

ANTIHYPERTENSIVE TESTING OF COMBINATION OF *Apium graveolans* L., *Orthosiphon stamineus* Benth., AND *Morinda citrifolia* L. EXTRACT. ON NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE SPRAGUE DAWLEY RATS

UJI ANTIHIPERTENSI KOMBINASI EKSTRAK HERBA SELEDRI, DAUN KUMIS KUCING DAN BUAH MENKUDU PADA TIKUS GALUR SPRAGUE DAWLEY NORMAL DAN HIPERTENSI

Rumiyati*, Arif Rahman Hakim, Arini Dwi Winarti, Dea Nurma Septia
Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

Seledri (Apium graveolens L.), kumis kucing (Orthosiphon stamineus Benth.), and mengkudu (Morinda citrifolia L.) have been used to treat hypertension diseases in Indonesia. Previous researches have been done to determine antihypertensive activity of extracts of the sample in single extract. However, there are limited studies on effect of the extracts on a combination of three samples. This research was therefore aimed to study the effect of the combination on lowering blood tension on normotensive and spontaneously hypertensive rats. Non Invasive Blood Pressure technique equipped with Non Invasive Blood Pressure System (CODA®) was used to measure effect of extracts on antihypertensive activity. Sprague Dawley rats were divided into 2 groups (normotensive and spontaneously hypertensive rats using fenilefrin) and treated with combination extracts in doses of 20.25 and 40.5 mg/kg BW of rats. The result showed that the combined extracts can decrease in blood pressure of both two of the groups. Normotensive group of the rats treated at doses of 20,25 and 40,5 mg/kg BW of rats had lower persentase of systolic blood pressure as much as $7,1 \pm 1,8 \%$ and $10,2 \pm 2,6 \%$, whilst percentage of diastolic blood pressure had lower percentage as much as $13,8 \pm 3,2 \%$ and $12,3 \pm 3,1 \%$, respectively. Furthermore, spontaneously hypertensive rats treated at doses of 20,25 and 40,5 mg/kg BW of rats also showed lower systolic blood pressure as much as $16,10 \pm 0,90 \%$ and $15,84 \pm 1,55 \%$ and diastolic blood pressure as much as $19,48 \pm 1,03 \%$ and $17,77 \pm 1,34 \%$. These results suggest that administration of combination of three extracts exhibited antihypertensive in both of the rat groups.

Keywords : *A graveolens L, O stamineus Bent, M citrifolia L. and Non Invasive Blood Pressure*

ABSTRAK

Seledri (Apium graveolens L.), kumis kucing (Orthosiphon stamineus Benth.), dan mengkudu (Morinda citrifolia L.) telah lama digunakan oleh masyarakat sebagai obat alternatif penyakit hipertensi. Penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk mengetahui aktivitas penurunan tekanan darah dari tanaman-tanaman tersebut dalam bentuk ekstrak tunggal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah kombinasi ekstrak herba seledri, daun kumis kucing dan buah mengkudu (SKM) memiliki aktivitas sebagai penurun tekanan darah pada hewan uji baik pada kondisi normotensi maupun hipertensi. Uji dilakukan pada tikus Sprague Dawley betina dengan metode Non Invasive Blood Pressure menggunakan alat Non Invasive Blood Pressure System dari CODA®. Hewan uji dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu kelompok hewan normotensi dan hipertensi (karena induksi dengan fenilefrin sehingga tekanan darah naik menjadi 1,25 kali tekanan darah normal). Kombinasi ekstrak SKM yang diuji terdiri dari dua peringkat dosis yaitu dosis 20,25 dan 40,5 mg/kg BB tikus. Pada kelompok normotensi dosis 20,25 dan 40,5 mg/kg BB tikus, persentase penurunan tekanan darah sistol yaitu sebesar $7,1 \pm 1,8 \%$ dan $10,2 \pm 2,6 \%$, sedangkan persentase penurunan tekanan darah diastol yaitu sebesar $13,8 \pm 3,2 \%$ dan $12,3 \pm 3,1 \%$. Pada kelompok hipertensi dosis 20,25 dan 40,5 mg/kg BB tikus, persentase penurunan tekanan darah sistol yaitu sebesar $16,10 \pm 0,90 \%$ dan $15,84 \pm 1,55 \%$, sedangkan persentase penurunan tekanan darah diastol yaitu sebesar $19,48 \pm 1,03 \%$ dan $17,77 \pm 1,34 \%$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak SKM memiliki efek penurunan tekanan darah baik pada tikus normotensi maupun hipertensi.

Kata kunci : *Non Invasive Blood Pressure, Seledri, kumis kucing, dan mengkudu*

Corresponding Author : Rumiyati
Email : rumiyaris@ugm.ac.id

PENDAHULUAN

Penggunaan bahan alam untuk mengobati dan mencegah penyakit sudah banyak dilakukan oleh masyarakat di dunia (Rapavi *et al.*, 2000; Aceves-Avilla *et al.*, 2001) dan akhir-akhir ini penelitian terkait dengan aktivitas bahan alam semakin meningkat (Navarro *et al.*, 1996; Okeke, *et al.*, 2001). Salah satu tanaman obat tradisional yang dikembangkan ke arah fitofarmaka adalah tanaman tanaman yang berfungsi sebagai antihipertensi.

Hipertensi adalah masalah utama kesehatan di dunia dan jumlah penderita semakin meningkat dari tahun ke tahun (Rawat *et al.*, 2016). Seiring dengan meningkatnya prevalensi hipertensi di Indonesia dan banyaknya faktor yang berpengaruh dalam pemilihan obat-obatan antihipertensi sintetik, maka dituntut terus untuk mengembangkan obat yang berasal dari alam. Seledri (*Apium graveolens*) telah diketahui mempunyai aktivitas antihipertensi (Gharouni & Sarkati, 2000) dengan adanya kandungan apigenin yang berperan sebagai antagonis kalsium sehingga mempunyai efek vasodilatasi atau vasorelaksasi (Chan *et al.*, 2000). Di dalam seledri juga terkandung senyawa dengan aktivitas vasorelaksan (Jorge *et al.*, 2013). Sementara itu kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) telah banyak digunakan sebagai diuretik di beberapa negara Asia Tenggara terutama Indonesia. Aktivitas diuretik ini disebabkan oleh adanya kandungan sinensetin yang mampu menurunkan tekanan darah (Almatar *et al.*, 2014). Buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) juga telah digunakan sebagai obat alternatif untuk antihipertensi (Nayak & Shettigar, 2010). Adanya kandungan skopoletin dalam buah mengkudu berperan penting dalam menurunkan tekanan darah melalui efek vasodilatasi melalui aksi sebagai ACE inhibitor (Kumar *et al.*, 2010; Yang, *et al.*, 2007).

Berdasarkan data di atas tanaman tanaman tersebut diketahui mempunyai aktivitas antihipertensi. Namun demikian, belum banyak dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antihipertensi yang dilakukan pada kombinasi ketiga ekstrak dari herba seledri (*Apium graveolens* L.), daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Untuk itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak herba seledri, daun kumis kucing dan buah mengkudu terhadap tekanan darah pada hewan uji tikus Sprague Dawley baik pada kondisi hipertensi maupun normotensi secara *in vivo*. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui persentase penurunan tekanan darah

pada kelompok normotensi dan efektivitas penurunan tekanan darah dibandingkan kaptopril melalui dosis yang diberikan pada kelompok hipertensi. Keberhasilan pengkombinasian ketiga tanaman tersebut dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengatasan dan pengobatan penyakit hipertensi dan diharapkan kombinasi tersebut dapat meningkatkan efek terapi pada penyakit hipertensi dengan adanya 3 mekanisme berbeda dari kombinasi tanaman tersebut.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Kombinasi ekstrak yang terdiri dari herba seledri, daun kumis kucing dan buah mengkudu (SKM) diperoleh dari produk "Gamatensi" dalam bentuk kapsul yang diproduksi oleh Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM dibawah tanggung jawab Dr.rer.nat. Yosi Bayu Murti, M.Si., Apt., metanol (teknis dan pro analisis, Merck), fenilefrin (Sigma), CMC-Na (PT. Brataco), *sterile water for irrigation* (PT. Otsuka), tikus betina galur Sprague Dawley (berat badan 200-250g) yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi UGM.

Alat-alat gelas (Pyrex), neraca analitik (Shimazu), *chamber* KLT (Camag), pinset, lampu UV 254 nm dan 366 nm, densitometer *scanner* Camag 3 dengan *software* WIN CATS, *sprit* injeksi (5 mL, Terumo) dan sonde (5 mL, OneMed) serta alat pengukur tekanan darah (*Non Invasive Blood Pressure System*) dari CODA®.

Jalannya Penelitian

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah. Hewan uji tikus galur Sprague Dawley dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu kelompok hewan normotensi dan hipertensi masing-masing terdiri dari 35 dan 42 ekor. Selanjutnya kelompok hewan normotensi dibagi lagi menjadi 5 sub kelompok dan kelompok hipertensi dibagi menjadi 6 sub kelompok dengan masing-masing sub kelompok terdiri dari 7 ekor hewan uji, sub kelompok 1 merupakan sub kelompok normal tanpa perlakuan, sub kelompok 2 sebagai kontrol negatif dengan CMC-Na 0,5 %, sub kelompok 3 sebagai kontrol positif dengan kaptopril, sub kelompok 4 dan 5 sebagai sub kelompok yang mendapatkan perlakuan dosis tunggal kombinasi ekstrak SKM secara oral (dalam CMC-Na 0,5 %) yang masing-masing besarnya dosis berturut-turut adalah 20,25 dan 40,5 mg/kg BB, dan sub kelompok 6 dari kelompok hipertensi sebagai sub kelompok kontrol hipertensi dengan fenilefrin.

Perhitungan dosis

Perhitungan dosis fenilefrin dan kaptopril berdasarkan dosis lazim yang digunakan pada manusia dengan BB 70 kg. Dosis lazim fenilefrin untuk sekali penggunaan sebagai adrenergik adalah 5-10 mg jika diberikan secara subkutan (s.c.). Dipilih dosis 10 mg untuk induksi hipertensi agar peningkatan tekanan darah maksimal. Hasil konversi dosis fenilefrin dari manusia ke tikus adalah 0,18 mg/ 200 g tikus (0,9 mg/kg BB tikus). Konsentrasi stok fenilefrin yang dibuat adalah 0,06 mg/mL dengan melarutkan fenilefrin dalam *sterile water for irrigation*. Dosis lazim kaptopril pada manusia untuk sekali penggunaan secara oral adalah 25 mg. Hasil konversi dosis kaptopril dari manusia ke tikus adalah 0,45 mg/ 200 g tikus (2,25 mg/kg BB tikus). Konsentrasi suspensi stok kaptopril yang dibuat adalah 0,15 mg/mL dengan mesuspensikan kaptopril dalam CMC Na 0,5 %.

Kombinasi ekstrak SKM yang dibuat dalam sediaan kapsul dengan dosis 450 mg dalam dua kapsul yang terdiri dari 150 mg ekstrak seledri, 150 mg ekstrak kumis kucing dan 150 mg ekstrak mengkudu. Hasil konversi kombinasi ekstrak dari dosis manusia ke tikus adalah 8,1 mg/200 g tikus (40,5 mg/kg BB tikus). Suspensi uji dibuat dengan dua dosis yaitu dosis I 4,05 mg/200 g tikus (20,25 mg/kg BB tikus) dan dosis II 8,1 mg/200g tikus (40,5 mg/kg BB tikus). Konsentrasi suspensi stok dosis I yang dibuat adalah 1,35 mg/mL dengan mesuspensikan ekstrak dalam CMC Na 0,5 %. Konsentrasi suspensi stok dosis II yang dibuat adalah 2,7 mg/mL dengan mesuspensikan ekstrak dalam CMC Na 0,5 %. Volume pemberian fenilefrin, kaptopril, dan kombinasi ekstrak SKM adalah 3mL untuk 200 g tikus.

Pembuatan subyek uji hipertensi

Kondisi hipertensi dari hewan uji dilakukan dengan cara memberi rangsangan pada sistem kardiovaskuler, dengan pemberian fenilefrin. Injeksi fenilefrin dicampurkan pada larutan infus, untuk keperluan ini kadar larutan fenilefrin dalam infus dibuat 0,06 mg/mL. Pemberian larutan fenilefrin dilakukan secara sub kutan yang diberikan dengan jeda 5 menit sebelum perlakuan, dengan injeksi fenilefrin ini tekanan darah sistolik meningkat hingga mencapai 150 mmHg atau 1,25 kali tekanan darah sistolik normal pada hewan uji tikus. Rangsangan pada sistem kardiovaskuler ini dilakukan dalam waktu sesaat dengan pemberian dosis tunggal dari injeksi fenilefrin.

Percobaan pengukuran efek hipotensi

Pengukuran tekanan darah dilakukan dengan metode *Non Invasive Blood Pressure* menggunakan *Non Invasive Blood System* dari CODA®. Metode non invasif ini menggunakan *tail-*

cuff yang ditempatkan di ekor tikus untuk memonitor tekanan darah. Sensor VPR yang terdapat pada alat ini juga memungkinkan adanya pengukuran noninvasif dari volume darah pada ekor tikus (Malkoff, 2005). Pengkondisian hewan uji pada *holder* dilakukan sekitar 10-15 menit sampai suhunya mencapai 30-31° C. Alat pengukur tekanan darah *Non Invasive Blood Pressure System* dari CODA® disiapkan dan disesuaikan terlebih dahulu pada suhu 30-31° C selama sekitar 15-30 menit. Hewan uji yang telah dimasukkan ke dalam *holder* kemudian dipasang-kann manset ekor, dan diletakkan pada papan penghangat selama 10-15 menit agar tekanan darah dapat terukur dengan tepat dan konsisten oleh sistem VPR *tail-cuff*. Suhu tubuh hewan uji harus terus dipantau agar tetap stabil, hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan kain lap pada bagian luar *holder*. Kecuali untuk suhu lingkungan, diatur agar paling tidak mencapai 26° C. Kondisi hewan uji juga harus dijaga agar tidak stres, karena hal ini akan mempengaruhi aliran darah ke ekor.

Pada kelompok normotensi, pengukuran tekanan darah dilakukan sebelum dan sesudah pemberian perlakuan yaitu setelah 30 menit. Penetapan pengukuran tekanan darah 30 menit setelah pemberian perlakuan didasarkan pada hasil uji pendahuluan yang dilakukan. Pada kelompok hipertensi, hewan uji diukur terlebih dahulu tekanan darahnya sebagai *baseline* atau menit ke-0 sebelum pemberian perlakuan. Uji pada tikus normotensi dilakukan setelah tekanan darah stabil kombinasi ekstrak SKM diberikan secara oral dengan dosis tunggal yang besarnya untuk masing-masing kelompok adalah seperti tersebut di atas. Pengukuran tekanan darah dilakukan selama 1,5 jam dengan interval waktu 15 menit setelah semua kelompok hewan uji diberikan perlakuan. Pemberian fenilefrin pada semua kelompok kecuali kelompok normal tanpa perlakuan dilakukan setelah didapatkan tekanan darah menit ke-0. Pada kelompok kontrol negatif dengan CMC-Na 0,5 %, kelompok kontrol positif dengan kaptopril sebagai pembanding, dan kelompok perlakuan kombinasi ekstrak SKM, pemberian CMC-Na 0,5 % per oral, kaptopril per oral, dan kombinasi ekstrak SKM dilakukan dengan jeda waktu 5 menit setelah pemberian fenilefrin subkutan. Langkah yang sama juga dilakukan pada subyek uji normotensi, namun tanpa adanya injeksi fenilefrin.

Analisis Data

Data yang didapat dari pengukuran tekanan darah tikus galur Sprague Dawley dengan *Non Invasive Blood System* dari CODA® berupa data tekanan darah sistolik dan diastolik dalam satuan mmHg. Pada kelompok normotensi, data tekanan

darah sistolik dan diastolik dihitung rata-rata sebelum dan sesudah perlakuan. Setelah itu dilakukan perhitungan data selisih tekanan darah dan persentase perubahan tekanan darah dengan rumus :

$$\text{selisih tekanan darah (TD)} = \text{TD sesudah} - \text{TD sebelum}$$

$$\text{Persentase perubahan TD} = \frac{(\text{TD sesudah} - \text{TD sebelum})}{\text{TD sebelum}} \times 100 \%$$

Analisis data dilanjutkan dengan analisis statistik yaitu uji parametrik jika syarat normalitas dan variansi data terpenuhi atau uji nonparametrik jika syarat normalitas dan variansi data tidak terpenuhi. Uji parametrik dilakukan dengan *Paired Sample T Test* dan *One Way Analysis of Variance (ANOVA)* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey HSD*, sedangkan uji nonparametrik dilakukan dengan *Wilcoxon Signed Rank Test* dan *Kruskall Wallis Test* yang dilanjutkan dengan *Mann Whitney Test*.

Pada kelompok hipertensi, data tekanan darah sistolik dan diastolik masing-masing dihitung rata-ratanya tiap 15 menit pada setiap kelompok serta dibuat grafik hubungan tekanan darah dengan waktu. Untuk kelompok subyek hipertensi, AUC tekanan darah sistolik dan diastolik masing-masing kelompok perlakuan dihitung untuk dianalisis lebih lanjut secara statistik. Perhitungan AUC sebagai berikut:

$$[AUC]_{tn-1}^{tn} = [(TD_{n-1} + TD_n)(tn - tn_{-1})] / 2$$

di mana $[AUC]_{tn-1}^{tn}$ adalah *Area Under Curve* selama menit ke- $n-1$ hingga menit ke- n , TD_{n-1} adalah tekanan darah (mmHg) pada menit ke- $n-1$, TD_n adalah tekanan darah (mmHg) pada menit ke- n , tn_{-1} adalah waktu (menit) ke- $n-1$ dan tn adalah waktu (menit) ke- n . Untuk mengetahui daya hipotensif dari kelompok subyek hipertensi dinyatakan % PTDHF (% penurunan tekanan darah hipertensi yang diinduksi fenilefrin) yang dinyatakan sebagai berikut :

$$\frac{\sum AUC_{0-90} (C) - \sum AUC_{0-90} (P)}{\sum AUC_{0-90} (C)} \times 100\%$$

di mana, $\sum AUC_{0-90} (C)$ adalah *Area Under Curve* purata kumulatif selama 90 menit kelompok CMC-Na 0,5 % yang diinduksi fenilefrin dan $\sum AUC_{0-90} (P)$ adalah *Area Under Curve* purata kumulatif selama 90 menit kelompok perlakuan (kaptopril/kombinasi ekstrak SKM dosis 20,25 dan 40,5 mg/kg BB) yang diinduksi fenilefrin. Untuk melihat adanya perbedaan persentase penurunan tekanan darah dari kelompok subyek hipertensi digunakan uji parametrik ANOVA dan dilanjutkan dengan perbandingan antarkelompok menggunakan uji *Post Hoc Tukey HSD* dengan taraf kepercayaan 95 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek hipotensif pada tikus normotensi

Purata tekanan darah sebelum dan sesudah perlakuan, selisih tekanan darah, dan persentase perubahan tekanan darah setiap kelompok ditunjukkan pada Tabel I dan II. Purata selisih dan persentase perubahan tekanan darah yang bernilai negatif menunjukkan adanya penurunan tekanan darah, sedangkan nilai positif menunjukkan adanya peningkatan tekanan darah.

Tabel I menunjukkan bahwa pemberian perlakuan dengan kombinasi ekstrak SKM dosis 40,5 mg/kg BB tikus memberikan efek penurunan tekanan darah sistolik lebih besar ($10,2 \pm 2,6$ mmHg) dibandingkan dosis 20,25 mg/kg BB tikus ($7,1 \pm 1,3$ mmHg). Hasil analisis statistik tekanan darah sistolik dengan *Wilcoxon Signed Ranks Test* menunjukkan bahwa penurunan tekanan darah yang terjadi berbeda signifikan ($p < 0,05$).

Sementara itu dari Tabel II dapat dilihat bahwa pemberian perlakuan dengan kombinasi ekstrak SKM dosis 20,25 mg/kg BB tikus memberikan efek penurunan tekanan darah diastolik lebih besar ($13,8 \pm 3,2$ mmHg) dibandingkan dosis 40,5 mg/kg BB tikus ($12,3 \pm 3,1$ mmHg). Hasil analisis statistik tekanan darah sistolik dengan *Paired Sample T Test* menunjukkan bahwa penurunan tekanan darah yang terjadi berbeda signifikan ($p < 0,05$).

Hasil analisis statistik selanjutnya menggunakan metode ANOVA menunjukkan bahwa adanya perbedaan persentase perubahan tekanan darah sistolik dan diastolik yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Hasil uji *Post Hoc-Tukey* menunjukkan bahwa persentase perubahan tekanan darah sistolik kelompok kombinasi ekstrak SKM dosis 40,5 mg/kg BB tikus dan kaptopril dosis 2,25 mg/kg BB tikus berbeda signifikan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan dan CMC Na.

Efek hipotensif pada tikus hipertensi

Hubungan antara tekanan darah sistolik dan diastolik terhadap waktu masing-masing ditunjukkan pada gambar 1 dan 2. Nilai basal tekanan darah sistolik maksimal setelah pemberian fenilefrin adalah $153,4 \pm 3,1$ mmHg ($n=7$) sedangkan nilai basal tekanan darah diastolik maksimal setelah pemberian fenilefrin adalah $120,0 \pm 3,9$ mmHg ($n=7$) yang keduanya terjadi pada menit ke 30. Penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik pada kelompok hipertensi mulai terjadi pada menit ke 30 dengan adanya pengaruh fenilefrin yang meningkatkan tekanan darah dengan maksimal. Secara umum pola grafik tekanan darah masing-masing

Tabel I. Data purata, selisih, dan persentase perubahan tekanan darah darah sistol

Perlakuan	Tekanan Darah Sistol (TDS) (mmHg) \pm SE			
	Purata TDS Sebelum	Purata TDS Sesudah*	Selisih Purata Tekanan Darah	Purata % Perubahan
Kontrol Tanpa Perlakuan	134,0 \pm 2,6	133,7 \pm 3,3	-0,3 \pm 2,2	-0,2 \pm 1,7
CMC Na	125,9 \pm 5,4	123,4 \pm 5,2	-2,4 \pm 1,3	-1,9 \pm 1,2
Kaptopril (2,25 mg/kg BB tikus)	132,3 \pm 2,7	117,9 \pm 3,7	-14,4 \pm 2,7	-10,9 \pm 2,1
Kombinasi Ekstrak SKM (20,25 mg/kg BB tikus)	133,6 \pm 2,2	124,1 \pm 3,2	-9,4 \pm 1,7	-7,1 \pm 1,3
Kombinasi Ekstrak SKM (40,5 mg/kg BB tikus)	132,5 \pm 1,5	122,4 \pm 2,6	-14,1 \pm 3,7	-10,2 \pm 2,6

Keterangan: * 30 menit sesudah pemberian perlakuan

Tabel II. Data purata, selisih, dan persentase perubahan tekanan darah darah diastole

Perlakuan	Tekanan Darah Diastol (TDD) (mmHg) \pm SE			
	Purata TDD Sebelum	Purata TDD Sesudah*	Selisih Purata Tekanan Darah	Purata % Perubahan
Kontrol Tanpa Perlakuan	101,3 \pm 3,0	103,4 \pm 3,2	2,1 \pm 2,7	2,4 \pm 2,9
CMC Na	95,0 \pm 5,7	95,7 \pm 4,6	0,7 \pm 2,4	1,5 \pm 2,8
Kaptopril (2,25 mg/kg BB tikus)	96,0 \pm 1,9	88,3 \pm 4,1	-7,7 \pm 3,1	-8,2 \pm 3,4
Kombinasi Ekstrak SKM (20,25 mg/kg BB tikus)	102,3 \pm 2,2	87,7 \pm 2,4	-14,4 \pm 3,7	-13,8 \pm 3,2
Kombinasi Ekstrak SKM (40,5 mg/kg BB tikus)	105,9 \pm 1,3	92,3 \pm 3,7	-13,0 \pm 3,3	-12,3 \pm 3,1

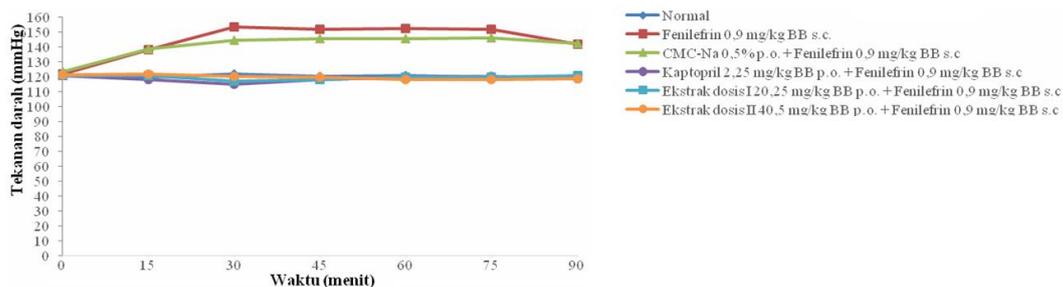
Keterangan: * 30 menit sesudah pemberian perlakuan

kelompok perlakuan tersebut mirip, tetapi perbedaan pola yang mencolok ditunjukkan oleh kelompok kontrol hipertensi dengan fenilefrin dan kelompok kontrol negatif yang diberikan CMC Na 0,5 % secara oral. Pada kelompok kontrol hipertensi dengan feniefrin terdapat puncak pada menit ke-30 (153,4 mmHg) begitupun dengan kelompok kontrol negatif yang diberikan CMC Na 0,5 % memiliki puncak pada menit ke-60 (145,8 mmHg) yang terlihat jelas pada kedua kelompok tersebut dengan kisaran tekanan darah lebih tinggi daripada kelompok lainnya. Kelompok normal yang tanpa diberi perlakuan memiliki tekanan darah stabil selama 1,5 jam pengukuran dan masih dalam rentang normal (\pm 120 mmHg). Tekanan darah pada menit ke-0 (*baseline*) pada seluruh kelompok masih dalam rentang nilai normal (\pm 120 mmHg). Dari enam kelompok yang tekanan darah sistolik digambarkan pada grafik, terdapat tiga kelompok yang memiliki pola grafik paling mirip dan sangat berdekatan satu sama lain, yaitu kelompok normal tanpa diberi perlakuan, kelompok kombinasi ekstrak dosis 20,25 mg/kg BB (dosis I) dan kelompok kombinasi ekstrak dosis 40,5 mg/kg BB (dosis II). Pada kelompok yang diberi kaptopril dosis 2,25

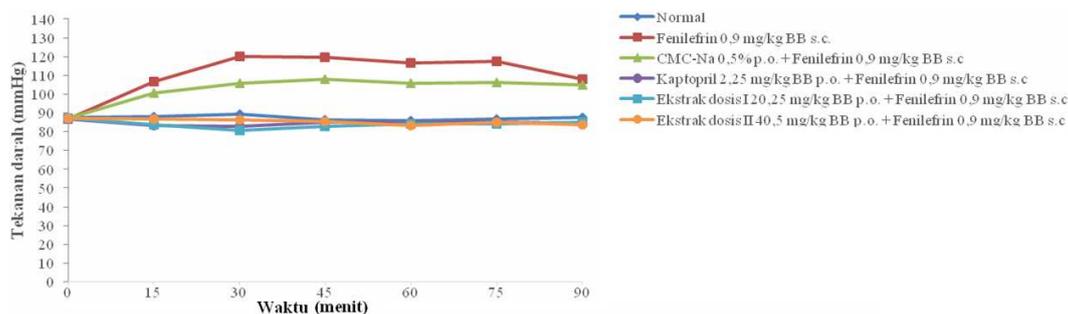
mg/kgBB sebenarnya memiliki pola grafik yang juga mirip dengan tiga kelompok di atas, namun pada menit ke-30 tekanan darah sistolik pada kelompok ini turun cukup jauh dibanding tiga kelompok lainnya yaitu sebesar 114,8 mmHg.

Pola grafik tekanan darah diastolik masing-masing kelompok hewan uji yang ditunjukkan memang memiliki karakter yang hampir sama dengan pola grafik tekanan darah sistolik, namun keduanya tentu memiliki perbedaan karena data yang diperoleh tidak pasti identik. Tekanan darah sistolik mencerminkan hal yang berbeda dengan tekanan darah diastolik. Tekanan darah sistolik merupakan tekanan darah tertinggi dalam pembuluh darah dan terjadi saat jantung berkontraksi atau berdetak, sedangkan tekanan darah diastolik merupakan tekanan darah terendah dalam pembuluh darah di antara detak jantung saat otot jantung relaksasi (Anonim, 2013^a).

Untuk membandingkan adanya perbedaan tekanan darah antarkelompok tikus SD betina yang diuji, diperlukan data onset dan durasi, begitu pula dengan pengolahan data secara statistik nantinya, data seluruh kelompok tikus yang dibandingkan adalah data AUC tekanan



Gambar 1. Kurva hubungan purata tekanan darah sistolik (mmHg) terhadap nilai basal hipertensif (153,4 ± 3,1 mmHg) vs waktu dari seluruh kelompok hewan uji (n=7).



Gambar 2. Kurva hubungan purata tekanan darah diastolik (mmHg) terhadap nilai basal hipertensif (120,0 ± 3,9 mmHg) vs waktu dari seluruh kelompok hewan uji (n=7).

darah sesuai durasi. Semua kelompok hewan uji yang diberi perlakuan memiliki durasi selama 90 menit setelah induksi hipertensi dengan fenilefrin dan onset ditunjukkan 15 menit setelah induksi hipertensi dilakukan, hal ini dapat diketahui dari pola grafik purata tekanan darah sistolik dan diastolik terhadap waktu yang telah ditunjukkan sebelumnya, dan grafik hubungan waktu dengan purata tekanan darah masing-masing kelompok secara terpisah yang menunjukkan bahwa induksi fenilefrin masih memberikan efek hingga pengukuran menit ke-90.

Seperti yang telah digambarkan pada pola grafik tekanan darah sistolik dan diastolik sebelumnya, bahwa tekanan darah setiap kelompok hewan uji pada menit ke-0 (*baseline*) tidak memiliki perbedaan yang jauh antara satu dan lainnya, yaitu tekanan darah sistolik sekitar 120 mmHg dan tekanan darah diastolik sekitar 80 mmHg. Hal ini perlu diperkuat dengan melakukan analisis statistik menggunakan data tekanan darah seluruh tikus pada setiap kelompok hewan uji dengan ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan tekanan darah pada menit ke-0 (*baseline*) dari setiap kelompok uji. Uji ANOVA dilakukan dengan syarat bahwa data yang diuji memiliki distribusi normal (signifikansi > 0,05) dan varian data yang homogen (signifikansi > 0,05).

Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa purata populasi terdistribusi normal dan memiliki varian yang homogen (signifikansi > 0,05) baik sistolik maupun diastolik. Sementara pada hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa tekanan darah sistolik dan diastolik seluruh tikus pada menit ke-0 (*baseline*) tidak memiliki perbedaan bermakna dengan nilai signifikansi 0,472 (>0,05) untuk tekanan darah sistolik dan 0,851 (>0,05) untuk tekanan darah diastolik.

Dari data AUC kumulatif menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($P > 0,05$) dari masing-masing kelompok, yang menggambarkan adanya efek penurunan tekanan darah yang disebabkan oleh pemberian kombinasi ekstrak SKM yang masih dalam pengaruh pemberian fenilefrin. Nilai % PTDHF yang diperoleh dari AUC kumulatif masing-masing kelompok tersaji pada tabel IV.

Hasil uji ANOVA dari data di atas menunjukkan bahwa persentase penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik dari kombinasi ekstrak SKM dosis 20,25 dan 40,5 mg/kg BB pada hewan uji hipertensi tidak berbeda signifikan dengan persentase penurunan tekanan darah yang disebabkan oleh pemberian kaptopril. Hal ini menunjukkan pemberian kombinasi ekstrak SKM pada hewan uji hipertensi

Tabel III. Purata tekanan darah sistolik dan diastolik kumulatif seluruh kelompok hewan uji selama durasi 90 menit

Kelompok Perlakuan	Purata AUC Tekanan Darah Kumulatif (mmHg.menit) ± SE	
	Sistolik	Diastolik
Normal	10.851,9 ± 106,9*	7.851,6 ± 105,4*
Fenilefrin 0,9 mg/kg BB s.c. ^{*)}	13.189,6 ± 214,2	10.171,1 ± 229,5
CMC-Na 0,5% p.o. ^{*)}	12.787,3 ± 154,4	9.345,3 ± 127,9
Kaptopril 2,25 mg/kg BB p.o. ^{*)}	10.653,5 ± 179,2*	7.614,9 ± 258,6*
Kombinasi ekstrak SKM dosis 20,25 mg/kg BB p.o. ^{*)}	10.729,0 ± 102,8*	7.525,3 ± 101,2*
Kombinasi ekstrak SKM dosis 40,5 mg/kg BB p.o. ^{*)}	10.762,2 ± 149,4*	7.684,6 ± 101,2*

Keterangan : * = berbeda bermakna terhadap basal (fenilefrin 0,9 mg/kg BB)

Tabel IV. Harga persentase penurunan tekanan darah pada hewan uji hipertensi terhadap CMC-Na 0,5% selama durasi 90 menit (%PTDHF)

Kelompok Perlakuan	Persentase Penurunan Tekanan Darah (%) ± SE	
	Sistolik	Diastolik
Kaptopril 2,25 mg/kg BB p.o	16,69 ± 1,91	18,52 ± 2,88
Kombinasi ekstrak SKM 20,25 mg/kg BB p.o	16,10 ± 0,90	19,48 ± 1,03
Kombinasi ekstrak SKM 40,5 mg/kg BB p.o	15,84 ± 1,55	17,77 ± 1,34

memiliki efektivitas sebanding dengan kaptopril dalam menurunkan tekanan darah sistolik maupun diastolik. Nilai % PTDHF tidak mengalami kenaikan dengan adanya peningkatan dosis kombinasi ekstrak SKM.

Kelompok kontrol positif menggunakan kaptopril sebagai pembandingnya. Mekanisme penurunan darah pada kelompok tersebut melalui penghambatan pada enzim *angiotensin converting enzyme (ACE inhibitor)*. *ACE inhibitor* menghambat perubahan AI menjadi AII sehingga terjadi vasodilatasi dan penurunan sekresi aldosteron, vasodilatasi secara langsung akan menurunkan tekanan darah, sedangkan berkurangnya aldosteron akan menyebabkan ekskresi air dan natrium dan retensi kalium (Syarif *et al.*, 2007). Sementara pada kelompok perlakuan dosis kombinasi ekstrak herba seledri, daun kumis kucing, dan buah mengkudu, mekanisme penurunan tekanan darah yang terjadi merupakan kombinasi dari kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ketiga tanaman tersebut. Kandungan apigenin pada herba seledri diketahui dapat menurunkan tekanan darah dengan memblokir influks kanal kalsium (Ca^{2+} Channel Blocker) (Jorge *et al.*, 2013). Pada daun kumis kucing terdapat kandungan sinensetin yang dapat menurunkan tekanan darah dengan sifat diuretiknya sehingga akan meningkatkan jumlah volume urin (Arafat *et al.*, 2008). Teramati selama penelitian, tikus cukup sering mengeluarkan urin.

Kandungan skopoletin pada buah mengkudu diketahui memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim *angiotensin converting enzyme (ACE inhibitor)* yang nantinya berefek pada penurunan tekanan darah (Yamaguchi *et al.*, 2002). Adanya kandungan sinensetin dan skopoletin pada kombinasi ekstrak yang masing-masing memiliki aktivitas sebagai diuretik dan *ACE inhibitor* terbukti secara potensiasi dapat menurunkan tekanan darah (Syarif *et al.*, 2007). Aktivitas sebagai *ACE inhibitor* secara in vitro juga ditunjukkan oleh ekstrak tanaman daun ketela ungu (*Vigna unguiculata*); daun bawang (*Allium fistulosum*) dan daun singkong (*Manihot utilissima*) (Rumiyati *et al.*, 2016).

Penelusuran mekanisme kombinasi ekstrak herba seledri, daun kumis kucing, dan buah mengkudu dalam menurunkan tekanan darah perlu diteliti lebih lanjut karena kemungkinan selain kandungan apigenin, sinensetin dan skopoletin, dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa lain dari kombinasi ekstrak tersebut.

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak SKM dapat menurunkan tekanan darah baik pada subyek normotensi maupun hipertensi. Data menunjukkan bahwa efek hipotensif dari kombinasi ekstrak SKM pada kelompok hipertensi lebih tinggi dari kelompok normotensi. Pada kelompok normotensi, kombinasi ekstrak SKM dosis 20,25 mg/kg BB

tikus menghasilkan persentase penurunan tekanan darah sistol sebesar $7,1 \pm 1,8$ % dan tekanan darah diastol sebesar $13,8 \pm 3,2$ %, sedangkan kombinasi ekstrak SKM dosis 40,5 mg/kg BB tikus menghasilkan persentase penurunan tekanan darah sistol sebesar $10,2 \pm 2,6$ % dan tekanan darah diastol sebesar $12,3 \pm 3,1$ %. Untuk kelompok hipertensi, persentase penurunan tekanan darah sistolik sebesar $16,10 \pm 0,90$ % dan tekanan darah diastolik sebesar $19,48 \pm 1,03$ %, sedangkan dosis 40,5 mg/kg BB mampu menurunkan tekanan darah sistolik sebesar $15,84 \pm 1,55$ % dan tekanan darah diastolik sebesar $17,77 \pm 1,34$ % yang kedua dosis tersebut memiliki efektivitas sebanding dengan kaptopril.

DAFTAR PUSTAKA

- Arafat, O.M., Tham, S.Y., Sadikun, A., Zhari, I., Houghton, P.J., and Asmawi, M.Z., 2008. Studies on Diuretic and Hypouricemic Effect of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in Rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 354-364
- Aceves-Avila, F.J, Medina, F., & Fraga, A., 2001, Herbal Therapies in Pharmacology: The Persistence of Ancient Medical Practices, *Clinical and Experimental Rheumatology*, 19, 177-183.
- Almatar, M., Ekal, H.& Rahmat, Z., 2014, A Glance Applications of *Orthosiphon stamineus* and Some of its Oxidative Compounds, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 24(2), 84.
- Anonim, 2013, *A Global Brief on Hypertension*, 17, WHO Press, Geneva.
- Chan, E.C., Pannahpech, P.& Woodman, O.L., Relaxation to Flavones and Flavonols in Rat Isolated Thoracic Aorta: Mechanism of Action and Structure-Activity Relationship, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 5, 326-333.
- Gharouni, M.& Sarkati A., 2000, Application of *Apium graveolens* in Treatment of Hypertension, *Journal of Tehran University of Medical Sciences*, 3, 67-69.
- Jorge, V.G., Angel, J.R. L, Adrian, T.S., Francisco, A.C., Anuar, S.G., Angel, S.O. and Emmanuel, H.N., 2013, Vasorelaxant Activity of extracts obtained from *Apium graveolens*: Possible Source for Vasorelaxant Molecule Isolation with Potential Antihypertensive effect, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (10), 776-779
- Kumar, R., Kumar, A., Sharma, R.& Baruwa, A., 2010, Pharmacological Review on Natural ACE Inhibitors, *Der Pharmacia Lettre*, 2(2), 286.
- Navarro, V., Villarreal, M.L., Rojas, G., & Lozoya, X., 1996, Antimicrobial Evaluation of Some Plants Use in Mexican Traditional Medicine for Treatment of Infectious Diseases, *Journal of Ethnopharmacology*, 53, 143-147.
- Nayak, S. & Shettigar, R., 2010, *Morinda citrifolia*: a Review, *Journal of Pharmacy Research*, vol. 3, no. 8, 1872-1874.
- Okeke, M.I., Iroegbu, C.U., Eze, E.N., Okolali A.S., & Esimone, C.O., 2001, Evaluation of Extracts of the Root of *Landolphia Owerrience* for Antimicrobial Activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 78, 119-127.
- Rapavi, E., Blazovics, A., & Fehr, J., 2000, Therapeutic Herbs in Ancient Chinese Medicine, *Hungarian Medical Journal*, 141, 2093-2096.
- Rawat, P., Singh, P.K. & Kumar, V., 2016, Anti-hypertensive medical plants and their mode of action, *Journal of Herbal Medicine*, Vol. 6, No. 3, 107-118
- Rumiyati, Sudarsono, Susanto, B.O., Mayasari, S.K., Wijaya, R.N, 2016, In vitro Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitory assay of extracts containing phenolic compounds of edible plants, *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2016; 8(5) Suppl: 414-418
- Syarif, A., Estningtyas, A., Setiawati, A., Muchtar, A., Arif, A., Bahry, B., Suyatna, F., D., Dewoto, H., R., Utama, H., Darmansjah, I., Wiria, M, S., S., Nafrialdi, Wilmana, P. F., Ascobat, P, Setiabudy, R., Sunaryo, R., Wardhani, S., Suherman, S., K., Ganiswara, V., H., Arozal, W., Mariana, Y., H., Sadikin, Z., D., dan Louisa, M., 2007, *Farmakologi dan Terapi*, 354-356, Balai Penerbit FKUI, Jakarta
- Sherma, J. & Fied, B., 2003, *Handbook of Thin-Layer Chromatography*, 3rd Edition, Marcel Dekker, New York.
- Yamaguchi, S., Ohnishi, J., Sogawa, M., Maru, I., Ohta, Y. & Tsukada, Y., 2002, Inhibition of Angiotensin I Converting Enzyme by Noni (*Morinda citrifolia*) Juice, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, Vol 49, No 9, 625-626.
- Yang, S.C., Chen, T.I., Li, K.Y. & Tsai, T.C., 2007, Change in Phenolic Compound Content, Reductive Capacity and ACE Inhibitory Activity in Noni Juice during Traditional