *et al.*, 2014; Suptijah *et al.*, 2011). Selain TPP, ditambahkan juga surfaktan (tween 80) yang berperan sebagai penyeimbang. Surfaktan bekerja dengan cara mencegah terjadinya penggumpalan (aglomerasi) antar partikel. Hadirnya surfaktan membuat partikel-partikel dalam larutan akan terselimuti dan menstabilkan satu sama lain sehingga pembentukan nanopartikel akan semakin efektif dan ukuran nanopartikel yang dihasilkan lebih kecil (Suptijah *et al.*, 2011).

Salah satu metode sederhana pembuatan nanopartikel kitosan dilakukan dengan metode gelasi ionik. Kitosan dilarutkan pada larutan dengan pH asam untuk mengubah gugus amina ($-NH_2$) menjadi terionisasi positif ($-NH_3^+$). Gugus yang telah terionisasi positif ini selanjutnya mampu membentuk interaksi ionik dengan obat yang bermuatan negatif. Secara keseluruhan, sistem yang terbentuk

cenderung menyisakan gugus amonium bebas yang akan saling tolak-menolak sehingga melemahkan kompleks nanopartikel yang telah terbentuk. Sehingga, perlu ditambahkan adanya suatu pengikat silang (*crosslinker*) yang mampu menstabilkan muatan positif yang tersisa. Pengikat silang ini harus berupa poli-anion, dan salah satu yang banyak digunakan adalah anion tripolifosfat (TPP) (Kafshgari *et al*, 2011). Pemilihan kitosan sebagai matriks DNA adalah karena sifatnya yang dapat melepas obat secara bertahap dalam waktu yang cukup lama, sehingga dapat meminimalkan pemberian berulang. Konsep gelasi ionik dapat membentuk matriks yang fleksibel untuk menjerap obat dengan sifat yang lebih luas.



Gambar 4 Crosslink kitosan-TPP dengan menggunakan metode gelasi ionik (Putri *et al.*, 2018)

2.4 Diabetes melitus (DM)

2.4.1 Pengertian DM

Diabetes melitus merupakan merupakan sindrom gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan karena menurunnya sensitivitas jaringan terhadap insulin. Hal ini terjadi karena respeter insulin sel tidak mampu menyediakan transporter glukosa, sehingga glukosa tidak dapat masuk ke intra sel

dan terjadi peningkatan glukosa dalam darah yang dikenal dengan istilah hiperglikemia (Annisa *et al.*, 2014).

2.4.4 Klasifikasi Diabetes Melitus

American Diabetes Association (ADA) tahun 2015 menjelaskan bahwa DM dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu

1. Diabetes Melitus tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 merupakan gangguan metabolisme heterogen dimana terjadi kerusakan sel β pankreas secara signifikan atau defisiensi insulin absolut. Diabetes melitus tipe 1 atau *DMT1* terjadi akibat kerusakan sel β pankreas yang menyebabkan tubuh menjadi kekurangan insulin dan biasanya karena serangan autoimun. Seringkali ditandai dengan munculnya gejala poliuria, polidipsia, polifagia, penurunan berat badan, kelelahan, dan penglihatan kabur (Johnson *et al.*, 2020). Penderita *DMT1* biasanya membutuhkan insulin eksogen selama seumur hidup karena jika tidak mengonsumsi insulin dapat mengakibatkan komplikasi seperti ketoasidosis dan koma (Kumar *et al.*, 2015).

2. Diabetes Melitus tipe 2

Diabetes tipe 2 merupakan sindrom gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan karena menurunnya sensitivitas jaringan terhadap insulin. Hal ini terjadi karena reseptor insulin sel tidak dapat menyediakan transporter glukosa, sehingga glukosa tidak dapat masuk ke intra sel dan terjadi peningkatan glukosa dalam darah yang dikenal dengan istilah hiperglikemia (Annisa *et al.*, 2014).

Saeedi *et al* (2019) menjelaskan mengenai prevalensi diabetes, diketahui bahwa penyakit diabetes melitus tipe 2 merupakan penyakit yang seringkali ditemukan dengan presentase sekitar 90% kasus di dunia. *International Diabetes*

Federation (2017) memprediksikan jumlah penderita diabetes di seluruh dunia akan meningkat dari 425 juta pada tahun 2017 menjadi 151 juta pada tahun 2045. Hal ini menjadikan Indonesia sebagai negara atau wilayah ke-7 dari 10 negara dengan estimasi jumlah penderita diabetes melitus tertinggi (Sugiarta & Darmita, 2020).

3. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes Melitus Gestasional (DMG) diartikan sebagai suatu gangguan toleransi glukosa yang ditemukan pada saat kehamilan. Penyakit ini terjadi pada 3-7% ibu hamil. Diabetes mellitus gestasional didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan (Johnson *et al.*, 2020). DMG merupakan salah satu faktor risiko terjadinya komplikasi pada janin dan berkaitan dengan munculnya DM2 di masa mendatang bagi wanita yang pernah menderita DMG. DMG pada kehamilan akan menimbulkan dampak yang serius pada ibu maupun anak, jika tidak ditangani dengan baik. Diabetes kemudian menjadi tidak dapat disembuhkan dan hanya dapat dikontrol dengan obat-obatan (Firdaus *et al*, 2016).

2.5 Radikal Bebas

Sel tubuh manusia seperti eukariotik pada umumnya, membutuhkan energi untuk hidup dan mempertahankan kehidupannya melalui proses metabolisme dan respirasi sel itu sendiri. Energi tersebut dihasilkan dari berbagai tingkat proses atau reaksi oksidasi kimiawi intraseluler. Reaksi oksidasi terjadi setiap saat termasuk ketika bernafas dan proses metabolisme tubuh. Reaksi ini dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Yuslianti, 2018).

Metabolisme sel aerobik dalam mitokondria terjadi melalui fosforilasi oksidatif. Molekul O₂ biasanya membawa dua elektron yang tidak berpasangan,

sehingga oksigen rentan terhadap pembentukan radikal bebas. Bentuk utama ROS terjadi dengan penambahan elektron ekstra O_2 , sehingga menghasilkan radikal anion superoksida (O_2^-). Anion superoksida kemudian dapat diubah menjadi ROS lain, termasuk radikal hidrogen peroksida (H_2O_2) dan peroksil (HO_2). (Ko *et al.*, 2014).

ROS dalam keadaan normal, merupakan perantara penting yang terlibat dalam tonus pembuluh darah dan regulasi gen di dalam testis. ROS diperlukan untuk pematangan sperma, hiperaktivasi, pengikatan zona pelucida, reaksi akrosom, dan fusi sperma-oosit (Ko *et al.*, 2014)..

Kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes dapat meningkatkan pembentukan ROS. Melalui reaksi autooksidasi reduksi sehingga mendorong lebih banyak donor elektron NADH dan $FADH_2$ masuk ke dalam rantai transport elektron. Peningkatan laju transport elektron ini turut berkontribusi dalam pembentukan anion superoksida (Rahmawati *et al.*, 2014).

ROS merupakan molekul oksigen yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga membuatnya tidak stabil dan sangat reaktif (Ko *et al.*, 2014). Untuk mencapai kestabilan atom atau molekulnya, ROS cenderung menarik elektron dari molekul-molekul penting disekitarnya seperti lipid, asam amino dan DNA agar memperoleh pasangan elektron (Subandrate dkk, 2015).

Stres oksidatif adalah kondisi dimana terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan dan prooksidan yang berpotensi menimbulkan kerusakan. Kondisi hiperglikemia kronik akan menyebabkan apoptosis sel endotel vaskuler melalui peningkatan produksi superoksida mitokondria. Metabolisme glukosa yang berlebihan akan menghasilkan radikal bebas. Kondisi hiperglikemia juga

memperparah keadaan stres oksidatif, karena menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas, dan menurunkan kerja antioksidan (Rahmawati *et al.*, 2014).

Stres oksidatif pada DM dapat terjadi melalui jalur non enzimatik, jalur enzimatik dan jalur mitokondria. Jalur non enzimatik berasal dari sifat oksidatif glukosa itu sendiri. Keadaan hiperglikemia secara langsung akan menyebabkan peningkatan produksi ROS. Glukosa dapat mengalami autooksidasi membentuk radikal hidroksil. Glukosa dapat bereaksi dengan protein membentuk *Amadori products* yang selanjutnya diikuti oleh pembentukan AGEs. Dalam keadaan hiperglikemia, terjadi peningkatan metabolisme glukosa melalui jalur poliol (sorbitol) yang juga meningkatkan produksi radikal superoksida (Mustofa, 2015).

Kondisi stres oksidatif dapat menimbulkan kerusakan oksidatif pada tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh. Stres oksidatif juga berperan penting dalam patofisiologi timbulnya berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes melitus dan komplikasinya serta aterosklerosis yang mendasari penyakit jantung (Giacco, 2013). Stres oksidatif pada sistem genitari dapat menyebabkan kerusakan pada sperma yang berakibat pada penurunan motilitas sperma, peroksidasi lipid, peningkatan kerusakan DNA dan penurunan fusi sperma oosit (Ko *et al.*, 2014).

Stres oksidatif memainkan peran utama dalam perkembangan komplikasi diabetes, keduanya dalam sistem mikrovaskular dan makrovaskular. Stres oksidatif pada penderita diabetes terjadi terutama karena produksi ROS yang berlebihan dari auto-oksidasi glukosa, protein terglykasi, dan glykasi enzim antioksidan. ROS bertanggung jawab atas kerusakan oksidatif makromolekul seperti protein, lipid, dan nukleat asam pada pasien diabetes. Sebagian besar efek samping ini dapat dicegah dengan adanya antioksidan (Alwan *et al.*, 2020).

2.5.1 MDA

Kondisi hiperglikemia terjadi karena tubuh kekurangan hormon insulin. Sehingga glukosa dalam darah tidak mampu dimanfaatkan dengan baik oleh sel. Untuk itu, sel mencari sumber energi lain berupa lipid. Proses pemecahan lipid, selain menghasilkan energi juga menghasilkan produk samping berupa radikal bebas. Peningkatan proses pemecahan lipid sebagai energi, maka akan meningkatkan proses sintesis lipid dalam tubuh yang akan meningkatkan konsumsi oksigen dan NADPH, yang kemudian akan meningkatkan produksi radikal superoksida (O_2^-) (Sunaryo & Rahmania, 2015).

Terdapat korelasi antara kondisi hiperglikemia dengan kadar MDA dalam tubuh. Peningkatan produksi radikal bebas berperan dalam patogenesis vaskulopati metabolik dan berbagai kerusakan sel. Hal ini dapat berakibat pada kondisi infertilitas pria yang mengarah pada kerusakan testis yang berakibat pada terganggunya proses spermatogenesis (Mohasseb *et al.*, 2011).

Pembentukan MDA melalui mekanisme peroksidasi lipid yang didahului dengan penghilangan atom hidrogen (H) dari molekul lipid tak jenuh rantai ganda (*Polyunsaturated fatty acid/PUFA*) oleh gugus hidroksil (OH), sehingga lipid bersifat radikal. Kemudian lipid radikal bereaksi dengan atom oksigen (O_2) membentuk radikal peroksil (OOH) dan akhirnya menghasilkan MDA (Yustika, 2013).

MDA diproduksi selama proses autooksidasi PUFA oleh suatu radikal bebas dengan beberapa tahap, diawali oleh tahap inisiasi yaitu tahap pembentukan radikal bebas. Pada tahap ini, radikal bebas hidroksil menyerang PUFA mampu melepaskan satu atom hidrogen (H) dari gugus metil ($-CH_2-$) dan membentuk suatu radikal yang disebut *carbon-centered radical*. Selanjutnya, tahap propagasi

yaitu tahap pemanjangan rantai radikal. Pada tahap ini, radikal mengalami penataan ulang molekul menjadi diena terkonjugasi yang akan bereaksi dengan molekul oksigen (O_2) membentuk radikal lipid peroksil. Dilanjutkan tahap terminasi yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain. Pada tahap ini, radikal lipid peroksil mampu menarik atom H dari PUFA lainnya sehingga terbentuk lipid hidroperoksida (Tangvarasittichai, 2015).

Membran sperma mengandung asam lemak jenuh (PUFA) dengan konsentrasi tinggi, sehingga membuatnya sensitif terhadap ROS. Konsentrasi MDA dalam plasma air mani pria tidak subur ($0,94 \pm 0,28$ nmol/ml) secara signifikan lebih tinggi dari pria subur ($0,65 \pm 0,17$ nmol/ml) (p value < 0.001). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan peroksidasi lipid berhubungan dengan kerusakan selaput sperma dan tingkat MDA yang tinggi. Sehingga kelebihan produksi ROS dari MDA diduga berperan dalam mekanisme testis degeneratif yang terkait infertilitas (Bangun., 2019).

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode *Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS). Dasar pengukuran menggunakan metode TBARS adalah pengukuran kadar MDA yang paling sering dan relatif mudah dikerjakan. Reaksi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA menghasilkan produk akhir yang stabil berupa MDA-TBA *adduct*. Reaksi ini berjalan pada pH 2-3 dan akan memberikan warna pink-kromogen yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik pada panjang gelombang (λ) 532-535 nm. Pengukuran reaksi TNA dengan metode kolorimetri dengan spektrofotometer merupakan pengukuran kadar MDA yang paling sering dilakukan. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, jaringan maupun urin (Tangvarasittichai, 2015).

Kadar MDA yang tinggi pada penderita DM menunjukkan kondisi antioksidan endogen yang rendah, sehingga tidak mampu mencegah reaktivitas senyawa ROS. Reaktivitas tersebut ditandai dengan terjadinya reaksi peroksidasi lipid yang menghasilkan MDA. Sehingga adanya MDA dapat dijadikan indikator keberadaan ROS dalam tubuh dan penanda terjadinya kerusakan oksidatif pada membran sel (Bangun., 2019).

2.6 Pengaruh Diabetes Melitus terhadap Reproduksi Jantan

Diabetes melitus selalu dikaitkan dengan disfungsi reproduksi, terutama pada sistem reproduksi jantan. Banyak penelitian telah mengungkapkan bahwa diabetes melitus dapat mempengaruhi spermatogenesis (Kamaruzaman dkk, 2018). Pada mencit yang diinduksi STZ, menunjukkan telah terjadi kerusakan pada histologi testis. Hal ini didasarkan pada peningkatan ROS karena hiperglikemi (Suarsana *et al.*, 2011).

Pembentukan ROS merupakan proses fisiologi dalam tubuh terjadi ketika ketidakseimbangan eliminasi dan produksi antioksidan dalam tubuh, terakumulasinya ROS pada jaringan testis menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan terganggunya respirasi sel yang menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria. Keadaan ini akan mengakibatkan kebocoran membran sehingga terjadi depolarisasi pada membran dan akan mengaktifkan faktor penyebab apoptosis. Apoptosis sel germinal terjadi pada spermatogenesis merupakan fisiologis normal. Namun, kejadian apoptosis sel germinal meningkatkan kerusakan testis yang diinduksi secara kimia (Mohasseb *et al.*, 2011).

Berkaitan dengan infertilitas dan kualitas spermatozoa, MDA telah dilaporkan menjadi biomarker yang baik untuk memahami patologi dari pengurangan

motilitas sperma pada kondisi infeksi urogenital atau status inflamasi. Selain itu, adanya peningkatan MDA dalam membran plasma spermatozoa telah dilaporkan menambah rigiditas struktur, mengubah kemampuan spermatozoa untuk berfusi dengan oosit yang ditandai dengan penurunan motilitas spermatozoa dan buruknya kualitas semen. Pada studi lain diketahui bahwa terdapat hubungan antara kadar MDA dengan status infertilitas, penurunan jumlah sperma, motilitas dan morfologi (Ni *et al.*, 2016).

Menurunnya jumlah spermatozoa pada kelompok tikus putih diabetes melitus diduga disebabkan oleh peningkatan produksi ROS yang berlebihan pada tingkat sel. Peningkatan produksi ROS yang berlebihan tanpa diikuti keseimbangan aktivitas antioksidan endogen, menyebabkan terjadinya stres oksidatif pada sel termasuk sel testis (Ko *et al.*, 2014).

Kondisi hiperglikemia pada pasien diabetes melitus menyebabkan peningkatan aktivitas produksi ROS sekaligus penurunan aktivitas dari enzim antioksidan seperti SOD, GSH-Px dan CAT. Pembentukan ROS sebenarnya adalah proses fisiologi tubuh akan tetapi jika peningkatan ROS secara berlebihan tanpa diimbangi dengan antioksidan maka akan menyebabkan stres oksidatif pada sel yang selanjutnya akan menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan dari sel dalam tubulus seminiferus, termasuk sel leydig, dan sel sertoli (Ko *et al.*, 2014).

Stres oksidatif juga dapat merusak integritas DNA pada nukleus spermatozoa sehingga menginduksi apoptosis sel yang mengakibatkan turunnya jumlah spermatozoa Agarwal *et al.*, (2014) menambahkan bahwa apoptosis sel dapat menurunkan jumlah sel spermatozoa. Stres oksidatif akibat DM dapat menyebabkan ketidakseimbangan poros hipotalamus-hipofisa-gonad yang

selanjutnya mempengaruhi sekresi dan kerja *Folikel Stimulating Hormone* (FSH), dan *Luteinizing hormone* (LH) (Agarwal *et al*, 2014).

FSH merupakan hormon gonadotropin berperan pada tahap perkembangan sel spermatogonia dan spermatosit primer. FSH mempengaruhi aktifitas mitosis dan proliferasi sel spermatogonia dan menunjang tahap pematangan termasuk reduksi meiosis sel spermatosis dan perkembangan spermatid hingga terbentuk spermatozoa. Sedangkan LH merupakan hormon testosteron yang akan mempengaruhi proses spermatogenesis. Bila terjadi penurunan jumlah sel leydig maka akan terjadi penurunan hormon testosteron yang akan menghambat proses spermatogenesis dan penurunan jumlah spermatozoa (Idris *et al*, 2012).

Sistem reproduksi pada pria memiliki tiga fungsi yang berbeda: pra-testikular (regulasi neuroendokrin), testiskular (spermatogenesis) dan post testikular (ejakulasi). Diabetes melitus mempengaruhi performa reproduksi pada beberapa level seperti kontrol endokrin pada spermatogenesis, proses spermatogenesis, menghambat ereksi penis dan ejakulasi (Barkabi-Zanjani *et al*, 2020).

2.6.1 Efek Pra-testis

2.6.1.1 Regulasi neuroendokrin pada kesuburan kondisi diabetes

Fungsi sumbu Hipotalamus-Pituitari-Gonadal (HPG) berfungsi setelah masa pubertal terpenuhi, produksi androgen secara normal dan kapasitas reproduksi secara penuh. Sumbu ini terdiri dari jaringan neuroendokrin yang mengintegrasikan berbagai input internal dan eksternal untuk mengkoordinasikan kompetensi reproduksi. Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) adalah pengatur utama reproduksi yang mengontrol produksi gonadotropin dan selanjutnya, fungsi testis. Fungsi sumbu HPG yang efektif diperlukan untuk

fungsi seksual dan kesuburan yang normal dan berkontribusi pada kesehatan dan kesejahteraan secara keseluruhan. Banyak penelitian menunjukkan bahwa sumbu HPG terganggu pada kondisi diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa kadar testosteron, hormon perangsang folikel (FSH), dan hormon luteinizing (LH) pada pria dengan diabetes yang berubah. Penurunan produksi testosteron pada pasien DM2 dilaporkan dan dimediasi oleh penurunan fungsi sel Leydig dalam kondisi diabetes. Saat ini rendahnya tingkat hormon reproduksi (testosteron, FSH, dan LH) pada subjek pria diabetes telah terbukti. Kadar LH yang rendah diperkirakan akan mengganggu tahap akhir spermatogenesis dan kadar FSH yang rendah memediasi penurunan diameter tubulus seminiferus, penurunan jumlah sperma, dan keterlambatan permulaan spermatogenesis. Schoeller dalam jurnalnya membahas efek insulin pada aksis HPG, secara singkat dapat dikatakan bahwa efek insulin pada aksis HPG dimediasi oleh reseptor insulin dan jalur pensinyalan terkait (Barkabi-Zanjani et al., 2020a).

2.6.2 Efek fungsional testikular

2.6.2.1 Penurunan kualitas sperma pada diabetes

Terdapat hubungan secara langsung antara kualitas sperma dengan kesuburan. Telah dilaporkan bahwa kadar insulin serum mempengaruhi akrosom dan membran plasma sperma. Pada pasien diabetes, motilitas sperma menurun dan morfologi sperma abnormal meningkat. Proses spermatogenesis terdiri dari tiga langkah utama sebagai berikut: 1) proliferasi dan diferensiasi spermatogonia 2) pembelahan selama tahap spermatosit 3) spermiogenesis, ketiga jalur ini dipengaruhi oleh hiperglikemia. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa komplikasi utama diabetes adalah disfungsi reproduksi seperti penurunan jumlah sperma, motilitas, volume air mani, dan morfologi sperma yang tidak biasa. Para

ilmuwan menunjukkan bahwa motilitas dan volume sperma berkurang dalam situasi diabetes. Bukti menunjukkan bahwa metabolisme lipid normal diperlukan untuk spermatogenesis normal, sedangkan hiperglikemia menimbulkan komplikasi parah dalam metabolisme lipid, terutama hidrolisis trigliserida, ester asil lemak kolesterol, dan hormon steroid (Barkabi-Zanjani et al., 2020a).

2.6.3 Hipogonadisme (testosteron rendah)

Testosteron adalah hormon seks pria utama dan anabolik steroid . Pada manusia pria, testosteron memainkan peran kunci dalam perkembangan jaringan reproduksi pria seperti testis dan prostat. Juga, testosteron diperlukan untuk perkembangan sperma normal. Testosteron juga mengaktifkan beberapa gen dalam sel sertoli, yang mempromosikan diferensiasi spermatogonia. Testosteron mengatur respon akut HPA (hypothalamic-pituitary-adrenal axis) di bawah tantangan dominasi. Hipogonadisme pria, juga dikenal sebagai defisiensi testosteron, adalah kegagalan testis untuk memproduksi hormon seks pria testosteron, sperma, atau keduanya. Testosteron secara langsung mempengaruhi metabolisme energi dan, dengan demikian, keseimbangan oksidatif. Penelitian menunjukkan bahwa sekitar 1 dari 4 pria dengan diabetes tipe 2 memiliki kadar testosteron rendah (hipogonadisme). Data menggambarkan bahwa penurunan testosteron tersebut terdapat dalam serum pria diabetes dan tikus diabetes pria. Chodari dkk. menunjukkan bahwa peningkatan stres oksidatif pada diabetes dapat menyebabkan defisiensi testosteron. Juga, dilaporkan bahwa kekurangan testosteron berkontribusi pada banyak komplikasi diabetes. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa jaringan testis terdegradasi pada diabetes; tampaknya kadar testosteron yang rendah memediasi ukuran testis yang kecil pada pria

diabetes. Testosteron memiliki peran sentral dalam produksi air mani dan dalam produksi sperma dalam jumlah normal; sehingga pria diabetes secara signifikan memiliki kadar air mani dan jumlah sperma yang rendah (Barkabi-Zanjani et al., 2020a).

2.6.4 Efek post-testikular

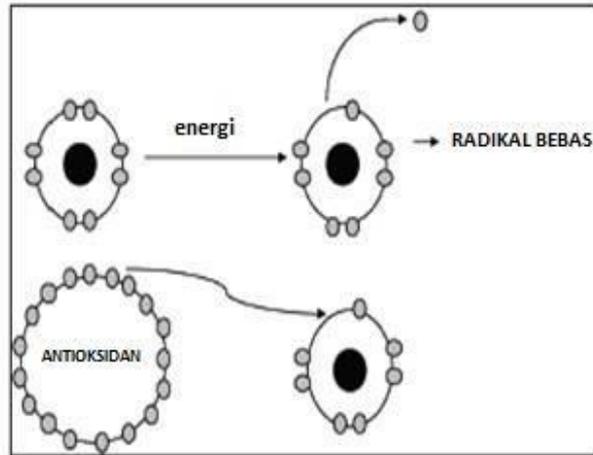
2.6.4.1 Disfungsi ereksi pada Diabetes

Disfungsi ereksi (DE) berarti ketidakmampuan untuk memperoleh atau mempertahankan ereksi yang cukup untuk seks. DE umumnya diderita pria dengan diabetes, terutama mereka dengan diabetes tipe 2 yang mempengaruhi sekitar 34-45% pria dengan diabetes. Hubungan antara DM dengan disfungsi ereksi telah didokumentasikan dalam literatur sejak 1798. Mekanisme yang menyebabkan disfungsi ereksi pada subjek diabetes termasuk peningkatan produk akhir glikasi lanjut (AGEs), peningkatan kadar radikal bebas oksigen, gangguan sintesis oksida nitrat, peningkatan situs pengikatan reseptor endotelin B, peningkatan regulasi RhoA/Rho- jalur kinase, kerusakan neuropatik, dan gangguan siklik guanosa monofosfat (cGMP)-dependent protein kinase-1. Nitric oxide (NO) diproduksi oleh endotelium arteri penis. NO memediasi relaksasi corpus cavernosum dengan pembentukan cGMP. Dilaporkan bahwa NO sintase berkurang pada pria diabetes dengan DE. Hari ini, ditetapkan bahwa penurunan NO dan molekul efekturnya, cGMP; berkontribusi signifikan terhadap pertumbuhan DE pada pasien diabetes. AGEs membentuk ikatan kovalen dengan kolagen vaskular yang mengarah kepada penebalan pembuluh darah, berkurangnya elastisitas, disfungsi endotel, dan aterosklerosis. Hal ini menunjukkan bahwa korpus kavernosum pasien diabetes memiliki produk AGE tingkat tinggi yang mengusulkan efek spesifik jaringan dari AGEs. Juga, produk

AGE mungkin memediasi DE dengan meningkatkan kerusakan sel oksidatif dan mengurangi NO, yang berpuncak pada penurunan cGMP dan penurunan relaksasi otot polos cavernosal. Endotelin-1 (ET-1) adalah vasokonstriktor kuat di penis, dan menariknya telah terungkap meningkat dalam plasma pasien diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa reseptor ETA ditempatkan pada otot polos dan vasokonstriksi menengah. Tampaknya peningkatan reseptor ET dan ligan mungkin berasal dari vasokonstriksi penis. Hal ini menunjukkan bahwa ET-1 menginduksi vasokonstriksi dengan menggunakan jalur RhoA/Rho kinase (Barkabi-Zanjani *et al.*, 2020b).

2.7 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu substansi yang dapat menghambat reaksi oksidasi molekul-molekul penting di dalam tubuh diantaranya seperti protein, lemak dan DNA. Antioksidan menghambat reaksi oksidasi dengan cara mendonorkan elektronnya atau berperan sebagai reduktan. Tubuh membutuhkan antioksidan untuk mencegah dan mengatasi stres oksidatif (Yuslianti, 2018). Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel, hal ini terjadi ketika radikal bebas tidak berikatan dengan antioksidan sehingga menimbulkan reaksi oksidasi terus berlanjut atau membentuk kaskade (Andarina & Djauhari, 2017).



Gambar 5 Pembentukan radikal bebas dan peran antioksidan menstabilkan radikal bebas (Andarina & Djauhari, 2017).

Secara umum, antioksidan bekerja untuk mencapai dua tujuan utama: pertama, mengurangi efek berbahaya dari radikal bebas baik dengan mencegah terjadinya reaksi oksidasi yakni dengan meredam dan menonaktifkan mereka. Kedua, dengan meningkatkan sistem pertahanan alami dengan mendorong aktivitas enzim antioksidan dan meregenerasi protein lain terlibat dalam jalur antioksidan. Namun, ada beberapa strategi yang digunakan dalam penggunaan antioksidan yang berbeda untuk memerangi disfungsi saraf pada diabetes. Pilihan strategi tergantung pada jenis, struktur, dan konsentrasi dari antioksidan. Juga, stadium, tingkat keparahan, prevalensi, dan primer penyebab penyakit sama pentingnya (Oyenihi *et al.*, 2015).

Antioksidan adalah zat yang dapat memproteksi tubuh dari radikal bebas dan efek ROS serta menghambat perkembangan penyakit kronis. Meskipun hampir semua organisme memiliki sistem pertahanan dan perbaikan antioksidan, sistem ini tidak cukup untuk mengatasi seluruh kerusakan. Oleh karena itu,

suplementasi antioksidan eksogen cukup menjanjikan dalam memperkuat sistem pertahanan dan perbaikan antioksidan (Jhansi, D & Manjula, 2019).

2.7.1 Superoksida dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim antioksidan utama sebagai pencegah sistem pertahanan organisme yang disebabkan oleh bebas radikal (Valko *et al.*, 2007). Produk sampingan dari proses metabolisme dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas. Radikal bebas dapat merusak makromolekul seluler, seperti karbohidrat, protein, lipid dan nukleat asam. Oleh karena itu, SOD dapat menghilangkan secara efektif radikal bebas di berbagai jaringan dan mengurangi kerusakan. Mekanisme kerja utama SOD adalah mengkonversi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida yang tidak terlalu reaktif. Selanjutnya, kandungan logam pada SOD mendegradasi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Andarina & Djauhari, 2017). SOD juga dikendalikan oleh gen mediator transkripsi yaitu *Nrf2*. Konsentrasi antioksidan dan *scavenger* yang tinggi terkandung dalam plasma seminalis. Antioksidan ini bekerja untuk melindungi sperma dari efek merusak ROS (Ko *et al.*, 2014).

Jumlah ROS yang berlebihan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang menghasilkan malondialdehid (MDA) dan dapat menurunkan kapasitas enzim antioksidan seluler berupa superoksida dismutase (SOD) dan katalase (Sunaryo & Rahmania, 2015).

Peningkatan dari ROS menimbulkan berbagai kerusakan dan disfungsi dari jaringan dengan menyerang, mendenaturasi dan memodifikasi struktur dan fungsi molekul dan mengaktifkan faktor transkripsi yang sensitif redoks dan jalur transduksi sinyal. Hal ini mampu memicu terjadinya nekrosis, apoptosis, inflamasi,

fibrosis. Sistem redoks termasuk antioksidan dan enzim detoksifikasi fase 2 akan melindungi jaringan dari kerusakan yang diakibatkan oleh ROS. Nrf2 berperan penting dalam aktivitas basal dan menginduksi gen-gen yang mengkode beberapa antioksidan enzimatik (Kamalia, 2016).

Nrf2 (*nuclear factor-erythroid-2 related factor 2*) merupakan faktor transkripsi yang mengatur gen yang mengkode antioksidan dan enzim detoksifikasi. Pada kondisi fisiologi, stres oksidatif akan memicu *up regulation* dari antioksidan endogen dan protein sitoprotektif untuk mencegah atau membatasi kerusakan jaringan. Proses ini diperantarai oleh aktivasi Nrf2 yang akan mengaktifasi laju transkripsi berbagai gen antioksidan endogen (Kamalia, 2016).

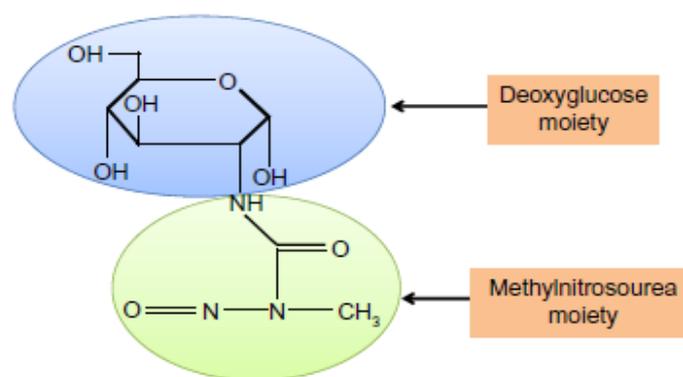
Stres oksidatif seharusnya menyebabkan peningkatan aktivasi Nrf2. Dalam kondisi basal, Nrf2 berlokasi di sitoplasma dan inaktif, berikatan dengan molekul reseptor *kelch-like ECH association protein 1* (Keap1) membentuk kompleks Nrf2-Keap1 terdiri dari beberapa residu sistein yang bertindak sebagai sensor terhadap status redoks intraseluler. Nrf2 secara cepat akan didegradasi oleh jalur ubiquitin proteosom. Sinyal dari ROS dan elektrofil akan mengakibatkan disosiasi Nrf2 dari Keap1. Kemudian, Nrf2 akan bertranslokasi ke nukelus, di dalam nukleus, Nrf2 terikat pada sekuens regulator yang disebut *antioxidant response element* (ARE) yang berlokasi di regio promotor dari gen yang mengkode antioksidan endogen (Li dkk, 2008)

Mekanisme peningkatan kadar SOD melalui perbaikan kondisi stres oksidatif juga dapat terjadi dengan mekanisme penghambatan *Nuclear Respiratory Factor 2* (Nrf2). Jalur pensinyalan Keap1-Nrf2-ARE dianggap

sebagai jalur terpenting dalam mekanisme antioksidan. Nrf2 adalah faktor transkripsi redoks dan reseptor stres oksidatif, yang memainkan peran penting dalam mengatur ekspresi basal dan diinduksi dari berbagai detoksifikasi dan gen antioksidan. Secara fisiologis, Nrf2 ditambatkan oleh protein sitosol Keap1, yang ditargetkan untuk degradasi proteasomal yang bergantung di mana-mana. Keap1 adalah penghambat sitosol utama Nrf2 dan memiliki beberapa residu Cys. Modifikasi residu ini oleh ROS dan agen elektrofilik menyebabkan perubahan spasial dalam Kompleks Nrf2-Keap1 (Sun *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2020)

2.8 Streptozotocin (STZ)

Streptozotocin dikenal sebagai agen diabetogenik pada hewan coba sejak tahun 1963. Streptozotocin yang berasal dari *Streptomyces achromogenes* dan secara struktural adalah turunan aglucosamine dari nitrosourea (Srinivasan & Ramarao, 2012). Streptozotocin mengandung molekul deoksiglukosa yang terkait dengan gugus methylnitrosourea. Bagian deoksiglukosa memfasilitasi transportasi bahan kimia melintasi membran sel β pankreas dan bagian methylnitrosourea bertanggung jawab atas toksisitas sel β pankreas (Wu & Yan, 2015).



Gambar 6 Struktur kimia streptozotocin (Wu & Yan, 2015).

Pada penelitian Fatani *et al* (2015) dijelaskan bahwa diabetes yang diinduksi STZ pada tikus jantan menyebabkan atrofi organ kelamin, perubahan arsitektur

prostat ventral, penurunan jumlah sperma, serta rendahnya kadar testosteron plasma. Mekanisme toksisitas STZ diawali dengan masuknya STZ melalui transporter glukosa (GLUT 2). Reseptor GLUT2 melimpah pada membran plasma sel β pankreas. Toksisitas STZ bersifat selektif pada sel β pankreas, hal ini karena STZ memiliki gugus glukosa yang mempermudah masuknya STZ ke sel β pankreas dibandingkan sel lainnya. Sel β pankreas lebih aktif mengambil glukosa dibanding sel lainnya, sehingga toksisitasnya selektif terhadap sel β pankrea. Selanjutnya, STZ menyebabkan alkilasi atau kerusakan untai DNA (Srinivasan & Ramarao, 2012; Husna *et al.*, 2019; Saputra *et al.*, 2018; Yaturu S, 2011).

Kematian sel yang disebabkan oleh pemberian STZ karena gugus metilnitrosoureas STZ menyebabkan metilasi DNA, terutama pada posisi O⁶ guanin. Hal ini mencetuskan kerusakan DNA yang pada akhirnya menyebabkan nekrosis sel beta pankreas melalui deplesi simpanan energi seluler. Selain itu, adanya usaha untuk memperbaiki DNA yang rusak melalui aktivasi poli ADP ribosa polimerase (PARP) akan semakin mengurangi NAD⁺ selular (Eleazu *et al.*, 2013).

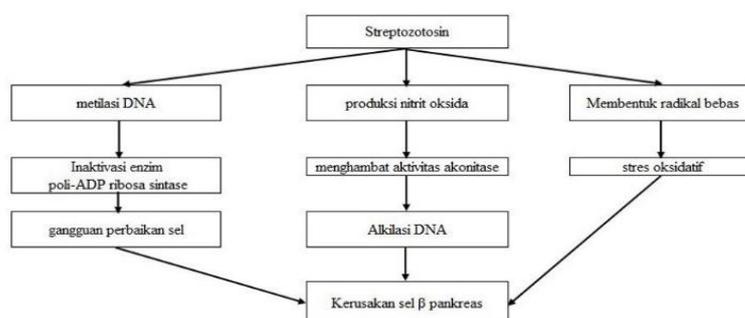
Ketika STZ masuk dalam sel, ia meningkatkan *guanylyl cyclase* dan meningkatkan pembentukan cGMP dan melepaskan nitrat oksida. Nitrat oksida merupakan jenis ROS yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Selanjutnya, ATP yang mengalami defosforilasi meningkatkan substrat *xanthine oxidase* dan membuat sel β sangat sensitif terhadap enzim radikal hidroksil. *Xanthine oxidase* menghasilkan hidrogen peroksida, dan berbagai ROS menyebabkan fragmentasi DNA (Szkudelski, 2001). Selain itu, STZ juga mampu merusak DNA melalui proses metilasi DNA, yang membentuk ion karbon (CH₃⁺) dan selanjutnya

meningkatkan aktivitas sintetase poli-ADP-ribosa (PARP), yang selanjutnya menyebabkan penekanan NAD^+ dalam sel β . Sehingga menimbulkan penurunan jumlah ATP yang akhirnya dapat menyebabkan nekrosis sel beta pankreas (Srinivasan & Ramarao, 2012; Islam *et al.*, 2017).

Streptozotocin menyebabkan kematian sel dengan melibatkan tiga jalur yaitu (Eleazu *et al.*, 2013):

- a. Metilasi DNA melalui pembentukan ion *carbonium* (CH_3^+) sehingga menyebabkan aktivasi enzim nuklear poli ADP-ribosa sintetase yang berperan pada mekanisme perbaikan sel.
- b. Produksi nitrit oksida
- c. Pembentukan radikal bebas seperti hidrogen peroksida

Pemberian STZ menyebabkan peningkatan malondialdehid secara signifikan menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti katalase, glutathion peroksidase dan superoksida dismutase. Selain itu, sel β pankreas tidak memiliki katalase dan glutathion peroksidase sehingga semakin rentan terhadap radikal bebas (Husna *et al.*, 2019).



Gambar 7 Mekanisme kematian sel oleh STZ (Eleazu *et al.*, 2013)

Kondisi hiperglikemia yang diinduksi STZ dapat mengaktifkan banyak jalur metabolisme yang tidak hanya berusaha membuang glukosa berlebihan tetapi juga

menghasilkan lebih banyak *reactive. species oksigen* (ROS), yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan kegagalan fungsi sel β . Jalur yang distimulasi hiperglikemia ini jalur heksosamin, aktivasi protein kinase C, aktivasi jalur poliol yang menghasilkan akumulasi sorbitol dan fruktosa, pembentukan produk metilglioksal dan glikasi lanjutan, pembentukan enediol, dan stres retikulum endoplasma. Pembentukan semua jalur ini berujung pada peningkatan produksi ROS, bersama dengan bukti tingkat kapasitas antioksidan rendah di dalam sel β , sehingga makin memperparah kegagalan fungsi sel β (Wu & Yan, 2015).

Streptozotocin menginduksi diabetes dalam dua cara yang tergantung pada dosisnya. Pemberian STZ dalam dosis tinggi, biasanya diberikan secara tunggal, dapat menginduksi penyakit diabetes melitus tipe 1 dengan mekanisme senyawa streptozotocin menargetkan sel-sel β dengan sifat alkilasi yang sesuai dengan senyawa nitrosourea sitotoksik. Pemberian STZ dosis rendah, umumnya diberikan dalam dosis yang berulang atau *multiple low dose* menyebabkan gangguan sekresi insulin parsial seperti DM tipe 2 (Husna *et al.*, 2019; Islam *et al.*, 2017).

2.9 Hewan Coba

2.8.1 Tinjauan Umum Mencit

Di muka bumi ini, Allah SWT tidak hanya menciptakan tumbuhan saja melainkan juga hewan. Allah SWT menciptakan segala makhluk-Nya dengan bentuk dan ukuran yang berbeda-beda. Setiap ukuran dan bentuk yang dimiliki oleh makhluk-Nya, misalnya hewan memiliki fungsi yang berbeda beda. Hewan juga memiliki bentuk yang berbeda-beda karena dipengaruhi habitat, makanan serta bentuk tubuhnya.

Sebagaimana Allah SWT menjelaskan dalam Q.S An-Nuur (24) ayat 45 sebagai berikut:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِۦ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

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

Allah SWT menunjukkan kekuasaan-Nya yang Mahasempurna dan Mahagung dengan menciptakan berbagai jenis makhluk dalam bentuk, rupa, warna dan gerak-gerik yang berbeda dari satu unsur yang sama, yaitu air. Para mufassirin berpendapat bahwa air yang dimaksud adalah air mani, karena hewan dan manusia tercipta dari air mani (Romlah, 2015). Pada kalimat selanjutnya Allah menjelaskan mengenai penggolongan hewan berdasarkan cara berjalannya. Penafsiran menurut Ibnu Katsir (2004) Allah berfirman “فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِۦ” yang artinya “Sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya,” seperti ular, cacing dan sejenisnya. Selanjutnya “وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ” yang artinya “Sebagian berjalan dengan dua kaki”, seperti burung dan manusia. Dan Firman Allah, (وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ) yang artinya “Sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki,”. Dalam hal ini yakni mencit (*Mus musculus*) yang akan dijadikan sebagai hewan coba pada penelitian ini.

2.8.2 Taksonomi mencit

Mencit diklasifikasikan dalam kingdom Animalia, Filum Chordata, Sub-Filum Vertebrata, Kelas Mamalia, Ordo Rodentia, Sub-Ordo Myoimorphia, Famili Muridae, Genus Mus dan termasuk spesies yang memiliki nama ilmiah *Mus musculus*. Mencit adalah hewan yang sering digunakan untuk penelitian di laboratorium atau sering disebut dengan hewan coba. Hewan coba merupakan hewan yang sengaja dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model yang berkaitan untuk pembelajaran dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium (Tolistiawaty, 2014).

Sekitar 40-80% mencit dipilih sebagai hewan coba laboratorium karena beberapa keuntungan di antaranya siklus hidup relatif pendek, jumlah anak per lahiran banyak, variasi sifat sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakterisasinya mirip hewan lain, seperti sapi, kambing, domba, dan babi serta fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik (Pramono,1989). Mencit dapat hidup sampai umur 1-3 tahun tetapi terdapat perbedaan usia dari berbagai galur terutama berdasarkan kepekaan terhadap lingkungan dan penyakit. Tingkat kesuburan mencit sangat tinggi karena dapat menghasilkan kurang lebih satu juta keturunan dalam kurun waktu kurang lebih 1 tahun. Dimana produktivitas seksualnya berlangsung selama 7-8 bulan dengan rata-rata anak yang dilahirkan sebanyak 6-10 anak per kelahiran (Tolistiawati, 2014).

2.8.3 Testis

2.8.3.1 Anatomi Testis

Testis merupakan organ reproduksi jantan yang mempunyai fungsi memproduksi spermatozoa dan menghasilkan hormon androgenik, berjumlah 2 dengan bentuk ovoid, pipih dengan ketebalan \pm 2,5 cm berwarna putih, terletak di

dalam cavum skroti. Testis terletak di ekstra abdominal atau diluar perut testis berada pada kantung scrotum kanan dan kiri pada umumnya testis sebelah kiri letaknya lebih rendah dibandingkan sebelah kanan. Testis dibungkus oleh tunika vaginalis pars parietalis, tunika vaginalis pars visceralis, tunika albuginea dan tunika vaskulosa. Testis memiliki lobulus yang dipisahkan oleh septum testis yang dibentuk dari penebalan tunika albuginea. Setiap lobul pada testis terdiri dari tubulus seminiferus dan interstitial testis (Halliday, 2018). Secara mikroskopis testis terbagi menjadi:

- a. Tubulus seminiferous yang berperan dalam pembentukan sel spermatozoa, serta mengisi 60-80% dari volume total testis. Komponen ini terdiri dari sel germinativum yang berproliferasi dan dua jenis sel somatik yaitu sel peritubular dan sel sertoli yang tidak berproliferasi.
- b. Sel Sertoli merupakan sel pyramid memanjang yang sebagian memeluk sel spermatogenik. Dasar sel sertoli melekat pada lamina basalis, sedangkan ujung apeksnya sering meluas kedalam lumen tubulus seminiferus. Dengan mikroskop cahaya, bentuk sel sertoli tidak jelas terlihat karena banyaknya juluran lateral yang mengelilingi sel spermatogenik. Fungsi utama sel sertoli adalah untuk menunjang, melindungi dan mengatur nutrisi spermatozoa. Selain itu, sel sertoli juga berfungsi untuk fagositosis kelebihan sitoplasma selama spermatogenesis, sekresi sebuah protein pengikat androgen dan inhibin dan produksi hormon anti Mullerian (Junqueira, 2007).
- c. Sel Leydig yang terletak diantara tubulus seminiferous dengan fungsi utama untuk memproduksi hormone androgen pada jantan. Sekresi sel Leydig

dipengaruhi oleh Luteining Hormon (LH) yang disekresi dari hipofisa anterior. Sel Leydig memproduksi hormon testosteron. Sel Leydig dewasa terbentuk oval, dengan sitoplasma yang eosinofilik, banyak retikulum endoplasma halus dan mitokondria dengan tubular kristae, yang merupakan karakter untuk sel penghasil steroid. Perubahan sel mesenkim intersisial menjadi sel leydig dibawah pengaruh dari LH, serta kompartemen interstitial terdapat makrofag dan limfosit.

2.8.3.2 Fisiologi Testis

1). Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan proses pembentukan sperma. Selama pembentukan embrio, sel germinal primordial bermigrasi ke dalam testis dan menjadi sel germinal imatur yang disebut spermatogonia yang berada di dua atau tiga lapisan permukaan dalam tubulus seminiferus. Spermatogonia mulai bermitosis dan berdiferensiasi membentuk spermatozoa melalui berbagai tahap perkembangan (Guyton dan Hall, 2007).

Spermatogenesis terjadi di tubulus seminiferus selama masa seksual aktif akibat stimulasi oleh hormon gonado-tropik hipofisis anterior. Pada tahap pertama spermatogenesis, spermatogonia bermigrasi diantara sel-sel sertoli menuju lumen sentral tubulus seminiferus. Sel spermatogonium merupakan progenitor spermatozoa yang berada diantara sel-sel Sertoli. Sel-sel sertoli dengan pembungkus sitoplasma mengelilingi spermatogonia yang sedang berkembang sampai menuju bagian tengah lumen tubulus (Guyton dan Hall, 2007).

Spermatogonia terletak berdekatan dengan membran basalis tubulus seminiferus. Spermatogonia berproliferasi melalui mitosis dan berdiferensiasi menjadi spermatosit primer. Setiap spermatosit primer mengalami pembelahan

meiosis kedua pada spermatosit sekunder menghasilkan empat spermatid. Kemudian spermatid akan berdiferensiasi membentuk spermatozoa sempurna, lewat pembentukan masing-masing baginya secara bertahap pada proses spermiogenesis (Ethel Sloane,2003).

2). Spermiogenesis

Spermiogenesis merupakan proses dimana spermatid berdiferensiasi menjadi spermatozoa. Hasil akhir dari proses ini adalah spermatozoa yang matang dan dikeluarkan ke dalam lumen dari tubulus seminiferu. Pada tahapan ini tidak terjadi pembelahan sel oleh spermatid. Proses ini sendiri terbagi kedalam empat tahap yakni fase golgi, fase tutup, fase akrosom, dan fase pematangan (Guyton dan Hall, 2007).

2.8.4 Hormon yang Merangsang Spermatogenesis

Hormon-hormon yang berperan penting dalam spermatogenesis, antara lain:

- 1). Testosteron, yang dieksresikan oleh sel-sel Leydig yang terletak di interstitium testis, penting bagi pertumbuhan sel-sel germinal testis, yang merupakan tahap pertama pembentukan sperma.
- 2). Luteinizing hormon, yang disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior, merangsang sel-sel Leydig untuk menyekresi testosteron.
- 3). Hormon perangsang-folikel (FSH), yang juga disekresi oleh sel-sel Sertoli; tanpa rangsangan ini, pengubahan spermatid menjadi sperma (proses spermiogenesis) tidak akan terjadi.
- 4). Estrogen, yang dibentuk dari testosteron oleh sel-sel Sertoli ketika sel Sertoli dirangsang oleh hormone perangsang-folikel, mungkin juga penting untuk spermiogenesis (Guyton and Hall,2007).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) terhadap kadar SOD dan MDA testis mencit (*Mus musculus*) jantan yang mengalami komplikasi diabetes dengan 3 dosis yang berbeda.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan april 2019 hingga bulan oktober 2021 yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium BIOSAINS Universitas Brawijaya Malang.

3.3. Variabel penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Variabel bebas: nanopartikel pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) dengan dosis 120 mg/Kg BB mencit, 180 mg/kgBB mencit, dan 240 mg/Kg BB mencit secara oral.
2. Variabel terikat: kadar SOD dan MDA testis mencit (*Mus musculus*).
3. Variabel kontrol: mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb C berumur 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram yang diaklimatisasi selama 2 minggu pada minggu pertama sampai minggu kedua dengan diberi makan pellet dan diberi minum secara *ad libitum*.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur Balb C, jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan dengan berat badan

25-30 gram. Sampel diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Jl. Soekarno Hatta Malang. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan ditambah 2 kelompok kontrol. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah 3 konsentrasi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) yang berbeda. Sedangkan kontrol pada penelitian ini adalah kontrol negatif (-) dan kontrol positif (+).

3.5 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (Sartorius), *beaker glass* 1000 ml (Iwaki), *shaker*, Erlenmeyer 500 ml, gelas ukur, corong gelas, pengaduk kaca, tube 15 ml, kertas saring, *rotary evaporator*, corong buncher, spatula, *hot plate*, stirrer, oven, inkubator, sentrifuge, *Sonikator*, *Homogenizer*, cawan petri, kertas *whatmann*, mikropipet (Iwaki), pinset, lemari es, *vortex*, aluminium foil, kertas label, plastik wrap, kantong plastik, karet gelang, wadah hewan coba, alu, mortar, saringan mesh, glukometer, spuit, alat bedah, papan bedah, mikrotom, mikroskop, *deck glass*, *cover glass*, oven parafin, kaset block, *microplate reader*.

Bahan yang digunakan pada penelitian antara lain mencit jantan (*Mus musculus*) galur Balb C berumur 3 bulan, serbuk simplisia pegagan, aquades, asam asetat glasial, sTPP, tween 80, kitosan, etanol 96%, streptozotocin (STZ), metformin, asam sitrat, sekam, pakan, mencit, minum mencit, air sukrosa, skopolamin easy touch glukosa strip, kertas pH indikator dan NaCl fisiologis.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) diawali dengan merendam serbuk halus simplisia pegagan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 (1000 ml) kemudian dihomogenkan dengan shaker selama 24

jam. Setelah 24 jam, disaring dengan menggunakan kertas whatmann. Ampas yang dihasilkan kemudian dimaserasi lagi menggunakan pelarut yang sama dan dihomogenkan selama 24 jam menggunakan shaker dengan kecepatan 130 rpm. Filtrat yang diperoleh dari penyaringan (maserasi) selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Kemudian didapat ekstrak pekat ditempatkan pada Erlenmeyer 250 ml untuk disimpan di lemari pendingin (Azzahra & Hayati, 2019).

3.6.2 Pembuatan Nanopartikel

Sintesis nanopartikel pegagan yang tersalut kitosan menggunakan 3 mL asam asetat glasial yang dilarutkan dalam 120 mL akuades. Pada saat yang sama, 0,6 mg sTPP dilarutkan dalam 600 mL air suling. Setelah homogen, kedua larutan tersebut kemudian dicampur dan dihomogenkan kembali menggunakan pengaduk dengan penambahan kitosan 3 mg dan ekstrak pegagan sebanyak 0,6 mg. Selanjutnya sampel diaduk hingga homogen dengan menggunakan alat pendispersi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 90 menit. Kemudian ditambahkan 5 mL asetonitril. Sampel disonikasi selama 90 menit pada frekuensi 20 kHz dan disentrifugasi selama 30 menit. Pellet hasil sentrifugasi kemudian dimasukkan ke dalam *freezer* selama 24 jam. Pelet yang sudah beku dinkubasi dengan suhu 50°C selama 24 jam. Pelet yang sudah kering kemudian digerus. Nanopartikel pegagan yang tersalut kitosan kemudian disimpan dan digunakan untuk perlakuan (Muchtarmah, 2021).

3.6.3 Persiapan Hewan Coba

Mencit jantan yang akan digunakan sebagai hewan coba ditempatkan pada kandang yang berisi 4 ekor pada tiap kandangnya, kemudian mencit-mencit tersebut diaklimatisasi. Aklimatisasi merupakan pemeliharaan hewan coba agar

dapat beradaptasi dengan lingkungan baru. Aklimatisasi dilakukan di laboratorium hewan coba selama 2 minggu. Jika ada hewan laboratorium yang mati karena sakit atau penurunan berat badan $> 10\%$, maka hewan tersebut akan dikeluarkan dari penelitian (Hendrajid, 2020). Selama aklimatisasi, mencit tetap diberi makan dengan pellet dan minum secara ad libitum. Kemudian ditimbang berat badan mencit.

3.6.4 Pembagian Kelompok Sampel

Penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ulangan. Pembagian kelompok perlakuan sebagai berikut:

1. Kelompok I (K^+): mencit sehat yang diinduksi streptozotocin tanpa pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan.
2. Kelompok II (K^-): mencit tanpa pemberian streptozotocin dan tanpa pemberian terapi nanopegagan tersalut kitosan.
3. Kelompok perlakuan III (N1): mencit diinduksi streptozotocin dan diberi nanopartikel pegagan tersalut kitosan dengan dosis 120 mg/kgBB selama 28 hari.
4. Kelompok perlakuan IV (N2): mencit diinduksi streptozotocin dan nanopartikel pegagan tersalut kitosan dengan dosis 180 mg/kgBB selama 28 hari.
5. Kelompok perlakuan V (N3): mencit diinduksi streptozotocin dan nanopartikel pegagan tersalut kitosan dengan dosis 240 mg/kgBB selama 28 hari.

3.6.5 Pengkondisian Diabetes komplikasi pada Mencit (*Mus musculus*)

Bahan diabetogenik yang digunakan untuk membuat kondisi diabetes melitus pada mencit (*Mus musculus*) dalam penelitian ini adalah streptozotocin, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan pada testis mencit. Pemberian

streptozotocin selama 5 hari berturut-turut dengan *Multiple Low Dosage* (MLD) sebesar 40 mg/kgBB selama 3 hari dan 60mg/kgBB selama 2 hari selanjutnya. Streptozotocin dilarutkan dalam bufer sitrat (pH 4,5) dan diinjeksikan secara intraperitoneal (Han, 2017). Setelah perlakuan tersebut, mencit dipuasakan selama 6 jam. Pada hari ke-enam dilakukan pengecekan gula darah puasa pada mencit. Jika kadar gula ≥ 150 mg/dl berarti mencit dalam kondisi diabetes.

Komplikasi kronik terjadi akibat glukosa darah yang terus-menerus tinggi dalam jangka waktu lama, sehingga menyebabkan terjadinya gangguan aliran darah, yang dapat menyebabkan komplikasi ke berbagai organ. Untuk menentukan kurun waktu kerusakan testis dilakukan konversi usia manusia ke usia mencit, menurut (Mughtaromah, 2016) kurun waktu 10 tahun pada manusia sama dengan 1 bulan kurun waktu mencit. Menurut Eleazu (2013) penyakit diabetes mellitus yang diderita selama 5-10 tahun dapat menyebabkan komplikasi pada berbagai organ karena terjadi kerusakan mikrovaskular. Oleh karena itu, jika dikonversi ke tikus maka usia tikus diperkirakan sudah mengalami kerusakan mikrovaskular dan mengakibatkan kerusakan testis selama 1 bulan. Oleh karena itu tikus setelah diinduksi streptozotocin, dibiarkan selama 1 bulan selanjutnya diberi perlakuan nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*).

3.6.6 Prosedur Pemberian Terapi

Nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan dilarutkan dengan buffer sitrat dan diberikan secara oral dengan 3 dosis yang berbeda yaitu 120, 180, 240 mg/kgBB setiap hari selama 28 hari setelah pemberian streptozotocin. Pemberian sediaan nanopartikel tersalut kitosan tersebut disesuaikan dengan kelompok dan volume yang ditentukan agar tidak melebihi

kapasitas gastrik mencit. Selanjutnya pada hari ke-29 dilakukan pembedahan untuk isolasi organ testis guna menghitung kadar SOD dan MDA mencit.

3.6.7 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara tikus yang berumur 29 hari terlebih dahulu dianestesi menggunakan eter dalam wadah tertutup, kemudian dibunuh dengan cara *cervical dislocation*. Selanjutnya dilakukan pembedahan untuk diambil organ testis *dexter* dan *sinister* dari skrotum. Kemudian organ testis dibersihkan dari lemak dan dimasukkan dalam larutan NaCl fisiologis 0.9% (Aprini et al., 2019a).

3.6.7.1 Pengukuran Kadar Superoxide dismutase

Pengukuran kadar SOD menggunakan metode Xantin Oksidase. Homogenat testis 200 μ l dan ditambahkan xantin 100 μ l, xantin oksidase 100 μ l dan NBT 100 μ l, ditambahkan PBS hingga volume menjadi 2000 μ l, disentrifuse 3500 rpm 10 menit dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 30 menit. Selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer dengan λ 580 nm (Azizah, 2019; Muchtaromah, 2020).

3.6.7.2 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)

Homogenat testis 500 μ l ditambah TCA 20% 500 μ l lalu disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm, selama 5 menit. 500 μ l supernatan diambil kemudian ditambahkan TBA 0,67% 500 μ l, lalu dipanaskan dalam *waterbath* suhu 95 °C selama 10 menit. Selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer dengan λ 530 nm. (Muchtaromah, 2020).

3.7 Teknik Analisis Data

Data hasil pengujian kadar SOD dan MDA testis mencit (*Mus musculus*) kemudian dianalisis menggunakan *software* SPSS, selanjutnya data dari semua

kelompok sampel diuji normalitas menggunakan *Kolmogorov Smirnov*. Menurut Sugiyono (2011) menyatakan bahwa apabila data yang didapatkan tergolong normal ($\alpha > 0.05$), maka dianalisis menggunakan uji *One-way Anova*. Sedangkan data yang tidak memenuhi syarat parametrik (non parametrik) dianalisis dengan menggunakan uji *Kruskall-Wallis*. Jika F hitung $>$ F tabel 5% maka H_0 ditolak. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan pada data parametrik, maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan* sedangkan untuk data nonparametrik dilanjutkan dengan uji *Mann-whitney* dengan taraf signifikansi 5% (Ridwan, 2010).

BAB IV HASIL PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar SOD Testis Mencit (*Mus musculus*) DM Tipe 2.

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar SOD testis mencit (*Mus musculus*) yang mengalami diabetes menunjukkan hasil yang beragam pada tiap kelompok perlakuan. Rerata tertinggi kadar SOD testis mencit yakni pada K- (mencit normal) sebesar 5,311 U/ml, N3 (mencit diabetes yang diberi terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan dosis 240 mg/kgBB) sebesar 4,550 U/ml, N2 (mencit diabetes yang diberi terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan dosis 180 mg/kgBB) sebesar 3,656 U/ml, N1 (mencit diabetes yang diberi terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan) sebesar 3,599 U/ml. Dan kadar SOD terendah pada K+ (mencit diabetes) sebesar 3,264 U/ml.

Data rerata kadar SOD kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Hasil dari uji normalitas tersebut menunjukkan nilai signifikansi ($\alpha > 0,05$) (lampiran 4), sehingga data rerata kadar SOD testis berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *lavene Test*. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi ($\alpha > 0,05$) (lampiran 4), sehingga dikatakan bahwa rerata kadar SOD testis yang diperoleh homogen.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji menggunakan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 5% (lampiran 4). Hasil uji *ANOVA One-Way* menunjukkan nilai ($0,001 < 0,05$), sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima serta dapat dilanjutkan dengan uji lanjutan yakni uji DMRT (Tabel 4.1) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar SOD testis mencit.

Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) antar perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil uji DMRT rerata kadar SOD testis mencit.

Perlakuan	Rata-rata \pm SD
K+ (diabetes)	3,264 \pm 0,69 ^a
N1 (dosis 120 mg/kgBB)	3,599 \pm 0,24 ^a
N2 (dosis 180 mg/kgBB)	3,656 \pm 0,22 ^a
N3 (240 mg/kgBB)	4,550 \pm 0,55 ^b
K- (normal)	5,311 \pm 0,36 ^c

Keterangan: Notasi rerata yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda signifikan pada uji DMRT ($p < 0,05$).

Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa rerata kadar SOD testis mencit perlakuan N3 (4,550 U/ml) berbeda nyata dengan perlakuan K- (5,311 U/ml) dan perlakuan N1 (3,599 U/ml) dan N2 (3,656 U/ml). Selanjutnya, perlakuan N3 (4,550 U/ml) juga berbeda nyata dengan perlakuan K+ (3,264 U/ml). Hal ini menunjukkan perbedaan rerata kadar SOD testis mencit secara signifikan antar kelompok perlakuan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar SOD terendah terdapat pada K+ seperti pada tabel 4.2. Rendahnya kadar SOD menunjukkan tingginya stres oksidatif pada mencit DM tipe 2 tanpa terapi. Pemberian dosis STZ secara berulang mengakibatkan hewan coba mengalami gangguan sekresi insulin parsial seperti pada penderita DM tipe 2 dan memicu adanya radikal bebas. Menurut Srinivasan & Ramarao (2012), induksi STZ dapat meningkatkan produksi ROS dan memicu terjadinya stres oksidatif dalam darah, yang kemudian menjadi

penyebab kerusakan pada sel β pankreas, gangguan sekresi hormon insulin serta gangguan metabolisme glukosa dalam tubuh. Ketidakseimbangan metabolisme glukosa dalam tubuh akan mempengaruhi regulasi homeostatis dan kelenjar hipofisis anterior. Penurunan metabolisme ini akan mengakibatkan abnormalitas pada fungsi reproduksi gonad jantan dan mengganggu keseimbangan hormon reproduksi serta menginduksi beberapa kerusakan sperma, volume semen, jumlah sperma, dan perubahan pada morfologi tubulus seminiferus. kerusakan histologi testis, penurunan motilitas, penurunan kadar serum hormon LH, FSH, dan testosteron. Sehingga menyebabkan kondisi infertilitas pada pria (Zulkarnain., 2012; Shi, 2017; Saputra, 2020).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan pada dosis 240 mg/kgBB dapat memperbaiki kondisi kerusakan testis akibat DM melalui peningkatan SOD. Sejalan dengan penelitian Abdou (2016) bahwa pemberian infusa *Centella asiatica* dosis 250 mg/kg BB mampu peningkatan kadar SOD, testosterone dan jumlah sperma tikus diabetes dibandingkan perlakuan kontrol. Dalam penelitian ini, pemberian infusa *Centella asiatica* secara oral pada tikus diabetes diduga mampu memperbaiki gangguan pada tingkat hormonal dan memperbaiki kualitas semen.

Peningkatan kadar SOD pada perlakuan terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan dikarenakan pegagan mengandung berbagai senyawa kimia yang bermanfaat. Senyawa bioaktif yang khas terkandung dalam pegagan yakni asiatikosida, brahmosida, asam madekasik dan centellasaponin (Zahara, 2014). Senyawa-senyawa bioaktif tersebut merupakan derivat dari senyawa triterpenoid. Menurut Zahara (2014) triterpenoid merupakan metabolit sekunder yang memiliki

aktivitas fisiologis paling tinggi sehingga seringkali dimanfaatkan sebagai obat antidiabetes, kerusakan hati, dan gangguan kulit. Hal ini dikonfirmasi pada penelitian yang telah dilakukan Muchtaromah (2021) bahwa nanopartikel pegagan tersalut kitosan terdapat senyawa aktif *asiaticoside* dengan konsentrasi sebesar 6,01 yang merupakan konsentrasi tertinggi dibanding dengan senyawa lainnya.

Zhu (2020) menambahkan bahwa senyawa asiaticosida yang terkandung dalam pegagan mampu meningkatkan kadar antioksidan endogen seperti SOD. Antioksidan endogen tersebut dapat diaktifkan oleh adanya radikal bebas dengan cara aktivasi Nrf2 pada Keap1 di dalam sitoplasma kemudian mengalami disosiasi dan translokasi menuju nukleus. Di dalam nukleus Nrf2 akan berikatan dengan ARE yakni suatu faktor transkripsi gen yang bertugas mengaktifasi gen-gen penyandi antioksidan agar berekspresi. Produk antioksidan yang terbentuk tersebut kemudian menghambat dampak buruk radikal bebas dengan menjadi penangkap (*scavenger*) elektron radikal bebas, serta memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh stres oksidatif.

Kandungan senyawa aktif pegagan lainya seperti fenolik (quercetin dan katekin) diduga memiliki potensi sebagai antioksidan. Senyawa ini memiliki gugus hidroksil yang mampu secara langsung menangkap radikal bebas, sehingga sel-sel yang dirusak oleh radikal bebas memperoleh kesempatan untuk meregenerasi diri mungkin juga memiliki sifat fungsional sebagai penangkap ROS dan menghambat produksi radikal bebas (Muchtaromah, 2013)

Persamaan notasi dalam hasil uji *Duncan* terjadi pada perlakuan N1, N2 dan kontrol negatif seperti yang terlihat pada tabel 4.1. Ketiga perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan N3 atau dosis 240 mg/kgBB. Kemudian pada

perlakuan N3 menunjukkan rerata kadar SOD yang mendekati rerata kadar SOD pada mencit normal. Namun, pada kedua perlakuan tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata. Maka dapat dikatakan bahwa perlakuan terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan dosis 240 mg/kg BB merupakan dosis efektif untuk meningkatkan kadar SOD pada testis penderita DM tipe 2.

Dosis 240 mg/kgBB merupakan dosis efektif pemberian terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan terhadap kadar SOD testis mencit DM. Hal ini sejalan dengan penelitian Palupi (2019) bahwa pemberian ekstrak etanol pegagan dengan dosis 1.200 mg/kg BB selama 28 hari mampu menurunkan kadar glukosa darah dalam plasma mencit induksi STZ. Namun, jika dibandingkan dengan dosis ini lebih besar, karena pada pembuatan nanopartikel pegagan tersalut kitosan perbandingan antara kitosan dengan ekstrak pegagan adalah 1;6. Sehingga jika dosis efektif menunjukkan dosis 240 mg/kg BB maka sesungguhnya hanya 40 mg ekstrak nanopartikel pegagan dalam perlakuan tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian nanopartikel pegagan mampu menimbulkan efek yang sama namun dengan konsentrasi yang lebih kecil.

Sejalan dengan penelitian yang dilakukan Okulade (2017) bahwa pemberian nanopartikel kurkumin dosis 50 mg/kgBB mampu bekerja lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa dibanding pemberian ekstrak curcumin dosis 100 mg/kgBB. Penggunaan kitosan sebagai penyalut ekstrak pegagan memiliki sifat yang berkompabilitas tinggi, mudah terurai dan memiliki toksisitas yang rendah. Sehingga mampu meningkatkan efektivitas senyawa aktif dalam pegagan dalam memperbaiki kadar SOD pada organ testis (Putri *et al*, 2018).

4.2 Pengaruh Pemberian Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar MDA Mencit (*Mus musculus*) DM Tipe 2.

Kondisi stress oksidatif dapat dideteksi melalui pengukuran kadar SOD. Selain itu, juga dapat dilakukan dengan pengukuran kadar malondialdehid. MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang beracun dan dapat diproduksi oleh mekanisme yang berbeda-beda. MDA merupakan indikator yang tepat untuk mengetahui kecepatan (*rate*) proses peroksidasi lemak *in vivo* (Deslo, 2019).

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa MDA merupakan komponen pengukuran peroksi lipid yang bersifat stabil dan akurat dan telah membantu menjelaskan peranan stres oksidatif pada sejumlah penyakit (Muliando, 2020). MDA berperan sebagai indikator stres oksidatif menjadi alasan banyaknya dilakukan pengukuran MDA. Pengukuran MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif. Pengukuran ini dilakukan dengan tes *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS test) (Tangvarasittichai, 2015; Zhao, 2013)

Hasil penelitian pengaruh pemberian nanopartikel pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan terhadap kadar MDA testis mencit (*Mus musculus*) diabetes menunjukkan hasil yang berbeda setiap perlakuan. Rerata kadar SOS tertinggi pada perlakuan K+ (4,213), diikuti perlakuan N1 (2,953), diikuti perlakuan K- (2,646), diikuti perlakuan N2 (2,324) dan kadar MDA terendah pada perlakuan N3 (2,121).

Data rerata kadar MDA dianalisis menggunakan *Software SPSS*. Uji statistik yang pertama yakni uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test*. Hasil dari uji normalitas menunjukkan nilai signifikan ($P > 0,05$) (lampiran 6), sehingga data terdistribusi secara normal. Setelah itu, data diuji homogenitasnya

menggunakan *Lavene test*. Hasil uji *Lavene* menunjukkan signifikansi ($P > 0,05$) (lampiran 6), yang menunjukkan data homogen. Selanjutnya, diuji menggunakan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 5% (lampiran 6). Hasil uji *One-Way ANOVA* dengan taraf signifikansi 5%, menunjukkan nilai $0,001 < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima serta dapat dilanjutkan dengan uji lanjutan yakni uji DMRT (Tabel 4.2) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar MDA testis mencit. Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) antar perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil uji DMRT rerata kadar MDA testis mencit

Perlakuan	Rata-rata \pm SD
N3 (dosis 240 mg/kgBB)	2,121 \pm 0.11 ^a
N2 (dosis 180 mg/kgBB)	2,324 \pm 0.18 ^{ab}
K- (mencit normal)	2,646 \pm 0.19 ^{bc}
N1 (dosis 120 mg/kgBB)	2,953 \pm 0.06 ^c
K+ (mencit diabetes)	4,213 \pm 0.46 ^d

Keterangan: K-: Notasi rerata yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda signifikan pada uji DMRT ($p < 0,05$).

Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa rerata kadar MDA terendah diperoleh perlakuan N3 (2,121 nMol/ml) tidak berbeda nyata dengan perlakuan N2 (2,324 nMol/ml), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan N1 (2,953 nMol/ml) tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif, tetapi berbeda nyata dengan K+ (4,213 nMol/ml). Pada penelitian ini, K+ (4,213 nMol/ml)

menunjukkan rerata kadar MDA tertinggi berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Hasil pengukuran MDA tertinggi pada perlakuan K+ (mencit diabetes). Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi stres oksidatif pada tikus DM2. Sejalan dengan penelitian Muliando (2020) bahwa konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan proses oksidasi dalam membran sel dan stres oksidatif yang terjadi pada tubuh. Tingginya stress oksidatif dalam tubuh dapat menyebabkan apoptosis sel germinal maupun sel leydig, yang selanjutnya berdampak pada kesuburan pria diabetes.

Hiperglikemia yang berkepanjangan merupakan faktor penyebab manifestasi meningkatnya stres oksidatif. Dalam patofisiologi ini, autooksidasi glukosa dan glikosilasi protein menghasilkan peningkatan produksi radikal bebas. Radikal bebas ini adalah pemain kunci dalam kerusakan yang dimediasi stres dari berbagai jaringan termasuk testis (Rashid & Sil, 2015). Induksi proses peroksidasi lipid dan peningkatan MDA di jaringan testis terbukti memiliki implikasi mendasar pada fisiologi testis dan fungsi sperma. Diabetes diketahui memiliki korelasi kuat dengan stres oksidatif yang memicu produksi radikal bebas dan berperan dalam menginduksi aktivasi penurunan regulasi pensinyalan banyak molekul, salah satunya faktor transkripsi (NF- κ B) dan faktor transkripsi lainnya yang memediasi migrasi ekspresi faktor pro-inflamasi berupa TNF- α , IL-1 β , and IL-6 (Fatani, 2015).

Peningkatan aktivitas protein kinase C, jalur poliol serta peningkatan produk akhir glikasi lanjut (AGES) telah terlibat dalam patogenesis disfungsi testis yang diinduksi hiperglikemia. Mekanisme lain yang mungkin terjadi adalah gangguan

pada sumbu HPG, penurunan kadar testosterone, perubahan fungsi mitokondria dan stress oksidatif. Stress oksidatif yang diinduksi diabetes merupakan mekanisme penting dalam perkembangan sub-infertilitas pada pria. Kebutuhan sel testis untuk menjalani pembelahan sel selama spermatogenesis memungkinkan kebutuhan konsumsi oksigen pada tingkat yang lebih tinggi sehingga meningkatkan resiko produksi ROS pada mitokondria. Tingginya ROS telah dibuktikan menurunkan motilitas sperma dan meningkatkan sperma abnormal, melalui tindakan merusak mereka di makromolekul penting dalam testis. Aktivasi enzim xanthine, NADPH oksidase serta rantai transport electron mitokondria secara berlebihan merupakan sumber utama generasi ROS pada diabetes dan disfungsi testis terkait diabetes (Rashid, 2014).

Kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes menginduksi produksi ROS berlebihan. Kehadiran *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) di testis yang terus menerus digunakan selama transportasi spermatozoa dari sel germinal ke epididymis juga dapat membuatnya rentan terhadap serangan ROS. Kondisi resistensi insulin dan diabetes dapat menyebabkan perubahan dalam kandungan asam lemak, distribusi dan metabolisme. Induksi diabetes pada penelitian ini menyebabkan perubahan profil asam lemak testis, peningkatan omega 6 dan penurunan omega 3 dan total asam lemak jenuh. Peningkatan omega 6 terjadi pada kondisi diabetes ini. Omega 6 yang berlebih memiliki dampak negative. Hasil metabolisme aktif pada tikus asam linoleate (omega 6) merupakan asam lemak pro inflamasi melalui aktivitasnya dalam generasi sitokin seperti TNF-alfa. Peningkatan omega 6 disertai dengan penurunan omega 3 pada tikus kontrol

diabetes yang mengimplikasikan peningkatan proses pro-inflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan testis (Oyenihi, 2020).

Kadar MDA pada kelompok perlakuan N2 dan N3 lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan K+ (mencit diabetes). Sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan dengan dosis 180 mg/kgBB dan 240 mg/kgBB mampu menurunkan kadar MDA testis tikus diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan MDA melalui kandungan bioaktif pegagan yang mampu memperbaiki kondisi stress oksidatif melalui penurunan kadar MDA pada testis mencit diabetes.

Sejalan dengan penelitian Oyenihi (2020), pemberian ekstrak *Centella asiatica* mampu menurunkan kadar MDA melalui pengurangan total omega 6 asam lemak pada testis, yang mungkin memicu terjadinya proses inflamasi jaringan testis. Selain itu peningkatan MDA secara signifikan pada testis tikus diabetes yang diobati dengan *Centella asiatica* berperan penting dalam perlindungan jaringan testis dari efek yang dihasilkan diabetes. Hal ini menunjukkan potensi *Centella asiatica* dalam memutus reaksi berantai oksidatif pada testis. MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid komponen membrane sel yang juga dapat merusak basa DNA, dan tautan silang protein.

Efek menguntungkan *Centella asiatica* pada jaringan testis diabetes, dapat dikaitkan dengan kehadiran senyawa aktif terutama triterpen pentasiklik; asiaticoside, madecassoside, madecassic acid dan asam asiatik. Senyawa bioaktif dalam *Centella asiatica* ini telah menunjukkan efek antioksidan yang sebanding dengan vitamin C (Hashim, 2011). Pada penelitian Miao (2018) dilaporkan

bahwa asam asiatik melindungi testis dari penurunan testosterone serta apoptosis yang diinduksi diet tinggi lemak.

Pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan dosis 240 mg/kgBB mampu menurunkan kadar MDA testis mencit yang telah diinduksi STZ. Dan kadar MDA ini mendekati kadar MDA testis mencit kontrol negatif. Hal ini menurut Rahmawati (2014) bahwa peningkatan aktivitas SOD tikus diabetes berkaitan dengan penurunan laju peroksidasi lipid. Demikian pula yang terjadi dengan penurunan jumlah radikal anion superoksida juga karena aktivitas SOD yang mengalami peningkatan. Penurunan laju peroksidasi lipid akibat kerja flavonoid mencegah kerusakan sel-sel pada testis. Menurut Dene *et al* (2005) bahwa flavonoid mampu menurunkan kadar gula darah. Kenyataannya, fungsi sel β pankreas mencit dapat diperbaiki dengan pemberian ekstrak pegagan yang ditunjukkan dengan menurunnya kadar gula darah (Winarsi dan Arinton, 2012). Dengan demikian, kerja flavonoid yang terkandung dalam pegagan mampu meningkatkan aktivitas SOD dengan cara *scavenger anion suporoxide*, pengkelat logam, dan menghambat enzim penghasil radikal superoksida (Rahmawati, 2014).

Penurunan kadar glukosa darah ketika induksi stz diberi terapi asam asiatika. Asam asiatik memproduksi efek hipoglikemik mungkin melalui pengikatan penggunaan periphera glukosa, memperbaiki glikosisi hepatic yang dilemahkan, dan menurunkan perkembangan glukoneogenesis. Mekanisme penurunan kadar glukosa mungkin meningkatkan penyerapan glukosa dan peningkatan sensitivitas reseptor insulin. Insulin tidak hanya mengatur metabolisme karbohidrat, namun juga memainkan peran penting dalam metabolisme lipid (Swapna, 2012).

4.3 Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Pegagan diketahui memiliki potensi sebagai obat dari berbagai penyakit. Sehingga banyak dimanfaatkan sebagai obat demam, diare, penyembuh luka, antiinfeksi, antirematik, penenang, memperbaiki jaringan tubuh dan pada penelitian terbaru dilaporkan bahwa pegagan juga dapat digunakan sebagai obat untuk memperbaiki masalah kesehatan reproduksi. Dalam pegagan terkandung berbagai senyawa aktif salah satunya golongan triterpenoid yang banyak terdapat pada bagian daun, dimana pada bagian ini banyak terkandung zat hijau atau klorofil. Keberadaan senyawa aktif pada tumbuhan berfungsi sebagai bahan obat merupakan salah satu manfaat dari tumbuhan. Sebagaimana Firman-Nya dalam Q.S Al-An'am [6]: 99

قُلْ يَا أَهْلَ الْكِتَابِ لِمَ تَصُدُّونَ عَن سَبِيلِ اللَّهِ مَن ءَامَنَ تَبِعُونَهَا عِوَجًا وَأَنتُمْ شُهَدَاءُ وَمَا اللَّهُ بِغَفِيلٍ عَمَّا تَعْمَلُونَ ﴿٩٩﴾

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

Berdasarkan tafsir al-Misbah, pada penggalan ayat-Nya, Allah berfirman bahwa yang artinya “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit.”. Maksudnya, dengan kadar tertentu, sebagai berkah dan rizki bagi hamba-hambanya, untuk menghidupi dan menyirami berbagai makhluk, serta sebagai rahmat Allah bagi seluruh makhluk-Nya. “Lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman

yang menghijau.”. Yaitu, tanaman-tanaman dan pepohonan yang hijau, dan setelah itu Kami menciptakan di dalamnya biji-bijian dan buah-buahan.

Penafsiran diatas, didukung oleh Tafsir Ilmi yang menjelaskan bahwasanya Allah menurunkan air dari langit melalui proses yang dinamakan hujan, lalu tumbuhlah bermacam-macam tanaman yang menghijau. Proses tumbuhnya tumbuh-tumbuhan ini tidak terlepas dari bantuan sinar matahari yang masuk melalui klorofil pada bagian tanaman terutama yang berwarna hijau, salah satunya pada daun (Departemen Agama RI, 2015). Berbagai tumbuhan tersebut menyimpan energi dari matahari dengan bantuan klorofil, kemudian disalurkan pada hewan dan manusia dalam bentuk organik. Bahan organik yang masuk dalam tubuh manusia akan memberikan energi dan kemampuan melawan berbagai macam penyakit. Oleh karena itu, berbagai tumbuhan mampu digunakan sebagai sumber pertahanan tubuh dari serangan penyakit..

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk kemaslahatan manusia dalam upaya mencari pengobatan merupakan suatu ikhtiar untuk meningkatkan keimanan kepada Allah SWT. Allah berfirman dalam AL-Qur’an surah Al-Kahfi [18]: 88:

وَأَمَّا مَنْ ءَامَنَ وَعَمِلَ صَالِحًا فَلَهُ جَزَاءٌ أَحْسَنُ ۖ وَسَنَقُولُ لَهُ مِنْ أَمْرِنَا يُسْرًا ﴿٨٨﴾

Artinya: “Adapun orang-orang yang beriman dan mengerjakan kebajikan , maka dia mendapat (pahala) yang terbaik sebagai balasan, dan akan kami sampaikan kepadanya perintah kami yang mudah-mudah”. (QS: Al-Kahfi [18]: 88)

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir (2004), penggalan ayat yang berbunyi وَأَمَّا مَنْ ءَامَنَ memiliki arti “adapun orang-orang yang beriman” dalam tafsir ini diartikan sebagai manusia yang mengikuti apa yang diperintahkan Allah SWT untuk

melakukan peribadahan kepada Allah Ta'ala semata, dan tidak menyekutukan-Nya. Kemudian pada kalimat selanjutnya yang berbunyi *فَلَهُ جَزَاءُ الْحَسَنَىٰ* dengan arti “*maka baginya pahala yang terbaik sebagai balasan*”. Maksudnya, bahwa Allah SWT akan memberi balasan berupa pahala bagi orang yang melakukan amal sholeh. Amal sholeh salah satunya yakni dengan melakukan kebaikan yang bermanfaat bagi orang lain. Ikhtiar untuk mengobati suatu penyakit merupakan perbuatan yang ditujukan untuk membantu sesama. Namun, ikhtiar tersebut tidak lepas dari *qadha* dan *qadar* Allah SWT karena Maha Kuasa Allah SWT atas segala sesuatu. Apabila suatu metode pemberian obat terapi dengan dosis yang sesuai dengan dosis untuk penyembuhan penyakit, maka jika Allah berkehendak memberikan kesembuhan pada manusia maka akan disembuhkan segala penyakit.

Nanopartikel kitosan yang digunakan sebagai penyalut pegangan pada penelitian ini merupakan pengembangan dari ilmu farmasi. Pada penelitian ini nanopartikel pegangan tersalut kitosan dapat membantu memperbaiki status antioksidasi reproduksi pria yang menderita diabetes. Status antioksidasi yang baik akan membuat tubuh mampu memperbaiki kerusakan organ reproduksi pria akibat radikal bebas yang diinduksi kondisi diabetes. Sehingga fungsi organ reproduksi akan bekerja lebih baik untuk menghasilkan keturunan di muka bumi.

Setiap penyakit pasti ada obatnya, jika obat yang digunakan dengan dosis yang sesuai dan Allah SWT menghendaki kesembuhan, maka penyakit tersebut akan sembuh. Hal ini karena Allah SWT telah menciptakan obat dari setiap penyakit, namun karena keterbatasan manusia sehingga manusia tidak mampu menjangkaunya, kecuali dengan kemampuan yang Allah SWT berikan kepada manusia. Allah SWT mampu menyembuhkan manusia dari berbagai penyakit

salah satunya melalui perantara pengobatan. Hal ini termaktub dalam Q.S Asy-Syu'ara [26] ayat 80:

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

Artinya: “(Yaitu Tuhan) yang telah menciptakan aku, maka Dialah yang menunjuki Aku, Dan Tuhanku, yang Dia memberi makan dan minum kepada-Ku, dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku, dan yang akan mematikan Aku, kemudian akan menghidupkan aku (kembali).” (Q.S Asy-Syu'araa [26]: 80).

Menurut tafsir Ibnu Katsir (2004) “Dan apabila aku sakit, Dialah Yang menyembuhkanku” disandarkan penyakit kepada dirinya, sekalipun hal itu merupakan qadha dan qadar Allah SWT. Akan tetapi, ia sandarkan hal itu kepada dirinya sebagai sikap beradab. Makna hal itu berarti, jika aku menderita sakit, maka tidak ada seorang pun yang kuasa menyembuhkanku selain-Nya sesuai takdir-Nya yang dikarenakan oleh sebab yang menyampaikannya.

Menurut tafsir Kemenag ayat ini menjelaskan bahwa Allah yang menyembuhkan manusia apabila ia sakit. Allah berkuasa menyembuhkan penyakit apa saja yang diderita oleh seseorang. Meskipun begitu, manusia juga harus mencari tahu cara untuk memperoleh kesembuhan tersebut. Imam Jamaludin al-Qasimi dalam tafsirnya menguraikan bahwa ayat ini menggambarkan tata susila seorang hamba kepada sang Khalik. Sebab penyakit itu terkadang muncul akibat dari perbuatan manusia itu sendiri, umpamanya disebabkan oleh pelanggaran terhadap norma-norma atau pola hidup yang tidak sehat, maka serangan penyakit tidak dapat dihindarkan. Sebaliknya, yang berhak menyembuhkan hanyalah Allah semata (Kemenag RI, 2006).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ada pengaruh pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan (*Centella asiatica*) terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) testis mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin dengan dosis efektif sebesar 240 mg/kgBB.
2. Ada pengaruh pemberian nanopartikel pegagan tersalut kitosan (*Centella asiatica*) terhadap kadar MDA testis mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin dengan dosis efektif sebesar 240 mg/kgBB.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan pada penelitian lanjutan untuk meningkatkan dosis pemberian terapi nanopartikel pegagan tersalut kitosan agar meningkatkan efek terapeutik dalam meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA pada testis mencit diabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, Marline. (2017). Farmaka Nanopartikel dengan Gelasi Ionik Farmaka. *Farmaka*, 15 (1), 45–52.
- Abdou, Heba & Mohamed, Nema. (2016). *Centella asiatica* ameliorates diabetic complications and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetes mellitus in male rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 36. 61-70.
- Agarwal, A., Durairajanayagam, D., Halabi, J., Peng, J & Vazquez-Levin, M. (2014). Proteomics, oxidative stress and male infertility. *Reproductive Biomedicine Online*, 29 (1), 32–58.
- Agarwal, A., Cocuzza, M., Abdelrazik, H., & Sharma, R. K. (2008). Oxidative stress measurement in patients with male or female factor infertility. *Handbook of Chemiluminescent Methods in Oxidative Stress Assessment*, 661(2), 195–218.
- Alwan, I. A., Lim, V., Samad, N. A., Widyawati, T., & Yusoff, N. A. (2020). Effect of *Annona Muricata* L. On metabolic parameters in diabetes mellitus: A systematic review. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 8 (1), 1–11.
- Anand, T., Naika, M., Phani, K. G., & Khanum, F. (2010). Antioxidant and DNA damage preventive properties of *Centella asiatica* (L) Urb. *Pharmacognosy Journal*, 2 (17), 53–58.
- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), 39–48.
- Annisa, F., Viryawan, C., & Santoso, F. (2014). Hipoksia Berpeluang Mencegah Kerusakan Sel β Pankreas pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2: Tinjauan Biologi Molekuler. *Cdk*, 41(3), 198–201.
- Aprini, U. R., Novianry, V., & Zakiah, M. (2019a). Pengaruh Pemberian Astaxanthin terhadap Kadar Malondialdehid pada Kerusakan Jaringan Testis Tikus Putih yang diinduksi Formaldehid secara Oral. *Jurnal Cerebellum*, 5(1), 1234–1247.
- Aprini, U. R., Novianry, V., & Zakiah, M. (2019b). Pengaruh Pemberian Astaxanthin terhadap Kadar Malondialdehid pada Kerusakan Jaringan Testis Tikus Putih yang diinduksi Formaldehid secara Oral Program Studi Kedokteran , FK UNTAN Departemen Biokimia Medik , Program Studi Kedokteran , FK UNTAN Departemen H. 5, 1234–1247.
- Asri Werdhasari. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3 (2), 59–68.
- American Diabetes Association (ADA) (2015). Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. *American Diabetes Care*, Vol. 38, pp: 8-16.
- Azizah, Z. A. N. (2019). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*) Dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) Terhadap Kadar MDA-SOD Hepar Mencit Displidemia. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Azzahra, F., & Hayati, M. (2019). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica* (L). Urb) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *B-Dent, Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 5(1), 9–19. <https://doi.org/10.33854/jbd.v5i1.133>

- Barkabi-Zanjani, S., Ghorbanzadeh, V., Aslani, M., Ghalibafabbaghi, A., & Chodari, L. (2020). Diabetes mellitus and the impairment of male reproductive function: Possible signaling pathways. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 14 (5), 1307–1314.
- Bermawie, Nurliani., D. (2013). Keragaman Sifat Morfologi Hasil dan Mutu Plasma Nutfah Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Bul. Littr.*, XIX(1).
- Chandrika, U. G., & Prasad Kumara, P. A. A. S. (2015). Gotu Kola (*Centella asiatica*): Nutritional Properties and Plausible Health Benefits. In *Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 76).
- Deslo, J., Ismy, J., & Dasrul, D. (2019). Hubungan Kadar Malondialdehyde (MDA) Testis dengan Kualitas Spermatozoa pada Tikus Putih Strain Wistar (*Rattus novergicus*) Diabetes Tipe I. *Jurnal Ilmu Bedah Indonesia*, 47(2), 82–113.
- Departemen Agama RI, 2015, Tafsir Ilmi (Tumbuhan Dalam Al-Qur'an dan Sains), Jakarta, Widya Cahaya.
- Djoko, W., Taurhesia, S., Djamil, R., & Simanjuntak, P. (2020). Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica*). *Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jalan Raya Lenteng Agung Srengseng Sawah, Jakarta.*, 13(2), 118–123.
- Eleazu, C. O., Eleazu, K. C., Chukwuma, S., & Essien, U. N. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(1), 1–7.
- Fatani, A. J., Al-Rejaie, S. S., Abuohashish, H. M., Al-Assaf, A., Parmar, M. Y., & Ahmed, M. M. (2015). Lutein Dietary Supplementation Attenuates Streptozotocin-induced testicular damage and oxidative stress in diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 1–10.
- Firdaus., Rimbawan., Marliyati, Sri Anna.,& Roosita, K. (2016). Model tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin-sukrosa untuk pendekatan penelitian diabetes. *Jurnal Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 12(1), 29–34.
- (GBIF), G. B. I. F. (2017). *Centella asiatica* (L.) Urban. GBIF Backbone Taxonomy Checklist Dataset <https://www.gbif.org/species/3034128> Diakses via GBIF.Org Pada 8 April 2021.
- Gray, N. E., Zweig, J. A., Matthews, D. G., Caruso, M., Quinn, J. F., & Soumyanath, A. (2017). *Centella asiatica* Attenuates Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in A β -Exposed Hippocampal Neurons. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Gupta, S. & P. C. (2017). Foliar Endophytic Diversity of *Centella asiatica* (L.) Urban in Relation to Different Seasons and Leaf Age. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.*, 6(6).
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35 (5), 1147–1150.
- 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 Insulinitis in STZ-induced Diabetic Mice. *PeerJ* 5:e3155.

- Hendrajid, Z., Taihuttu, Y. M. J., Laura, B. S., & Latuconsina, V. Z. (2020). Jenis Leukosit Mencit (*Mus Musculus*) Pasca Stres Akut Dengan Perlakuan Ekstrak Etanol Biji Pala (*Myristica Fragrans* Houtt). *Pattimura Medical Review*, 2(2).
- Hu, Ming and Li, X. (2011). *Oral Bioavailability: Basic Principles, Advanced Concepts, and Applications*, First Edition. John Wiley and Sons, Inc.
- Husna, F., Suyatna, F. D., Arozal, W., & Purwaningsih, E. H. (2019). Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (3), 131–141.
- Ibrahim, S. (2016). Pelestarian Lingkungan Hidup dalam Perspektif Al-Qur'an: Kajian Tafsir Maudu'iy. *Jurnal Ilmiah Al-Jauhari (JIAJ)*, 1(1), 109–132.
- [IDF] International Diabetes Federation. (2017). *IDF atlas 8th edition*, Brussel: International Diabetes Federation, diakses pada tanggal 12 April 2021. <https://www.diabete.qc.ca/en/understanddiabetes/resources/getdocumentutitle/IDF-DA-8e-EN-finalR3.pdf>.
- Idris, M.H., Budin, S.B., Osman, M & Mohammed, J. (2012). Protective Role of *Hibiscus sabdarifa* Calyx Extract Against Streptozotocin Induced Sperm Damage in Diabetic Rats. *EXCLI Journal*, 11, 659–669.
- Irianto, Hari Eko dan Ijah Muljanah. Irianto, H. E. dan I. M. (2011). Proses dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Penghantar Obat. *Squalen*, 6(1).
- Islam, M., Rupeshkumar, M., & Reddy, K. B. (2017). Streptozotocin is More Convenient than Alloxan for The Induction Of Type 2 Diabetes. *International Journal of Pharmacological Research*, 07 (01), 6–11.
- Jatayu, D., Nursyam, H., & Maizar Suryanto Hertika, A. (2018). Antioxidant Effect of *Centella asiatica* Ethanolic Extract to Superoxide Dismutase (SOD) Level on *Cyprinus carpio* Liver. *Research Journal of Life Science*, 5(3), 163–172.
- Jhansi, D & Manjula, K. (2019). The Antioxidant Potential of *Centella asiatica*: A Review. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 7 (2), 18–20.
- Johnson, E. L., Feldman, H., Butts, A., Chamberlain, J., Collins, B., Doyle-Delgado, K., Dugan, J., Leal, S., Rhinehart, A. S., Shubrook, J. H., & Trujillo, J. (2020). Standards of medical care in diabetes-2020 abridged for primary care providers. *Clinical Diabetes*, 38 (1), 10–38.
- Kanter, M., Aktas, C., & Erboga, M. (2012). Protective Effects of Quercetin Against Apoptosis and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Testis. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (3–4), 719–725.
- Katsir, Ibnu. 2004. *Lubaabut Tafsir min Ibnu Katsiir Juz 19 Jilid 6 (surah Asy-syu'ara ayat 80) halaman 158.* (Alih Bahasa; M. Abdul Ghoffar E. M). Bogor : Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Katsir, Ibnu. 2004. *Lubaabut Tafsir min Ibnu Katsiir Juz 7 Jilid 3 (surah Al-An'aam ayat 99) halaman 262-263.* (Alih Bahasa; M. Abdul Ghoffar E. M). Bogor : Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Katsir, Ibnu. 2004. *Lubaabut Tafsir min Ibnu Katsiir Juz 16 Jilid 5 (surah Al-Kahfi ayat 88) halaman 295.* (Alih Bahasa; M. Abdul Ghoffar E. M). Bogor : Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Katsir, Ibnu. 2004. *Lubaabut Tafsir min Ibnu Katsiir Juz 18 Jilid 6 (surah an-nuur ayat 45) halaman 71-72.* (Alih Bahasa; M. Abdul Ghoffar E. M). Bogor : Pustaka Imam Asy-Syafi'i.

- Katsir, Ibnu. 2004. Lubaabut Tafsir min Ibnu Katsiir Juz 3 Jilid 2 (surah Ali-Imran ayat 191) halaman 209-21. (Alih Bahasa; M. Abdul Ghoffar E. M). Bogor : Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Ko, E. Y., Sabanegh, E. S., & Agarwal, A. (2014). Male Infertility Testing: Reactive Oxygen Species and Antioxidant Capacity. *Fertility and Sterility*, 102(6), 1518–1527.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2015). Robbins and Cotran Pathologic Basic of Disease (9 th ed). Elsevier Saunders.
- 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.
- Bangun., J. I. & Deslo, D (2019). Effect of Vitamin E on Malondialdehyde Level in Testicular Tissues of Wistar Strain White Mice (*Rattus novergicus*) with Diabetes Mellitus Type 1. *Indonesia Journal Surgery*, 47(2).
- Lv, Junwei., Sharma, A., Zhang, T., Wu, Y., & Ding, X. (2018). Pharmacological Review on Asiatic Acid and Its Derivatives: A Potential Compound. *SLAS Technology*, 23(2), 111–127.
- Mardiyati, E., Muttaqien, S. El, & Setyawati, D. R. (2012). Sintesis Nanopartikel Kitosan-Trypolyposphate dengan Metode Gelasi Ionik : Pengaruh Konsentrasi dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi Bahan*, 90–93.
- Martien, R., Adhyatmika, Irianto, I. D. K., Farida, V., & Sari, D. P. (2012). Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*, 8 (1), halaman 133–144.
- Maulida, U., Jofrisha, & Mauliza. (2019). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Pada Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban). *KATALIS Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 2n(2), 1–8.
- Miladiyah, I., Purwono, S., M. (2003). Efek Ekstrak Eter Daun Ciplikan (*Physalin minima* Linn Setelah Pemberian Jangka Panjang Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Diabetes. *Majalah Obat Tradisional*, 8, 10.
- Mohasseb, M., Ebied, S., Yehia, M. A. H., & Hussein, N. (2011). Testicular Oxidative Damage and Role of Combined Antioxidant Supplementation In Experimental Diabetic Rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 67(2), 185–194.
- Muchtaromah, B., Ahmad, M., Suyono, Romaidi, Bahri, S., Kumalasari, H. P. (2016). Dosage and Administration Length of *Centella asiatica* (L) Urban Decrease the Level of SOD, MDA and Improve Brain Histological Condition of Rats. *Jurnal Teknologi.*, 78(5).
- Muchtaromah, Bayyinatul & Habibie, Soraya & Ma'arif, Burhan & Ramadhan, Realsyah & Savitri, Evika & Maghfuroh, Zahrotul. (2021). Comparative Analysis of Phytochemicals and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Centella asiatica* Leaves and its Nanoparticle Form. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 5.
- Mudjijono. (2015). Kearifan Lokal Orang Madura tentang Jamu Untuk Kesehatan Ibu Dan Anak. Jakarta: Kemendikbud.
- Muhlshoh, A., Wasita, B., & Patriado Nuhriawangsa, A. M. (2019). Antidiabetic effect of *Centella asiatica* extract (whole plant) in streptozotocin

- nicotinamide-induced diabetic rats. *Jurnal Gizi Dan Dietetik Indonesia (Indonesian Journal of Nutrition and Dietetics)*, 6 (1), 14.
- Mulianto, N. (2020). Malondialdehid sebagai Penanda Stres Oksidatif pada Berbagai Penyakit Kulit. *Cermin DuniaKedokteran*, 47 (1), 39–44.
- Mustofa, M. S. (2015). Pemendekan Telomer Pada Penderita Diabetes Melitus (DM) Telomere Shortening In Patients With Diabetes Melitus. *Julrnal Kedokteran Yarsi* 23 (3) hlm 197-211.
- Nadia, L. M. H., Suptijah, P, & Ibrahim, B.(2014). Production and Characterization Chitosan Nano from Black Tiger Shrimp with Ionic Gelation Methods. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17 (2), 119–126.
- Ngatiman, N., & Nur Cahyono, D. D. (2016). Identifikasi Gulma pada Tegakan Shorea Leprosula Miq Di PT. Balikpapan Forest Industries, Sotek Kalimantan Timur. *Jurnal Penelitian Ekosistem Dipterokarpa*, 2 (1), 1–8.
- Ni, K., Steger, K., Yang, H., Wang, H., Hu, K., Zhang, T., & Chen, B. (2016). A Comprehensive Investigation of Sperm DNA Damage and Oxidative Stress Injury In Infertile Patients with Subclinical, Normozoospermic, and Astheno/Oligozoospermic Clinical Varicocoele. *Andrology*, 4(5), 816–824.
- Oyenihi, A. B., Ayeleso, A. O., Mukwevho, E., & Masola, B. (2015). Antioxidant Strategies in The Management of Diabetic Neuropathy. *BioMed Research International*, 2015.
- Pandey, Ankita and Govind Pandey. (2013) Usefulness of Nanotechnology for Herbal Medicines. *Plant Archives*, 13 (2): 617-621.
- Prakash, V., Jaiswal, N., & Srivastava, M. (2017). A Review on Medicinal Properties of *Centella Asiatica*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10 (10), hlm 69-74.
- Prasad, Archana., Manju Singh., Narayan Prasad Yadav., A. K. M. & A. M. (2014). Molecular, Chemical and Biological Stability of Plants Derived From Artificial Seeds of *Centella Asiatica* (L.) Urban-An Industrially Important Medicinal Herb. *Industrial Crops and Products*, 60.
- Putri, A. I., Sundaryono, A., & Candra, I. N. (2018). Karakterisasi Nanopartikel Kitosan Ekstrak Daun Ubi jalar (*Ipomoea batatas* L.) Menggunakan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 2(2), 203–207.
- Qurthubi, A. (2009). *Tafsir Al Qurthubi*. Pustaka Azzam.
- Rahmawati, G., Rachmawati, F. N., & Winarsi, H. (2014). Aktivitas Superoksida Dismutase Tikus Diabetes yang Diberi Ekstrak Batang Kapulaga dan Glibenklamid. *Scripta Biologica*, 1(3), 197.
- Rashid, K., & Sil, P. C. (2015). Curcumin Ameliorates Testicular Damage In Diabetic Rats by Suppressing Cellular Stress-Mediated Mitochondria and Endoplasmic Reticulum-Dependent Apoptotic Death. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1852(1), 70–82.
- Retnaningsih, Christiana., Darmono., Budi Widianarko ., & S. F. M. (2013). Peningkatan Aktivitas Antioksidan Superoksida Dismutase pada Tikus Hiperglikemi dengan Asupan Tempe Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.) *Agritech*, 33(02),
- Romlah. (2015). *Kapita Selektta Sains Dalam Al-Qur'an*.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N.,

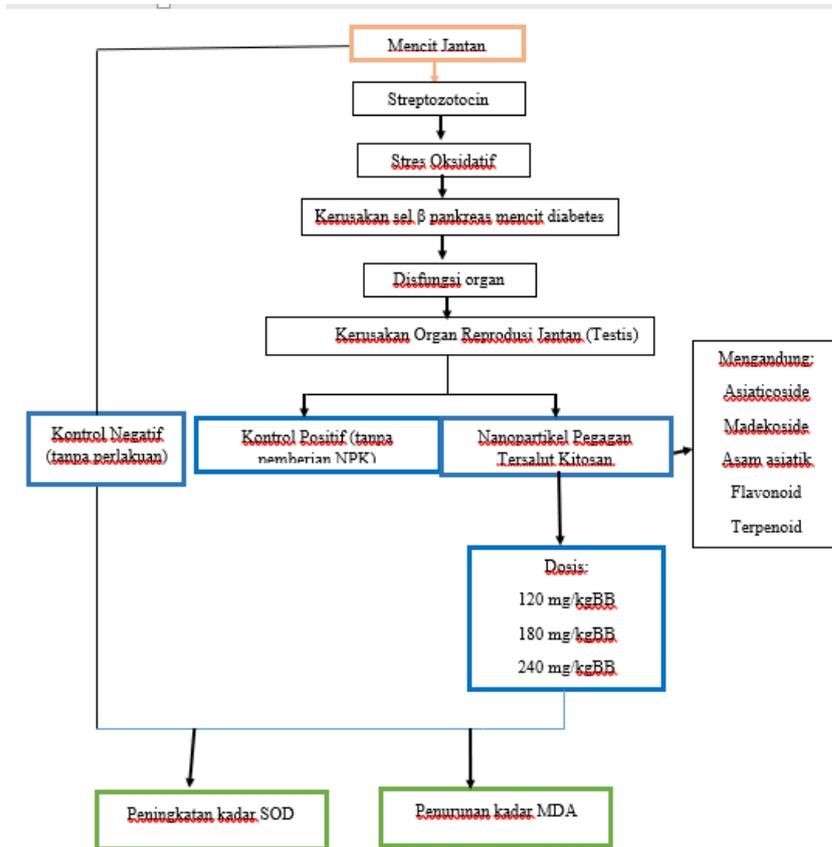
- Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A. A., Ogurtsova, K., Shaw, J. E., Bright, D., & Williams, R. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157, 107843.
- Sakthipriya, M. S.S., S. Sujith, P. Rajesh Kumar, K. K. S. (2018). Analysis of Genetic Diversity of *Centella asiatica* Using SSR Markers. *International Journal of Applied Science and Biotechnology*, 6 (2).
- Saputra, N. T., Suartha, I. N., & Dharmayudha, A. A. G. O. (2018). Agen Diabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus. *Buletin Veteriner Udayana*, 10 (2), 116.
- Setiati, S. (2003). Radikal bebas, antioksidan, dan proses menua. Bogor; Medika.
- Shi, G. J., Li, Z. M., Zheng, J., Chen, J., Han, X. X., Wu, J., Li, G. Y., Chang, Q., Li, Y. X., & Yu, J. Q. (2017). Diabetes Associated With Male Reproductive System Damages: Onset of Presentation, Pathophysiological Mechanisms and Drug Intervention. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 90, 562–574.
- Shihab, Quraish. 2002. Tafsir al-Misbah Volume 10 (surah Asy-Syu'ara). Jakarta: Lentera Hati.
- Shihabi, A., Li, WG., Miller, Jr FG., Weintraub, N. (2002). Antioxidant Therapy For Atherosclerotic Vascular Disease: The Promise and The Pitfalls. *American Journal of Physiology Hear Circ Physiol*, 282 (3), 797–802.
- Srinivasan, K., & Ramarao, P. (2012). Animal Models In Type 2 Diabetes Research: An Overview. *Indian Journal of Medical Research*, 136(1), 451–472.
- Suarsana, I. N., Utama, I. H., Agung, I. G., & Suartini, A. (2011). Pengaruh Hiperglikemia dan Vitamin E pada Kadar Malonaldehida dan Enzim Antioksidan Intrasel Jaringan Pankreas Tikus. *Majalah Kedokteran Bandung*, 43(2), 72–76.
- Subandrate., Safyudin., Arifin, Mutmainah., & Oktalisa, W. (2015). Kadar Superoksida Dismutase Mahasiswa Perokok Di Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Sriwijaya. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 23(2), 76–82. 13
- Sugiarta, I. G. R. M., & Darmita, I. G. K. (2020). Profil Penderita Diabetes Mellitus Tipe-2 (DM-2) dengan Komplikasi yang Menjalani Rawat Inap Di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Klungkung, Bali Tahun 2018. *Intisari Sains Medis*, 11(1), 7.
- Sun, B., Wu, L., Wu, Y., Zhang, C., Qin, L., Hayashi, M., Kudo, M., Gao, M., & Liu, T. (2020). Therapeutic Potential of *Centella asiatica* and Its Triterpenes: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 11(September), 1–24.
- Sunanda Hasanuddin; Nurmaliah, Cut, R. H. (2020). Etnobotani Pada Masyarakat Kecamatan Setia Bakti Kabupaten Aceh Jaya. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 5(Vol 5, No 1 (2020), hlm 324–329.
- Sunaryo, H., & Rahmania, R. A. (2015). Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc.) dan Zink Berdasarkan Pengukuran MDA, SOD dan Katalase pada Mencit Hiperkolesterolemia dan Hiperglikemia dengan Penginduksi Streptozotocin Antioxidant

- Activity of Combination. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), 187–193.
- Suptijah, P., Jacob, A. M., & Rachmania, D. (2011). Characterization Chitosan Nano from White Shrimp Shells (*Litopenaeus vannamei*) with Ionic Gelation Methods. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, XIV(2), 78–84.
- Sutardi, S. (2016). Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 35 (3) hlm 121.
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative Stress, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Type 2 Diabetes Melitus. *World Journal of Diabetes*, 6 (3), 456–480.
- Tripathia, Gyanendra., Shardendu Mishra, Prabhat Upadhyay, Suresh Purohit, G.P.Dubey, A. A. (2015). Ethnopharmacological Importance of *Centella asiatica* with Special Reference to Neuroprotective activity. *Asian Journal of Pharmacology and Toxicology*, 03(10), 49–53.
- Tulung, Grace Laury., Widdhi Bodhi., & J. P. S. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban) Sebagai Antidiabetes Terhadap Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Pharmacon*, 10 (1), 736–742.
- Wahhab, Mosaad A. Abdel, Abdulhadi Aljawish, Aziza A. El-Nekeety, Sekena H. Abdel-Aziem , Nabila S. Hassan. (2017). Chitosan Nanoparticles Plus Quercetin Suppress The Oxidative Stress, Modulate DNA Fragmentation and Gene Expression in The Kidney of Rats Fed Ochratoxin A-Contaminated Diet. *Food and Chemical Toxicology*, 99: 209-221.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi*. Jakarta: Kanisius.
- Wu, J., & Yan, L. J. (2015). Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes In Rodents as A Model for Studying Mitochondrial Mechanisms of Diabetic Beta-Cell Glucotoxicity. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 8, 181–188.
- Yasurin, P., Malinee, S., & Theerawut, P. (2016). The Bioavailability Activity of *Centella asiatica*. *International Journal of Applied Science and Technology*, 9(1), 1–9.
- Yasurin, P., Sriariyanun, M., & Phusantisampan, T. (2015). Review: The Bioavailability Activity of *Centella asiatica*. *KMUTNB International Journal of Applied Science and Technology*, December, 1–9.
- Yaturu S. (2011). Obesity and Type 2 Diabetes. *J. Diabetes Melitus*, 1 (4), 10–16.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Jakarta: Deepublish.
- Zahara, Kulsoom., Y. B. and T. (2014). Clinical Therapeutic Benefits of *Centella Asiatica*. *Pure and Applied Biology*, 3(4).
- Zhao, Y., Zhao, H., Zhai, X., Dai, J., Jiang, X., Wang, G., Li, W., & Cai, L. (2013). Effects Of Zn Deficiency, Antioxidants, and Low-Dose Radiation on Diabetic Oxidative Damage and Cell Death In The Testis. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23(1), 42–47.
- Zhu, Q., Zeng, J., Li, J., Chen, X., Miao, J., Jin, Q., & Chen, H. (2020). Effects of Compound *Centella* on Oxidative Stress and Keap1-Nrf2-ARE Pathway Expression in Diabetic Kidney Disease Rats. *Evidence-Based*

Complementary and Alternative Medicine, 2020.
Zulkarnain., D. M. R. (2012). Ekspresi Caspase-3 Sel Leydig Tikus Spargue
Dawley yang Diinduksi Streptozotocin Dosis Rendah. MAI.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 KERANGKA PEMIKIRAN

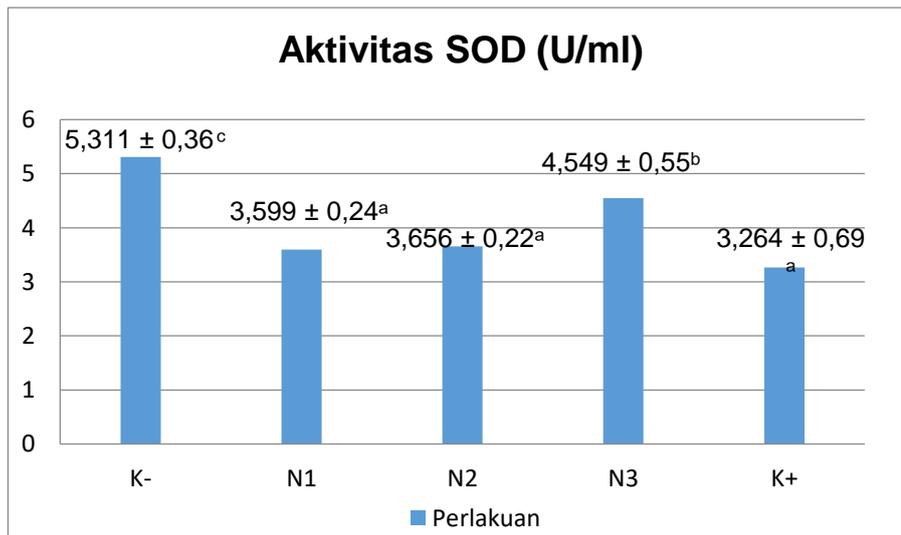


**LAMPIRAN 2 Data Kadar SOD Testis Hewan Model Mencit (*Mus musculus*)
DM 2 setelah perlakuan Nanopartikel Pegagan Tersalut Kitosan**

1. Data Kadar SOD Testis Mencit

Perlakuan	Kadar SOD (U/ml)				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
K-	4,957	5,535	5,701	5,051	21,244	5,311
N1	3,296	3,874	3,535	3,69	14,395	3,599
N2	3,596	3,74	3,896	3,39	14,622	3,656
N3	4,863	5,051	4,473	3,812	18,199	4,550
K+	3,823	2,74	3,896	2,596	13,055	3,264

2. Diagram rerata aktivitas SOD

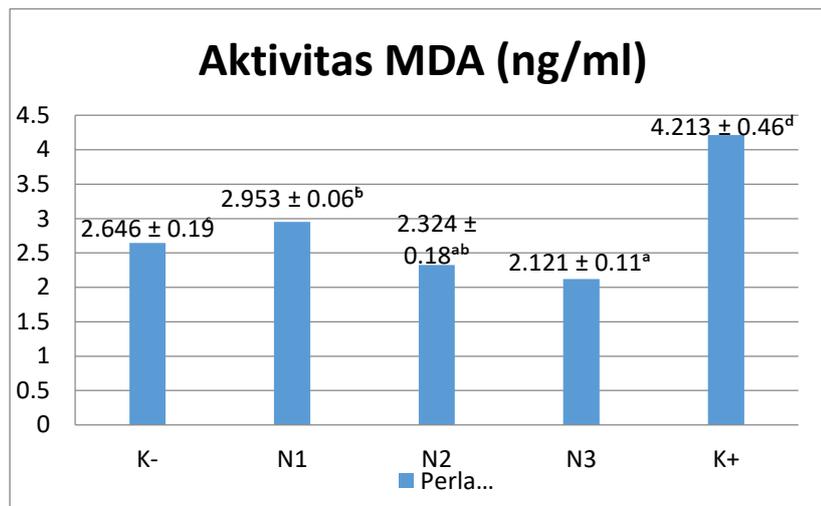


LAMPIRAN 3 Data Kadar MDA Testis Hewan Model Mencit (*Mus musculus*) DM 2 Setelah Perlakuan Nanopartikel Kitosan Pegagan.

1. Data kadar MDA Testis Mencit

Perlakuan	Kadar MDA				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
K-	2,521	2,714	2,876	2,472	10,583	2,646
N1	2,918	2,882	3,010	3,002	11,812	2,953
N2	2,121	2,553	2,310	2,310	9,294	2,324
N3	2,04	2,202	2,229	2,013	8,484	2,121
K+	4,445	3,583	4,655	4,170	16,853	4,213

2. Diagram rerata kadar MDA



**LAMPIRAN 4 Perhitungan Statistik hasil Penelitian Kadar SOD dengan
SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut Duncan**

1). Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kelompok Perlakuan	.155	20	.200*	.896	20	.035
Kadar SOD	.232	20	.006	.941	20	.245

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

2). Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kadar SOD

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.489	4	15	.060

3). Uji ANOVA One Way

ANOVA

Kadar SOD					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.256	4	2.814	13.856	.000
Within Groups	3.046	15	.203		
Total	14.302	19			

4. Uji Lanjut DMRT

Kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K+	4	3.26375		
N1	4	3.59875		
N2	4	3.65550		
N3	4		4.54975	
K-	4			5.31100
Sig.		.262	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Kelompok Perlakuan	N	Rata-rata \pm SD
K+ (mencit diabetes)	4	3.26 \pm 0.69 ^a
N1 (dosis 120 mg/kgBB)	4	3.59 \pm 0.24 ^a
N2 (dosis 180 mg/kgBB)	4	3.66 \pm 0.22 ^a
N3 (dosis 240 mg/kgBB)	4	4.55 \pm 0.55 ^b
K- (mencit normal)	4	5.31 \pm 0.36 ^c

**LAMPIRAN 5 Perhitungan Statistik hasil Penelitian Kadar MDA dengan
SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut DMRT**

1). Uji normalitas

Tests of Normality

Kelompok perlakuan	Kolmogorov- Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
K+	.213	4	.945	.945	4	.685
K-	.249	4	.928	.928	4	.581
N1	.282	4	.872	.872	4	.306
N2	.280	4	.937	.937	4	.638
N3	.269	4	.844	.844	4	.207

a. Lilliefors Significance
Correction

2). Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.900	4	15	.058

3) Uji ANOVA One way

ANOVA

Kadar MDA

--	--	--	--	--

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.878	4	2.719	45.640	.000
Within Groups	.894	15	.060		
Total	11.771	19			

4). Uji lanjut DMRT

Kadar MDA

Duncan

Kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
N3	4	2.1210 0			
N2	4	2.3235 0	2.3235 0		
K-	4		2.6457 5	2.6457 5	
N1	4			2.9530 0	
K+	4				4.2132 5
Sig.		.259	.082	.095	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Kelompok Perlakuan	Rata-rata \pm SD
N3 (dosis 240 mg/kgBB)	2.121 \pm 0.11 ^a
N2 (dosis 180 mg/kgBB)	2.323 \pm 0.18 ^{ab}

Kadar MDA

Duncan

Kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
N3	4	2.1210 0			
N2	4	2.3235 0	2.3235 0		
K-	4		2.6457 5	2.6457 5	
N1	4			2.9530 0	
K+	4				4.2132 5
Sig.		.259	.082	.095	1.000

K- (mencit normal)	2.645 ± 0.19^{bc}
N1 (dosis 120 mg/kgBB)	2.953 ± 0.06^c
K+ (mencit diabetes)	4.213 ± 0.46^d

LAMPIRAN 6 Perhitungan Dosis

1. Dosis Streptozotocin (STZ)

Perhitungan untuk dosis 40 mg/kg BB dan 60 mg/kg BB, sebagai berikut:

- Dosis acuan = 40 mg/kg BB
- Dosis untuk 25 gram mencit = berat rerata/ berat 1 kg x dosis =
 $25/1000 \times 40 = 1 \text{ mg}$
- Dosis acuan = 60 mg/kg BB
- Dosis untuk 25 gram mencit = berat rerata/ berat 1 kg x dosis =
 $25/1000 \times 60 = 1,5 \text{ mg}$

1. Dosis Nanopartikel Pegangan tersalut Kitosan

Perhitungan untuk dosis 120 mg/kg BB, 180 mg/kg BB dan 240 mg/kg BB, sebagai berikut:

- Dosis acuan = 120 mg/kg BB
Dosis untuk 30 gram mencit = berat rerata/ berat 1 kg x dosis =
 $30/1000 \times 120 = 3,6 \text{ mg}$
- Dosis acuan = 180 mg/kg BB
Dosis untuk 30 gram mencit = berat rerata/ berat 1 kg x dosis =
 $30/1000 \times 180 = 5,4 \text{ mg}$
- Dosis acuan = 240 mg/kg BB
Dosis untuk 30 gram mencit = berat rerata/ berat 1 kg x dosis =
 $30/1000 \times 240 = 7,2 \text{ mg}$

LAMPIRAN 7. Dokumentasi Penelitian

7.1. Proses Ekstraksi

No	Gambar Pengamatan	No	Gambar Pengamatan
1	 <p data-bbox="531 763 772 797">Simplisia Pegagan</p>	4	 <p data-bbox="1062 808 1222 898">Filtrat hasil penyaringan</p>
2.	 <p data-bbox="456 1223 858 1256">Maserasi menggunakan <i>shaker</i></p>	5	 <p data-bbox="1015 1223 1294 1357">Penguapan pelarut menggunakan <i>Rotary evaporator</i></p>
3.	 <p data-bbox="464 1816 855 1906">Filtrasi maserat menggunakan kertas saring</p>	6	 <p data-bbox="1007 1816 1310 1850">Ekstrak yang diperoleh</p>

7.2. Sintesis Nanopartikel

1	 <p>Kitosan</p>	5	 <p>Homogenasi dengan alat <i>Ultra Turrax</i> - Homogenisasi 10.000 rpm (Disperser)</p>
2	 <p>STPP</p>	6	 <p>Tween 80</p>
3	 <p>Sonikasi</p>	7	 <p>Penambahan ekstrak pegagan</p>

4



Homogenisasi Kitosan

8



Homogenasi STPP



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gaiyana No. 50 Malang 65144 Telp. (0341) 558933 Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Imro'atun Nadzifah
 NIM : 17620026
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2020/ 2021
 Pembimbing : Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
 Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) tersalut kitosan Terhadap Kadar SOD dan MDA Testis Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Streptozotocin

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	13 Februari 2021	Bimbingan terkait judul dan latar belakang	
2.	1 April 2021	Bimbingan terkait penulisan bab 1-3	
3.	4 Juni 2021	Konsultasi hasil revisi bab 1-3	
4.	11 Juni 2021	ACC	
5.	07 Agustus 2021	Konsultasi bab 1-3 setelah sempro	
6.	20 Oktober 2021	Konsultasi terkait data penelitian dan hasil analisis SPSS	
7.	12 November 2021	Konsultasi terkait revisi bab 1-3	
8.	18 November 2021	Konsultasi terkait bab 4	
9.	22 November 2021	Konsultasi revisi bab 4	
10.	06 Desember 2021	Acc naskah skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
 NIP. 19710919200003 2 001

Malang, 08 Desember 2021
 Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018200312 2 002



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

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Imro'atun Nadzifah
 NIM : 17620026
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil TA 2021/2022
 Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
 Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel Pegagan (*Centela asiatica* (L.) Urban) Tersalut Kitosan Terhadap Kadar Superoksida Dismutase dan Malondialdehid yang Diinduksi Streptozotocin

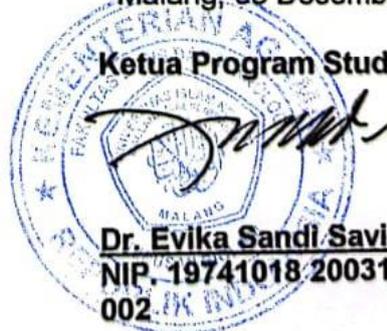
No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	01 Mei 2021	Konsultasi integrasi ayat Al-QUR'an pada latar belakang	
2	06 Mei 2021	Revisi penulisan ayat Al-Qur'an dan Hadist	
3	4 Juni 2021	ACC proposal	
4	22 November 2021	Konsultasi Bab IV Agama	
6	06 Desember 2021	ACC Keseluruhan	

Malang, 08 Desember 2021

Pembimbing Skripsi,

Mujahidin Ahmad, M.Sc
 NIP. 19860512201903 1 002

Ketua Program Studi,



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