

**Efek Antihipertensi dan Modulasi Gen eNOS iNOS dari Ekstrak Etanol
Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Kombinasinya dengan
Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) pada Model Hewan Hipertensi**

Laporan Tugas Akhir

**Nurlisa Amelia
11171105**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

ABSTRAK

Efek Antihipertensi dan Modulasi Gen eNOS iNOS Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Kombinasinya dengan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) pada Model Hewan Hipertensi

**Oleh :
Nurlisa Amelia
11171105**

Hipertensi merupakan faktor risiko terkuat pada hampir semua penyakit kardiovaskular. Pencegahan kejadian kardiovaskular merupakan fokus tambahan pada pengobatan hipertensi selain penurunan tekanan darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap tekanan darah, parameter EKG, kadar NO serum dan ekspresi gen eNOS iNOS pada hewan hipertensi. Metode penelitian dilakukan terhadap tikus jantan Wistar yang diberi induksi 20% fruktosa dalam minum dan 4% NaCl dalam pakan selama 14 hari, captopril 2,5 mg/kg, ekstrak pegagan dosis 50 & 100 mg/kg serta kombinasinya dengan kunyit dosis 50 mg/kg selama 14 hari. Parameter tekanan darah dan EKG diukur secara non-invasif. Kadar NO serum diukur dengan metode Griess. Ekspresi gen eNOS iNOS diukur dengan teknik PCR. Hasil menunjukkan Ekstrak pegagan dosis 50 & 100 mg/kg serta kombinasinya dengan kunyit 50 mg/kg dapat menurunkan tekanan sistolik, tekanan diastolik, MAP, menurunkan risiko kardiovaskular *heart rate*, kekakuan arteri (PWV), sudut QRS-T jantung, meningkatkan kadar NO serum dan ekspresi gen eNOS. Model ini tidak mempengaruhi ekspresi gen iNOS. Kesimpulannya kombinasi ekstrak pegagan dan kunyit 50 mg/kg merupakan dosis paling efektif, dengan dosis rendah dapat memiliki efek antihipertensi yang lebih baik dan juga memodulasi gen eNOS.

Kata Kunci : eNOS, iNOS, Antihipertensi, *Centella asiatica* (L.) Urban, *Curcuma longa* L.

ABSTRACT

Antihypertensive Effects and eNOS iNOS Gene Modulation of Ethanol Extract Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) and Combination with Tumeric (*Curcuma longa* L.) Rhizome in Animal Model of Hypertension

By:

Nurlisa Amelia

11171105

*Hypertension is the strongest risk factor for almost all cardiovascular diseases. Prevention of cardiovascular events is an additional focus in the treatment of hypertension in addition to lowering blood pressure. This study aims to determine the effect of pegagan extract (*Centella asiatica* (L.) Urban) and its combination with turmeric rhizome (*Curcuma longa* L.) on blood pressure, ECG parameters, serum NO levels and eNOS iNOS gene expression in hypertensive animals. The research method was carried out on male Wistar rats which were induced by 20% fructose in drinking and 4% NaCl in feed for 14 days, captopril 2.5 mg/kg, pegagan extract 50 & 100 mg/kg and its combination with turmeric extract 50 mg/kg for 14 days. Blood pressure parameters and ECG were measured non-invasively. Serum NO levels were measured by Griess method. Expression of the eNOS iNOS gene was measured by polymerase chain reaction (PCR). The results showed that pegagan extract 50 & 100 mg/kg and its combination with turmeric 50 mg/kg could reduce systolic pressure, diastolic pressure, MAP, reduce the risk of cardiovascular heart rate, arterial stiffness (PWV), heart QRST angle, increase serum NO levels and eNOS gene expression. This model does not affect the expression of the iNOS gene. In conclusion, the combination of pegagan extract and turmeric 50 mg/kg is more effective because at low doses it can have a good effect as an antihypertensive and modulate the eNOS gene.*

Keywords: eNOS, iNOS, Antihypertensive, *Centella asiatica* L. Urban, *Curcuma longa* L.

LEMBAR PENGESAHAN

Efek Antihipertensi dan Modulasi Gen eNOS iNOS dari Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Kombinasinya dengan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) pada Model Hewan Hipertensi

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Nurlisa Amelia
11171105**

Bandung, 17 Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. apt. Patonah, M.Si.)
NIDN. 0402087302

Pembimbing Serta,



(Soni Muhsinin, M.Si)
NIDN. 0402068407

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alam, segala puji bagi Allah SWT pencipta seluruh alam semesta, atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyusun laporan akhir penelitian yang berjudul **“Efek Antihipertensi dan Modulasi Gen eNOS iNOS dari Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Kombinasinya dengan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) pada Model Hewan Hipertensi”** sebagai salah satu syarat guna melengkapi program kuliah S1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan kelemahan. Usaha dan doa telah penulis tuangkan dalam penyusunan skripsi ini, sehingga mudah-mudahan dapat mengandung makna dan manfaat bagi semua, khususnya bagi penulis sendiri.

Penulis juga menyadari bahwa selama penyusunan skripsi ini tidaklah lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu tak hentinya do'a dan ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Kedua orang tua serta keluarga tercinta yang tak hentinya memberikan nasihat dan dukungan baik moril maupun materil bagi penulis dalam menuntut ilmu.
2. Ibu Dr. Apt. Patonah, M.Si selaku dosen pembimbing utama atas arahan, saran, ilmu dan motivasi bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Soni Muhsinin, M.Si selaku dosen pembimbing serta atas arahan, saran, ilmu dan motivasi bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Segenap dosen Universitas Bhakti Kencana atas segala ilmu dan bimbingannya selama perkuliahan.
5. Segenap laboran Farmasi Universitas Bhakti Kencana atas izin dan segala bantuannya sehingga penelitian ini dapat berlangsung.
6. Rekan-rekan tim farmakologi dan bioteknologi atas bantuan dan dukungannya dalam proses penelitian ini.
7. Serta berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu , yang telah banyak memberikan bantuan dan dukungan selama berlangsungnya penelitian terimakasih banyak atas doa dan semangatnya.

Semoga skripsi ini mengandung manfaat serta menambah ilmu pengetahuan, Aamiin Allahuma Aamiin.

Bandung, Juni 2021

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar belakang	1
I.2. Rumusan masalah	3
I.3. Tujuan dan manfaat penelitian	3
I.4. Hipotesis penelitian	4
I.5. Tempat dan waktu Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. Hipertensi	5
II.2. Hubungan Hipertensi dengan Cardiovascular <i>Disease</i> (CVD)	12
II.3. Regulasi <i>Nitric Oxide</i> pada Hipertensi	13
II.4. Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban)	15
II.5. Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.)	18
II.6. Elektrokardiografi	20
II.7. Polymerase Chain Reaction (PCR)	21
BAB III . METODOLOGI PENELITIAN	24
III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	24
III.2. Subjek Penelitian	24
III.3. Metode Pengumpulan Data	24
III.4. Analisis Data	25
BAB IV . PROSEDUR PENELITIAN	26
IV.1. Alat	26
IV.2. Bahan	26
IV.3. Karakterisasi Ekstrak	27
IV.4. Hewan Uji	29

IV.5. Penyiapan Bahan Uji Antihipertensi	30
IV.6. Pengujian Antihipertensi	30
IV.7. Pengukuran Tekanan Darah.....	31
IV.8. Pengukuran <i>Heart Rate</i> , PWV dan Sudut QRST	31
IV.9. Pengukuran Kadar NO serum.....	32
IV.10. Pengukuran Ekspresi Gen eNOS dan iNOS dengan <i>Semi Quantitative</i> PCR.....	33
IV.11. Analisis Data.....	37
BAB V . HASIL DAN PEMBAHASAN	38
V.1. Persetujuan Kode Etik Penelitian.....	38
V.2. Karakterisasi Ekstrak	38
V.3. Efek Antihipertensi Ekstrak	40
V.4. Pengamatan Bobot Tikus	52
V.5. Ekspresi Gen eNOS dan iNOS	53
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	57
VI.1. Kesimpulan.....	57
VI.2. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar II.1 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.)..... 15
Gambar II.2 Asiatikosida, Senyawa Identitas Pegagan..... 17
Gambar II.3 (a) Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) (b) Rimpang Kunyit..... 18
Gambar II.4. Kurkumin, Senyawa Identitas Kunyit (*Curcuma longa* L.) 20
Gambar II.5. Gelombang Elektrokardiogram (EKG)..... 21
Gambar III.1 Rancangan Penelitian..... 24
Gambar V.1 Hasil Pengamatan Kadar NO Serum Pada Hari ke-28 50
Gambar V.2 Hasil AUC Ekspresi Gen (a) eNOS Ginjal dan (b) iNOS Ginjal setelah 28 Hari54

DAFTAR TABEL

Tabel II.1. Klasifikasi hipertensi berdasarkan pengukuran tekanan darah.....	5
Tabel II.2 Faktor Risiko Hipertensi	7
Tabel II.3 Produk yang Dihasilkan Sel Endotel	14
Tabel IV.1 Pengelompokkan Hewan Uji.....	30
Tabel IV.2 Campuran Dnase	35
Tabel IV.3 Campuran primer sintesis cDNA	35
Tabel IV.4 Campuran Reverse Transcriptase.....	36
Tabel IV.5 PCR Mix.....	36
Tabel V.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Pegagan dan Kunyit	38
Tabel V.2 Karakterisasi Ekstrak.....	39
Tabel V.3 Hasil Pengamatan Tekanan Darah Sistolik Selama 28 Hari.....	41
Tabel V.4 Hasil Pengamatan Tekanan Darah Diastolik Selama 28 Hari	42
Tabel V.5 Hasil Pengamatan Mean Arterial Pressure (MAP) selama 28 Hari.....	43
Tabel V.6 Hasil Pengamatan Heart Rate Selama 18 Hari	46
Tabel V.7 Hasil Pengamatan Kekakuan Arteri Selama 28 Hari.....	47
Tabel V.8 Sudut Spasial QRST Jantung.....	48
Tabel V.9 Pengamatan Bobot Tikus.....	52
Tabel V.10 Urutan Primer Gen eNOS iNOS.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Etik Oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Padjadjaran	64
Lampiran 2. Perolehan Ekstrak dan Hasil Skrining Fitokimia.....	64
Lampiran 3. Karakterisasi Ekstrak	66
Lampiran 4. Pengujian Antihipertensi.....	67
Lampiran 5. Penetapan Kadar NO Serum	67
Lampiran 6. Ekspresi Gen eNOS iNOS dengan PCR	68
Lampiran 7. Perhitungan Bahan Uji	69
Lampiran 8. Analisis Statistik Uji One way ANOVA.....	70
Lampiran 9. Kartu Bimbingan.....	74
Lampiran 10. Surat Pernyataan	76
Lampiran 11. Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media online	77
Lampiran 12. Bukti Penggunaan Tanda Tangan Digital Dosen Pembimbing	78
Lampiran 13. Hasil Cek Plagiarisme	79

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
eNOS	<i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>
TDS	Tekanan Darah Sistolik
TDD	Tekanan Darah Diastolik
MAP	<i>Mean Arterial Pressure</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PWV	<i>Pulse Wave Velocity</i>
EKG	Elektrokardiogram
NO	<i>Nitric Oxide</i>
RAAS	<i>Renin-angiotensin-aldosterone System</i>
AT II	Angiotensin II
ACEi	<i>Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor</i>
ARBs	<i>Angiotensin Receptor Blockers</i>
CCB	<i>Calcium Channel Blocker</i>
CVD	<i>Cardiovascular Disease</i>

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar belakang

Hipertensi atau tekanan darah tinggi didefinisikan sebagai nilai tekanan darah sistolik \geq 140 mmHg dan/atau diastolik \geq 90 mmHg. Hipertensi merupakan salah satu faktor risiko terkuat untuk hampir semua penyakit kardiovaskular seperti penyakit koroner, hipertrofi ventrikel kiri, penyakit katup jantung, aritmia jantung termasuk fibrilasi atrium, stroke otak dan gagal ginjal (Kjeldsen, 2017). Hingga kini hipertensi tetap menjadi penyebab utama penyakit kardiovaskular yang dapat dicegah dan penyebab kematian secara global (Williams et al., 2018). Sekitar 1,13 miliar orang di dunia mengalami hipertensi. Sebanyak 17,5 juta orang di seluruh dunia meninggal karena penyakit kardiovaskular dan menyumbang 31% kematian di seluruh dunia. (WHO, 2019). Di Indonesia hipertensi memiliki prevalensi yang tinggi yaitu 25,8 % pada tahun 2013 dan meningkat menjadi 34,1 % pada tahun 2018 (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Hipertensi dapat menyebabkan perubahan struktural pembuluh darah dan menurunkan kesesuaian sistem arteri, mengurangi elastisitas dan meningkatkan kekakuan arteri. Perubahan ini akan meningkatkan beban kerja miokardium dan menyebabkan kerusakan organ serta hipertrofi ventrikel kiri (Cameron, Lang & Touyz, 2016). Oleh karena itu, pencegahan kejadian kardiovaskular harus menjadi fokus tambahan pada pengobatan hipertensi selain penurunan tekanan darah. Dari beberapa penanda kejadian kardiovaskular, salah satunya yaitu kekakuan arteri yang juga berperan penting dalam perkembangan aterosklerotik. Kekakuan arteri dapat menjadi target terapi baru untuk mencegah morbiditas dan kematian terkait kardiovaskular. (Hasimun, Sulaeman & Maharani, 2020). Saat ini, *Pulse Wave Velocity* (PWV) merupakan *gold standard* untuk menilai kekakuan arteri dan kesehatan pembuluh darah (Vamsi, Prkacin, Achappa, Kamath, & Kulkarni, 2020).

Parameter lainnya yang juga berperan sebagai penanda kejadian kardiovaskular adalah sudut spasial QRS-T. Sebuah studi menyatakan bahwa sudut spasial QRS-T merupakan prediktor kuat dari kegagalan jantung pada lansia dibandingkan dengan faktor kardiovaskular klasik dan indikator EKG lainnya, terlepas dari infark miokard yang sudah ada sebelumnya (Kardys et al., 2003). Sudut QRS-T yang lebar berkorelasi dengan aritmia yang fatal. Sudut spasial QRS-T juga ditemukan meningkat secara signifikan pada pasien hipertensi yang menyebabkan perubahan repolarisasi pada hipertensi sistemik (Aro et al., 2012). Berdasarkan penelitian Zakaria & Hasimun (2019) sudut spasial QRS-T dapat diukur secara non-invasif dengan *electrocardiogram* (EKG).

Perubahan pembuluh arteri dapat disebabkan oleh efek stres oksidatif, radikal bebas dan disfungsi endotel. Disfungsi endotel adalah tahap awal dalam pengembangan patologi vaskular. Endothelium normalnya dikendalikan oleh pelepasan *Nitric Oxide* (NO). NO yang dihasilkan oleh endotel bertanggung jawab atas pemeliharaan tonus pembuluh darah normal dengan dilatasi dinding pembuluh darah (Vamsi et al., 2020). Pada hipertensi terjadi ketidakseimbangan yaitu peningkatan produksi superoksida dan penurunan bioavailabilitas NO. Ketidakseimbangan ini mendorong vasokonstriksi dan berkontribusi pada respon inflamasi lokal, adhesi leukosit dan peningkatan kekakuan arteri (Cameron, Lang & Touyz, 2016). Sintesis NO pada endotel dikatalis oleh enzim *Endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS). NO juga dapat disintesis oleh bantuan *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS). iNOS mensintesis NO sebagai respon inflamasi dan rangsangan patologis, termasuk pada hipertensi (Li, Yon, Cai, Angeles, & Angeles, 2016).

Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Asiatikosida yang merupakan kandungan utama pegagan juga memiliki aktivitas hipertensi dengan memperbaiki disfungsi endotel (Wang et al. 2018). Penelitian sebelumnya menunjukkan kombinasi antara jus pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan jus kunyit (*Curcuma longa* L.) menghasilkan efek sinergis untuk menurunkan tekanan darah, meningkatkan pengeluaran urin (diuretik) dan penurunan kekakuan arteri pada model hewan hipertensi yang diinduksi fruktosa 25% dan makanan tinggi lemak (Hasimun, Mulyani, Sulaeman, & Embas Sara, 2019). Fruktosa telah digunakan pada berbagai penelitian untuk membuat model hewan hipertensi dan diketahui dapat meningkatkan tekanan darah serta kekakuan arteri (Hasimun et al., 2019; Hasimun, Zakaria, Susilawati, & Wardiono, 2017). Mengkombinasikan fruktosa dengan NaCl sesuai dengan gaya hidup konsumsi tinggi gula dan tinggi garam. Induksi dengan fruktosa dan NaCl juga diketahui dapat meningkatkan tekanan darah, meningkatkan kekakuan arteri, meningkatkan denyut jantung, meretensi natrium, mengganggu ketersediaan NO pada renal, dan penurunan ekspresi eNOS pada medula renal (Nishimoto et al., 2002; Gordish et al., 2017; Komnenov, Levanovich & Rossi, 2019; Chen et al., 2020).

Sejalan dengan peningkatan kasus hipertensi dan kematian terkait penyakit kardiovaskular maka pengobatan hipertensi yang efektif untuk menurunkan tekanan darah dan memperbaiki risiko kardiovaskular sangat dibutuhkan. Oleh karena itu, potensi antihipertensi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L.) perlu diteliti lebih lanjut. Selain penurunan tekanan darah, kedua ekstrak tersebut juga perlu diketahui efeknya terhadap modulasi gen eNOS dan iNOS sehingga dapat

memperbaiki kerusakan vaskular di tingkat molekuler dan selanjutnya menurunkan risiko kardiovaskular. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji efek antihipertensi dan modulasi gen eNOS dan iNOS dari ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L.) pada model hewan hipertensi.

I.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap tekanan darah, *heart rate*, PWV dan sudut spasial QRS-T jantung dan kadar NO serum pada model hewan hipertensi.
- b. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap modulasi gen eNOS dan iNOS pada model hewan hipertensi.

I.3. Tujuan dan manfaat penelitian

I.3.1. Tujuan penelitian

- a. Tujuan umum :

Tujuan penelitian ini untuk menguji efek antihipertensi dan modulasi gen eNOS dari ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan kunyit (*Curcuma longa* L.) pada model hewan hipertensi.

- b. Tujuan khusus :

1. Mengetahui pengaruh ekstrak pegagan dan kombinasinya dengan rimpang kunyit terhadap tekanan darah, *heart rate*, PWV dan sudut spasial QRS-T jantung dan kadar NO serum pada model hewan hipertensi.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak pegagan dan kombinasinya dengan ekstrak rimpang kunyit terhadap modulasi gen eNOS dan iNOS pada model hewan hipertensi.

I.3.2. Manfaat penelitian

- a. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya terkait dengan efek antihipertensi ekstrak pegagan dan kombinasinya dengan kunyit.

b. Manfaat praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait pemanfaatan pegagan dan kombinasinya dengan kunyit dalam pengobatan hipertensi dan pencegahan kejadian kardiovaskular.

I.4. Hipotesis penelitian

Ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan kunyit (*Curcuma longa* L.) diduga memiliki aktivitas antihipertensi dan modulasi terhadap gen eNOS dan iNOS.

I.5. Tempat dan waktu Penelitian

- a. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi fakultas farmasi Universitas Bhakti Kencana.
- b. Waktu penelitian dilaksanakan pada Februari hingga Juni 2021.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Hipertensi

II.1.1. Definisi dan Klasifikasi

Hipertensi dikenal juga sebagai tekanan darah tinggi, penyakit ini telah mempengaruhi jutaan orang (Kayce Bell, June Twiggs, & Bernie R. Olin, 2015). Sebagian besar pedoman utama menyatakan bahwa seseorang didiagnosis hipertensi ketika tekanan darah sistoliknyanya adalah ≥ 140 mmHg dan / atau tekanan darah diastoliknyanya adalah ≥ 90 mmHg setelah diulang pemeriksaan (Unger et al., 2020). Klasifikasi hipertensi berdasarkan pengukuran tekanan darah dapat dilihat pada tabel berikut (PERKI, 2015) :

Tabel II.1. Klasifikasi hipertensi berdasarkan pengukuran tekanan darah

Klasifikasi	Tekanan darah sistolik (mmHg)		Tekanan darah diastolik (mmHg)
Optimal	< 120	dan	< 80
Normal	120 – 129	dan/atau	80 – 84
Normal tinggi	130 – 139	dan/atau	84 – 89
Hipertensi derajat 1	140 – 159	dan/atau	90 – 99
Hipertensi derajat 2	160 – 179	dan/atau	100 – 109
Hipertensi derajat 3	≥ 180	dan/atau	≥ 110
Hipertensi sistolik terisolasi	≥ 140	dan	< 90

Kategori tekanan darah pada hipertensi dirancang untuk menyesuaikan pendekatan terapeutik dengan tekanan darah. Tekanan darah normal tinggi dimaksudkan untuk mengidentifikasi pasien yang membutuhkan intervensi gaya hidup dan pasien yang membutuhkan pengobatan farmakologis jika terdapat indikasi. Sedangkan hipertensi sistolik terisolasi didefinisikan sebagai peningkatan tekanan darah sistolik (≥ 140 mmHg) dan tekanan darah diastolik rendah (≤ 90 mmHg), dapat terjadi pada individu muda maupun orang tua. Sedangkan pasien dengan hipertensi yang dikonfirmasi harus menerima pengobatan farmakologis yang sesuai (Unger et al., 2020).

II.1.2. Epidemiologi

Hipertensi merupakan faktor risiko kuat terhadap penyakit jantung, otak, ginjal dan penyakit lainnya. Hipertensi juga merupakan penyebab utama kematian di dunia. Sekitar 1,13 miliar orang di dunia mengalami hipertensi (World Health Organization, 2019). Di Indonesia, hipertensi merupakan salah satu penyebab mortalitas dan morbiditas yang utama (PERKI, 2015). Prevalensi hipertensi di Indonesia sangat tinggi, yaitu 25,8 % pada tahun 2013 dan mengalami peningkatan menjadi 34,1 % pada tahun 2018. Sebanyak 69,5 % kasus terjadi pada usia di atas 75 tahun, dan lebih banyak terjadi pada wanita yaitu 36,9 % dibandingkan pada laki-laki yaitu 31,3 % (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

II.1.3. Etiologi

Sebagian besar pasien hipertensi penyebabnya tidak diketahui, hipertensi ini diklasifikasikan sebagai hipertensi primer atau esensial. Lebih dari 90 % pasien dengan tekanan darah tinggi merupakan hipertensi primer. Faktor genetik mungkin berperan penting pada hipertensi primer. Hipertensi primer tidak dapat disembuhkan, namun dapat dikontrol dengan modifikasi gaya hidup dan obat. Sementara itu, kurang dari 10% pasien memiliki penyebab spesifik pada tekanan darah tingginya, ini diklasifikasikan sebagai hipertensi sekunder. Hipertensi sekunder dapat disebabkan oleh kondisi medis atau pengobatan, sehingga hipertensi ini dapat diatasi dengan mengontrol kondisi medis atau menghentikan penggunaan obat penyebab. Hipertensi sekunder dapat disebabkan oleh gangguan ginjal kronis, penyakit renovaskular, tumor kelenjar adrenal, penyakit tiroid, gangguan pembuluh darah bawaan, penggunaan alkohol kronis, dan apnea tidur obstruktif. Selain itu, produk yang dapat menyebabkan hipertensi sekunder diantaranya obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID), pil KB, dekongestan (pseudoefedrin, fenilefrin), kokain, amfetamin, kortikosteroid, serta alkohol (Kayce Bell et al., 2015).

Pada hipertensi primer, faktor faktor dibawah ini secara akumulatif dapat mempengaruhi tekanan darah (Dipiro et al., 2015) :

- Kelainan fungsi sistem renin-angiotensin-aldosteron (RAAS).
- Gangguan sistem saraf pusat (SSP)
- Kelainan pada autoregulasi ginjal atau ekskresi natrium, cairan plasma, dan penyempitan arteriol.
- Kekurangan dalam sintesis zat vasodilatasi dalam lapisan endotel pembuluh darah (Prostasiklin, bradikinin, dan nitrat oksida) atau zat vasokonstriksi yang berlebihan (angiotensin II, endotelin I).

- Asupan natrium berlebih atau kekurangan kalsium dalam makanan.

II.1.4. Faktor Risiko

Beberapa faktor dapat meningkatkan risiko perkembangan hipertensi, faktor-faktor tersebut diantaranya (Kayce Bell et al., 2015) :

Tabel II.2 Faktor Risiko Hipertensi

Faktor yang dapat dikendalikan	Faktor yang tidak dapat dikendalikan
Kelebihan berat badan (obesitas)	Usia
Kurang aktivitas fisik	Ras
Penggunaan tembakau	Riwayat keluarga
Diet tidak sehat (tinggi asupan garam)	
Penggunaan alcohol	
Stress	
Sleep apnea	
Diabetes	

II.1.5. Patofisiologi

Terdapat dua faktor utama yang mengontrol tekanan darah dan berkontribusi dalam perkembangan hipertensi. Dua faktor utama tersebut meliputi masalah dalam mekanisme hormonal (hormon natriuretik dan sistem renin-angiotensin-aldosteron (RAAS)) atau gangguan elektrolit (natrium, klorida, dan kalium). Hormon natriuretik menyebabkan peningkatan konsentrasi natrium dalam sel sehingga meningkatkan tekanan darah. Sedangkan RAAS mengatur natrium, kalium dan volume darah sehingga mengatur tekanan darah di arteri. Dua hormon yang terlibat dalam sistem RAAS adalah hormone angiotensin II dan aldosteron. Angiotensin II menyebabkan penyempitan pembuluh darah dan meningkatkan pelepasan bahan kimia yang meningkatkan tekanan darah serta meningkatkan produksi aldosteron. Aldosterone menyebabkan retensi natrium dan air dalam darah, akibatnya volume darah menjadi lebih besar dan meningkatkan tekanan pada jantung serta meningkatkan tekanan darah (Kayce Bell et al., 2015).

Tekanan darah arteri adalah tekanan di pembuluh darah khususnya dinding pembuluh darah arteri, diukur dalam milimeter merkuri (mmHg). Terdapat dua nilai tekanan darah arteri, yaitu tekanan darah sistolik (TDS) dan tekanan darah diastolik (TDD). TDS adalah nilai puncak (tertinggi) yang dicapai saat jantung berkontraksi

sedangkan TDD adalah tekanan yang dicapai saat jantung sedang istirahat (tekanan terendah) dan ruang jantung diisi dengan darah (Kayce Bell et al., 2015). Tekanan arteri rata-rata (MAP) adalah tekanan rata-rata keseluruhan siklus kontraksi jantung. Selama siklus jantung, dua pertiga waktu dihabiskan pada diastol dan sepertiga waktu pada sistol. Oleh karena itu, MAP dihitung dengan rumus berikut (Dipiro et al., 2020):

$$\text{MAP} = \left(\text{TDS} \times \frac{1}{3} \right) + \left(\text{TDD} \times \frac{2}{3} \right)$$

Tekanan darah arteri secara hemodinamik dihasilkan oleh interaksi antara aliran darah dan retensi terhadap aliran darah, secara matematis didefinisikan sebagai *cardiac output* (CO) dan *total peripheral resistance* (TPR). Sehingga tekanan darah dapat ditentukan dengan persamaan berikut (Dipiro et al., 2020):

$$\text{TD} = \text{CO} \times \text{TPR}$$

Beberapa hal dapat menyebabkan peningkatan curah jantung/*cardiac output* diantaranya adalah peningkatan preload jantung atau peningkatan volume cairan akibat kelebihan asupan natrium atau retensi natrium di ginjal. Selain itu, CO juga dapat meningkat akibat penyempitan pembuluh vena yang disebabkan stimulasi berlebih dari sistem RAAS dan aktivitas sistem saraf simpatik yang berlebihan. Sedangkan beberapa hal yang dapat meningkatkan TPR diantaranya penyempitan pembuluh darah dan hipertrofi struktur vascular yang diakibatkan oleh stimulasi RAAS yang berlebihan, aktivitas saraf simpatis yang berlebihan, perubahan genetik pada membran sel, serta faktor turunan endotel (Dipiro et al., 2020).

II.1.6. Manifestasi Klinis

Hipertensi dikenal sebagai “silent killer” karena sebagian besar penderitanya tidak memiliki tanda atau gejala, dan banyak orang tidak mengetahui memilikinya. Sebagian kecil orang mengalami gejala seperti sakit kepala, muntah, pusing, dan mimisan. Gejala ini tidak terjadi sampai kondisi yang parah atau mengancam jiwa. Cara yang pasti untuk mengetahui seseorang menderita hipertensi adalah dengan pengukuran tekanan darah (Kayce Bell et al., 2015).

II.1.7. Terapi Non Farmakologi

Perawatan non farmakologi bagi pasien hipertensi dapat dilakukan dengan modifikasi gaya hidup. Modifikasi gaya hidup yang efektif diantaranya (Chisholm-Burns et al., 2016):

- a. Pembatasan asupan natrium
- b. Diet rendah lemak, peningkatan konsumsi sayur dan buah.
- c. Penurunan berat badan bagi individu yang kelebihan berat badan atau obesitas
- d. Aktivitas fisik rutin
- e. Penurunan konsumsi alkohol

II.1.8. Terapi Farmakologi

Beberapa agen antihipertensi digolongkan berdasarkan mekanisme kerjanya. Berikut adalah beberapa golongan obat antihipertensi :

a. Diuretik

Terdapat tiga jenis obat diuretik yaitu diuretik tiazid, diuretik loop, dan diuretik hemat kalium. Diuretik tiazid merupakan diuretik yang cukup kuat, mekanisme kerja obat ini adalah dengan menghambat reabsorpsi natrium pada tubulus distal. Diuretik ini bekerja dalam 1 sampai 2 jam setelah pemberian oral dan memiliki durasi kerja 12 sampai 24 jam (Lemos, 2018). Obat-obat yang termasuk diuretik tiazid adalah klortalidon, indapamide, hidroklorotiazid, dan metolazon. Diuretik tiazid memiliki efek samping diantaranya hipokalemia, ketidakseimbangan elektrolit, serta efek negatif terhadap glukosa dan lipid (Chisholm-Burns et al., 2016).

Diuretik loop dapat digunakan sebagai pengobatan antihipertensi untuk penderita hipertensi resisten atau pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal atau gagal jantung. Obat yang termasuk ke dalam diuretik loop adalah bumetanide, furosemid, dan torsemid. Obat ini juga dapat menimbulkan efek samping berupa hipokalemia dan ketidakseimbangan elektrolit. Sedangkan diuretik hemat kalium merupakan diuretik lemah. Diuretik ini menyebabkan retensi kalium, oleh karena itu suplemen kalium tidak boleh diberikan bersama diuretik hemat kalium. Pemberian bersama inhibitor ACE atau ARBs juga dapat menyebabkan hiperkalemia parah. Obat-obat yang termasuk diuretik hemat kalium adalah amilorid, triamteren, spironolakton, dan eplerenon (Lemos, 2018).

b. *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor (ACEi)* dan *Angiotensin Receptor Blockers (ARBs)*

Ginjal mensintesis renin yang merupakan protease yang mengkatalis produksi angiotensin I dari angiotensinogen. Kemudian angiotensin I (AT I) diubah menjadi angiotensin II (AT II) oleh *angiotensin converting enzyme (ACE)*. Angiotensin II menyebabkan vasokonstriksi melalui aksinya pada reseptor angiotensin. Angiotensin

II juga mempengaruhi kinetika norepinefrin dengan memfasilitasi pelepasannya dan mencegah pengambilannya kembali di terminal saraf simpatik. Penghambatan enzim ACE dapat terjadi di plasma maupun di endotelium pembuluh darah. Penghambatannya juga dapat membalikkan hipertrofi arteriol yang terjadi pada hipertensi dan mengurangi hipertrofi ventrikel kiri (Sear, 2018).

Inhibitor ACE dapat menurunkan konversi AT I menjadi AT II sehingga mengurangi efek vasokonstriktor, sekresi aldosterone, dan aktivasi simpatis. Sedangkan antagonis reseptor AT bekerja dengan memblok reseptor angiotensin. Baik ACEi maupun ARBs menyebabkan vasodilatasi arteri dengan membatasi efek angiotensin II pada otot polos pembuluh darah dan meminimalkan peningkatan tonus pembuluh darah simpatis. Keduanya juga meningkatkan tonus parasimpatis, mengurangi efek aldosterone pada tubulus distal, serta meningkatkan pengeluaran garam dan air. Berbeda dengan ACEi, ARBs mencegah efek vasokonstriktor AT II tanpa mempengaruhi aktivitas ACE, sehingga tidak mempengaruhi produksi kinin, oleh karena itu batuk bukan merupakan efek samping yang utama pada obat-obat ARBs (Sear, 2018). Obat-obat golongan ACEi diantaranya benazepril, captopril, enalapril, fosinopril dan lisinopril. Obat-obat ini memungkinkan efek samping seperti batuk, hiperkalemia, insufisiensi ginjal dan angioedema. Sedangkan obat-obat yang termasuk pada ARBs adalah candesartan, telmisartan, olmesartan, valsartan, aliskiren, losartan, irbesartan dan azilsartan. Efek samping yang mungkin terjadi yaitu hiperkalemia, penurunan fungsi ginjal, angioedema dan hipotensi ACEi dan ARBs merupakan obat yang termasuk lini pertama dalam penatalaksanaan hipertensi. (Chisholm-Burns et al., 2016).

c. *Calcium Channel Blocker (CCB)*

Pada pengobatan hipertensi, CCB memiliki efek utama sebagai vasodilator arteri dengan memblokir masuknya Ca^{2+} melalui *L-type voltage-gated* Ca^{2+} di sel otot polos pembuluh resisten. CCB juga bekerja dengan mengurangi peningkatan Ca^{2+} intraseluler sebagai respon terhadap depolarisasi membran dan Ca^{2+} sekunder dari intraseluler. Beberapa CCB juga mengurangi denyut jantung dan kontraktilitas miokard sehingga terjadi penurunan curah jantung dan tekanan darah. Terdapat 2 kelas penghambat saluran kalsium. Kelas dihidropiridin (amlodipin, felodipin, isradipin, nikardipin) bekerja terutama pada otot polos pembuluh resisten, sedangkan kelas nondihidropiridin (diltiazem dan verapamil) bekerja pada miokardium (Sear, 2018). Beberapa efek samping yang mungkin ditimbulkan golongan obat ini diantaranya

bradikardia, penyumbatan jantung dan konstipasi (nondihidropiridin) serta edema perifer, sakit kepala dan takikardia (dihidropiridin) (Sear, 2018).

d. β Bloker

Reseptor β terdiri dari 3 subtipe berbeda yaitu β_1 , β_2 , dan β_3 yang masing-masing memiliki distribusi jaringan yang berbeda. Reseptor β_1 terutama terletak di otot jantung. Ketika reseptor membentuk kompleks dengan ligan yang digabungkan dengan protein Gs, maka akan terjadi aktivasi adenyl cyclase untuk menghasilkan cAMP. cAMP mengaktifkan protein kinase A yang menyebabkan peningkatan aliran Ca^{2+} , sehingga terjadi kontraksi. Reseptor β_2 juga terdapat pada otot jantung, namun lebih melimpah pada bronkial dan otot polos pembuluh darah perifer. Efek dari aktivasi reseptor β_2 ini akan menyebabkan bronkodilatasi dan vasodilatasi. Sedangkan reseptor β_3 terdapat di jaringan adiposa dan otot jantung. Aktivasi β_3 mengarah pada penurunan keadaan inotropik miokardium melalui jalur protein Gi. Kelas obat pada antagonis reseptor β adrenergic terbagi menjadi dua yaitu agen selektif penghambat β_1 (acebutolol, atenolol, bisoprolol, celiprolol, esmolol dan xamoterol) dan agen non selektif penghambat β_1 dan β_2 (nadolol, nebivolol, propranolol dan timolol) (Sear, 2018).

e. Antagonis Adrenoreseptor α_1

Antagonis α_1 memblokir reseptor α_1 untuk mencegah peningkatan Ca^{2+} sehingga menyebabkan relaksasi otot polos di arteriol dan pembuluh vena. Terdapat 2 jenis antagonis α_1 yaitu antagonis α_1 selektif (doxazosin, terazosin, prazosin, dan indoramin) serta antagonis α_1 non selektif (phentolamine dan phenoxybenzamine) (Sear, 2018). Beberapa efek samping yang mungkin timbul dari obat ini diantaranya kehilangan kesadaran (pingsan), pusing, palpitasi dan hipotensi ortostatik (Chisholm-Burns et al., 2016).

f. Agonis reseptor α_2

Terdapat 3 kelas utama agonis α_2 yaitu (1) feniletilat (α -metil DOPA dan guanabenz), (2) imidazolin (klonidin, dexmedetomidine, mivazerol), dan (3) oxaloazepine. α -Methyl DOPA diubah dalam neuron noradrenergik menjadi α -metil norepinefrin, yang merupakan agonis α_2 kuat dan merangsang reseptor α_2 postsinaptik batang otak untuk menurunkan tonus simpatis dan resistensi vaskular sistemik. Clonidine bertindak sebagai agonis α_2 presinaptik pada reseptor di batang otak sehingga menyebabkan penurunan aliran simpatis. Dexmedetomidine memiliki

selektivitas dan spesifisitas yang lebih besar terhadap α_2 dibandingkan klonidin (Chisholm-Burns et al., 2016).

g. Agen sentral

Kebanyakan antihipertensi yang bekerja secara sentral tidak lagi digunakan secara luas. Contoh obat yang termasuk golongan ini yaitu reserpin, obat ini bekerja untuk mengurangi simpanan ketekolamin di saraf baik secara sentral maupun perifer di neuron postganglionik. Mekanisme kerjanya mengarah pada peningkatan pemecahan norepinefrin dan pengurangan konversi dopamin menjadi norepinefrin. Bethanidine, guanethidine dan debrisoquin bekerja selektif menghambat pelepasan norepinefrin dari terminal saraf simpatis perifer (Sear, 2018).

II.2. Hubungan Hipertensi dengan Cardiovascular Disease (CVD)

Manajemen tekanan darah dapat mengurangi kejadian kardiovaskular. Dalam uji klinis telah terbukti terjadinya penurunan angka kematian dengan adanya penurunan tekanan darah. Penurunan tekanan darah juga secara signifikan menurunkan penyakit serebrovaskular sebesar 35-40%, infark miokard 20-25% dan gagal jantung lebih dari 50%. Hipertensi diduga menyebabkan penyakit kardiovaskular melalui beberapa mekanisme. Hipertensi mempercepat aterosclerosis dan menyebabkan perubahan degeneratif pada dinding pembuluh darah seperti penebalan dan proliferasi sel otot polos pembuluh darah. Hal ini dapat menyebabkan komplikasi serius seperti perdarahan serebrovaskular dan diseksi aorta. Endotel memodulasi pertumbuhan otot polos pembuluh darah, sehingga disfungsi endotel yang terjadi pada hipertensi dan CVD aterosklerotik dapat menyebabkan penebalan dinding dan pengurangan diameter luminal. Kondisi ini dapat mengubah elastisitas pembuluh darah dan perubahan kemampuannya untuk mengakomodasi perubahan tekanan darah. Hipertensi juga diperkirakan dapat menyebabkan stres oksidatif pada dinding arteri. Hal ini dapat mengaktifkan respon inflamasi yang jika terjadi bersamaan dengan hiperlipidemia maka akan terjadi pembentukan ateroma (Perumareddi, 2019).

Tekanan darah sistolik mewakili jumlah darah (stroke volume) yang dipompa dari jantung, kecepatan dan elastisitas aorta. Peningkatan TDS (afterload) dapat menyebabkan ventrikel kiri bekerja lebih keras karena harus meningkatkan pompa jantung saat mengeluarkan darah. Saat afterload meningkat, dinding ventrikel kiri menjadi lebih besar dan lebih tebal (hipertrofi). Hipertrofi ventrikel kiri merupakan faktor risiko untuk gagal jantung kongestif, disritmia, penyakit arteri koroner dan kematian mendadak. Tekanan darah tinggi dapat

menyebabkan berbagai kondisi patologis yang mengarah pada berbagai CVD. Oleh karena itu, penting untuk mencegah penyebab yang mendasari hipertensi (Perumareddi, 2019).

Sebelumnya, pedoman hipertensi difokuskan pada nilai tekanan darah untuk menentukan kebutuhan dan jenis perawatan. Namun saat ini telah dikembangkan rekomendasi pencegahan penyakit jantung koroner dengan perhitungan total risiko kardiovaskular. Hal ini didasarkan pada mayoritas penambahan risiko kardiovaskular pada pasien hipertensi. Tekanan darah telah menunjukkan hubungan dengan beberapa kejadian kardiovaskular seperti stroke, infark miokard, kematian mendadak, gagal jantung, penyakit arteri perifer dan penyakit ginjal stadium akhir (Kjeldsen, 2017). Oleh karena itu, perhitungan total risiko kardiovaskular (yaitu kemungkinan seseorang untuk mengembangkan kejadian kardiovaskular selama periode tertentu) merupakan proses penting dalam pengelompokan risiko untuk pasien hipertensi. Menurut pedoman Eropa, penilaian risiko kardiovaskular dapat dihitung dengan *Systematic COronary Risk Evaluation* (SCORE). Sistem ini memperkirakan risiko peristiwa aterosklerotik pada 10 tahun pertama, kaitannya dengan usia, jenis kelamin, kebiasaan merokok, kadar kolesterol total dan tekanan darah sistolik (Williams et al., 2018).

II.3. Regulasi Nitric Oxide pada Hipertensi

Terdapat 3 lapisan pada dinding arteri yaitu tunika adventitia, tunika media dan tunika intima. Lapisan paling luar dari dinding arteri adalah tunika adventitia, di dalamnya terdapat ujung saraf, jaringan adiposa perivaskular dan elemen lain seperti fibroblast dan kolagen. Lapisan kedua adalah tunika media, terdapat otot polos pembuluh darah. Lapisan tunika intima merupakan lapisan terdalam dinding pembuluh darah arteri, terdiri dari sel-sel endotel. Endothelium dianggap sebagai organ endokrin yang menunjukkan fungsi parakrin dengan memproduksi dan mengeluarkan molekul vasoaktif, senyawa inflamasi, vasoprotektif, angiogenik, trombotik dan antitrombotik (Tabel II.3). Endotel yang sehat memiliki beberapa peran perlindungan terhadap pembuluh darah yaitu promosi vasodilatasi, efek antioksidan dan antiinflamasi, penghambatan adhesi dan migrasi leukosit, serta menghambat proliferasi dan migrasi sel otot polos. Disfungsi endotel menggambarkan ketidakseimbangan faktor relaksasi dan konstriktor yang dihasilkan endothelium. Faktor utama pada disfungsi endotel adalah berkurangnya ketersediaan NO, penurunan respon otot polos pembuluh darah terhadap vasodilator dan peningkatan sensitivitas terhadap vasokonstriktor, atau peningkatan zat vasokonstriktor (Konukoglu & Uzun, 2016).

Tabel II.3 Produk yang Dihasilkan Sel Endotel

Fungsi		Molekul
Regulasi tonisitas pembuluh darah	Vasodilatasi	Nitrit oksida, prostasiklin, <i>endothelium-derived hyperpolarizing factors</i> (EDHF), dan adenosin.
	Vasokonstriksi	Endotelin-1, Angiotensin-II, Tpenururomboksan A2, <i>Reactive oxygen species</i> (ROS).
Menyeimbangkan fluiditas darah dan trombosis	Koagulasi	Kofaktor heparin 2, faktor V, protein S, protein C, thrombomodulin, <i>tissue factor</i> (TF) , dan faktor von Willebrand.
	Fibrinolisis	Aktivator plasminogen jaringan, prostaglandin, inhibitor activator plasminogen tipe 1, urokinase.
Regulasi proses inflamasi dan imunologis pembuluh darah	Sitokin	Interleukin-1, interleukin-6, interleukin-8, <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i> (MCP-1).
	Molekul adhesi sel	<i>Transforming growth factor</i> (TGF), <i>Tumor necrosis factor</i> (TNF), <i>Vascular cell adhesion protein 1</i> (VCAM-1), <i>Intercellular adhesion molecule 1</i> (ICAM-1), selektin.
	Faktor pertumbuhan	<i>Basic fibroblast growth factor</i> (FGF), <i>Insulin like growth factor</i> (IGF), <i>Platelet derived growth factor</i> (PDGF), <i>Transforming growth factor</i> (TGF).

(Konukoglu & Uzun, 2016)

Sel endotel membentuk NO dari asam amino L-arginin dengan bantuan enzim NO sintase yang disebut *endothelial NO synthase* (eNOS) dengan produk samping berupa l-sitruilin. Sintesis NO distimulasi oleh agonis reseptor-dependen (asetilkolin dan bradikinin), agonis nonreseptor-dependen (kalsium ionofor) serta oleh aliran darah. NO yang terbentuk akan

berdifusi melewati membran sel dan berperan sebagai mediator parakrin yang kuat, namun NO juga dapat bereaksi dengan superoksida membentuk anion peroksinitrit sehingga menjadi inaktif (Jr & Garcia-cardena, 2016). NO mengaktifkan siklase guanylyl terlarut dalam sel otot polos pembuluh darah yang berfungsi mengkonversi GTP menjadi cGMP sehingga terjadi vasodilatasi. Regulasi pelepasan NO oleh sel endotel dapat meningkat dengan adanya estrogen, aktivitas olahraga dan faktor makanan. Penurunan kadar NO dapat disebabkan oleh stress oksidatif, merokok, polusi, LDL teroksidasi, penuaan serta perjalanan penyakit pembuluh darah misalnya diabetes dan hipertensi (Vanhoutte, Shimokawa, Feletou, & Tang, 2017). NO adalah vasodilator endogen yang menyebabkan vasodilatasi ginjal, menyebabkan diuresis dan natriuresis dan mengakibatkan tekanan darah berkurang. Beberapa studi juga menyebutkan bahwa kekurangan NO dapat berkontribusi menyebabkan tekanan darah tinggi (Sear, 2018).

NO memainkan peran penting pada dalam neurotransmisi, fungsi vaskular, pertahanan tubuh dan regulasi imun. Terdapat 3 jenis isoform *Nitric Oxide Synthase* (NOS) yaitu *Neuronal Nitric Oxide Synthase* (nNOS), *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan *Endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS). Ketiganya berfungsi mengkatalis reaksi oksigen molekuler dengan substrat L-arginin untuk menghasilkan L-citrulline dan NO. nNOS diekspresikan di saraf pusat dan perifer, NO yang dihasilkan oleh nNOS berfungsi sebagai neurotransmitter. Sedangkan ekspresi iNOS meningkat oleh adanya sitokin inflamasi. Sejumlah besar NO yang diproduksi oleh iNOS menginduksi apoptosis sebagai mekanisme pertahanan tubuh dan juga berkontribusi pada patogenesis penyakit kronis. eNOS diekspresikan secara konstitutif dalam sel endotel vaskular. Enzim NOS membutuhkan kofaktor untuk memproduksi NO, termasuk H4B, adenine nikotinamida dinukleotida fosfat (NADPH), flavin adenine dinucleotide (FAD) dan flavin mononukleotida (FMN) (Li et al., 2016).

II.4. Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

II.4.1. Klasifikasi dan Morfologi Tanaman



Gambar II.1 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Sumber : (Dokumentasi Pribadi)

Klasifikasi tanaman (Plantamor, 2021) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Apiales
Famili	: Apiaceae
Genus	: Centella
Spesies	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) diketahui berasal dari daerah tropis Asia. Secara morfologi pegagan memiliki lima petiol atau tangkai, pada setiap petiol terdapat daun. Daun pegagan berwarna hijau tua, memiliki permukaan atas yang halus dan memiliki rambut-rambut berwarna putih pada bagian bawah permukaan daunnya yang merupakan modifikasi jaringan epidermis (trikoma daun). Daun memiliki tangkai yang panjang (10-15 cm). Bentuk ujung daun membulat, tepi daun bergerigi, pangkal daun tumpul, susunan tulang daun menjari, helaian daun berbentuk oval serta daging daun yang berupa perkamen atau perkamenteus (Susetyarini, Latifa, Wahyono, & Nurrohman, 2020).

Pegagan memiliki tangkai dengan tekstur berair atau tidak berkayu, berwarna kemerahan pada bagian pangkal dan berwarna hijau pada bagian dekat helai daun. Pegagan termasuk pada terna menahun yang tidak memiliki batang, namun memiliki rimpang pendek serta stolon-stolon dengan panjang 10-80 cm yang merayap. Pegagan memiliki sistem perakaran tunggang, yaitu akar lembaga yang tumbuh menjadi akar pokok dan bercabang. Pegagan memiliki bunga yang berwarna putih atau merah muda. Bunga ini tersusun dalam karangan seperti payung, bunga tunggal atau 3-5 secara bersamaan muncul pada ketiak daun (Susetyarini et al., 2020)

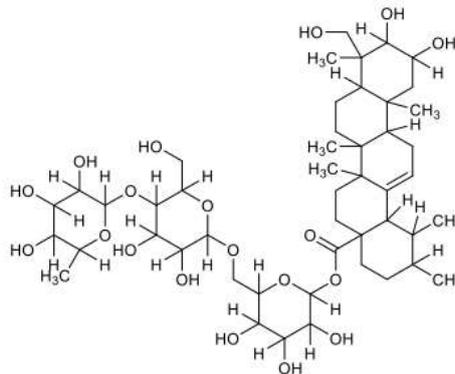
II.4.2. Nama Daerah

Tanaman pegagan memiliki nama lokal yang berbeda disetiap daerah diantaranya : pegagan (Jakarta dan Aceh), antanan (Jawa Barat), kaki kuda (Sumatera), tikusan (Madura), taiduh (Bali), kori-kori (Halmahera), gagan-gagan atau panigowang (Jawa), pegago (Minangkabau), dogauke atau sandanan atau gogauke (Papua), kalotidi manora (Maluku, dan bebile (Lombok). Pegagan juga memiliki nama lain di beberapa Negara

diantaranya : takip-kohot (Filipina), brahma butu (India), Indian hydrocotyle (India), India penny wort (Inggris), gotu kola (Sri Lanka), ji xue cao (Tiongkok), bevilaque atau hydrocote d'Asie atau cotyiole asitique (Perancis) (Sutardi, 2017).

II.4.3. Kandungan Kimia

Pegagan telah diketahui memiliki berbagai kandungan senyawa aktif. Beberapa golongan senyawa yang terdapat pada pegagan meliputi triterpenoid, triterpenoid genin, minyak atsiri, flavonoid serta bahan lainnya. Kandungan penting pada pegagan yaitu triterpenoid dan saponin yang dapat berupa asiatikosida, sentelosida, madekosida dan asam asiatik. Senyawa triterpenoid merupakan senyawa paling penting. Kandungan lainnya yaitu tankunisida, isotankunisida, madekasosida, asam brahmik, asam madasiatik, meso-inositol, sentelosa dan karotenoid. Kalsium, magnesium, fosfor, seng, tembaga, betakaroten, vitamin B1, B2, B3 dan Vitamin C juga ditemukan pada pegagan (Sutardi, 2017). Asiatikosida merupakan senyawa identitas pada pegagan, kadar asiatikosida pada herba pegagan tidak kurang dari 0.07 % (Kemenkes RI, 2017).



Gambar II.2 Asiatikosida, Senyawa Identitas Pegagan

Sumber : (Kemenkes RI, 2017)

II.4.4. Kegunaan tanaman

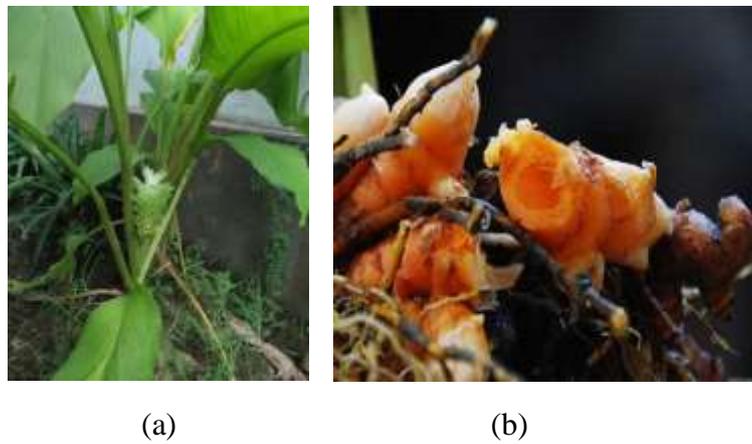
Ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban dalam sebuah studi dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiemetic, aktivitas sitotoksik dan antimikroba (Shohel Hossain, 2018). Selain itu, herba pegagan juga memiliki aktivitas antidiabetes, antikanker, antibakteri, antijamur, antiinflamasi, antidepresan, antioksidan, neuroprotektif, hepatoprotektif, dan meningkatkan fungsi kognitif (Prakash, Jaiswal, & Srivastava, 2017).

Kandungan utama herba pegagan yaitu asam asiatik dan asiatikosida dilaporkan memiliki aktivitas antihipertensi yang mengarah pada proteksi disfungsi endotel. Asam asiatik dilaporkan dapat menurunkan tekanan darah sistolik, diastolik dan tekanan arteri

secara signifikan. Penurunan aktivitas ACE dan kadar angiotensin II pada serum juga berkontribusi dalam aktivitas antihipertensi herba pegagan (Bunbupha *et al.*, 2015; Manesai *et al.*, 2017). Penelitian lain menyebutkan bahwa asiatikosida yang juga merupakan kandungan herba pegagan mampu meningkatkan fosforilasi eNOS, kadar NO, dan cGMP. Hal ini dapat menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah dan menurunkan tekanan darah. Berdasarkan penelitian tersebut asiatikosidakeme juga mampu menurunkan endotelin-1 yang merupakan vasokonstriktor penting yang dihasilkan sel endotel (Wang *et al.*, 2018).

II.5. Kunyit (*Curcuma longa* L.)

II.5.1. Klasifikasi dan Morfologi Tanaman



Gambar II.3 (a) Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) (b) Rimpang Kunyit

Sumber : (Plantamor, 2021)

Klasifikasi tanaman (Plantamor, 2021) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Curcuma</i>
Spesies	: <i>Curcuma longa</i> L.

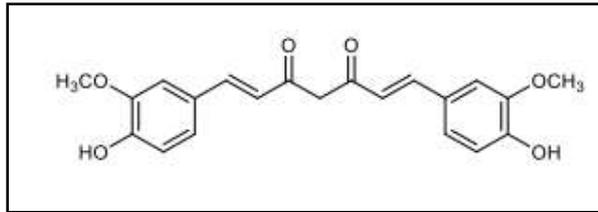
Kunyit merupakan tanaman dengan tinggi mencapai 1 m dan berumpun dengan 10-14 anakan. Pelepah-pelepah daun merupakan batang semu pada tanaman kunyit. Kunyit memiliki daun berwarna hijau, berukuran besar, lebar, bertulang menyirip, tulang-tulang cabang pada daun terletak sejajar. Daun kunyit lebih kurang terdiri dari 10 helai, tidak berbulu, memiliki panjang hingga 35 cm dan lebar hingga 14 cm. Kunyit memiliki inflorescens bunga berwarna merah yang keluar dari sela pelepah daun. Bunga kunyit merupakan bunga tunggal yang berwarna putih pucat atau kuning dan berwarna putih pada pangkalnya. Rimpang kunyit berwarna kuning dan merupakan ciri utama kunyit asli yang membedakannya dengan temu-temuan lain. Rimpang kunyit terdiri dari rimpang induk (empu) yang memiliki daging tebal dan berbentuk kerucut serta rimpang anakan (entik) yang berbentuk lebih panjang. Kunyit memiliki rasa sedikit pahit dan pedas serta aroma khas (Evizal, 2013).

11.5.2. Nama Daerah

Kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan tanaman yang berasal dari India dan daerah tropis Asia bagian tenggara. Di Indonesia, kunyit memiliki nama lain diantaranya koneng, kunir, konyet, kunir, kunir bentis, temu kuning, temo koneng, guraci. Di beberapa Negara, kunyit juga disebut dengan chiang-huang (China), turmeric (Inggris), glbwurzel (Jerman), halada (India), kamin (Thailand), kumin (Arab), tumerico (Spanyol) dan soucet des indes (Prancis) (Badan POM RI, 2007).

11.5.3. Kandungan Kimia

Rimpang kunyit memiliki kandungan yang bermanfaat bagi kesehatan, kandungan tersebut diantaranya berupa kurkumin, minyak atsiri, resin, desmetoksikurkumin, oleoresin, dan bidesmetoksikurkumin, damar, gom, lemak, protein, kalsium, fosfor dan besi. Minyak atsiri pada rimpang kunyit berupa tumerol, tumerol, α atlanton, β -kariofilen, linalol dan 1,8 sineol. A-phellandrene (1%), sabinene (0.6%), cineol (1%), borneol (0.5%), zingiberene (25%) dan sesquiterpene (53%) juga ditemukan pada hasil destilasi uap dari rimpang kunyit. Kunyit memiliki senyawa aktif yang juga merupakan senyawa identitas berupa kurkumin (diferuloylmethane) (3-4%). Kurkumin terdiri dari 3 sub jenis yaitu kurkumin I (94%), kurkumin II (6%) dan kurkumin III (0,3%) (Yuan Shan & Iskandar, 2018).



Gambar II.4. Kurkumin, Senyawa Identitas Kunyit (*Curcuma longa* L.)

Sumber : (Kemenkes RI, 2017)

II.5.4. Kegunaan tanaman

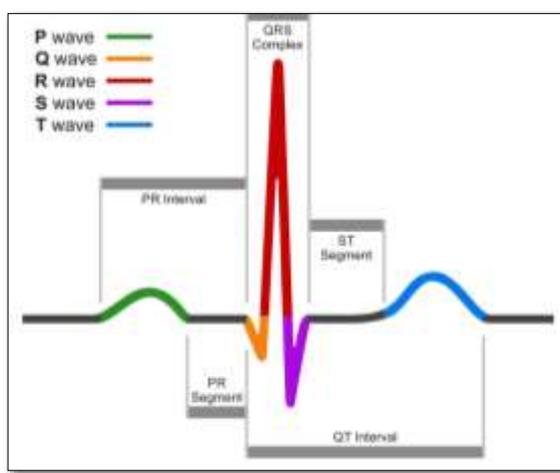
Kunyit memiliki kandungan kimia yang berkhasiat sebagai obat. Kurkumin sebagai kandungan utama kunyit dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi dengan penghambatan terhadap molekul inflamasi seperti fosfolipase, lipooxygenase, COX-2, leukotrien, tromboksan, prostaglandin, oksida nitrat, kolagenase, elastase, hyaluronidase, MCP-1, interferon-inducible protein, faktor nekrosis tumor, dan interleukin-12. Kurkumin bertindak sebagai antioksidan kuat, antibakteri, antivirus, antifungi serta antimalaria. Kurkumin juga memiliki efek protektif terhadap tukak lambung yang diinduksi oleh histamin. Kunyit memiliki penghambatan terhadap karsinogenesis pada kanker mulut dan tumor usus (Yuan Shan & Iskandar, 2018). Studi lainnya juga menyebutkan bahwa rimpang kunyit memiliki aktivitas antikanker, antioksidan, antivirus, antimikroba, antiinflamasi, antidiabetes, antihiperkolesterol, dan antihipertensi (Lim, 2016). Rimpang kunyit juga menunjukkan aktivitas antihipertensi pada beberapa penelitian. Ekstrak rimpang kunyit dapat menurunkan tekanan darah sistolik, menghambat aktivitas ACE dan arginase, serta meningkatkan kadar NO dalam serum dan korteks ginjal tikus yang diinduksi L-NAME (Akinyemi et al., 2015).

II.6. Elektrokardiografi

Elektrokardiogram merupakan rekaman grafik aktivitas listrik yang dihasilkan jantung. Elektrokardiograf merupakan instrumen yang digunakan untuk merekam aktivitas listrik yang dihasilkan berbagai bagian pada jantung seperti sistem konduksi, atrium dan ventrikel. EKG dapat membantu menunjukkan kelainan dan membantu menegakkan diagnosis pada penyakit kardiovaskular yang selanjutnya memungkinkan pendekatan terapeutik (Chodankar, Ohn, & D'Souza, 2018).

Jantung terdiri dari empat bilik yaitu dua atrium dan dua ventrikel. Jantung mengalami relaksasi dan kontraksi dalam sistem oksigenasi dan deoksigenasi, peristiwa mekanis ini diatur oleh impuls listrik yang dihasilkan di SA node dan ditransmisikan dengan jaringan konduksi jantung. SA node menghasilkan impuls secara teratur yang kemudian melintasi sepanjang AV

node, bundle His, bundle cabang kanan dan kiri dan serabut purkinje. Saat impuls melintasi kedua atrium, hampir 100 juta sel atrium berkontraksi secara bersamaan dalam durasi sepertiga detik sebagai hasil dari depolarisasi miokardium atrium. Impuls yang sama melintasi AV node dan terjadi penundaan dalam waktu yang singkat sebelum ke bundle His, hal ini memungkinkan atrium memompa darah sepenuhnya ke ventrikel serta menjaga sinkronisasi dan kecepatan pengosongan atrium dan pengisian ventrikel. Saat impuls bergerak ke ventrikel, 400 juta sel ventrikel mengalami depolarisasi secara bersamaan dan akibatnya terjadi kontraksi ventrikel. Setiap impuls SA node dalam satu kali detak jantung secara elektrik ini melibatkan depolarisasi atrium, depolarisasi ventrikel dan repolarisasi keduanya, sedangkan secara mekanis ini melibatkan sistol atrium, sistol ventrikel dan diastol keduanya (Chodankar et al., 2018).



Gambar II.5. Gelombang Elektrokardiogram (EKG)

Sumber : (EKG.MD, n.d.)

Gelombang EKG terdiri dari gelombang P, QRS dan gelombang T seperti pada Gambar 2.5. Gelombang P menunjukkan terjadinya depolarisasi pada atrium. Gelombang QRS menunjukkan terjadinya repolarisasi atrium dan depolarisasi ventrikel pada waktu yang hampir bersamaan. Jarak waktu dari P ke Q merupakan waktu penundaan di dalam fiber-fiber di dekat AV node. Sedangkan gelombang T terjadi karena repolarisasi ventrikel (Manurung & Ginting, 2015).

II.7. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik yang dilakukan secara in vitro untuk sintesis dan amplifikasi DNA. Pada tahun 1985, Karry Mullis mengembangkan teknik ini. DNA dapat diamplifikasi hingga jutaan kali dalam beberapa jam menggunakan teknik PCR. Proses perbanyakan DNA dengan teknik PCR memerlukan beberapa komponen diantaranya : template DNA, primer (suatu oligonukleotida pendek yang memiliki urutan

nukleotida yang komplementer dengan DNA templat), dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates), buffer PCR, kofaktor magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim polimerase DNA (Handoyo & Rudiretna, 2001).

PCR dapat dilakukan dengan menggunakan DNA templat dari berbagai jaringan dan organisme seperti darah, kulit, rambut, air liur dan mikroba. PCR merupakan pengujian yang sensitif, hanya sejumlah kecil DNA yang dibutuhkan untuk menghasilkan salinan yang cukup untuk dianalisis menggunakan metode konvensional. DNA polimerase merupakan enzim yang menghubungkan nukleotida, nukleotida yang ditemukan pada DNA yaitu adenin, timin, sitosin dan guanine (A,C,T,G). Primer adalah fragmen DNA dengan urutan tertentu yang melengkapi DNA target yang akan dideteksi dan diamplifikasi. Dalam proses reaksi ini, primer menentukan persisnya produk DNA (Garibyan & Avashia, 2013).

Komponen-komponen yang disebutkan di atas kemudian dicampur dalam tabung reaksi atau pelat *96-well* dan kemudian ditempatkan pada alat PCR dan terjadi amplifikasi DNA siklus berulang. Pada dasarnya alat PCR merupakan *thermal cycler* yang dapat menahan dan menurunkan suhu dengan tepat. Larutan reaksi pertama-tama dipanaskan di atas titik leleh dua untai DNA dari DNA target, langkah ini dapat memisahkan untaian DNA, proses ini disebut denaturasi. Kemudian suhu diturunkan untuk memungkinkan primer spesifik mengikat segmen DNA target, sebuah proses yang disebut hibridisasi atau *annealing*. *Annealing* hanya dapat terjadi jika antara DNA primer dapat melengkapi DNA target secara berurutan. Suhu kemudian dinaikkan kembali, dengan ini DNA polimerase dapat memperpanjang primer dengan menambahkan nukleotida ke untai DNA yang sedang berkembang, proses ini disebut *extension*. Setiap pengulangan ketiga langkah ini, jumlah molekul DNA yang disalin menjadi dua kali lipat (Garibyan & Avashia, 2013).

Produk hasil PCR dapat divisualisasikan dengan dua metode utama yaitu : 1) pewarnaan produk DNA yang diperkuat oleh bahan kimia pewarna seperti ethidium bromide yang saling berselang dengan dua untai dupleks, 2) memberi label primer PCR atau nukleotida dengan pewarna fluoresen (fluorofor) sebelum proses amplifikasi PCR. Metode yang paling banyak digunakan untuk menganalisa produk PCR adalah elektroforesis gel agarosa yang memisahkan produk DNA berdasarkan keberadaan dan ukuran. Elektroforesis gel agarosa adalah metode paling mudah untuk memvisualisasikan dan menganalisis produk PCR. PCR yang hanya digunakan untuk mendeteksi ada atau tidaknya produk DNA tertentu disebut dengan PCR kualitatif. PCR kualitatif adalah teknik yang baik untuk digunakan saat PCR dilakukan untuk tujuan kloning atau untuk mengidentifikasi patogen. Sedangkan PCR kuantitatif memberikan

informasi lebih dari sekadar deteksi DNA, namun juga menunjukkan berapa banyak DNA atau gen spesifik terdapat dalam sampel (Garibyan & Avashia, 2013).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana pada bulan Februari-Juni tahun 2021.

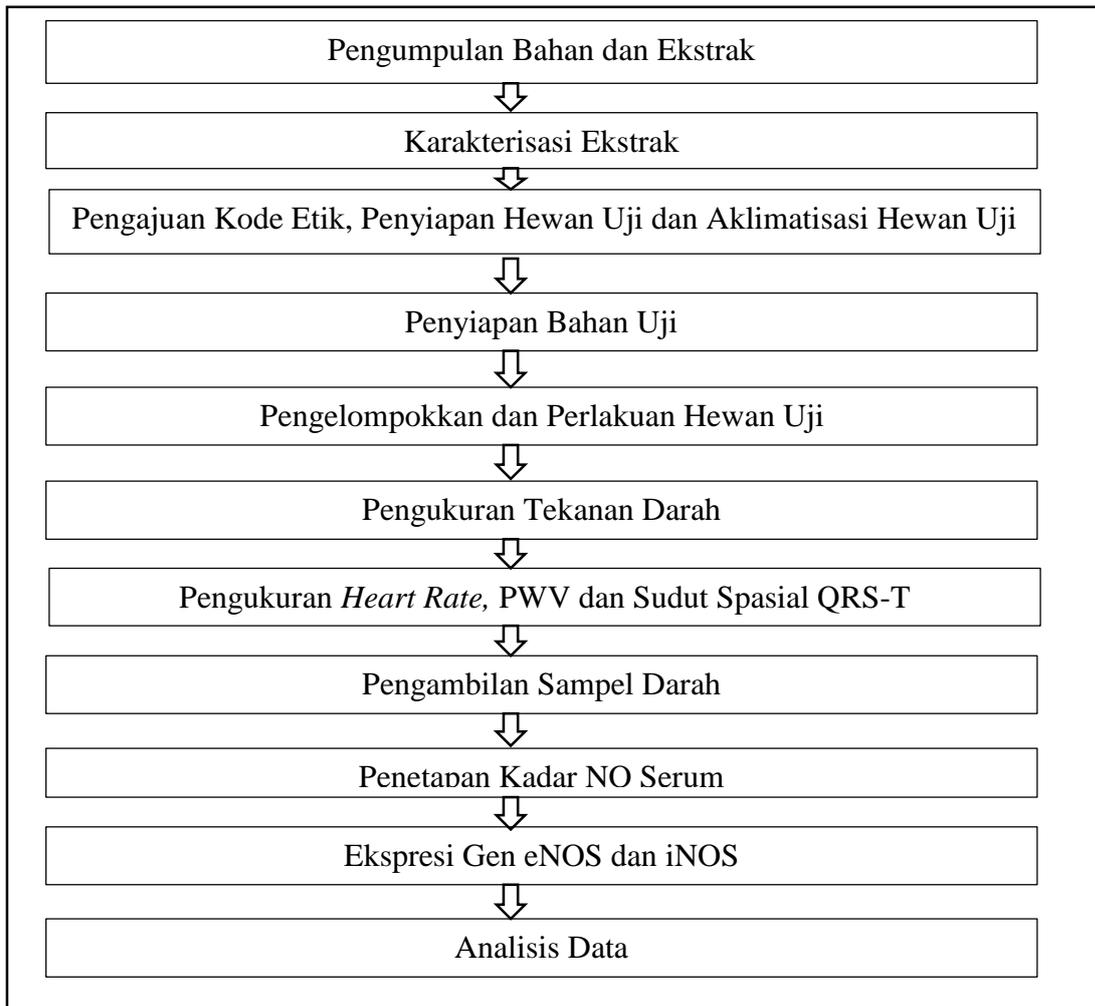
III.2. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diambil secara acak (random) dengan kriteria usia 2-3 bulan, berat 200-300 gram, kondisi fisik sehat dan ampak aktif selama adaptasi. Besar sampel untuk setiap kelompok uji adalah 3 ekor tikus. Untuk memperkecil nilai simpangan deviasi akibat variasi biologis dan kemungkinan kematian tikus, maka ditambahkan menjadi 5 ekor tikus setiap kelompok dengan penggunaan data akhir 3 ekor tikus.

III.3. Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data pada penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen secara *in vivo* dan *ex vivo*. Eksperimen ditujukan untuk menguji pengaruh ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan kombinasinya dengan rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) pada model hewan hipertensi. Tikus diinduksi hipertensi dengan fruktosa 20% dalam air minum dan NaCl 4% dalam makanan untuk menstimulasi terjadinya peningkatan tekanan darah, kekakuan arteri dan modulasi terhadap gen eNOS dan iNOS. Induksi dilakukan selama 14 hari kemudian diberikan pengobatan dengan ekstrak pegagan dosis tunggal (50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB) dan kombinasi pegagan dengan ekstrak kunyit dosis 50 mg/kg BB.

Parameter uji pada penelitian ini meliputi tekanan darah sistolik (TDS), tekanan darah diastolik (TDD), *Mean Arterial Pressure* (MAP) diukur secara non invasif dengan instrumen CODA ® *Kent Scientific Corporation*. Selain itu, parameter lainnya untuk melihat risiko kardiovaskular berupa kekakuan arteri (*Pulse Wave Velocity* (PWV)), *heart rate* dan sudut spasial QRS-T diukur dengan alat elektrokardiograf yang dilengkapi sensor *Photoplethysmogram* (PPG). Kadar *Nitric Oxide* (NO) serum diukur untuk melihat bioavailabilitas NO dalam serum tikus. Pengambilan sampel darah tikus dilakukan dengan metode retro-orbital. Penetapan kadar NO dilakukan dengan metode Griess menggunakan instrumen spektrofotometer UV-VIS. Parameter tersebut diukur pada hari ke-28. Pada akhir pengujian dilakukan pengukuran ekspresi gen eNOS dan iNOS pada aorta dan ginjal tikus dengan metode semi kuantitatif PCR. Tahapan penelitian ditunjukkan pada Gambar III.1.



Gambar III.1 Rancangan Penelitian

III.4. Analisis Data

Data dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dengan metode *One Way ANOVA* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.