

Efek Kombinasi Ekstrak Infusa Sambiloto, Salam, Kayu Manis , dan Temulawak Terhadap Kadar Nitrit Oksida Jaringan Arteri Ekor Tikus Wistar Jantan Model Hiperglikemia

Esterita Mintyatus Hazad, Nugroho Wibisono, Dini Sri Damayanti
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email: esteritamintyatus@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Diabetes mellitus (DM) is the metabolic disorder with a chronic hyperglycemic condition which can cause microvascular complication. Sambiloto (*Andrographis paniculata*), Salam (*Syzygium polyanthum*), Kayu Manis (*Cinnamomum verum*), and Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) is the herbs that have antioxidant dan hypoglycemia effect. Giving a combination of the four herbs can have a stronger effect in the antihyperglycemic mechanism. But, antihyperglycemic mechanism combination Sambiloto, Salam, Kayu Manis, and Temulawak effect on arterial tissue nitric oxide in vivo on hyperglycemia rats model never tested yet.

Method: This research was laboratory experimental *in vivo control group post test only design*. This research used male Wistar rats aged 2-3 months as a animal trial which were divided into 5 groups as samples, positive group, negative group, treatment group 1, treatment group 2 and treatment group 3. Hyperglycemic rats model induce by 10% High Fructose Diet (HFD) and repeatedly low-dose streptozotocin (STZ). Combination extracts of sambiloto, salam, kayu manis and temulawak with a dose of 125 mg / kgBB, 250 mg / kgBB, and 500 mg / kgBB given for 30 days. Nitric oxide tissue was examined using the SKT-2 Total Nitric Oxide Assay Kit. Data analysis used One Way ANOVA ($p < 0.05$).

Result: The result showed that the level NO in the KN is significantly higher than KP ($p < 0.05$). KP significantly different with P2. Giving combination of herbal with a dose of 250 mg/kgBB and 500mg/kgBB able to increase NO levels significantly compared to KP. The higher dose of the herbal combination ther is a tendency to reduce NO levels.

Conclusion: Combination of Sambiloto, Salam, Kayu Manis, and Temulawak infusion with a dose of 250 mg/kgBB was able to increase of arterial tissue nitric oxide in male hyperglycemia models of Wistar rats.

Keywords: *hyperglycemia, Combination of Sambiloto, Salam, Kayu Manis, Temulawak, Nitric Oxide Level of Arterial Tissue*

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) adalah suatu sindrom dengan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein terganggu akibat berkurangnya sekresi insulin atau sensitivitas jaringan terhadap insulin¹. Di dunia tahun 2017 penderita diabetes mencapai 425 juta jiwa dan Indonesia sebanyak 10,3 juta jiwa. Indonesia sendiri mendapat peringkat ke enam di dunia untuk prevalensi penderita diabetes². Menurut Riskesdas prevalensi diabetes meningkat dari tahun 2007 sampai tahun 2016 sebanyak 6,7% menjadi 6,9%³. Diabetes melitus terdapat 2 macam yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. Diabetes melitus tipe I terjadi karena autoimun yang menyebabkan kerusakan sel beta pankreas yang mengakibatkan defisiensi insulin absolut yang biasanya diketahui pada masa anak-anak⁴. Diabetes melitus tipe II terjadi karena penurunan sekresi insulin oleh sel beta pankreas yang ditandai dengan hiperglikemi, resistensi insulin dan defisiensi insulin relatif yang dapat disebabkan dari interaksi faktor resiko genetik, perilaku dan lingkungan yang sering ditemukan pada orang dewasa⁵.

Patomekanisme diabetes melitus memiliki hubungan erat dengan adanya hiperglikemi, peningkatan asam lemak bebas serta resistensi insulin yang dapat menyebabkan kerusakan dari endotel. Pada penderita diabetes dengan resistensi insulin transduksi sinyal dengan insulin melalui jalur *Phosphatidylinositol 3 Kinase* (PI3K) akan terganggu. Hal ini menyebabkan stimulasi eNOS oleh insulin lebih sedikit dan terjadi penurunan produksi NO, peningkatan produksi endotelin, terjadi inflamasi dan thrombosis. Kerusakan endotel ini dapat menyebabkan komplikasi DM pada organ vaskuler baik makrovaskuler maupun mikrovaskuler⁶.

Kerusakan endotel menyebabkan penghambatan *endothelial NOS* (eNOS) dan penurunan produksi *Nitric Oxide* (NO), hal ini merupakan penyebab komplikasi DM mikrovaskuler⁶. Komplikasi mikrovaskuler yang sering terjadi pada diabetes melitus tipe 2 antara lain retinopati, nefropati dan neuropati yang merupakan penyebab utama dari kebutaan, *end-stage renal disease* dan penyakit neuropati lainnya⁷. *Nitric oxide* (NO) dihasilkan oleh *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS), yang merupakan faktor kunci dalam mempertahankan homeostasis endotel sebagai vasodilator⁸. Kerusakan endotel ini dapat dilihat dari penurunan kadar *Nitric oxide* (NO) jaringan endotel.

Pemakaian herbal sudah mulai banyak digunakan masyarakat Indonesia untuk mengatasi masalah kesehatan salah satunya penyakit diabetes melitus. Beberapa ramuan herbal seperti sambiloto, daun salam, kayu manis dan temulawak digunakan masyarakat untuk mengobati masalah penyakit diabetes⁹. Masing-masing herbal memiliki potensi sebagai antioksidan yang mampu menurunkan kadar ROS. Sambiloto dan kayu manis memiliki potensi sebagai menghambat enzim α -Glukosidase sehingga mampu menurunkan kadar gula darah^{10,11}. Rimpang temulawak dan daun salam memiliki potensi sebagai antioksidan serta mampu mensekresi insulin dan meningkatkan NO sebagai faktor vasodilator sehingga mampu memperbaiki fungsi endotel^{12,13,14,15,16}.

Berdasarkan prevalensi Diabetes Mellitus yang tinggi terjadi akibat kondisi hiperglikemia kronis dan mengakibatkan komplikasi mikrovaskular serta kurangnya penelitian tentang mekanisme kombinasi herbal sambiloto, daun salam, kayu manis dan rimpang temulawak sebagai antioksidan dan antihiperglikemi. Pada penelitian Rahmawati (2014) menyebutkan bahwa kombinasi sambiloto, salam, kayu manis dan temulawak aman dan tidak toksik terhadap tikus¹⁷. Hal tersebut merupakan peluang bagi peneliti untuk melakukan pembuktian secara laboratorium pada hewan coba dengan mengukur kadar NO jaringan arteri ekor tikus Wistar jantan model hiperglikemia sebagai faktor kerusakan pada endotel pembuluh darah.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vivo*. Desain pada penelitian ini dengan *control group post test only design* yang bertujuan untuk menguji potensi pemberian ekstrak daun sambiloto, daun salam, kayu manis, dan rimpang temulawak terhadap kadar nitrit oksida jaringan arteri ekor tikus Wistar jantan model hiperglikemia dengan menginduksi *Streptozotocin* (STZ) dan *High Fructose Diet* (HFD), serta diberi perlakuan sonde kombinasi herbal selama 30 hari.

Penelitian ini dilaksanakan di *Animal House* dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari hingga Juli 2018.

Kelayakan Etik

Penelitian ini telah disetujui secara etik oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor 856-KEP-UB pada tanggal 5 Desember 2017.

Induksi Hiperglikemia

Tikus model hiperglikemia adalah tikus yang diinduksi dengan *Streptozotocin* (STZ) dosis rendah (25 mg/kgBB) secara intraperitoneal dilakukan berulang dengan cara ditambahkan buffer sitrat dengan pH 4,5 0,1 M sebanyak 2 ml/dosis pada hari ke-15 dan *High Fructose Diet* (HFD) 10% diberikan setelah aklimatisasi sampai perlakuan selesai^{18,19}. Selama 7 hari setelah aklimatisasi dan dilanjutkan sampai perlakuan selesai. Tikus dapat dikatakan hiperglikemia bila kadar glukosa darah puasa ≥ 126 g/dL.

Pemberian Infusa Kombinasi Herba Sambilo, Daun Salam, Kayu Manis dan Rimpang Temulawak

Pemberian infusa herbal dilakukan dengan cara merebus simplisia daun sambilo 5 gram, daun salam 3 gram, kayu manis 1 gram, dan rimpang temulawak 3 gram yang menggunakan pelarut air dengan perbandingan 1:10 selama pada suhu 90°C 10 menit, selanjutnya di evaporasi dengan suhu 80°C sampai 1/3 volume awal, kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu 45°C hingga menjadi ekstrak pasta 1/3 volume awal^{9,20}. Ekstrak pasta dibagi untuk 3 kelompok perlakuan dengan dosis 125 mg/kgBB (KP 1), dosis 250 mg/kgBB (KP 2), dan dosis 500 mg/kgBB (KP 3) setiap dosis dicampur dengan 2 ml air per sonde diberikan selama 30 hari.

Subjek Penelitian

Tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan usia 2-3 bulan yang memiliki berat badan 120-200 gram, diaklimatisasi selama 7 hari, diberi makan dan minum standar laboratorium. Pengelompokan sampel terbagi atas kelompok negatif (KN, n=5), kelompok positif (KP, n=5), kelompok perlakuan 1 (KP 1, n=5), kelompok perlakuan 2 (KP 2, n=5), kelompok perlakuan 3 (KP 3, n=5) sehingga total hewan coba yang digunakan adalah sebanyak 25 ekor.

Pengambilan Sampel Arteri Ekor Tikus

Tikus difiksasi posisi supinasi, kemudian dianestesi menggunakan ketamin dosis 40 mg/kgBB secara *intramuscular* (IM). Kulit ujung ekor tikus dipotong, selanjutnya ekor tikus dibedah vertikal mengikuti linea media pada bagian ujung ekor tikus menuju ke pangkal ekor menggunakan *surgical*

scissors sampai seluruhnya terbuka. Arteri dicari dibagian media berbentuk seperti benang panjang berwarna bening yang didalamnya terdapat darah, kemudian dipotong dari pangkal sampai dekat ujung ekor dan dimasukkan kedalam plastik tanpa cairan apapun untuk pemeriksaan nitrit oksida.

Pemeriksaan Kadar Nitrit Oksida Jaringan Arteri

Sampel jaringan ekor tikus dihaluskan dengan menggunakan mortar dan stamper dan tambahkan *buffer essay* kemudian pindahkan pada eppendorf lalu sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm ambil supernatan untuk dimasukkan ke dalam plate *Nitric Oxide Detection Kit*. Tambahkan 10 μ L NADH dan 10 μ L *Nitrate Reductase* kemudian inkubasi pada suhu kamar selama 20 menit. Setelah itu tambahkan 25 μ L dari Color Reagent A dan B dan inkubasi lagi pada suhu kamar selama 20 menit. baca hasil kadar nitrit oksida jaringan menggunakan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 540-570 nm. Pemeriksaan kadar nitrit oksida menggunakan *Total Nitric Oxide Assay Kit SKT-212*.

Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Setelah data dinyatakan terdistribusi normal selanjutnya dilakukan uji statistik *One Way ANOVA* dan kemudian dengan menggunakan *Post hoc LSD*. Hasil dikatakan bermakna bila $p < 0,05$. Semua analisa data dilakukan dengan memakai perangkat software statistik SPSS 16.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini menggunakan tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) sebagai sampel dengan usia 2-3 bulan dan berat badan 120-200 gram. Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari pada semua kelompok perlakuan dan sebanyak 5 sampel pada masing-masing kelompok. Karakteristik sampel pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 5.1 Karakteristik Sampel

Kelompok	KN	KP	KP1	KP2	KP3
Rerata BB awal (gram)	221,80±19,55	151,60±12,33	165,20±4,14	223,60±12,17	173,40±14,13
Rerata BB akhir (gram)	340,80 ^a ±33,43	219,80 ^b ±26,87	297,00 ^c ±19,27	280,40 ^{a,b,c,d} ±26,40	246,60 ^d ±11,37
Δ BB	119 ± 13.89	68.2 ± 14.53	131.8 ± 15.13	56.8 ± 14.23	73.2 ± 2.77
Rata-rata GDA awal (mg/dL)	103.20 ± 14.93	97.20 ± 3.15	93.00 ± 9.48	117.60 ± 1.63	116.40 ± 11.50
Rata-rata GDP	-	169.20 ± 36.50	205.60 ± 75.85	281.80 ± 57.71	136.00 ± 5.77
Hiperglikemi (mg/dL)					
Rata-rata GDP Akhir	97.80 ± 3.15	98.80 ± 5.90	96.60 ± 5.16	156.40 ± 56.08	117.60 ± 17.80

Keterangan :

Data dalam mean ± SE; KN : Kelompok negatif; KP : Kelompok positif; KP 1: Kelompok Perlakuan 1; KP 2: Kelompok Perlakuan 2; KP 3: Kelompok Perlakuan 3.

a:berbeda signifikan dengan KP dan KP3

b:berbeda signifikan dengan KN dan KP1

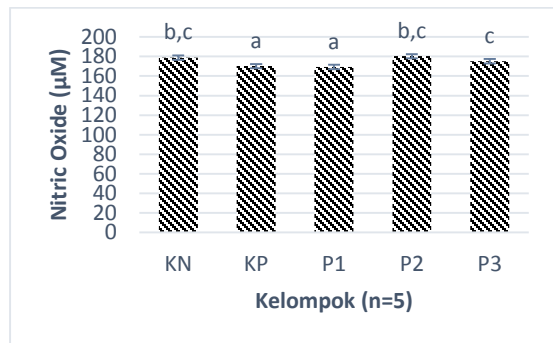
c:berbeda signifikan dengan KP

d:berbeda signifikan dengan KP

a,b,c,d : Tidak berbeda signifikan dengan KN, KP, KP1, KP2,KP3

Kadar Nitrit Oksida Jaringan Arteri Ekor Tikus

Hasil rerata kadar nitrit oksida jaringan yang didapatkan dari penelitian terhadap tikus model hiperglikemia yang diberikan kombinasi infusa daun sambiloto, daun salam, kayu manis, dan rimpang temulawak pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tertera pada tabel 2.



Gambar 5.2 Histogram Kadar Nitrit Oksida Jaringan Pada Tikus Hiperglikemi Yang Diberikan Infusa Kombinasi Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis, Dan Rimpang Temulawak

Keterangan:

Gambar 1 menunjukkan hasil rerata kadar nitrit oksida jaringan kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), kelompok perlakuan 1 (KP 1), kelompok perlakuan 2 (KP 2), dan kelompok perlakuan 3 (KP 3). Data dalam mean $\pm$ SE. Notasi berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

- a. Berbeda signifikan dengan KN
- b. Berbeda signifikan dengan KP
- c. Berbeda signifikan dengan P1

Analisa didapatkan ($p < 0,05$) yang menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kadar nitrit oksida jaringan arteri ekor tikus wistar jantan model hiperglikemia. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kadar nitrit oksida jaringan KN lebih tinggi secara signifikan dibandingkan KP.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 120-200 gram dan berkelamin jantan sebagai hewan coba. Menggunakan tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dikarenakan tikus ini mudah didapatkan dan penanganannya mudah serta kesamaan metabolisme antara manusia dengan tikus jenis ini sehingga dapat digunakan sebagai hewan coba pada penelitian²¹. Jenis kelamin jantan dipilih pada penelitian ini dikarenakan tidak ada pengaruh hormone estrogen yang akan

mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol²². Tikus jantan lebih peka terkena diabetes dengan kadar gula darah lebih tinggi dari tikus betina yang diinduksi *Streptozotocyn* (STZ) dengan dosis yang sama.

Hewan coba pada penelitian ini diaklimatisasi selama 7 hari dengan tujuan mengadaptasi tikus dengan lingkungan yang baru. Penempatan hewan coba setiap kandang berisikan satu ekor tikus supaya peneliti mudah dalam mengukur makanan antar hewan coba agar tidak tertukar, selain itu agar hewan coba terhindar dari perkelahian sesama hewan coba, terhindar dari penularan penyakit dan mempermudah untuk membedakan antar hewan coba. Diberikan makan dan minum standar setiap hari.

Penelitian ini membagi hewan coba menjadi 5 kelompok perlakuan dengan setiap kelompok terdiri dari 5 sampel. Kelompok perlakuan pada penelitian ini terdiri dari kelompok kontrol negatif (KN) yang hanya diberi pakan dan minum standar, kelompok kontrol positif (KP), kelompok perlakuan 1 (KP 1), kelompok perlakuan 2 (KP 2) dan kelompok perlakuan 3 (KP 3) diberi makan minum standard dan induksi HFD dan STZ. Pada KP 1, KP 2, KP 3 ditambahkan dengan pemberian kombinasi herbal sambiloto, daun salam, kayu manis dan rimpang temulawak dengan dosis masing-masing 125, 250 dan 500 mg/ 200gBB selama 30 hari.

Induksi hiperglikemi pada hewan coba menggunakan *High Fructose Diet* (HFD) dan *Streptozotocin* (STZ). *High Fructose Diet* (HFD) yang diberikan sebanyak 10% dengan perbandingan 8 ml HFD dan 72 ml air minum. HFD adalah komponen utama yang menyebabkan resistensi insulin dan sindroma metabolik. HFD akan di metabolisme didalam hati dengan bantuan *Glucose transport 2* (GLUT 2) dan *Glucose transport 5* (GLUT 5)²³. Mekanisme tersebut akan menyebabkan terjadinya kadar glukosa darah yang tinggi yang mengakibatkan terjadinya akumulasi trigliserida dan produksi asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini dapat berkontribusi dalam mengurangi sensitivitas insulin dan intoleransi glukosa²⁴. Resistensi insulin dapat terjadi jika konsumsi HDF dalam jangka panjang sedangkan dalam jangka pendek tidak akan meningkatkan sekresi insulin²⁵.

Streptozotocin (STZ) diberikan dengan dosis rendah 25 mg/200gBB diberikan berulang secara intra peritoneum¹⁸. STZ masuk kedalam sel β pankreas

yang dibantu oleh GLUT-2 sehingga terjadi alkilasi DNA yang merusak sel β pankreas dan menghasilkan radikal bebas²⁶. Mekanisme tersebut menyebabkan produksi insulin terganggu sehingga terjadi defisiensi insulin akibatnya glukosa yang dikonsumsi tidak terproses secara sempurna²⁷. STZ melalui 3 mekanisme dapat mempengaruhi glukosa darah yaitu: 1) sekresi insulin terlambat karena hilangnya respon insulin tahap pertama, 2) hiperglikemia yang disebabkan karena sensitivitas insulin menurun, 3) gagal memberikan stimulasi respon insulin²⁸.

Pada penelitian ini induksi STZ dosis rendah dan HFD 10% dapat meningkatkan kadar glukosa darah >125mg/dl pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Setelah diketahui pada kelompok perlakuan terjadi kondisi hiperglikemia maka selanjutnya diberikan kombinasi herbal.

Kombinasi herbal yang digunakan penelitian ini adalah sambiloto, daun salam, kayu manis dan rimpang temulawak. Kombinasi herbal tersebut memiliki efek sebagai antihiperglikemi¹⁷. Pemberian kombinasi herbal tersebut melalui sonde lambung dikarenakan dosis yang diberikan akan sesuai dengan penentuan pada penelitian, namun sonde lambung ini beresiko membuat tikus stress dan aspirasi ketika salah menyondakan. Tujuan menggunakan metode infudasi dikarenakan dapat menarik senyawa-senyawa metabolit yang terkandung didalam herbal seperti flavonoid, alkaloid, fenol, tannin, triterpenoid dan saponin, selain itu metode ini mudah digunakan karena hanya dengan merebus kombinasi herbal dengan air²⁹. Hasil infudasi di evaporasi dalam suhu 80°C sampai volumenya 1/3 dari volume awal, kemudian dioven dalam suhu 45°C sampai menjadi pasta kental. Pasta kental inilah yang kemudian diberikan kepada tikus perlakuan.

Dosis herbal yang digunakan pada penelitian ini mempertimbangkan dari kebiasaan para peramu jamu yang sering digunakan sebagai antihiperglikemia yakni sambiloto 5 g, daun salam 3 g, temulawak 3 g, dan kayu manis 1 g yang kemudian dijumlahkan dan dikonversikan (0,018) kedalam dosis tikus. Penentuan dosis herbal tersebut didapatkan berdasarkan dosis yang sudah sering digunakan oleh peramu jamu sebagai jamu antidiabetes⁹. Didapatkan dosis kombinasi keempat herbal pada tiap kelompok perlakuan sebanyak 125 mg/kgBB untuk KP1, 250 mg/kgBB untuk KP2, dan 500 mg/kgBB untuk KP3. Dosis tersebut kemudian ditambahkan dengan 2 ml air

lalu disondekan pada setiap tikus perlakuan dikarenakan ukuran maksimal lambung tikus sebesar 200 g sebesar 5 ml³⁰.

Efek Induksi STZ dan HFD terhadap Kadar Nitrit Oksida Jaringan Arteri Ekor Tikus Wistar Jantan Hiperglikemia

Uji Post Hoc LSD menunjukkan hasil yang signifikan antara kadar *nitric oxide* kelompok positif (KP) dengan kelompok negatif (KN). Induksi STZ menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas yang ditandai dengan penurunan sekresi insulin. Salah satu mekanisme STZ dalam menginduksi diabetes melitus dengan meningkatkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan diberbagai sel antara lain membran sel, protein dan DNA³¹. Peningkatan radikal bebas menyebabkan disfungsi endotel yang dapat dilihat dari penurunan kadar *nitric oxide* (NO) endotel. *High Fructose Diet* (HFD) dapat menyebabkan resistensi insulin melalui mekanisme asam urat terhadap NO pada disfungsi endotel dan melalui mekanisme *Reactive Oxygen Species* (ROS)³². Kelompok positif (KP) yang diinduksi STZ dan HFD diduga terjadi penurunan sekresi insulin dan resistensi insulin menyebabkan terjadinya hiperglikemi yang mengakibatkan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga terjadi kerusakan pada endotel yang ditunjukkan dengan penurunan kadar NO. Terjadinya kerusakan pada endotel ini juga didukung oleh penelitian Indira (2018) yang menunjukkan peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD setelah pemberian HFD 10% dan STZ dosis rendah³³.

NO ada 2 macam yaitu *inducible* NO dan *endothelial* NO. *Endothelial* NO dihasilkan oleh sel endotel sebagai vasodilator utama pembuluh darah. *Inducible* NO diinduksi oleh adanya inflamasi yang dihasilkan oleh makrofag yang teraktifasi³⁴. Induksi hiperglikemi akan menyebabkan peningkatan regulasi *inducible* NO dan penurunan *endothelial* NO sehingga bioavailabilitas NO menurun mengakibatkan disfungsi endotel³⁵. Pada penelitian ini diduga kadar NO yang terukur adalah kadar *endothelial* NO. Kerusakan sel endotel akan menurunkan kemampuan sel endotel untuk menghasilkan NO.

Efek Pemberian Infusa Daun Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis, dan Rimpang Temulawak Terhadap Kadar Nitrit Oksida Jaringan Arteri Ekor Tikus Wistar Jantan Hiperglikemia.

Hasil uji statistik ANOVA menunjukkan antar kelompok tikus penelitian terdapat perbedaan yang

signifikan kadar *nitric oxide* jaringan arteri ekor tikus ($p < 0,05$). Perbedaan yang signifikan ini menunjukkan bahwa kombinasi herbal sambiloto, daun salam, kayu manis dan rimpang temulawak dapat berpengaruh terhadap kadar *nitric oxide* jaringan arteri ekor tikus. Hal ini didukung dengan penelitian Syarifa (2018) yang menyatakan pemberian ekstrak sambiloto, salam, kayu manis dan temulawak mampu meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA tikus hiperglikemia³³.

Hasil uji Post Hoc LSD menunjukkan bahwa KP tidak berbeda signifikan terhadap KP1 dan KP3, namun lebih rendah secara signifikan dibandingkan KP 2. Tidak berbeda signifikan terhadap KP1 diduga karena dosis herbal yang diberikan pada kelompok KP1 masih rendah, oleh karena itu tidak mampu memperbaiki kerusakan yang terjadi pada endotel pembuluh darah. Dosis rendah tidak mempengaruhi sel beta pankreas sehingga tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah¹⁷. Belum adanya perbaikan pada endotel pembuluh darah ini yang menyebabkan kadar NO endotel menurun. Tidak berbeda signifikan dengan KP3 diduga karena dosis herbal terlalu tinggi. Dosis yang tinggi akan meningkatkan senyawa metabolik seperti flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan senyawa fenolik serta menghasilkan produk sampingan berupa *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan efek toksik³⁶. Efek toksik dari tingginya dosis tersebut tidak mampu memperbaiki kerusakan endotel pembuluh darah sehingga kadar nitrit oksida tetap tidak meningkat.

Antar perlakuan menunjukkan bahwa KP 1 lebih rendah secara signifikan dibandingkan KP 2 dan KP 3. Dosis herbal pada KP 2 dan KP 3 ini lebih tinggi dari pada KP 1 sehingga mampu memperbaiki kerusakan endotel dengan meningkatkan kadar *nitric oxide* jaringan arteri ekor tikus. Perbaikan kerusakan endotel pada tikus model hiperglikemi ini diduga karena adanya mekanisme dari senyawa metabolik yang terdapat dalam kombinasi herbal.

Sambiloto memiliki kandungan *andrographolide* yang mampu meningkatkan sekresi insulin serta menghambat α -glukosidase dan α -amilase sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah^{10,37}. Kayu manis memiliki kandungan senyawa fenolik yang mampu mencegah resistensi insulin sehingga dapat menurunkan kadar gula darah¹¹. Penurunan kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemi diduga juga menurunkan *Reactive*

Oxygen Species (ROS) sehingga mampu memperbaiki kerusakan endotel pembuluh dan meningkatkan kadar NO endotel. Daun salam memiliki kandungan flavonoid yang memiliki efek sebagai antioksidan dan mampu memperbaiki disfungsi endotel dengan meningkatkan nitrit oksida sebagai faktor vasodilator^{12,14}. Rimpang temulawak memiliki kandungan kurkuminoid dan flavonoid yang mampu menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan sekresi insulin oleh aktivitas kanal anion^{16,38}.

KP 2 tidak berbeda signifikan dengan KP 3. Diduga pada KP 2 dosis herbal yang diberikan merupakan dosis optimal. Penambahan dosis pada KP 3 tidak menyebabkan terjadinya perubahan efek, hal ini dikarenakan semakin banyak kandungan senyawa metabolik dalam pembuluh darah akan merusak sel endotelial dan menurunkan produksi NO³⁹. Akibatnya, pada kelompok KP 3 kadar NO lebih rendah dari kelompok normal.

KESIMPULAN

Hasil analisa data pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Kombinasi infusa herbal Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis pada dosis 250 mg/kgBB dapat meningkatkan secara signifikan kadar *nitric oxide* jaringan arteri ekor tikus Wistar jantan model Hiperglikemia.

SARAN

1. Melakukan penelitian lanjutan dengan melihat histologi pembuluh darah, ketebalan pembuluh darah dan pemeriksaan Circulating Endothelial Cell (CEC) untuk melihat kerusakan endotel.
2. Untuk penelitian selanjutnya supaya memperhatikan titik didih dari masing-masing herbal dalam memilih metode pembuatan herbal, jika zat aktif herbal memiliki titik didih yang tinggi maka bisa menggunakan metode panas jika tidak tahan terhadap panas maka bisa menggunakan metode dingin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada teman teman dalam kelompok penelitian SSKT yang telah bekerja keras dalam penelitian, Bu Umi Salamah, Amd selaku laboran yang telah membantu penelitian ini dalam pemeriksaan NO dan pak Rio Risandiansyah, S.Ked,

M.P selaku penguji kelayakan yang telah memberi masukan dalam perbaikan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Guyton, A. C., Hall, J. E., 2014. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 12. Jakarta : EGC.
- Han, C N., Kirigia, J., Mbanya, J C., Ogurstova, K., Guariguata, L., Rathmann, W., Roglic, G., Forouhi, N., Dajani, R., Esteghamati, A., Boyko, E., Hambleton, I., Montoya, O. L., Joshi, S., Chan, J., Shaw, J., Shamuël, T. A., Pavkow, M., & Reja, A. 2017. International Diabetes Federation Diabetes Atlas. Edition 8th.
- Riskesdas. Riset Kesehatan Dasar 2013. Badan penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.2013.
- Riddle, M. C., Bakris, G., Blonde, L., Boulton, A. J. M., D'aleccio, D., De Groot, M., Cefalu, W. T. (2018). Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *American Diabetes Association*, 41(Supplement 1), S1–S2. <https://doi.org/10.2337/dc18-Sint01>
- Abdulfatai, B. Olusegun, A. Obateru, Lateefat. 2012. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal* (2012) Vol. 27, No. 4: 269-273
- Lin KY, Ito A, Asagami T, et al. Impaired Nitric Oxide Synthase Pathway in Diabetes Mellitus: Role of Asymmetric Dimethylarginine and Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase. *Circulation*. 2002; 106(8): 987-992.
- Deepa V, D., Kiran, BR., & Gadwalkar Srikant R. (2014). Macrovascular And Microvascular Complications In Newly Diagnosed Type 2 Diabetes. *Vnitri Lekarstvi*, 54(3), 229–237. <https://doi.org/10.2337/dc06-2554>
- Shi, Y., Lüscher, T. F., & Camici, G. G. (2014). Dual Role Of Endothelial Nitric Oxide Synthase In Oxidized LDL-Induced, Mediated Oxidative Stress In Cultured Human Endothelial Cells. *PLoS ONE*, 9(9), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107787>
- Ahmad, F. A. (2012) Analisis Penggunaan Jamu Untuk Pengobatan Pada Pasien Di Klinik Saintifikasi Jamu Hortus Medicus Tawangmangu Tahun 2012. *Tesis*. Universitas Indonesia
- Shofa, A. F., Purba, A. V., & Setyahadi, S. (2017). Interaksi Ekstrak Sambilo (Andrographis paniculata (Burm.F.)Ness) dengan Glibenklamid terhadap Ekspresi Gen CYP3A4 pada Kultur Sel HepG2. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(1), 73. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.4.1.189>
- Roswiem, A. P., Anggriawan, M. B., & Nurcholis, W. (2015). Potensi Ekstrak Air Dan Etanol Kulit Batang Kayu Manis Padang (Cinnamomum Burmanii) Terhadap Aktivitas Enzim a-Glukosidase. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 23(2), 91–102. Retrieved from <http://academicjournal.yarsi.ac.id/ojs-2.4.6/index.php/jurnal-fk-yarsi/article/view/114>
- Yuliana, & Widarsa, T. (2014). Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Hitung Sel Kupffer Tikus Hiperglikemik Setelah Pemberian Dekok Daun Salam, 15(4), 541–547.
- Liem, S., Khumaidi, A., & Yuliet. (2015). Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Glibenklamid Dan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum Wight*) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan /(March), 42–47.
- Bahadoran, Z., Mirmiran, P. and Azizi, F. (2013). Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: A review. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/2251-6581-12-43.
- Rosidi, A., Khomsan, A., Setiawan, B., Riyadi, H., Briawan, D. (2014) 'Potensi Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb) Sebagai Antioksidan', *Prosiding hasil-hasil Seminar Nasional*, (1995).
- Hassan FI, F. A. (2014). Anti-Diabetic Effect Of *Curcuma Xanthorrhiza* On Adipogenesis Of 3t3-L1 Preadipocyte. *Hassan*, 3(2), 105–107
- Rahmawati, N., Prichatin, A., Dewi, K., & Widiyastuti, Y. (2015). The Effects Of Combined Medicinal Plants Infusion On Blood Glucose , Cholesterol , And Triglyceride Levels In Hyperglycemic Sprague-Dawley Rats, 6(2), 99–104.
- Abdel-reheim, E. S., Elmoneim, A. A. and Hosni, A. A. (2014) 'Fatty-Sucroed Diet/Minimal Dose of Streptozotocin-Treated Rat: A Novel Model of Gestational Diabetes Mellitus, Metabolic and Inflammatory Insight', *Journal of Diabetes & Metabolism*, 05(09). doi: 10.4172/2155-6156.1000430.
- Furman.2015.Streptozotocin- Induced Diabetic Models in Mice and Rats.Research Gate.
- Majid. 2013. Effect of Boiling on Total Phenolic Content and DPPH Antioxidant Activity of DiabecineTM Water Extracts.Institute Of Marine Biotechnology
- Sri, M., Ali, M. and Muliarta, K. (2013) 'Diet aterogenik pada tikus putih (Rattus norvegicus strain Wistar) sebagai model hewan aterosklerosis', *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 22(1), pp. 6–9. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Tambunan, S., Asni, E., Malik, Z., Ismawati. (2014). Histopatologi Aorta Tikus Putih (Rattus norvegicus strain wistar) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu', 2(1), pp. 23–42.

23. Zhang, D. M., Jiao, R. Q., & Kong, L. D. (2017). High Dietary Fructose: Direct Or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue And Organ Functions. *Nutrients*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/nu9040335>
24. Wu, H. W., Ren, L. F., Zhou, X., & Han, D. W. (2015) 'A high-fructose diet induces hippocampal insulin resistance and exacerbates memory deficits in male Sprague-Dawley rats', *Nutritional Neuroscience*, 18(7), pp. 323–328. doi: 10.1179/1476830514Y.0000000133.
25. Bray, G. A., Nielsen, S. J. and Popkin, B. M. (2004) 'Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity', *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(4), pp. 537–543. doi: 10.1093/ajcn/79.4.537.
26. Goud, B. J., Dwarakanath, V., & Chikka swamy, B. K. (2015). Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models. *Human Journals*, 3(1), 253–269. <https://doi.org/23497203>
27. Saputra, N. T., Suartha, I. N. and Dharmayudha, A. A. G. O. (2018) 'Agen Diabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus', *Buletin Veteriner Udayana*, 10(2), pp. 116–121. doi: 10.24843/bulvet.2018.v10.i02.p02.
28. Firdaus, Marliyati, S. A. and Roosita, K. (2016) 'Model Tikus Diabetes Yang Diinduksi Streptozotocin- Sukrosa Untuk Pendekatan Penelitian Diabetes Streptozotocin , Sucrose-Induce Diabetic Male Rats Model for Research', 12(1), pp. 29–34.
29. Novitasari, I. W. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Mangga Bacang. *Skripsi*. Pendidikan Dokter Universitas Tanjungpura.
30. Lingga, irine sondang, Citraningtyas, G. and Lolo, widya astuti (2014) 'Uji Efek Ekstrak Patikan Kebo (Euphorbia Hirta L) Sebagai Diuretik Pada Tikus Putih Jantan', 3(3), pp. 287–293.
31. E, Erwin., E, Etriwati., M, Muttaqien., Pangestininingsih, Tri Wahyu., Widyarini, Sitarina. (2013) 'Eksresi Insulin Pada Pankreas Mencit (Mus Musculus) Yang Diinduksi Dengan Streptozotocin Berulang', *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 7(2), pp. 97–100. doi: 10.21157/j.ked.hewan.v7i2.900.
32. Wulansari, D. D. and Wulandari, D. D. (2018) 'Pengembangan Model Hewan Coba Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan Induksi Diet Tinggi Fruktosa Intragastrik', 2(1), pp. 41–47.
33. Syarifa, I. W. K. 2018. Efek Pemberian Infusa Kombinasi Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis, dan Temulawak Terhadap Kadar SOD dan MDA Serum Tikus Hiperglikemia
34. Habib, S. and Ali, A. (2011) 'Biochemistry of nitric oxide', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 26(1), pp. 3–17. doi: 10.1007/s12291-011-0108-4.
35. Al-Farabi, M. J. (2013) 'Antibodi terhadap Advanced Glycation End Product, Cara Mutakhir Pencegahan Komplikasi Diabetes Melitus', *Cermin Dunia Kedokteran*, 40(11), pp. 807–814. Available at: [http://www.kalbemed.com/Portals/6/05_210Anti](http://www.kalbemed.com/Portals/6/05_210Anti%20bodi%20terhadap%20Advanced%20Glycation%20End%20Product%20Cara%20Mutakhir%20Pencegahan%20Komplikasi%20Diabetes%20Melitus.pdf) bodi terhadap Advanced Glycation End Product Cara Mutakhir Pencegahan Komplikasi Diabetes Melitus.pdf.
36. Hanin, N. N. F. and Pratiwi, R. (2017) 'Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (Acrostichum aureum L.) Fertil dan Steril di Kawasan Mangrove Kulon Progo, Yogyakarta', *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2(2), p. 51. doi: 10.22146/jtbb.29819.
37. Titi Komalasari, S. H. (2015). A Review on the Anti-diabetic Activity of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees based In-vivo Study. *International Journal of Pub Lic Health Science (IJPHS)* , 4(4), 256–263. Retrieved from [http://repository.umy.ac.id/bitstream/handle/123456789/2015/8717-20806](http://repository.umy.ac.id/bitstream/handle/123456789/2015/8717-20806diabetesmillitus.pdf?sequence=1) diabetes millitus.pdf?sequence=1
38. Husni, Z. B. I. N. (2016). *Andrographis Paniculata* And *Curcuma Xanthorrhiza* Extracts And Active Constituents Inhibit Morphine, (August).
39. Suhatri, Aldi, Y. and Dharma, N. S. (2013) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Gambir Terhadap Kadar EDRF (Endothelial Derrivat Relaxing Factors)/Nitrogen Mono Oksida (NO) Pada Hiperkholesterolemia', *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 18(1), pp. 56–60