

**Pengaruh Pemberian Sediaan Granul Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan
(*Centella asiatica*) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Ekspresi
Gen ACE, iNOS dan eNOS Pada Tikus Hipertensi**

Laporan Tugas Akhir

**Zulfy Choirunnisa
11171163**



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

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Sediaan Granul Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Ekspresi Gen ACE, iNOS dan eNOS Pada Tikus Hipertensi

**Oleh :
Zulfy Choirunnisa
11171163**

Latar belakang dan tujuan: Hipertensi merupakan salah satu faktor risiko penyakit kardiovaskular. Prevalensi hiperensi didunia sekitar 15-20% yang diperkirakan akan terus meningkat. Kombinasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) banyak dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi salah satunya sebagai antihipertensi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian granul kombinasi ekstrak daun pegagan dan rimpang kunyit terhadap tekanan darah, kekakuan arteri, denyut jantung, sudut spasial QRS-T dan kadar NO serta terhadap ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS pada model hewan hipertensi yang diinduksi L-NAME. Metode: Penelitian ini dilakukan pada model hewan hipertensi tikus wistar jantan sebanyak 25 ekor dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok normal, kelompok induksi (L-NAME 40 mg/kg), kelompok pembanding (captopril 2,5 mg/kg), kelompok suplemen dan kelompok uji granul (kombinasi ekstrak daun pegagan dan rimpang kunyit) selama 28 hari. Uji aktivitas antihipertensi granul kombinasi ekstrak daun pegagan dan rimpang kunyit dilakukan secara in vivo untuk pengukuran parameter non invasif dan in vitro untuk mengetahui kadar NO pada serum darah tikus dan modulasi ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS. Sediaan granul dibuat dengan metode granulasi basah. Hasil: Granul kombinasi ekstrak daun pegagan dan rimpang kunyit menunjukkan penurunan tekanan darah, denyut jantung, sudut spasial QRS-T dan meningkatkan elastisitas pembuluh darah, meningkatkan kadar NO dan mempengaruhi ekspresi gen ACE, iNOS dan eNOS. Kesimpulan: sediaan granul kombinasi ekstrak daun pegagan dan rimpang kunyit berpotensi sebagai antihipertensi.

Kata Kunci: Hipertensi, *Centella asiatica*, *Curcuma longa*, Ekspresi Gen, Granul

ABSTRACT

The Effect of Giving Granules Combination of Gotu Kola Leaf Extract (*Centella asiatica*) and Turmeric Rhizome (*Curcuma longa*) on ACE, iNOS and eNOS Gene Expression in Hypertensive Rats

By:
Zulfy Choirunnisa
11171163

Background and objectives: Hypertension is a risk factor for cardiovascular disease. The prevalence of hypertension in the world is around 15-20% which is expected to continue to increase. Gotu kola leaf extract (*Centella asiatica*) and turmeric rhizome (*Curcuma longa*) are reported to have many pharmacological activities, one of which is antihypertensive. This study aims to determine the effect of the granule combination of gotu kola leaf extract and turmeric rhizome on blood pressure, arterial stiffness, heart rate, QRS-T spatial angle and NO levels as well as on the expression of ACE, iNOS, and eNOS genes. in an animal model of L-NAME-induced hypertension. Methods: This study was conducted on 25 male wistar rat hypertension animal models divided randomly into 5 groups consisting of normal group, induction group (L-NAME 40 mg/kg), comparison group (captopril 2.5 mg/kg), supplement group and granule test group (combination of gotu kola leaf extract and turmeric rhizome) for 28 days. Antihypertensive activity test of granule combination of gotu kola leaf extract and turmeric rhizome was carried out in vivo for non-invasive parameter measurements and in vitro to determine NO levels in rat blood serum and modulation of ACE, iNOS, and eNOS gene expression. Granules were prepared by wet granulation method. Results: Granules combination of gotu kola leaf extract and turmeric rhizome showed a decrease in blood pressure, heart rate, QRS-T spatial angle and increased blood vessel elasticity, increased NO levels and affected the expression of ACE, iNOS and eNOS genes. Conclusion: The granule preparation of a combination of gotu kola leaf extract and turmeric rhizome has the potential as an antihypertensive.

Keywords: *Hypertension, Centella asiatica, Curcuma longa, Gene Expression, Granule*

LEMBAR PENGESAHAN

**Pengaruh Pemberian Sediaan Granul Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan
(*Centella asiatica*) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Ekspresi Gen
ACE, iNOS dan eNOS Pada Tikus Hipertensi**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Zulfy Choirunnisa
11171163**

Bandung, Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. apt. Yani Mulyani, M.Si)

NIDN. 0421117803

Pembimbing Serta,



(Dr. apt. Patonah, M.Si)

NIDN. 0402087302

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur bagi Allah SWT karena atas rahmat dan ridho-Nya penulis mampu menyelesaikan Tugas Akhir ini. Tidak lupa shalawat dan salam mudah-mudahan terlimpah curah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarganya, sahabatnya yang telah menjadi suri tauladan yang baik bagi umatnya.

Berkat kekuatan, karunia, dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian Tugas Akhir ini. Setiap proses dalam menyelesaikan tugas akhir ini terdapat banyak partisipasi, nasihat, petunjuk dan bimbingan dari banyak pihak. Maka dari itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang setulus-tulusnya kepada:

1. Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas limpahan karunia, rezeki, kesehatan kepada saya sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan. Shalawat, salam yang terjunjung tinggi kepada Nabi Muhammad saw, kepada keluarganya, kepada sahabat-sahabatnya, kepada tabi'in, tabi'atnya, serta kepada semua umatnya hingga akhir zaman.
2. Diri sendiri yang senantiasa mampu berjuang, bertahan disegala situasi serta mampu melewati berbagai rintangan dari awal hingga akhirnya terselesaikan tugas akhir ini.
3. Kedua orang tua ayahanda Sutardjo dan ibunda Nuzul Laela, dan adik Nasya Zahrotul Fatimah, keluarga besar, serta sanak saudara banyak memberikan do'a, dan dukungan untuk penulis hingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan.
4. Bapak Dr. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt selaku Rektor Universitas Bhakti Kencana
5. Ibu Dr. Apt. Yani Mulyani, M.Si. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dr. Apt. Patonah, M.Si. selaku dosen pembimbing serta, yang banyak membantu dalam kelancaran penelitian ini dengan memberikan arahan, masukan, bimbingan, ilmu maupun saran dan motivasi kepada penulis selama pelaksanaan riset.
6. Bapak Soni Muhsinin, M.Si yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam melakukan penelitian terhadap ekspresi gen menggunakan PCR.
7. Bapak Ivan Andriansyah., M.Pd sebagai dosen wali
8. Segenap dosen Universitas Bhakti Kencana atas segala ilmu dan bimbingannya selama perkuliahan.
9. Hajar Sukmawati, Tanti Sundari, Fitriani Choerunnisa, Nida Rohmawati, Hapipah Nurjamilah dan teman Farmakologi yang selalu membantu dan mendukung ketika penulisan Tugas Akhir.
10. Teman-teman Fisabilillah Via, Tia, Wafa, Husnul, Nursifa, Camelia, Mirna, Chresna, Rama, Ryan, Fauzi, Angga, Fachrudin, yang selalu menjadi pendengar yang baik, dan *support system* selamat 4 tahun ini perkuliahan.

11. Semua kawan seperjuangan Fakultas Farmasi angkatan 2017, terutama keluarga besar kelas FA4, sahabat terdekat Nur Aini Saffanah, serta semua pihak yang sudah membantu setiap pelaksanaan penelitian tugas akhir ini.

Penulis menyadari pada Tugas Akhir ini masih banyak kekurangannya, semoga laporan penelitian Tugas Akhir ini dapat memberikan pelajaran, pengetahuan, dan bermanfaat bagi penulis sendiri dan bagi semua yang membaca.

Bandung, Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.2 Rumusan masalah	3
I.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
I.3.1 Tujuan	3
I.3.2 Manfaat penelitian	4
I.4 Hipotesis Penelitian	4
I.5 Tempat dan waktu Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Hipertensi	5
II.1.1 Definisi Hipertensi	5
II.1.2 Etiologi Hipertensi	5
II.1.3 Patofisiologi Hipertensi	5
II.1.4 Klasifikasi Hipertensi	7
II.1.5 Terapi Pengobatan Hipertensi	8
II.1.5.1 Terapi Non Farmakologi	8
II.1.5.2 Terapi Farmakologi	8
II.2 Ekspresi Gen	10
II.2.1 Gen <i>Angiotensin Converting Enzyme</i> (ACE)	10
II.3 Biosintesis Nitric Oxide (NO)	10
II.3.1 Gen <i>Neuronal Nitrit Oxide Synthase</i> (nNos)	11
II.3.2 Gen <i>Inducible Nitrit Oxide Synthase</i> (iNOS)	11
II.3.3 Gen <i>Endothelial Nitrit Oxide Synthase</i> (eNOS)	11
II.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)	11
II.4.1 Komponen PCR	12
II.5 Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	12
II.5.1 Morfologi Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	12

II.5.2	Klasifikasi Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	13
II.5.3	Khasiat Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	13
II.5.4	Kandungan senyawa dan Aktivitas Farmakologi Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	13
II.6	Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	14
II.6.1	Morfologi Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	14
II.6.2	Klasifikasi Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	15
II.6.3	Khasiat Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	15
II.6.4	Kandungan senyawa dan Aktivitas Farmakologi Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	16
II.7	Granul	16
II.7.1	Komposisi Sediaan Granul	16
II.7.2	Metode Pembuatan Granul	18
II.7.2.1	Granulasi Kering	18
II.7.2.2	Granulasi Basah	18
BAB III.	METODOLOGI PENELITIAN	19
BAB IV.	PROSEDUR PENELITIAN	21
IV.1	Alat dan Bahan	21
IV.1.1	Alat	21
IV.1.2	Bahan	21
IV.2	Pembuatan Sediaan Granul	21
IV.2.1	Formula Sediaan Granul	21
IV.2.2	Prosedur Pembuatan Granul	22
IV.3	Pengujian Studi In vivo Antihipertensi	22
IV.3.1	Penyiapan hewan uji	22
IV.3.2	Aklimatisasi hewan uji	22
IV.3.3	Penyiapan Induksi	22
IV.3.4	Parameter Antihipertensi	23
IV.3.5	Pengujian Studi In vivo	23
IV.3.6	Pengukuran Tekanan Darah	24
IV.3.7	Pengukuran Kekakuan Arteri dan Pengukuran Sudut Spasial	24
IV.4	Pengujian Studi In vitro	25
IV.4.1	Pengukuran Kadar Nitrit Oksida	25
IV.4.1.1	Pembuatan Larutan Pereaksi Griess	25
IV.4.1.2	Pembuatan Larutan Baku Natrium Nitrit (NaNO ₂)	25
IV.4.1.3	Pembuatan Seri Konsentrasi Natrium Nitrit (NaNO ₂)	25
IV.4.1.4	Pembuatan Kurva Baku	25
IV.4.1.5	Penyiapan Serum Darah Tikus	25

IV.4.1.6 Penentuan Kadar NO Serum	25
IV.4.2 Penentuan Ekspresi Gen	26
IV.4.2.1 Desain Primer	26
IV.4.2.2 Sampel	27
IV.4.2.3 Isolasi Sampel Ribonucleic Acid (RNA).....	27
IV.4.2.4 Sintesis cDNA	27
IV.4.2.5 Amplifikasi cDNA dengan PCR Gel Base.....	28
IV.4.2.6 Karakteristik PCR dengan Elektroforesis.....	28
IV.4.2.7 Semi Kuantitatif dengan ImageJ	29
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
V.1 Pengujian Aktivitas Antihipertensi	30
V.1.1 Pengukuran Tekanan Darah Sistolik	30
V.1.2 Pengukuran Tekanan Darah Diastolik	32
V.1.3 Pengukuran <i>Mean Arterial Pressure</i> (MAP)	33
V.1.4 Pengukuran Kekakuan Arteri	35
V.1.5 Pengukuran Denyut Jantung	37
V.1.6 Pengukuran Sudut Spasial QRS-T	39
V.2 Pengukuran Kadar NO dalam serum	40
V.3 Ekspresi Gen.....	43
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	48
VI.1 Simpulan.....	48
VI.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	57

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2.1 Sistem renin-angiotensin-aldosteron 6

Gambar 2.2 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) 13

Gambar 2.3 Tanaman dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*)..... 15

Gambar 4.1 Skema Uji Antihipertensi 23

Gambar 5.1 Kurva Kalibrasi Larutan Baku Nitrit 41

Gambar 5.2 Pita Hasil Elektroforesis 44

Gambar 5.3 AUC Ekspresi Gen ACE, iNOS, dan eNOS..... 46

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Klasifikasi Hipertensi menurut (DiPiro dkk., 2020).....	7
Tabel II.2 Klasifikasi Hipertensi menurut Klasifikasi menurut European Society of Hypertension.....	7
Tabel II.3 Perubahan Pola Hidup Hipertensi.....	8
Tabel II.4 Obat Antihipertensi.....	8
Tabel IV.1 Rancangan Formula Granul ekstrak daun pegagan dan rimpang kunyit 20 g	21
Tabel IV.2 Pengelompokan Hewan Uji.....	22
Tabel IV.3 Spesifikasi Primer untuk Reverse Transcriptase PCR	26
Tabel V.1 Hasil Pengukuran Tekanan Darah Sistolik.....	31
Tabel V.2 Hasil Pengukuran Tekanan Darah Diastolik	32
Tabel V.3 Hasil Pengukuran Mean Arterial Pressure	34
Tabel V.4 Hasil Pengukuran Kekakuan Arteri.....	36
Tabel V.5 Hasil Pengukuran Denyut Jantung	37
Tabel V.6 Hasil Pengukuran Sudut QRS-T Spasial	39
Tabel V.7 Hasil pengukuran kadar NO dalam serum.....	42
Tabel V.8 AUC Ekspresi Gen	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Format Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	57
Lampiran 2 Format Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media on line	58
Lampiran 3 Surat Kode Etik Hewan.....	59
Lampiran 4 Perhitungan Pembuatan Sediaan.....	60
Lampiran 5 Kandang dan Perlakuan Hewan	61
Lampiran 6 Hasil Pembuatan Sediaan.....	62
Lampiran 7 Pengujian Antihipertensi.....	63
Lampiran 8 Pengukuran Nitrit Oksida.....	64
Lampiran 9 Pengukuran Ekspresi Gen	65

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
ACE	<i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
ADC	<i>Analog to Digital Converter</i>
AUC	<i>Area Under Curve</i>
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
cDNA	<i>complementary Deoxyribose Nucleic Acid</i>
DASH	<i>Dietary Approach to Stop Hypertension</i>
DNA	<i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
dATP	<i>deoksiadenosin trifosfat</i>
dCTP	<i>deoksicitidin trifosfat</i>
dGTP	<i>deoksiguanin trifosfat</i>
dNTPs	<i>deoxynucleotide triphosphates</i>
dTTP	<i>deoksitimidin trifosfat</i>
eNOS	<i>Endotel Nitrit Oxide Synthase</i>
EKG	<i>Elektrokardiogram</i>
iNOS	<i>Induksi Nitrit Oxide Synthase</i>
JNC	<i>Joint National Commite</i>
LSD	<i>Least Significance Different</i>
L-NAME	<i>Nω-nitro-L-arginine-methyl ester</i>
mRNA	<i>messenger-Ribonucleic Acid</i>
nNOS	<i>Neuronal Nitrit Oxide Synthase</i>
NO	<i>Nitrit Oxide</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PPG	<i>Photoplethysmogram</i>
PVP	<i>Polyvinylpyrrolidone</i>
PWV	<i>Pulse Wave Velocity</i>
RAAS	<i>Sistem Renin-Angiotensin-Aldosterone</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
TAE	<i>Tris-Acetate-EDTA</i>
TPR	<i>Total Peripheral Resistence</i>
VPR	<i>Volume Pressure Recording</i>

BAB I. PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Permasalahan kesehatan masyarakat global termasuk di Indonesia saat ini adalah hipertensi. Sebanyak 15-20% prevalensi hipertensi di dunia dan akan terus meningkat menjadi 80%, pada tahun 2000 terdapat 639 juta kasus dan pada tahun 2025 meningkat menjadi 1,15 milyar kasus. Seperempat penduduk dunia dan hampir separuh penduduk eropa menderita tekanan darah tinggi. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia dan the International Society of Hypertension (ISH), saat ini didunia terdapat 600 juta kasus hipertensi, dimana yang meninggal setiap tahunnya sebanyak 3 juta. (Amelia dkk., 2018) Data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan prevalensi tekanan darah tinggi pada usia 18 tahun keatas adalah 34,1%, kasus terendah sebanyak 22,2% berada di Papua dan tertinggi 44,1% berada di Kalimantan Selatan. Di Indonesia sendiri kasus hipertensi perkiraan mencapai 63.309.620, dan sebanyak 427.218 angka kematian akibat hipertensi. (Riskesdas, 2018) Sistem renin-angiotensin-aldosteron (RAAS) dikenal sebagai salah satu pengatur keseimbangan natrium yang paling kuat, volume cairan tubuh dan tekanan darah. Dengan perkembangan obat-obatan secara efektif dapat memblokir berbagai komponen RAAS. Oleh karena itu, inhibitor RAAS telah menjadi andalan untuk pengobatan penyakit kardiovaskular dan ginjal selama 30 tahun terakhir. keuntungan terapeutik dari menghambat sistem ini adalah pada hipertensi, gagal jantung, diabetes, dan keadaan patofisiologis lainnya.(Colafella dkk., 2019)

Angiotensinogen adalah prekursor semua angiotensin dan diubah melalui renin untuk membentuk angiotensin I. (Colafella dkk., 2019) ACE, sebagai bagian dari sistem renin-angiotensin-aldosteron (RAAS), menghidrolisis angiotensin I yang tidak aktif menjadi vasokonstriktor angiotensin II dan vasodilator bradikinin menjadi fragmen peptida tidak aktif yang menyebabkan peningkatan tekanan darah. Efek paling terkenal dari angiotensin II, yaitu vasokonstriksi dan pelepasan vasopresin dan aldosteron, yang dimediasi oleh reseptor angiotensin tipe 1 (AT1). Sedangkan bradikinin bertindak terutama melalui reseptor tipe 2 kinin (B2) yang berperan untuk memproduksi nitrat oksida (NO), dan faktor vasorelaxing. (García-tejedor dkk., 2015)

Gen enzim pengubah angiotensin-I (ACE) adalah salah satu gen yang paling banyak dipelajari karena perannya dalam renin-angiotensin sistem (RAS). ACE mengkatalisasi konversi angiotensin I menjadi angiotensin II, sebuah vasoaktif dan peptida yang merangsang aldosteron, dan menonaktifkan bradikinin. Polimorfisme I / D menghasilkan tiga genotipe yaitu DD, homozigot II dan heterozygot ID.

Polimorfisme ini menentukan tingkat ACE disirkulasi darah dan jaringan, terjadinya polimorfisme ACE baru-baru ini terlibat dalam patogenesis hipertensi esensial.

Dalam sistem kardiovaskular, NO berperan dalam regulasi tonus vaskular, kontraktilitas jantung, perbaikan vaskular, dan fungsi barorefleks. Ia juga memiliki fungsi spesifik di ginjal, yaitu mengatur hemodinamik, reabsorpsi garam dan air, sekresi renin, dan umpan balik tubuloglomerular, kelainan pada bioavailabilitasnya berkaitan dengan berbagai penyakit kardiovaskular dan ginjal (Lee dkk. 2016)

Produksi NO yang berlebihan dapat memberikan efek merugikan pada fungsi kardiovaskular. Aktivasi induksi NOS (iNOS) diregulasi di makrofag dalam sel otot polos vaskular yang merupakan faktor utama penyebab hipotensi pada sepsis. Induksi iNOS terjadi terutama berhubungan dengan infeksi dan peradangan sebagai bagian dari respons pertahanan, sementara ekspresinya minimal secara kondisi fisiologis (Lee dkk. 2016). Ketika iNOS distimulasi, itu terus menerus menghasilkan NO. Induksi iNOS terjadi terutama selama infeksi dan peradangan kronis. iNOS diekspresikan dalam otot polos vaskular sel setelah terpapar pro-inflamasi sitokin. (Konukoglu dan Uzun, 2016)

Endotel NOS (eNOS) adalah isoform utama yang mengatur fungsi vaskular dan berlimpah di endotel di mana ia mengatur tonus vaskular. Aktivitas katalitiknya dimulai atau ditingkatkan oleh rangsangan fisik dan kimiawi, seperti tegangan geser dan berbagai faktor neurohumoral. Penghambatan eNOS berhubungan dengan tingkat ADMA plasma, dan tingkat ADMA plasma berbanding terbalik dengan vasodilatasi yang bergantung pada endotelium. Peningkatan akut dan kronis pada tegangan geser darah mengatur ekspresi dan aktivitas eNOS, dan dengan demikian melepaskan NO. (Konukoglu dan Uzun 2016)

Tanaman tradisional yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antihipertensi yaitu daun pegagan (*Centella asiatica*). Yang telah dilaporkan memiliki metabolit sekunder seperti golongan flavonoid (quersetin dan kaempferol), triterpenoid (asam asiatik, asiatikosida, madekasida, dan madekasosida), terpenoid dan glikosida. (Hasimun dkk., 2020) Yang merupakan senyawa aktif yang teridentifikasi sebagai inhibisi ACE yang potensial. (Balasuriya dan Rupasinghe, 2011) Pada penelitian Fraksi kloroform tidak larut ekstrak daun pegagan menunjukkan bahwa dosis 50 mg/kg memiliki efek hipotensi lebih baik terhadap MAP dan tidak berbeda signifikan dengan kaptopril dengan menurunkan tekanan darah hingga 150% pada tikus yang diinduksi fenilefrin. (Nansy dkk., 2015)

Sedangkan pada rimpang kunyit terkandung senyawa kurkumin dan tetrahidrokurkumin sebagai metabolit utama kurkumin memiliki khasiat antioksidan yang dapat melindungi sel endotel dari kerusakan akibat stress oksidatif dan secara signifikan dapat menekan

peningkatan tekanan darah, penurunan resistensi vaskular, dan memulihkan respons vaskular. (Nakmareong dkk., 2011). Pada penelitian Curcumin menurunkan tekanan darah dan stres oksidatif pada tikus hipertensi renovaskular 2K-1C membuktikan bahwa dosis 50 mg/kgBB/hari mampu menekan tekanan darah dan tekanan arteri rata-rata. (Boonla, 2013) Pada penelitian (Hasimun dkk. 2019) sediaan jus kombinasi dari daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) efektif dan bekerja secara sinergis sebagai antihipertensi. Oleh karena itu bentuk sediaan granul dipilih pada penelitian ini guna mengembangkan penelitian sebelumnya. Granul berasal dari bahasa latin “granulatum” yang artinya butiran. Granul adalah bentuk sediaan yang terdiri dari partikel serbuk yang berkumpul membentuk partikel yang lebih besar dengan ukuran berkisar 0,1 hingga 2,0 mm. (Ansel,1989) Keunggulan granul adalah lebih stabil dibandingkan sediaan cair, lebih cepat larut dibandingkan kapsul atau tablet.

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian granul yang mengandung ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terhadap tekanan darah, kekakuan arteri, denyut jantung, sudut spasial QRS-T, kadar NO dan ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS pada model hewan hipertensi yang diinduksi L-NAME.

I.2 Rumusan masalah

1. Bagaimana pengaruh granul ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terhadap tekanan darah, kekakuan arteri, denyut jantung, sudut spasial QRS-T, dan kadar NO.
2. Apakah granul ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) efektif dalam memodulasi ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS pada model hewan hipertensi.

I.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

I.3.1 Tujuan

1. Mengetahui pengaruh pemberian granul ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terhadap tekanan darah, kekakuan arteri, denyut jantung, sudut spasial QRS-T, dan kadar NO.
2. Mengetahui pengaruh pemberian granul ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terhadap ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS pada model hewan hipertensi

I.3.2 Manfaat penelitian

1. Menambah khasanah ilmu pengetahuan tentang penggunaan granul ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) sebagai penurunan tekanan darah, perbaikan arteri, denyut jantung, sudut spasial QRS-T dan kadar NO dalam tubuh serta perbaikan terhadap ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif penyajian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) yang dapat meningkatkan nilai pemanfaatannya di masyarakat dan sebagai suplemen makanan yang dapat dipilih masyarakat sebagai antihipertensi.

I.4 Hipotesis Penelitian

Granul ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) diduga dapat menurunkan tekanan darah, perbaikan arteri, denyut jantung, sudut spasial QRS-T dan kadar NO serta perbaikan terhadap ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS.

I.5 Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana pada bulan Maret – Mei 2021.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Hipertensi

II.1.1 Definisi Hipertensi

Organisasi Kesehatan Dunia dan European Society of Hypertension menyebutkan hipertensi mengacu pada tekanan darah sistolik seseorang ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastoliknya ≥ 90 mmHg. (Esc dkk., 2013)

II.1.2 Etiologi Hipertensi

Etiologi hipertensi dibagi menjadi 2 yaitu hipertensi primer (esensial) dan hipertensi sekunder

1. Hipertensi Primer

Hipertensi primer atau hipertensi esensial adalah hipertensi yang tidak diketahui penyebabnya. Kebanyakan individu dengan tekanan darah ($\geq 90\%$) memiliki penyakit hipertensi esensial atau primer. Faktor genetik mungkin berperan dalam perkembangan hipertensi esensial dengan mempengaruhi keseimbangan natrium atau jalur yang mengatur tekanan darah lainnya. (DiPiro dkk., 2020)

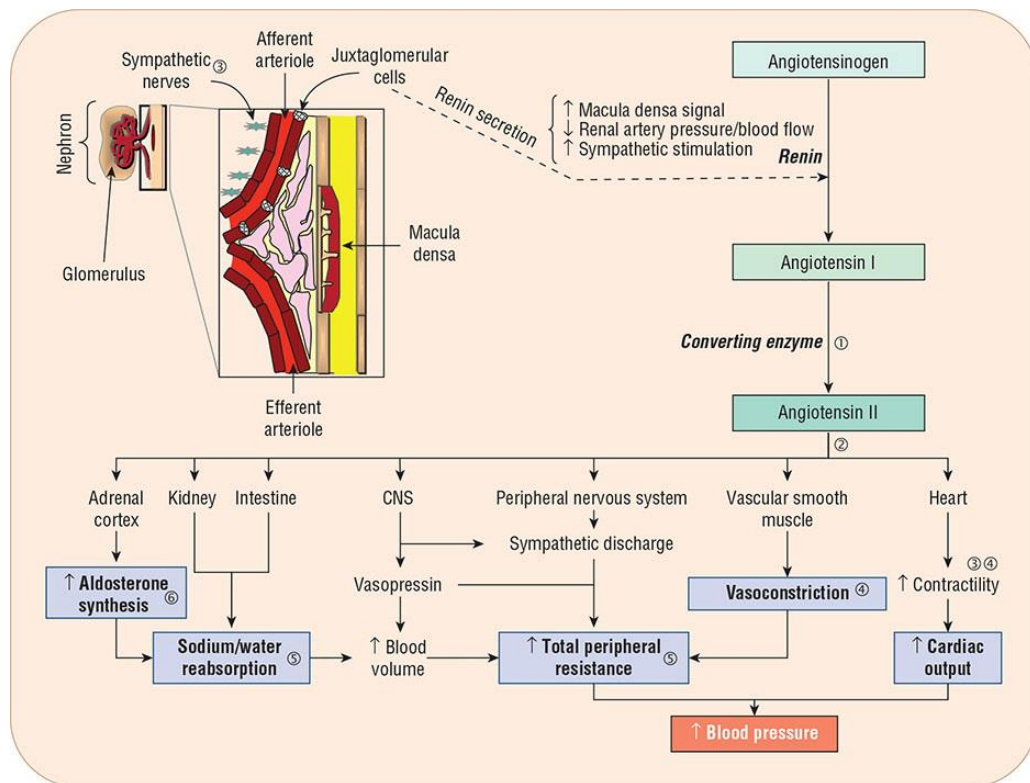
2. Hipertensi Sekunder

Hipertensi sekunder adalah tekanan darah tinggi yang diakibatkan dari adanya penyakit lain, obat atau produk lain dan bertanggung jawab pada peningkatan tekanan darah. Hipertensi sekunder jauh lebih jarang dibandingkan hipertensi primer (sampai 10%). Pada kebanyakan kasus ini, kegagalan ginjal dikarenakan penyakit ginjal kronis berat (PGK) atau pemicu secara umum hipertensi ini adalah penyakit pembuluh darah ginjal. Agen tertentu seperti obat atau produk lainnya, secara langsung atau tidak langsung, menyebabkan dan meningkatkan tekanan darah tinggi. Ketika penyebab hipertensi sekunder teridentifikasi, langkah pertama pengobatan jika memungkinkan yaitu Menghilangkan penyebab, mengobati / memperbaiki kondisi komorbiditas yang mendasari. (DiPiro dkk., 2020)

II.1.3 Patofisiologi Hipertensi

Beberapa kelainan humoral yang melibatkan RAAS, hormon natriuretik, dan hiperinsulinemia mungkin terlibat dalam perkembangan hipertensi esensial. Patofisiologi hipertensi juga dapat dipengaruhi dengan adanya faktor risiko seperti umur, riwayat keluarga, sindrom metabolik, merokok, dan stress sehingga meningkatkan tekanan darah.

Sistem Renin-Angiotensin-Aldosteron (RAAS) adalah sistem endogen paling kompleks yang melibatkan pengaturan tekanan darah arteri. Organ ginjal yang mengatur regulasi dan aktivasi utama RAAS. RAAS mengatur kalium, natrium, dan volume darah. Oleh sebab itu, sistem ini dapat mempengaruhi aktivitas sistem saraf simpatis dan tonus vaskular secara signifikan dan merupakan faktor yang paling berpengaruh dalam regulasi homeostatis dari tekanan darah.



Gambar 2.1 Sistem renin-angiotensin-aldosteron

Sumber : (DiPiro dkk., 2020)

Dalam sel juxtaglomerular tersimpan enzim yang disebut renin yang berada di arteriol aferen ginjal. Faktor yang mengatur sekresi renin yaitu: faktor intrarenal (angiotensin II, tekanan perfusi ginjal, katekolamin) dan faktor ekstrarenal (kalium, klorida, natrium). Fungsi sel juxtaglomerular adalah sebagai alat perasa baroreseptor. Menurunnya aliran darah di ginjal dan tekanan arteri ginjal akan dirasakan oleh sel ini dan akan merangsang pelepasan renin. Penurunan klorida dan natrium dikirim ke tubulus distal untuk merangsang pelepasan renin. Renin yang disekresikan dapat meningkat karena sel juxtaglomerular menjadi aktif dan katekolamin menstimulasi saraf simpatis pada arteriol aferen. Renin mengkatalis konversi angiotensinogen dalam darah menjadi angiotensin I yang kemudian diubah menjadi angiotensin II oleh enzim pengubah angiotensin (ACE). Angiotensin II dapat meningkatkan tekanan darah dalam

sirkulasi melalui efek volume dan pressor. Efek pressor termasuk stimulasi medula adrenal melalui pelepasan katekolamin, vasokonstriksi langsung dan peningkatan yang dimediasi oleh pusat sistem saraf simpatik. Korteks adrenal dirangsang oleh Angiotensin II untuk mensintesis aldosteron, menyebabkan penyerapan air dan natrium sehingga meningkatkan volume plasma, TPR, dan berakhir menjadi hipertensi. (DiPiro dkk., 2020)

II.1.4 Klasifikasi Hipertensi

Tabel II.1 Klasifikasi Hipertensi menurut (DiPiro dkk., 2020)

Klasifikasi	Tekanan Darah Sistolik (mm/Hg)	Tekanan Darah Diastolik (mm/Hg)
Normal	< 120	<80
Prehipertensi	120-129	<80
Hipertensi Tahap1	130-139	80-89
Hipertensi Tahap2	>140	>90

Tabel II.2 Klasifikasi Hipertensi menurut Klasifikasi menurut European Society of Hypertension

(Esc dkk., 2013)

Kategori	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)
Optimal	<120	<80
Normal	120–129	80–84
Normal Tinggi	130–139	85–89
Derajat 1 hipertensi	140–159	90–99
Derajat 2 hipertensi	160–179	100–109
Derajat 3 hipertensi	≥180	≥110
Hipertensi sistolik terisolasi	≥140	<90

II.1.5 Terapi Pengobatan Hipertensi

II.1.5.1 Terapi Non Farmakologi

JNC VII menyebutkan bahwa penerapan pola hidup sehat adalah hal penting untuk mencegah hipertensi dan merupakan bagian yang sangat penting dilakukan sebelum memulai terapi farmakologi. Perubahan pola hidup dengan mengurangi berat badan dapat mengurangi tekanan darah pada sebagian besar individu obesitas. Melakukan *Dietary Approach to Stop Hypertension* (DASH) yang merupakan diet rendah lemak, kaya akan sayuran, buah-buahan, dengan mengontrol kandungan kolesterol makanan, dan total lemak jenuh, meningkatkan konsumsi makanan dengan kadar kalium, kalsium, magnesium, mengurangi makanan tinggi natrium, melakukan aktivitas fisik seperti berjalan 30 menit sehari, membatasi asupan alkohol. Pada sebagian pasien yang melakukan perubahan pola hidup dapat meningkatkan efek obat antihipertensi dan mengontrol tekanan darah dapat menghindari terjadinya hipertensi. (JNC, 2003)

Tabel II.3 Perubahan Pola Hidup Hipertensi

Perubahan	Rekomendasi	Range penurunan tekanan darah
Penurunan berat badan	Menjaga berat badan normal (IMT 18,5-24,9 kg/m ²)	5-20 mmHg/10 kg
Adopsi diet kombinasi DASH	Konsumsi buah, dan makanan rendah kadar total lemak jenuh	8-14 mmHg
Diet rendah natrium	Asupan garam tidak lebih dari 100 mmol per hari (6 g NaCl atau 2,4 g natrium)	2-8 mmHg
Aktifitas fisik	Lakukan olahraga aerobik rutin seperti jalan kaki 30 menit sehari	4-9 mmHg
Konsumsi alkohol	Batasi konsumsi alkohol 2 gelas/hari	2-4 mmHg

II.1.5.2 Terapi Farmakologi

Tabel II.4 Obat Antihipertensi

Golongan Obat	Nama Obat	Mekanisme Kerja
---------------	-----------	-----------------

Diuretik	Diuretik hemat kalium	Memblok kanal kalium
	Loop diuretik	Menghambat reabsorpsi air dan natrium di lengkung henle
	Thiazid	Menghambat reabsorpsi dan natrium di tubulus distal, menurunkan resistensi perifer dan menurunkan curah jantung
Penghambat adreno reseptor beta (antagonis β_2)	Propranolol	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menurunkan frekuensi denyut jantung sehingga curah jantung menurun 2. Menghambat pembentukan renin, sehingga menurunkan pembentukan Angiotensin II
Penghambatan kanal Ca^{2+}	Amlodipin Nifedipin	Menghambat kanal Ca^{2+} dalam sel, sehingga Ca^{2+} ekstraseluler menurun yang menyebabkan vasodilatasi
ACE Inhibitor	Captopril Lisinopril	Menghambat pembentukan ACE yang memperantarai perubahan Angiotensin I menjadi Angiotensin II, yang mengakibatkan penurunan aktivitas sistem saraf simpatis, penurunan retensi cairan dan ion Na^+ , peningkatan otot polos vaskular dan bradikinin, sehingga menurunkan tekanan darah.
Angiotensin II Antagonis	Losartan Candesartan Irbesartan	Menghambat pembentukan Angiotensin II, sehingga terjadi penurunan aktivitas sistem saraf simpatis, penurunan produksi aldosteron, sehingga tekanan darah menurun.

Vasodilator	Isosorbid	Relaksasi otot polos vaskular, sehingga
	dinitrat	resistensi perifer dan tekanan darah
	Hidralazin	menurun
	Minoxidil	

Sumber : (Chisholm-Burns dkk., 2016)

II.2 Ekspresi Gen

Ekspresi gen yaitu teknik penentuan sifat organisme melalui gen yang dapat terjadi dalam dua tahap, yaitu transkripsi dan translasi. Metabolisme dalam sel terjadi berkat adanya enzim yang mengkatalis proses biokimia yang merupakan sifat suatu organisme. Gen terdiri dari molekul DNA, sehingga dapat menentukan sifat suatu organisme. Protein dan enzim lain ditranslasi dari urutan nukleotida yang ada dalam mRNA selanjutnya disintesis pada untai cetakan DNA. (Suharsono dkk. 2014)

II.2.1 Gen *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)*

Enzim ACE adalah salah satu komponen penting dalam RAAS yang berfungsi untuk mengubah angiotensin I menjadi angiotensin II yang merupakan vasokonstriktor. RAAS memiliki komponen yaitu ACE homolog yaitu ACE2. Enzim ini diekspresikan dalam sel endotel jantung, ginjal, dan testis berperan dalam menurunkan angiotensin II menjadi angiotensin 1-7 yang bertindak sebagai vasodilator dan penghambat pertumbuhan yang berbeda dengan aktivitas ACE yang menghasilkan Ang II dan menurunkan Ang 1-9. Oleh karena itu ACE 2 merupakan counter regulator kuat terhadap ACE dan berperan penting dengan mengendalikan baroreseptor secara responsif dalam pengaturan kondisi kardiovaskular dan ginjal. (Turner, 2015)

II.3 Biosintesis *Nitric Oxide (NO)*

Biosintesis NO memerlukan sejumlah molekul oksigen, *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH)*, dan co-factors yang memainkan peran sentral dalam siklus katalit seperti heme, flavin adenine dinucleotide (FAD), flavin mononucleotide (FMN), dan tetrahydrobiopterin (BH4). Isoenzim NOS merubah L-arginin dengan proses oksidasi yang menghasilkan produk berupa senyawa Nhydroxy-L-arginin (LNOHA) dan menghasilkan produk akhir L-citrulline dan NO. (Farisi dan Musfiroh, 2013)

Secara endogen, enzim NOS mensintesis NO dengan tiga isoenzim yaitu *Neuronal Nitric Oxide Synthase (nNOS)*, *Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS)*, dan *Endothelial*

Nitrit Oxide Synthase (eNOS) yang memiliki peran, lokalisasi dan jaringan yang berbeda. (Fantacuzzi dkk. 2016)

II.3.1 Gen *Neuronal Nitrit Oxide Synthase* (nNos)

NO yang diproduksi oleh nNOS terlibat dalam regulasi rangsangan saraf, potensiasi jangka panjang atau depresi plastisitas sinaptik, dan dalam pembentukan memori juga proses pembelajaran. nNOS juga diekspresikan dalam miosit jantung dan tulang, medial halus otot dan sel endotel dari pembuluh darah, adventitial lapisan arteri penis, dan sel makula densa di ginjal. (Lee dkk. 2016). Ekspresi vaskular nNOS juga diregulasi oleh stimulasi dengan AT-II dan faktor pertumbuhan yang diturunkan dari platelet. (Konukoglu dan Uzun, 2016)

II.3.2 Gen *Inducible Nitrit Oxide Synthase* (iNOS)

Aktivasi induksi NOS (iNOS) diregulasi di makrofag dalam sel otot polos vaskular yang merupakan faktor utama penyebab hipotensi pada sepsis syok. Induksi iNOS terjadi terutama berhubungan dengan infeksi dan peradangan sebagai bagian dari respons pertahanan, sementara ekspresinya minimal secara kondisi fisiologis (Lee dkk., 2016). Ketika iNOS distimulasi, itu terus menerus menghasilkan NO. Induksi iNOS terjadi terutama selama infeksi dan peradangan kronis. iNOS diekspresikan dalam otot polos vaskular sel setelah terpapar pro-inflamasi sitokin. (Konukoglu dan Uzun, 2016)

II.3.3 Gen *Endothelial Nitrit Oxide Synthase* (eNOS)

Endotel NOS (eNOS) adalah isoform utama yang mengatur fungsi vaskular dan berlimpah di endotel di mana ia mengatur tonus vaskular. (Konukoglu dan Uzun, 2016). NO yang dihasilkan oleh eNOS berfungsi dalam mempertahankan aliran dan tekanan darah normal. Penghambatan NO adalah mekanisme utama patogenesis penyakit vaskular yang mempengaruhi pembuluh darah otak dan perifer (Austin & Katusic, 2020) Yang akan menyebabkan perubahan fungsi vaskuler yang tidak diinginkan seperti agregasi platelet, adhesi sel darah putih, kecenderungan terhadap vasokonstriksi dan inflamasi yang berperan pada inisiasi dan perkembangan aterosklerosis, hipertensi, dan penyakit jantung koroner. (Katusic dan Austin, 2014)

II.4 *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah metode untuk mensintesis urutan tertentu DNA dengan menggunakan dua primer oligonukleotida yang dihibridisasi ke pita yang berlawanan dan mengikat dua target DNA secara in vitro. Cara ini sekarang banyak digunakan yang awalnya digunakan untuk berbagai operasi dan analisis genetik. Pengembangan metode ini hanya digunakan untuk memperbanyak molekul DNA,

kemudian berkembang dan bisa digunakan untuk melakukan kuantitas molekul dan melipatgandakan mRNA. (Hasibuan, 2015)

II.4.1 Komponen PCR

Komponen PCR menurut (Handoyo dan Rudiretna, 2001) adalah sebagai berikut :

1. Template DNA

Template DNA merupakan fragmen DNA yang berfungsi sebagai cetakan pembentukan DNA baru yang dapat berwujud DNA plasmid, DNA kromosom, atau fragmen DNA.

2. Primer

Primer merupakan urutan nukleotida dengan rantai pendek yang menentukan target DNA. Dalam proses PCR, fungsi primer adalah penyedia gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang dibutuhkan pada proses eksistensi DNA dan pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi.

3. dNTPs (*deoxynucleotide triphosphates*)

dNTPs adalah perpaduan dari dTTP (*deoksitimidin trifosfat*), dATP (*deoksiadenosin trifosfat*), dGTP (*deoksiguanin trifosfat*), dan dCTP (*deoksicitidin trifosfat*). dNTPs merupakan building block DNA yang dibutuhkan pada saat eksistensi DNA. dNTPs akan berikatan dengan ujung 3' dari gugus -OH primer untuk membentuk untai baru yang melengkapi untai DNA template.

4. Buffer PCR dan MgCl₂

Proses yang berlangsung di PCR terjadi pada pH tertentu. Fungsi buffer PCR untuk memastikan pH media. Dibutuhkan juga ion Mg²⁺, yang dihasilkan dari MgCl₂. Fungsi MgCl₂ adalah kofaktor untuk merangsang aktivitas DNA polimerase. Penambahan dari MgCl₂ ini akan meningkatkan interaksi primer dengan template sehingga terjadi kompleks yang larut dengan dNTPs.

5. Enzim Polimerase DNA

Fungsi enzim polimerase DNA adalah katalis untuk reaksi polimerasi DNA. Adanya enzim ini sebagai tahan eksistensi DNA pada proses PCR. Enzim ini berasal dari isolasi bakteri hipertermofilik termofilik atau yang bersifat termostabil hingga 95°C.

II.5 Pegagan (*Centella asiatica*)

II.5.1 Morfologi Pegagan (*Centella asiatica*)

Centella asiatica (L.) Urban adalah nama latin dari pegagan atau Hydrocotyle asiatica Linn yang berasal dari Asia tropik dan banyak tumbuh di kawasan panas lainnya. Seperti India, Cina, Filipina, Sri Lanka dan Indonesia.(Gray dkk., 2018) Pegagan banyak ditemukan di daerah dataran rendah dibawah 2500 m dpl. Tumbuh liar di sawah, tepi

selokan dan padang rumput. Pegagan termasuk dalam tumbuhan terna menahun, memiliki tinggi antara 5,39–13,3 cm, memiliki daun tunggal dengan berjumlah 2-10 helai berbentuk seperti ginjal, helaian daun biasanya berwarna hijau dan hijau muda. Warna bunga putih atau merah muda dengan bentuk payung, tunggal atau 3-5 bunga mekar bersamaan keluar dari ketiak daun, akar tunggangnya bercabang, sedangkan akar serabut berasal dari buku-buku stolon, tidak memiliki batang, memiliki rimpang pendek dan panjang stolon antara 10 sampai 80 cm. (Dalimartha, 2008)

II.5.2 Klasifikasi Pegagan (*Centella asiatica*)



Gambar 2.2 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*)

Sumber : (Gray dkk., 2018)

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Apiales
Family : Apiaceae
Genus : *Centella*
Jenis : *Centella asiatica* (L.)
(Jahan dkk., 2012)

II.5.3 Khasiat Pegagan (*Centella asiatica*)

Khasiat utama tanaman pegagan (*Centella asiatica*) yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah untuk mengobati beragam penyakit, seperti antihipertensi, imunomodulasi, meningkatkan daya ingat, kecerdasan dan konsentrasi, mencegah varises, mengatasi wasir dan konstipasi, antilepra, alzheimer (Sutardi, 2017) Penyembuhan luka, antidepresan, antiepilepsi, antioksidan, dan antiinflamasi. (Gohil dkk., 2010)

II.5.4 Kandungan senyawa dan Aktivitas Farmakologi Pegagan (*Centella asiatica*)

Beberapa komponen bioaktif pegagan (*Centella asiatica*) adalah asiatikosida, isotankunisida, tankunisida, madekasosida, brahminosida, brahmosida, asam

madasiatik, asam brahmik, sentelosida, hidrokotilin, karotenoid, meso-inositol, vellarin, tanin dan garam mineral seperti fosfor, natrium, kalium, kalsium, asam amino dan vitamin B, minyak atsiri (1%), pektin (17.25%), zat samak dan zat pahit vellarine.(Sutardi, 2017)

Tanaman pegagan juga mengandung asiatikosida dalam bentuk glikosida yang sering digunakan untuk pengobatan herbal tradisional. Stigmasterol dan sitosterol keduanya vallerin brahmosida dan steroid termasuk golongan saponin. Golongan triterpenoid ada asam asiatik, asiatikosida, madekasida, dan madekasosida. Triterpen aglikon dalam *Centella asiatica* disebut asiatikosida yang memiliki glikol, gugus alkohol primer, dan ester asam karboksilat yang diesterifikasi oleh gugus gula.(Sutardi, 2017)

Pada penelitian Pengaruh asam asiatik pada jalur Ang II-AT1R-NADPH oksidase-NF- κ B pada tikus hipertensi renovaskular menunjukkan bahwa asiatik asam adalah agen antihipertensi yang memperbaiki perubahan hemodinamik pada tikus hipertensi. Efek ini mungkin melibatkan salah satu atau kedua mekanisme berikut: efek langsung asam asiatik pada aktivasi RAS, stres oksidatif dan peradangan, dan / atau asam asiatik yang bertindak sebagai agen penghambat ACE untuk menghambat jalur Ang II-AT1R-NADPH oksidase-NF- κ B. (Maneesai dkk., 2017)

Pada penelitian Asam asiatik mengurangi tekanan darah dengan meningkatkan bioavailabilitas oksida nitrat dengan modulasi ekspresi eNOS dan p47phox pada tikus hipertensi yang diinduksi L-NAME menunjukkan bahwa asam asiatik mengurangi tekanan darah, meningkatkan fungsi vaskular melalui pemulihan NO endotel sintase (eNOS) dan ekspresi p47phox, dan meredakan remodeling kardiovaskular melalui pemulihan ekspresi iNOS / eNOS pada tikus hipertensi L-NAME. (Bunbupha, dkk. 2014)

II.6 Kunyit (*Curcuma longa*)

II.6.1 Morfologi Kunyit (*Curcuma longa*)

Tanaman kunyit berasal dari Asia Tenggara, diduga berasal dari Indonesia-Malaysia dan India. Kunyit dapat ditanam di negara Cina, Taiwan, Sri Lanka, Filipina, Bangladesh. Tumbuh didataran rendah hingga ketinggian sekitar 2.000 mdpl. Kunyit termasuk kedalam tanaman dari famili Zingiberaceae, mempunyai batang semu yang terdiri dari tangkai daunnya. Kunyit dapat mencapai ketinggian 1-1,5 meter membentuk rumpun tegap seperti semak bergerombol. Berdaun tunggal dengan panjang sekitar 20 sampai 40 cm dengan lebarnya 15 sampai 30 cm, berbentuk lancet lebar, bertepi rata, bertulang menyirip, pangkal daun meruncing, permukaannya licin, dan memiliki warna

hijau. Bagian pokok dari kunyit yaitu rimpang yang terdapat di dalam tanah yang merupakan tempat tumbuhnya tunas. Rimpangnya terdiri dari rimpang induk dan tunas atau cabang rimpang yang tumbuh mendatar atau melengkung ke arah samping dengan kulit luar yang berwarna kecoklatan. Daging rimpangnya berwarna jingga kekuningan, memiliki rasa agak pahit dan getir. (Hartati, 2013)

II.6.2 Klasifikasi Kunyit (*Curcuma longa*)



Gambar 2.3 Tanaman dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*)

Sumber : (Mutiah, 2015)

Klasifikasi kunyit berdasar Natural Resource Conservation Service (USDA, 2013)

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Monocotyledonae

Ordo : Zingiberales

Family : Zingiberaceae

Genus : *Curcuma*

Jenis : *Curcuma longa* (L.)

II.6.3 Khasiat Kunyit (*Curcuma longa*)

Khasiat kunyit secara empiris banyak dimanfaatkan untuk pengobatan seperti : antihipertensi, antitumor, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antimikroba, antivirus, antijamur, antidiabetes, antimalaria, antelmintik, dan mengobati dismenore. (Amalraj dkk., 2017)

11.6.4 Kandungan senyawa dan Aktivitas Farmakologi Kunyit (*Curcuma longa*)

Kandungan senyawa kunyit berkhasiat sebagai obat, yaitu kurkuminoid yang tersusun dari (kurkumin, 10%, 1-5% bisdesmetoksikurkumin dan desmetoksikumin. Kandungan lain kunyit yaitu minyak atsiri yang tersusun dari (turmeron, tumeon 60%, keton sesquiterpen, zingiberen 25%, borneol, felandren, sineil dan sabinen). Selain senyawa kurkuminoid, kunyit juga memiliki senyawa turunan yaitu 2''-okso-enabutanil 3-(3''-metoksi-4''-hidroksifenil) 4''-(3''''-metoksi-4''''-hidroksifenil)- calebin A atau propenoat (Yuan Shan dan Iskandar, 2018) Komponen lainnya pada kunyit yaitu oleoresin, resin, gom, lemak, damar, protein, fosfor, besi dan kalsium. (S. Li, 2011) Kandungan senyawa kurkumin dan tetrahidrokurkumin sebagai metabolit utama kurkumin berkhasiat antioksidan yang mampu melindungi sel endotel dari kerusakan akibat stress oksidatif dan secara signifikan dapat menekan peningkatan tekanan darah, penurunan resistensi vaskular, dan memulihkan respons vaskular. (Nakmareong dkk., 2011)

II.7 Granul

Granul berasal dari bahasa latin "granulatum" yang artinya butiran. Granul adalah bentuk sediaan yang terdiri dari partikel serbuk yang berkumpul membentuk partikel yang lebih besar dengan ukuran berkisar 0,1 hingga 2,0 mm. (Ansel,1989) Keunggulan granul adalah lebih stabil dibandingkan sediaan cair, lebih cepat larut dibandingkan tablet atau kapsul. Kerugian dari granul adalah tidak bisa menutupi rasa tidak enak obat. Jika dosisnya kecil dapat diatasi dengan membuat obat menjadi tablet atau kapsul. Untuk obat dosis tinggi, formulasikan menjadi granul effervescent. (Parkih, 2005)

Syarat granul yang baik adalah : (Parkih, 2005)

1. Bentuk dan warna teratur
2. Distribusi ukuran partikel yang sempit, kandungan serbuk tidak melebihi 10%
3. Memiliki daya alir baik
4. Tidak terlalu kering (kelembaban tersisa 3-5%)
5. Hancur dengan baik di dalam air

II.7.1 Komposisi Sediaan Granul

Pada umumnya sediaan granul mengandung bahan aktif dan bahan tambahan. Bahan tambahan terdiri atas bahan pengisi, pengikat, pemanis dan pengawet.

1. Bahan Pengisi

Bahan pengisi digunakan untuk membentuk ukuran atau massa granul sesuai dengan yang dibutuhkan. Bahan pengisi yang sering digunakan yaitu laktosa, sukrosa,

dekstrosa, amilum, manitol, kalsium karbonat, kaolin, sorbitol, dan bahan lain yang sesuai. Laju pelepasan obat yang baik biasanya formula menggunakan laktosa. (Hadi Setiana dan Satria Wira Kusuma 2012)

2. Bahan Pengikat

Bahan pengikat adalah zat yang mampu mengikat bahan lain. Yang bertujuan untuk menggabungkan beberapa partikel serbuk menjadi granul. Pengikat yang dipakai hendaklah larut dalam air. *Polyvinylpyrrolidone* (PVP) dipilih karena sifatnya yang larut dalam air, dapat meningkatkan kelarutan dan tidak memiliki residu. PVP memiliki sudut diam minimum, sifat alir yang baik, kecepatan pengeringan partikel yang lebih cepat, kompatibilitas yang lebih baik, dan menghasilkan fines lebih sedikit, sehingga dapat membuat sediaan lebih baik, dan sangat berguna untuk proses granulasi. Banyak obat mengalami peningkatan kelarutan dengan adanya PVP karena PVP mampu membentuk ikatan kompleks dengan beragam molekul obat, dan PVP memiliki ikatan yang lebih lemah dibanding obat sehingga lebih mudah untuk melepaskan obat. (Lachman dkk., 1994) Konsentrasi PVP yang dipakai untuk pengikat sebesar 0,5-5% (Rowe dkk., 2009)

3. Bahan Pelincir

Bahan pelincir digunakan dalam formulasi untuk meningkatkan atau menaikkan fluiditas massa granul. Bahan pelincir ini ditambahkan pada fase luar atau setelah campuran bahan homogen. Bahan pelincir yang digunakan adalah Natrium Benzoat. Selain sebagai pelincir juga berfungsi sebagai antioksidan dan zat pengawet. Konsentrasi maksimal Natrium benzoat yang dapat ditambahkan sebagai pelincir atau lubrikan adalah 2-5%. (Rowe dkk., 2009)

4. Bahan Pemanis

Pemanis yang ditambahkan ke formulasi effervescent digunakan untuk meningkatkan rasa dan bau yang muncul dalam sediaan. Pemanis yang banyak digunakan adalah aspartam. Aspartam merupakan pemanis sintesis yang lebih baik dari pemanis alami karena sifat pemanis alami yang dapat menyerap molekul air di lingkungan. (Hadi Setiana dan Satria Wira Kusuma 2012) Aspartam merupakan pemanis berbentuk kristal, berwarna putih dan tidak berasa. Aspartam dapat meningkatkan sistem rasa dan menutupi rasa tidak enak. Tingkat kemanisan pemanis ini 180-200 kali lipat dari gula pasir (sukrosa) dan mempunyai keunggulan yaitu tidak berasa pahit atau sisa rasa yang biasa ada pada pemanis buatan lainnya. Aspartam stabil pada suhu 250°C dalam suasana asam lemah (pH 3-5). Nilai ADI

(asupan harian yang dapat diterima) dari aspartam adalah 40 mg / kg berat badan.

(Rowe dkk., 2009)

II.7.2 Metode Pembuatan Granul

Terdapat dua macam metode granulasi ialah, metode kering dan metode basah.

II.7.2.1 Granulasi Kering

Granulasi kering melibatkan pembentukan granul tanpa menggunakan larutan cair dikarenakan bahan baku produk bersifat peka terhadap kelembaban dan panas. Dalam proses ini, campuran bubuk kering dapat disatukan secara mekanis dengan mesin kompresi menjadi slugs atau dengan kompresi rol untuk mendapatkan granul. (Agrawal & Naveen, 2011) Keuntungan utamanya adalah produksi granul yang berkelanjutan dapat menekan biaya produksi. Namun, dibandingkan dengan teknik granulasi lainnya, tablet yang dihasilkan lebih rapuh, ini dikarenakan proses pengikatan yang terbatas selama proses kompresi (Herting & Kleinebudde, 2007)

II.7.2.2 Granulasi Basah

Granulasi basah adalah proses pembuatan granul yang sering digunakan di industri farmasi. Proses ini melibatkan penambahan larutan cair (dengan atau tanpa zat pengikat) ke dalam serbuk, larutan cair digunakan untuk membentuk massa basah atau membentuk granul dengan menambahkan serbuk bersama-sama dengan zat pengikat. kelebihan proses granulasi basah adalah meningkatkan karakteristik dan daya alir serta meningkatkan kepadatan granul. Kerugian proses ini adalah biaya yang mahal karena tenaga kerja, ruang, waktu, peralatan khusus dan kebutuhan energi. (Agrawal & Naveen, 2011)

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian:

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana pada bulan Maret-Mei 2021

B. Subyek Penelitian:

Tikus putih jantan galur Wistar dengan bobot badan \pm 200- 300 gram berumur 3-4 bulan sebanyak 25 ekor yang dibagi kedalam 5 kelompok. Tikus diperoleh dari D'Wistar Penyedia Hewan Laboratorium

C. Metode Pengumpulan Data:

Uji aktivitas antihipertensi dari sediaan granul yang mengandung kombinasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa*) dilakukan secara in vivo untuk pengukuran parameter non invasif dan in vitro untuk mengetahui kadar Nitrit Oksida pada serum darah tikus dan melihat ekspresi gen ACE, iNOS, dan eNOS. Granul dibuat dengan metode granulasi basah dengan cara mencampur bahan aktif ekstrak daun pegagan dan rimpang kunyit, dengan bahan tambahan PVP sebagai pengikat, pemanis mannitol dan stevia, bahan pengisi maltodextrine dan essens lemon sebagai pengaroma. Pada pengukuran parameter non invasif yang dilakukan yaitu pengukuran tekanan darah sistolik dan diastolik menggunakan alat CODA dan pengukuran kekakuan arteri dengan metode *Pulse Wave Velocity* (PWV) dan sudut spasial menggunakan alat elektrokardiogram (EKG). Pengukuran dilakukan pada T0, T14 dan T28. Penelitian dilakukan dengan menggunakan tikus wistar jantan dengan berat \pm 200 gram, dan berusia tua $>$ 3 bulan sebanyak 25 ekor. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yang tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, yaitu kelompok I Normal (Na CMC 0,5%), kelompok II induksi (L-NAME 40mg/kg), kelompok III suplemen granul (pakan normal + granul), kelompok IV uji (induksi L-NAME 40 mg/kg + granul 5%), dan kelompok V pembanding (induksi L-NAME 40 mg/kg + captopril 2,5 mg/kg). Hipertensi tikus diinduksi dengan pemberian L-NAME 40 mg/kg. Metode kedua yaitu pengujian in vitro dilakukan pengukuran kadar Nitrit Oksida pada serum darah tikus yang dianalisis menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-VIS, dan pada akhir perlakuan tikus dikorbankan dengan cara inhalasi CO₂ dan diambil segmen aorta toraks untuk penentuan kadar mRNA eNOS dan iNOS dan organ ginjal untuk penentuan gen ACE. RNA diamplifikasi menjadi cDNA melalui proses Reverse Transcriptase. cDNA yang diperoleh divisualisasi menggunakan elektroforesis gel.

Pengukuran menggunakan elektroforesis gel akan menunjukkan ketebalan pita dan nilai luas area bawah kurva (AUC) yang dianalisis menggunakan software *ImageJ*. Hasil setiap luas area bawah kurva menginterpretasikan ekspresi dari setiap gen yang diuji pada masing-masing sampel.

D. Analisis Data:

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan One Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Adanya perbedaan antara kelompok obat uji terhadap kelompok pembanding menunjukkan adanya efek antihipertensi ($p < 0,05$).