



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka pelindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202183872, 24 Desember 2021

Pencipta

Nama	: Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si., Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd. dkk
Alamat	: Pondok Bestari Indah E5/227, Landungsari,, Malang, JAWA TIMUR, 65151
Kewarganegaraan	: Indonesia
Pemegang Hak Cipta	
Nama	: Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si., Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd. dkk
Alamat	: Pondok Bestari Indah E5/227, Landungsari,, Malang, JAWA TIMUR, 65151
Kewarganegaraan	: Indonesia
Jenis Ciptaan	: Karya Tulis (Artikel)
Judul Ciptaan	: Pengaruh Nanopartikel Pegagan (<i>Centella Asiatica L.</i>) Terhadap Profil Kultur Sel Pankreas Tikus (<i>Rattus Norvegicus</i>) Yang Diinduksi Streptozotocin
Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia	: 20 Desember 2021, di Malang
Jangka waktu pelindungan	: Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.
Nomor pencatatan	: 000309632

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.

Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual
u.b.

Direktur Hak Cipta dan Desain Industri

Dr. Syarifuddin, S.T., M.H.
NIP.197112182002121001

Disclaimer:

Dalam hal pemohon memberikan keterangan tidak sesuai dengan surat pernyataan, Menteri berwenang untuk mencabut surat pencatatan permohonan.

LAMPIRAN PENCIPTA

No	Nama	Alamat
1	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.	Pondok Bestari Indah E5/227, Landungsari,
2	Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd.	Perum Tambakasri Permai D-22, Tambakasri, Kecamatan Tajinan
3	Ely Nuril Fajriyah, S.Si.	Dusun Kaklak, Desa Banyuurip Kec. Ujungpangkah RT 001/RW 008
4	Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc.	Jalan Nusa Indah 60B, Tulungrejo, Pare
5	Muhammad Andi Fachrudin	Kedungbanteng, Tanggulangin
6	Nisa Amanda Rachmadani	Bali, Plumpang, Sukodadi
7	Dr. Listijani Suhargo, M.S.	Pucang Indah O-19 RT 025 RW 006, Pucang

LAMPIRAN PEMEGANG

No	Nama	Alamat
1	Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.	Pondok Bestari Indah E5/227, Landungsari,
2	Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd.	Perum Tambakasri Permai D-22, Tambakasri, Kecamatan Tajinan
3	Ely Nuril Fajriyah, S.Si.	Dusun Kaklak, Desa Banyuurip Kec. Ujungpangkah RT 001/RW 008
4	Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc.	Jalan Nusa Indah 60B, Tulungrejo, Pare
5	Muhammad Andi Fachrudin	Kedungbanteng, Tanggulangin
6	Nisa Amanda Rachmadani	Bali, Plumpang, Sukodadi
7	Dr. Listijani Suhargo, M.S.	Pucang Indah O-19 RT 025 RW 006, Pucang



**PENGARUH NANOPARTIKEL PEGAGAN (*Centella asiatica* L.)
TERSALUT KITOSAN TERHADAP KONFLUENITAS, VIABILITAS,
DAN KADAR INSULIN KULTUR SEL PANKREAS TIKUS (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**Bayyinatul Muchtaromah¹, Eko Budi Minarno¹, Lil Hanifah¹, Ely Nuril Fajriyah¹,
Prilya Dewi Fitriasari², M. Andi Fachrudin², Nisa Amanda Rachmadani², Listiana
Suhargo³, Kenji Mishima⁴.**

¹Prodi Magister Biologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang,

²Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik
Ibrahim Malang,

³Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga,

⁴Faculty of Chemical Engineering Fukuoka University Japan.

Abstrak

Penggunaan tanaman berkhasiat obat kini terus meningkat diseluruh dunia. Hal ini dikarenakan obat herbal berkontribusi besar terhadap kesehatan manusia yang bersifat promotif, kuratif dan rehabilitatif. Salah satu tanaman yang berpotensi dapat dijadikan sebagai kandidat obat herbal diabetes militus adalah pegagan (*Centella asiatica* L.). Pegagan diketahui memiliki kandungan 4 senyawa triterpen yang baik untuk dijadikan kandidat obat diabetes militus, yaitu madekassosida, asiatikosida, asam madakassik, dan asam asiatika. Efektivitas senyawa yang terkandung pada tanaman tersebut dapat ditingkatkan dengan cara memodifikasi obat herbal dalam sediaan nanopartikel. Selain dengan memodifikasi menjadi bentuk nanopartikel, cara lainnya yang dapat digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas pegagan adalah dengan menggunakan nanopartikel kitosan. Dalam penelitian ini digunakan nanopartikel pegagan tersalut kitosan dosis 20 μM untuk mengetahui pengaruhnya terhadap konfluenitas, viabilitas, dan kadar insulin kultur sel pankreas tikus yang diinduksi streptozotocin (STZ) sebesar 5 mM.

Kata kunci: diabetes militus, kitosan, nanopartikel, pankreas, pegagan, streptozotocin.

PENDAHULUAN

Diabetes militus (DM) merupakan kelainan ketidakseimbangan tubuh dalam memproduksi insulin sehingga mengakibatkan metabolisme karbohidrat terganggu (Smeltzer and Bare, 2015). Secara klinis diabetes militus dibagi menjadi dua, yaitu DM tipe 1 (*insulin dependent diabetes militus*) dan DM tipe 2 (*non-insulin dependent diabetes militus*). DM tipe 1 merupakan kelainan metabolisme tubuh dalam memproduksi insulin yang disebabkan oleh destruksi sintesis insulin secara akut. Kelainan DM tipe 1 pada umumnya ditandai dengan ketergantungan penggunaan injeksi insulin eksternal. DM tipe 2 merupakan kelainan metabolisme tubuh dalam memproduksi insulin yang disebabkan oleh destruksi sintesis insulin secara kronis. Kelainan DM tipe 2 pada umumnya muncul akibat pola konsumsi karbohidrat dan

lemak yang tinggi, sehingga muncul penyakit seperti hiperglikemia yang memicu kelainan ini (Sun *et al.*, 2020)(Smeltzer and Bare, 2015).

Kelainan metabolisme tubuh dalam memproduksi hormon insulin secara fisiologis dapat disebabkan oleh 3 faktor utama. Faktor-faktor tersebut meliputi; 1) Densitas atau resistensi insulin, 2) sel beta pankreas kelelahan dalam sekresi insulin (*Exhaustion*), dan 3) *glucose toxicity* (Standl, 2007). Salah satu faktor ketidakseimbangan produksi insulin yang sering ditemukan kasusnya di masyarakat adalah disebabkan oleh kelelahan sel beta pankreas dalam sekresi insulin. Kondisi kelelahan sekresi insulin ditemukan pada penderita yang umumnya memiliki pola konsumsi karbohidrat dan lemak tinggi. Kebiasaan tersebut mengakibatkan sel beta pankreas memproduksi insulin lebih tinggi atau berlebih (hiperinsulinemia). Pada kondisi maksimum, produksi insulin tidak dapat mengimbangi konsentrasi kadar gula dalam darah, sehingga terjadi resistensi insulin yang mengakibatkan sel beta pankreas tidak dapat memberikan efek biologis seperti pemecahan dan penyimpanan glukosa (Merentek, 2006).

Ditinjau berdasarkan dampak yang diakibatkan oleh penyakit diabetes militus, maka perlu dilakukan pencarian obat yang sesuai dengan penyakit tersebut. Pencarian obat yang sesuai untuk diabetes militus secara umum telah banyak dilakukan dan telah banyak ditemukan obatnya. Namun diantara berbagai obat yang telah ditemukan tersebut masih banyak yang belum menggunakan bahan herbal sebagai bahan obatnya. Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian kandidat obat baru untuk penyakit diabetes militus.

Sumber daya alam (SDA) Indonesia diketahui memiliki berbagai macam tanaman yang berpotensi dijadikan sebagai kandidat obat herbal diabetes militus, salah satunya adalah Pegagan (*Centella asiatica* L). Berdasarkan pengujian HPLC (*High performance liquid chromatography*) pada Pegagan (*Centella asiatica* L) yang pernah dilakukan Hashim *et al* (2011) diketahui bahwa pegagan memiliki kandungan berupa 4 macam senyawa triterpen, senyawa-senyawa tersebut meliputi; madekassosida, asiatikosida, asam madakassik, dan asam asiatik. Senyawa triterpen pegagan (*Centella asiatica* L) yang memiliki potensi tinggi untuk dijadikan sebagai obat diabetes militus adalah asam asiatika.

Laporan penelitian oleh Daina dan Vincent (2016) menjadi alasan pemilihan pegagan sebagai obat diabetes militus karena menunjukkan kemampuan pegagan dalam meningkatkan fungsi mitokondria dan penyerapan glukosa ekstraseluler menjadi. Namun, kemampuan tersebut belum cukup optimal untuk dijadikan kandidat obat diabetes militus, dikarenakan penetrasi beberapa senyawa triterpenoid pegagan melalui glikoprotein (PGP⁺) yang kurang optimal. Sehingga dengan kurang optimalnya penetrasi tersebut maka dapat mengakibatkan pemberian senyawa yang dilakukan menjadi kurang efektif. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengoptimalkan bioavailabilitas suatu tanaman obat yaitu dengan memodifikasi senyawa menjadi bentuk nanopartikel. Selain dengan memodifikasi senyawa menjadi bentuk nanopartikel, cara lainya yang dapat digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas pegagan adalah dengan menggunakan nanopartikel kitosan.

Penelitian mengenai model diabetes militus dalam skala laboratorium secara umum sudah banyak dilakukan. Salah satu cara yang efektif untuk membentuk model penyakit diabetes militus adalah dengan menggunakan streptozotocin (STZ). STZ sendiri merupakan salah satu jenis glukosa [(glucopyranose, 2-deoxy-2-(3-methy-enitrosourido-D))] yang diekstrak dari *Streptomyces acromogenes* (Junod *et al.*, 1967) (Saini *et al*, 1996).

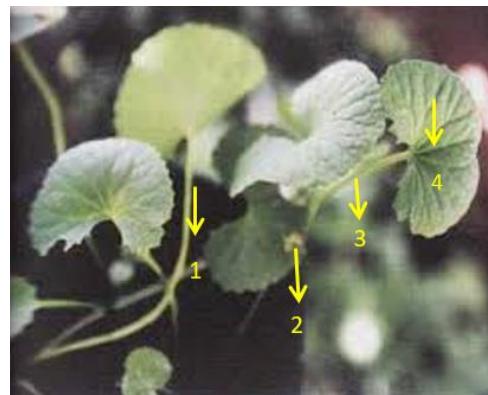
Berdasarkan latarbelakang yang telah diuraikan tersebut, maka penelitian perlu dilakukan penelitian mengenai pencarian kandidat obat diabetes militus dan optimalisasinya. Maka, merujuk pada urgensi tersebut penelitian tentang pengaruh nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica* L.) tersalut kitosan terhadap konfluenitas, viabilitas, dan kadar insulin pada kultur sel islet pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Streptozotocin ini penting dilakukan.

TINJAUAN DAN PEMBAHASAN

Pegagan (*Centella asiatica* L.)

Pegagan *Centella asiatica* (L) urban merupakan tanaman herba tahunan yang memiliki tinggi antara 10-15 cm, merayap, dan tidak memiliki batang sejati. Pegagan memiliki helaian daun yang tersusun secara roset akar dengan jumlah mencapai 2-10 helai daun. Daun memiliki warna hijau, berbentuk seperti kipas, dan

permukaan daun licin. Daun pegagan memiliki tepi agak melengkung keatas, bergerigi, tulang terpusat, di pangkal, dan memiliki diameter sekitar 1-7 cm (Winarto & Surbakti, 2003).



Gambar 1. Morfologi umum Pegagan; (1) Tangkai daun, (2) Bunga, (3) Ujung daun, (4) Helai daun (Winarto & Surbakti, 2003).

Pegagan *Centella asiatica* (L.) Urban menurut Winarto & Surbakti (2003) memiliki senyawa bioaktif seperti; triterpenoid saponin, triterpenoid genin, minyak essensial, flavonoid, fitosterol, dan senyawa bioaktif lainnya. Kandungan senyawa bioaktif dalam pegagan secara lengkap disajikan pada tabel berikut:

Tabel 1. Kandungan senyawa aktif pegagan (Calapai, 2012).

Jenis senyawa	Komponen
Minyak essensial	Terpen Asetat Germacrane Caryophyllene P-Cymol Pinene
Turunan Flavon	Quercetin glycoside Glycoside free astragalin Keemprefol
Sesquiterpenes	Caryophyllene Bicycolelemene Trans-farnesene Ermacrene
Steroid Triterpen	Stigmasterol Sitosterol
Asam triterpen	Asam Asiatic

	6-hydroxy aciatic acid Asam Madekasik Asam Madasiatik Asam Betulinic Asam Thankunik Asam Isothankunik
Triterpen Saponin	Asiatikosida Asiatikosida A Asiatikosida B Madekassosida Braminosida Brahmosida Brahminosida Thankunisida Isothankunisida

Calapai (2012) pada penelitiannya melaporkan bahwa salah satu senyawa bioaktif yang banyak ditemukan pada pegagan adalah asam triterpen dan triterpen saponin (Tabel 2.1). Senyawa tersebut pada pegagan secara spesifik terdiri dari kandungan asam asiatik, asam madekasik, madekosida, dan asiatikosida. Menurut Fizur *et al* (2018) asam triterpen dan triterpen saponin pegagan (*Centela asiatica*) memiliki banyak manfaat, sehingga seringkali senyawa tersebut digunakan untuk kepentingan kesehatan. Manfaat asam triterpen dan triterpen saponin pegagan yang diketahui berdasarkan penelitiannya meliputi antimikroba, antiperadangan, agen imunomodulator, antidepresi, antikanker dan antidiabetes.

Berdasarkan penelitian Hasim *et al* (2011) pegagan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 84%. Aktivitas antioksidan tersebut diketahui lebih tinggi daripada aktivitas antioksidan yang dimiliki anggur, yaitu sebesar 83%. Aktivitas antioksidan yang dimiliki pegagan dilaporkan memiliki peran penting dalam mereduksi efek oksidatif dari ROS (*reactive oxygen species*) dalam tubuh. Selain itu antioksidan pegagan juga dilaporkan memiliki kemampuan untuk melindungi kerusakan saraf (*neuroprotective*) dari kerusakan yang diakibatkan oleh aktivitas oksidatif ROS.

Senyawa bioaktif Pegagan (*Centela asiatica*) juga dilaporkan memiliki potensi sebagai kandidat obat diabetes militus. Hal tersebut diketahui dari hasil penelitian yang didapatkan oleh Wilson *et al* (2015) bahwasanya asam asiatik pada pegagan memiliki kemampuan menghambat enzim α -amylase. Kemampuan inhibisi enzim α -amylase secara fisiologis sangat diperlukan untuk mengurangi kadar glukosa dalam plasma. Sehingga dengan berkurangnya kadar glukosa tersebut diharapkan insulin dapat mengkompensasi kadar glukosa yang ada dalam darah. Oleh karena itu berdasarkan manfaat dan kemampuan tersebut pegagan sering dimanfaatkan untuk kepentingan kesehatan.

Nanopartikel Kitosan

Sun *et al* (2020) melaporkan bahwasanya senyawa triterpenoid saponin asam asiatika dan turunannya memiliki bioavailabilitas yang rendah, sehingga perlu dilakukan modifikasi senyawa untuk mengoptimalkan bioavailabilitasnya. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengoptimalkan bioavailabilitas suatu tanaman obat yaitu dengan memodifikasi senyawa menjadi bentuk nanopartikel. Sebagaimana yang diuraikan oleh Rao & Geckeler (2011) bahwasanya memodifikasi suatu senyawa dalam bentuk nanopartikel dapat meningkatkan penyerapan senyawa kedalam ruang-ruang antar sel. Hal tersebut diakibatkan oleh terbentuknya karakter koloid ketika senyawa dimodifikasi menjadi bentuk nanopartikel, sehingga proses difusi maupun opsinifikasi nanopartikel lebih tinggi untuk menembus dinding sel.

Nanopartikel kitosan sendiri dikenal sebagai bahan penghantar obat yang efektif untuk digunakan. Menurut Tiyaboonchai (2003), Prashanth & Tharanathan (2007), Kumar *et al* (2012), Shanmukha *et al* (2012), Jayakumar (2010), dan Zhu & Zhang (2014), nanopartikel kitosan memiliki biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang baik serta tidak memberikan efek toksik bagi sel, sehingga cocok digunakan untuk penghantaran suatu senyawa atau obat tertentu. Pada penelitian lainnya disebutkan juga bahwasanya penggunaan nanopartikel kitosan secara *in-vitro* mampu meningkatkan permisibilitas membran, sehingga senyawa atau obat yang dibawa dapat dengan mudah diserap oleh sel (Dodane *et al*, 1999).

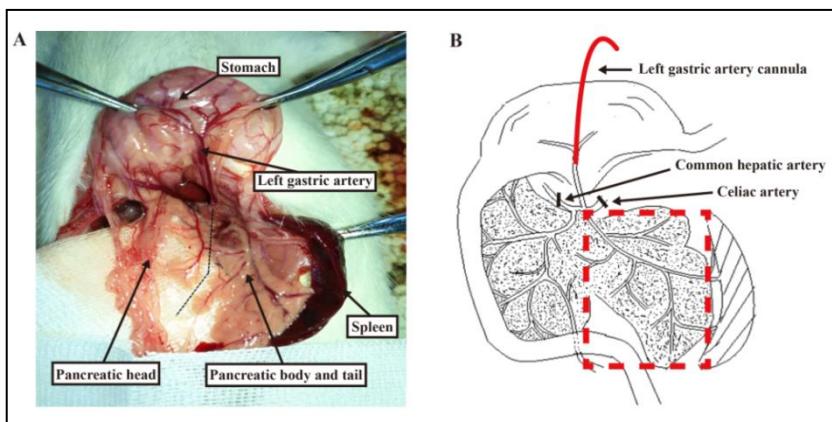
Pemilihan teknik pembuatan nanopartikel umumnya bergantung berdasarkan karakter fisikokimia dari polimer dan obat yang akan dimasukkan. Secara umum

teknik pembuatan nanopartikel berdasarkan karakter fisikokimia dari polimer dibagi menjadi tiga, yaitu; (1) Dispersi Polimer, (2) Polimerasi Monomer, dan (3) Gelasi Ionik dan Konservat. Pembuatan nanopartikel kitosan dalam hal ini menggunakan metode gelasi ionik. Metode ini dikembangkan untuk memanfaatkan kitosin, alginat, dan natrium alginat sebagai polimer hidrofilik biodegredibel pembentuk nanopartikel (Vauthier *et al.*, 2003).

Polimer nanopartikel pada metode ini dibentuk dari 2 suspensi yang berbeda. Suspensi pertama berupa polimer kitosan yang di-*block* dengan co-polymer ethylene oxide atau polypropylene oxide dan polimer kedua berupa polianion natrium trypolyphosphate. Campuran antara 2 suspensi tersebut menimbulkan adanya interaksi elektrostatik antara gugus asam amino kitosan dengan trypolyphosphate. Hasil interaksi elektrostatik tersebut menghasilkan produk berupa koaservat dan gelasi ionik. Koaservat yang dihasilkan memiliki bentuk suspensi dalam fase air, sedangkan gelasi ionik memiliki bentuk material yang mengalami transisi dari fase air (cairan) menjadi bentuk gel (Mohanraj & Chen, 2006) (Vauthier *et al.*, 2003).

Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*)

Pankreas merupakan suatu kelenjar yang tergolong ke dalam kelenjar eksokrin dan endokrin (Mashudi, 2011). Pankreas memiliki morfologi permukaan organ yang berbentuk lobulasi berwarna merah keabuan dan terdapat jaringan ikat tipis (Frandsen, 1992) (Pearch, 2000). Jaringan ikat tipis tersebut membatasi antara pankreas bagian kelenjar, dan pankreas bagian lobulus. Pankreas memiliki struktur serupa seperti kelenjar parotis. Khususnya pada hewan jenis rodentia, pankreas memiliki struktur seperti kumpulan sel yang berbentuk bola (spheroid) dengan sel-sel beta di tengah-tengahnya. Sedangkan sekeililing sel beta terdapat sel-sel alfa pankreas, dan juga terdapat sel delta pankreas yang tersebar dan mengelilingi antara sel beta dan sel alfa (Mashudi, 2011). Menurut Pearch (2000) letak pankreas tikus terdapat di mesoduodenum. Pankreas yang terdiri atas lobus kanan dan lobus kiri, lobus kanan memiliki luas sampai ke ligamentum duodenum, sedangkan lobus kiri memiliki luas sampai ke arah limfa .



Gambar 2. Morfologi pankreas tikus; (A) Foto, (B) Gambar morfologi (Huajun *et al*, 2018).

Fungsi pankreas secara umum ada dua, yaitu sebagai kelenjar eksokrin dan kelenjar endokrin. Pankreas yang memiliki fungsi sebagai kelenjar eksokrin hampir meliputi 99% volume pankreas, sedangkan pankreas yang memiliki fungsi sebagai kelenjar endokrin bagian kecil volume pankreas yang disebut dengan pankreas accini. Furan kelenjar pankreas sebagai kelenjar pankreas adalah untuk mensekresikan sebagian hormon pencernaan menuju duodenum. Fungsi tersebut diperankan oleh hampir seluruh bagian pankreas (Martini, 2008). Sedangkan fungsi pankreas sebagai kelenjar endokrin berhubungan dengan ekspresi beberapa hormon untuk menjaga tingkat nutrisi dalam darah dan pada penyimpanan seluler (Jo *et al.*, 2007). Fungsi pankreas sebagai kelenjar endokrin tersebut diperankan oleh pulau langrehans (Leslie., 2012).

Sel islet pankreas atau biasanya disebut dengan pulau langerhans secara umum terdiri atas 4 sel yang menyusunya. Sel yang menyusun pulau langerhan tersebut tersebut adalah; sel α , sel β , sel δ , dan Sel F (Mescher, 2012). Kompleks pulau langerhan tersebut secara keseluruhan berperan sebagai kelenjar endokrin pada pankreas. Secara fisiologis masing-masing sel tersebut memiliki fungsi sebagai berikut:

1. Sel α , merupakan bagian sel islet pankreas yang berperan dalam memproduksi glucagon. Glukagon tersebut memiliki fungsi untuk mengubah glukosa menjadi glikogen. Pada saat tubuh kelebihan glukosa maka glucagon yang akan mengubah glukosa menjadi glikogen kemudian disimpan dalam sel hati dan otot (Ganong, 2008).

2. Sel β , merupakan bagian sel islet pankreas yang berperan dalam memproduksi insulin. Insulin tersebut memiliki fungsi untuk regulasi glukosa dalam darah. Pada saat keadaan normal, rangsangan pada sel beta akan menyebakan insulin disintesis dan kemudian disekresikan ke dalam darah sesuai dengan kebutuhan tubuh untuk keperluan regulasi glukosa darah (Ganong, 2008).
3. Sel δ , merupakan bagian sel islet pankreas yang berperan dalam memproduksi hormon somastatin. Hormon somastatin merupakan hormon polipeptida yang berfungsi untuk mengendalikan sistem endokrin dan pengaruh terhadap transmisi sinyal syaraf dan perkembangan tubuh. Secara umum somastatin memiliki dua bentuk preproprotein dengan susunan 14 asam amino dan preproprotein dengan 28 asam amino (Costoff, 2008).
4. Sel F, merupakan bagian sel islet pankreas yang berperan dalam memproduksi hormon polipeptida pankreas. Hormon polipeptida pankreas merupakan yang berfungsi untuk mengendalikan sistem eksresi kelenjar endokrin dan eksokrin secara umum. Hormon ini juga berperan terhadap regulasi ekspresi hormon insulin pada sel beta pankreas (Costoff, 2008).

Kultur Sel Pankreas

Kultur sel merupakan suatu metode yang mengembangbiakan sel dalam suatu lingkungan yang terkontrol. Teknik kultur sel secara luas digunakan untuk memudahkan pengamatan sampel penelitian dalam tingkat seluler. Secara umum teknik kultur sel menggunakan dua macam sel, yaitu sel primer dan sel sel line (sel lestari). Sel primer merupakan sampel sel yang dikultur dan diisolasi dari jaringan ataupun organ secara langsung (Khumairoh & Puspitasari, 2016) (Ma'at, 2011). Sedangkan sel line merupakan sel yang dikultur dan diisolasi dari sel yang telah dikembangbiakan sebelumnya (Lee *et al.*, 2010) (Skelin & Rupnik, 2010).

Menurut Kaiser *et al* (2016) sel pankreas secara umum dikultur atau dikembangbiakan untuk mengetahui fisiologis dari sel tersebut. Umumnya penelitian mengenai kultur sel pankreas selalu menggunakan fetus atau janin untuk mendapatkan sel primer yang akan dikultur. Pemilihan fetus dilakukan sebab proses isolasi sel pankreas lebih mudah, dan kondisi sel pankreas belum terpengaruhi cemaran atau penyakit yang diderita hewan coba. Selain itu menurut (Sumbayak (2014) alasan pemilihan sel primer dari organisme fetus adalah sebagai berikut:

1. Sel fetus memiliki kemampuan poliferasi atau membelah secara terus menerus mengikuti siklus pembelahan sel mitosisnya,
2. Sel fetus memiliki kemampuan replikasi yang stabil dan cepat dan mempunyai kemampuan menyusun kembali jaringan asalnya,
3. Sel fetus belum banyak dicemari oleh bahan-bahan aktif maupun penyakit.

Menurut (Amoli *et al.*, 2005) menyatakan bahwa isolasi sel dari pankreas tidaklah mudah, sebab organ pankreas memiliki karakter yang sulit dihancurkan. Oleh karena itu, seringkali isolasi sel dari pankreas dilakukan dengan bantuan enzim kolagenase. Penggunaan enzim kolagenase dapat membantu menghancurkan kolagen yang terdapat pada pankreas. Namun, penggunaan kolagenase menurut Wolters *et al* (1995) akan dapat menyebabkan efek pada perkembangan sel pankreas, selain itu juga penggunaan kolagenase akan menyebabkan sel isolat yang didapatkan tidak murni dan konsentrasi sel isolat yang didapatkan lebih sedikit.

Kultur sel pankreas tikus menurut Prasetyaningtyas *et al* (2016) pada umumnya dilakukan pada media DMEM (*Dulbecco modified eagle medium*). Media DMEM umumnya juga ditambahi dengan beberapa nutrisi sel seperti FBA (Fetal bovine albumin) untuk menyediakan lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan sel. Selain itu, menurut Apte *et al* (1998) kultur sel pankreas biasanya diinkubasi pada suhu 37°C dengan konsentrasi CO₂ sebesar 5%, dan membutuhkan waktu inkubasi selama 5 hari.

Induksi Streptozotocin Sebagai Agen Penyebab Diabetes Melitus

Streptozotocin secara umum memiliki komposisi berupa glukosa [(glucopyranose, 2-deoxy-2-(3-methy-enitrosourido-D)] yang dihasilkan dari ekstrak *Streptomyces acromogenes* (Junod *et al.*, 1967) (Saini *et al*, 1996). Streptozotocin dilaporkan sering digunakan untuk membentuk kondisi diabetes miltius dalam skala laboratorium. Kemampuan streptozotocin secara klinis diketahui dapat memberikan kerusakan secara langsung kepada sel pankreas, terutama ke sel beta pankreas. Nahdi *et al* (2017) pada penelitiannya menyebutkan bahwa secara *in vitro* dosis steptozotocin sebesar 5mM dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel hingga 60%. Maka dengan dosis 5mM tersebut 5mM diketahui mampu membentuk gejala penyakit diabetes miltius secara *in vitro*.

Efek stres oksidatif akibat induksi streptozotocin pada sel beta pankreas menyebabkan superokksida yang tinggi kemudian mengaktifasi ekspresi gen *uncoupling protein-2* (UPC-2) pada mitokondria. Gen UPC-2 akan mempengaruhi kerja mitokondria dalam menghasilkan ATP/ADP (Merentek, 2006). Akibat adanya ekspresi gen UPC-2 maka ATP/ADP akan diproduksi lebih sedikit oleh mitokondria. Penuruan produksi ATP/ADP ini memicu pengaruh yang kompleks terhadap penurunan sekresi insulin, kerusakan serta penurunan proliferasi sel pankreas khusunya pada sel beta pankreas. (Merentek, 2006). Saini *et al* (1996) dan Lenzen (2008) menambahkan bahwa efek streptozotocin juga dapat mempengaruhi kadar NAD⁺ pada intraseluler. Menurunnya kadar NAD⁺ akan memicu kegagalan proses sintesis proinsulin pada sel pankreas.

Kegagalan sintesis insulin yang terjadi secara berkepanjangan sekresi insulin pada sel beta pankreas akan menurun, sehingga akan memunculkan penyakit defisiensi insulin atau yang sering dikenal dengan nama insulinopenia. Salah satu parameter yang menandakan timbulnya penyakit diabetes militus pada kultur sel pankreas adalah penurunan konfluenitas selnya. Pada penelitian ini terlihat bahwa hasil konfluenitas yang didapatkan sesuai dengan konsep permodelan penyakit diabetes militus secara *in vitro*.

Potensi Nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica* L.) Tersalut Kitosan Terhadap Konfluenitas, Viabilitas, dan Kadar Insulin Kultur Sel Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Streptozotocin

Penelitian penggunaan nanopartikel kitosan secara *in-vitro* mampu meningkatkan permisibilitas membran, sehingga senyawa atau obat yang dibawa dapat dengan mudah diserap oleh sel (Dodane *et al*, 1999). Namun, secara *in-vitro* penelitian tentang pengaruh nanopartikel pegagan (*Centella asiatica* L) tersalut kitosan terhadap konfluenitas, viabilitas, dan kadar insulin kultur sel pankreas tikus (*Rattus norvagicus*) yang diinduksi streptozotocin belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penetapan konsentrasi nanopartikel pegagan (*Centella asiatica* L) tersalut kitosan yang digunakan sebagai kandidat obat pada penelitian ini merujuk pada penelitian serupa. Penelitian serupa tentang pemanfaatan nanopartikel yaitu milik Ganugula *et al* (2017). Ganugula *et al* (2017) melaporkan bahwa konsentrasi nanopartikel herbal *curcumin* yang dapat digunakan secara optimal untuk

pengobatan diabetes militus pada sel pankreas Rin-m5f (5×10^4 /well) secara *in vitro* adalah sekitar 20 μM . Maka konsentrasi tersebutlah yang akan dijadikan acuan sebagai dosis obat diabetes militus pada penelitian ini.

Kemampuan yang dimiliki nanopartikel pegagan tersebut tidak terlepas dari senyawa yang terkandung dalamnya. Winarto & Surbakti (2003) pernah melaporkan bahwa pegagan (*Centella asiatica*. L) memiliki beberapa senyawa bioaktif seperti triterpenoid saponin, flavonoid, dan triterpenoid genin. Senyawa-senyawa tersebut secara luas memiliki banyak manfaat diantaranya adalah sebagai antioksidan dan memperbaiki kerusakan selular. Selain itu Liu et al (2018) dan Oyenih, Ahiante *et al* (2020) juga melaporkan bahwa senyawa triterpen pegagan (*Centella asiatica*. L) dapat mengerungai efek stres oksidatif yang diakibatkan oleh streptozotocin dengan cara menekan produksi superoksida pada mitokondria.

Kemampuan nanopartikel Pegagan (*Centela asiatica*. L) tersalut kitosan dalam meningkatkan konfluenitas kultur sel pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) pada penelitian ini dapat dikatakan sesuai sebagaimana konsep pengobatan yang dibutuhkan untuk penyakit diabetes militus. Pada dasarnya timbulnya penyakit diabetes militus secara klinis dipicu oleh adanya destruksi pada sel pankreas, terutama pada sel beta pankreas (Smeltzer & Bare, 2015). Berdasarkan kemampuan nanopartikel yang telah diuraikan maka sel pankreas dapat dipulihkan dan dikembalikan fungsi kerjanya.

Pemberian nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*. L) tersalut kitosan kepada kultur sel pankreas diketahui juga mampu memberikan pengaruh terhadap viabilitas kultur selnya. Diketahui berdasarkan laporan penelitian Fizur *et al* (2018), pegagan memiliki kemampuan sebagai promotor reseptor PPAR γ (*Peroxisome Poliferator Reseptor-Gamma*). Reseptor PPAR γ memiliki peran sebagai regulator fungsi mitokondria, meliputi metabolisme energi, proliferasi dan diferensiasi selular (Bermudez *et al.*, 2010; Setyawati, 2014). Sehingga dengan kemampuan tersebut, pegagan dapat dikatakan memiliki potensi tinggi untuk mengembalikan regenerasi serta fungsi sel pankreas. Regenerasi serta fungsi sel pankreas yang kembali normal tersebutlah yang kemudian menunjang kultur sel pankreas untuk hidup (*viable*)

Pegagan juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan proliferasi sel melalui ekspresi dan aktivasi protein GLUT4 (*glucose-transporter 4*). Protein

GLUT4 sendiri merupakan protein yang berperan penting dalam mengatur transportasi glukosa ekstraseluler menuju membran-membran sel (Alam & Gan, 2016). Glukosa yang dibawa oleh protein GLUT4 tersebut selanjutnya diproses untuk kepentingan metabolisme sel (Kurniasari *et al*, 2015). Semakin banyak GLUT4 yang terekspresi dan teraktivasi, maka metabolisme sel yang berjalan akan semakin optimal. Metabolisme sel yang optimal pada akhirnya akan memicu poliferasi dan pembelahan sel lebih cepat.

Poliferasi dan regenerasi fungsi sel pankreas yang meningkat secara fisiologis juga akan berdampak terhadap peningkatan sekresi insulin pada sel beta pankreas. Efek stres oksidatif yang ditimbulkan oleh diabetes militus juga akan berangsur berkurang seiring dengan kembalinya fungsi mitokondria dalam mengatur metabolisme dalam sel. Sehingga dengan semakin meningkatnya sekresi insulin pada sel beta pankreas, maka fungsi biologis insulin dalam mengkompensasi kadar glukosa akan kembali menjadi normal juga (Wang & Wang, 2017).

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa nanopartikel Pegagan (*Centella asiatica*. L) tersalut kitosan dosis 20 μM memiliki pengaruh meningkatkan konfluenitas, viabilitas, dan kadar insulin kultur sel pankreas tikus yang diinduksi streptozotocin (STZ) sebesar 5 mM. Dengan demikian, berdasarkan penelitian ini, nanopartikel pegagan tersalut kitosan berpotensi sangat baik untuk digunakan sebagai pengobatan herbal alternatif pada penyakit diabetes militus.

DAFTAR PUSTAKA

- Amoli, M. M., Moosavizadeh, R., & Larijani, B. (2005). Optimizing Conditions for Rat Pancreatic Islets Isolation Optimizing conditions for rat pancreatic islets isolation. *Cytotechnology*, 48(July), 75–78. <https://doi.org/10.1007/s10616-005-3586-5>
- Bermudez, V., Finol, F., Parra, N., Parra, M., Pe, A., Pen, L., Edin, F. (2010). PPAR- g Agonists and Their Role in Type 2 Diabetes Mellitus Management. *American Journal of Therapeutics* 17, 17, 274–283.
- Calapai, G. (2012). Assessment report on Centella asiatica (L .) Urban , herba. *EMA (Eropean Medicine Agency)*, 44(November 2010).
- Costoff, A. (2008). *Endocrinology: The Endocrine Pancreas*. Georgia: MedicalCollege.

- Daina, and Vincent Zoete. 2016. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem* 2016. DOI: 10.1002/cmdc.201600182.
- Dodane, V., Khan, M. A., & Merwin, J. R. (1999). Effect of chitosan on epithelial permeability and structure. *International Journal of Pharmaceutics*, 182, 21–32.
- Fizur, M., Meeran, N., Goyal, S. N., Suchal, K., Patil, C. R., & Ojha, S. K. (2018). Pharmacological Properties, Molecular Mechanisms and Pharmaceutical Development of Asiatic acid: A Pentacyclic Triterpenoid of Therapeutic Promise. *Frontiers in Pharmacology*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00892>
- Ganugula, R., Arora, M., Jaisamut, P., Wiwattanapatapee, R., Guo, S., Venkata, N., & Kumar, R. (2017). Nano-curcumin safely prevents streptozotocin-induced inflammation and apoptosis in pancreatic beta cells for effective management of Type 1 diabetes mellitus. *British Journal of Pharmacology*, 174(April 2017), 2074–2084. <https://doi.org/10.1111/bph.13816>
- Hashim, P., Sidek, H., Helan, M. H. M., Sabery, A., Palanisamy, U. D., & Ilham, M. (2011). Triterpene Composition and Bioactivities of Centella asiatica. *Molecules*, 16, 1310–1322. <https://doi.org/10.3390/molecules16021310>
- Huajun, Y., Chen, Y., Kong, H., He, Q., Sun, H., Bhugul, P. A., ... Zhou, M. (2018). The rat pancreatic body tail as a source of a novel extracellular matrix scaffold for endocrine pancreas bioengineering. *Journal of Biological Engineering*, 12, 1–15.
- Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S. V., & Tamura, H. (2010). Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials — A short review. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.074>
- Junod, A., Lambert, A. E., Orci, L., Pictet, R., Gonet, A. E., & Renold, A. E. (1967). Studies of the Diabetogenic Action of Streptozotocin. *Biol Med (Maywood)*, 126: 201. <https://doi.org/10.3181/00379727-126-32401>
- Kaiser, N., Corcost, A., Tur-Sinai, A., Ariav, Y., & Cerasi, E. (2016). Monolayer Culture of Adult Rat Pancreatic Islet on Extracellular Matrix: Long Term Maintenance of Differentiated B-Cell Function. *Endocrinology*, 123, 2. <https://doi.org/10.1007/s13300-018-0380-x>
- Khumairoh, I., & Puspitasari, I. M. (2016). Farmaka KULTUR SEL Farmaka. *Farmaka Suplemen*, 14, 98–110.
- Kumar, A., Solakhia, T. M., & Agrawal, S. (2012). Chitosan Nanoparticle - A Drug Delivery System. *IJPBA*, 3(4), 737–743.
- Lee, C. J., Wilson, L., Jordan, M. A., Nguyen, V., Tang, J., & Smiyun, G. (2010). of both Human Breast Cancer and Androgen-dependent Prostate Cancer Cells. *Phytotherapy Research*, 19(March 2009), 15–19. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51, 216–226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Ma'at, S. (2011). *Teknik dasar kultur sel*. Surabaya: UNAIR Press.
- Martini, F. H. (2008). *Anatomy and Physiology* (Seventh). America: Person Education Press. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0763-6>
- Mashudi, S. (2011). *Anatomi dan Fisiologi Dasar*. Jakarta: Salemba Medika.

- Merentek, E. (2006). Resistensi Insulin Pada Diabetes Melitus Tipe 2, (150), 38–41.
- Mescher, A. (2012). *Histologi dasar junqueira teks dan atlas* (11th ed.). Jakarta: EGC. <https://doi.org/10.5415/apallergy.2011.1.1.12>
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2006). Nanoparticles – A Review. *Tropicals Journal of Pharmaceutical Research*, 5(June), 561–573.
- Nahdi, A. M. T. Al, John, A., & Raza, H. (2017). Elucidation of Molecular Mechanisms of Streptozotocin-Induced Oxidative Stress , Apoptosis , and Mitochondrial Dysfunction in Rin-5F Pancreatic β -Cells. *Hindawi*, 2017, 15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2017/7054272>
- Pearch, E. . (2000). *Anatomi dan Fisiologis untuk Paramedis*. Jakarta: Gramedia.
- Prasetyaningtyas, W., Putra, D., Susana, F., Djuwita, I., & Kusdiantoro, M. (2016). Black Seed (Nigella sativa) Extract Induce in vitro Proliferation and Differentiation of Rat Pancreatic Bone Cells. *Jurnal Veteriner*, 17(15), 337–346. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.3.337>
- Prashanth, K. V. H., & Tharanathan, R. N. (2007). Chitin / chitosan : modifications and their unlimited application potential d an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 117–131. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.10.022>
- Rao, J. P., & Geckeler, K. E. (2011). Progress in Polymer Science Polymer nanoparticles : Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science*, 36(7), 887–913. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.01.001>
- Skelin, M., & Rupnik, M. (2010). Pancreatic Beta Cell Lines and their Applications in Diabetes Mellitus Research. *Altex*, 27(May), 105–113.
- Sumbayak, E. M. (2014). Regenerasi Epitel. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 15(6), 1–4. <https://doi.org/https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v15i39A.870>
- Shanmukha, Y., Saikishore, V., Srikanth, K., Satyanarayana, J., & Pradesh, A. (2012). Drug delivery systems using chitosan nanoparticles. *Am. J. PharmTech*, 2(December 2011), 2249–3387.
- Standl, E. (2007). The importance of b -cell management in type 2 diabetes. *Int J Clin Pract*, (June), 10–19. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01360.x>
- Smeltzer, S.C & Bare Brenda, B.G. 2015. *Buku Ajar Keperawatan Medika Bedah vol 3*. Jakarta: EGC.
- Sun, B., Wu, L., Wu, Y., Zhang, C., Qin, L., Hayashi, M., Liu, T. (2020). Therapeutic Potential of Centella asiatica and Its Triterpenes : A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 11(September), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.568032>
- Tiyaboonchai, W. (2003). Chitosan Nanoparticles : A Promising System for Drug Delivery. *Naresuan University Journal*, 11(3), 51–66. <https://doi.org/10.1.1.460.1550>
- Vauthier, C., Dubernet, C., Fattal, E., Pinto-alphandary, H., & Couvreur, P. (2003). Poly (alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(January 2003), 519–548.
- W.R, Winarto., & Surbakti, Ma. (2003). *Khasiat dan Manfaat Pegagan*. Jakarta: Agromedia.
- Wang, J., & Wang, H. (2017). Review Article Oxidative Stress in Pancreatic Beta Cell Regeneration. *Hindawi*, 2017, 9.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2017/1930261> Review
- Wilson, S., Cholan, S., Vishnu, U., Sannan, M., Jananiya, R., Vinodhini, S., Rajeswari, D. (2015). In vitro assessment of the efficacy of free-standing silver nanoparticles isolated from *Centella asiatica* against oxidative stress and its antidiabetic activity. *Der Pharmacia Lettre*, 7(12), 194–205. Retrieved from <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Wolters, G. H. J., Vos-schepenkeuter, G. H., Lin, H., & Schilfgaard, R. Van. (1995). Different Roles of Class I and Class II Clostridium Histolyticum Collagenase in Rat Pancreatic Islet Isolation. *Diabetes*, 44(February 1995).
- Zhu, W., & Zhang, Z. (2014). Preparation and characterization of catechin-grafted chitosan with antioxidant and antidiabetic potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.047>