

EFEK SARI BIJI KEDELAI (*Glycine max*), RIMPANG JAHE (*Zingiber officinale*) DAN KOMBINASINYA TERHADAP KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR ALFA (TNF- α) SERUM DAN DIAMETER LUMEN AORTA TIKUS MODEL DIABETES

Andi Miftah Ahsan, Helmin Elyani, Yudi Purnomo

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email : miftah.zb@gmail.com

ABSTRACT

Introduction : Macroangiopathy complication still become a problem in global health. Soybean seed and ginger rhizome are herbs which are used for therapy. Combination of soybean seed and ginger rhizomes to prevent diabetic macroangiopathy complication has never been studied. This study aims to determine effect of soybean seed, ginger rhizome, and its combination to prevent macroangiopathy diabetic complication by observing serum TNF- α levels and aortic lumen diameter of diabetic rat.

Methods : This study use 12-week-old *Sprague dawley* male rats, which divided into normal control groups, treatment control groups and 4 treatment groups. The rats were induced by high fat-fructose diet and 25 mg/kgBW of STZ injection intraperitoneally with multiple dose. The rats were administrated orally with soybean extract 5 g/kgBW, ginger rhizome 500mg/kgBW, combination of *delja* 1 and *delja* 2. Measurements of serum TNF- α are using microplate reader with wavelenght of 450 nm, while aortic lumen diameter measurements are using trinocular microscope at 40x magnification. Data analyzed by using One Way ANOVA analysis and Least Significat Difference ($p < 0,05$).

Results : Extract of ginger rhizome, combination of *delja* 1 and *delja* 2 could decrease serum TNF- α levels with the same potency by approximately 35% ($p < 0,05$). Extract of soyben seed, ginger rhizome, combination of *delja* 1 and *delja* 2 could inhibit the decreasing of aortic lumen diameter by consecutively 10%, 10%, 15% and 20%. Induction of high fat-fructose diet and STZ for treatment control group increased serum TNF alpha levels and decreased aortic lumen diameter.

Conclusion : Extract of ginger rhizome, combination of *delja* 1 and *delja* 2 could decrease serum TNF- α levels. Extract of soyben seed, ginger rhizome, combination of *delja* 1 and *delja* 2 could inhibit the decreasing of aortic lumen diameter

Keywords : Soybean, ginger, Combination, TNF- α , Aortic Lumen Diameter, Diabetes

PENDAHULUAN

Komplikasi makroangiopati pada diabetes melitus (DM) masih menjadi permasalahan kesehatan di dunia. Komplikasi makroangiopati diabetik adalah perubahan struktural maupun fungsional pada pembuluh darah besar akibat kondisi hiperglikemi kronis, dimana perubahan tersebut menyebabkan disfungsi sistem organ kardiovaskular¹. Penyakit jantung koroner (PJK), hipertensi, maupun gagal jantung merupakan bentuk dari komplikasi makroangiopati DM. Prevalensi PJK pada pasien DM mencapai 45-70%² dan komplikasi makroangiopati menjadi penyebab kematian utama pada DM dengan jumlah sekitar 70%³

Kondisi inflamasi berperan terhadap komplikasi makroangiopati pada DM. Hiperglikemi kronis meningkatkan produksi yang berlebihan dari *reactive oxygen species* (ROS) melalui beberapa mekanisme⁴. Peningkatan produksi ROS tanpa diimbangi pertahanan antioksidan yang memadai akan menimbulkan kondisi stress oksidatif dan kerusakannya pada jaringan. Kerusakan oksidatif meningkatkan pengeluaran beberapa mediator inflamasi salah satunya *tumor necrosis factor alfa* (TNF- α)⁵. TNF- α berperan terhadap peningkatan proliferasi sel otot polos vaskular

dan ekspresi adhesi molekul vaskular pada pasien DM⁶. Kondisi tersebut berpengaruh terhadap peningkatan ketebalan dinding vaskular dan penyempitan lumen vaskular sehingga fungsi vaskular terganggu.

Biji kedelai (*Glycine max*) dan rimpang jahe (*Zingiber officinale*) adalah herbal yang dikenal memiliki khasiat sebagai obat. Berdasarkan data empirik, biji kedelai sering dimanfaatkan untuk menurunkan kadar asam urat dan mencegah osteoporosis⁷. Sedangkan rimpang jahe sering digunakan sebagai obat influenza, demam, dan asma⁸. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa biji kedelai mengandung isoflavon berupa daidzein, genistein, dan glycitein, yang berpotensi sebagai antioksidan, anti inflamasi, dan *insulin sensitizer*⁹. Sedangkan rimpang jahe memiliki kandungan flavonoid berupa gingerol, shogaol, paradol, fenol, dan zingeron yang berperan sebagai antioksidan dan antidiabetik¹⁰. Penelitian mengenai kombinasi herbal masih jarang dilakukan, sementara kombinasi herbal sering digunakan untuk meningkatkan efikasi dan mengurangi efek samping pada pengobatan penyakit. Hingga saat ini pengujian potensi kombinasi biji kedelai dan rimpang jahe untuk pencegahan komplikasi makroangiopati diabetik belum pernah dilakukan. Oleh

karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai sari biji kedelai, rimpang jahe, serta kombinasinya untuk mencegah komplikasi makroangiopati diabetik dengan mengamati TNF- α dan diameter lumen aorta pada tikus model DM.

M E T O D E

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorik secara *in vivo* dengan *control group post test only design*. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biosains Universitas Brawijaya (UB), laboratorium Patologi Klinik UB, dan laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik UB Malang dengan sertifikat etik No. 823-KEP-UB.

Hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan jenis *Sprague dawley* dengan usia 12 minggu dan berat badan 180-200 gram. Tikus dipelihara pada kandang jenis *individual cage*, serta diberikan makan dan minum standar laboratorium. Tikus dibedakan menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 2 kelompok kontrol yaitu kelompok kontrol normal (KN) dan kontrol perlakuan (KP), serta 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok kedelai, jahe, kombinasi kedelai-jahe (delja) 1, dan kombinasi delja 2.

Pembuatan Tikus Model Diabetes

Setelah dilakukan adaptasi tikus, kelompok KP dan perlakuan diinduksi diet tinggi lemak-fruktosa (DTLF). Diet tinggi lemak terdiri dari susu pap 60%, kuning telur 5%, lemak sapi 25%, dan lemak kambing 10% dalam pakan 25 g/ekor/hari. Sedangkan fruktosa 20% dicampurkan dalam 50 ml/ekor/hari air minum. Setelah dilakukan induksi DTLF selama 9 minggu, tikus diinjeksi dengan Streptozotocin (STZ) dengan dosis 25 mg/kgBB intraperitoneal (ip) *multiple dose*¹¹. Kadar gula darah puasa (KGDP) diukur setelah 1 minggu pasca injeksi dan dinyatakan DM apabila KGDP mencapai >125 mg/dL¹².

Pembuatan Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe, dan Kombinasinya

Biji kedelai (*Glycine max*) yang digunakan berasal dari Varietas Argo Mulyo dengan surat keterangan determinasi No. 074/241/102.7/2017. Sedangkan rimpang jahe (*Zingiber officinale*) diperoleh dari Balai Materia Medika dengan surat keterangan determinasi nomor 074/211/102.7/2017. Dosis kedelai yang diberikan adalah 5000 mg/kgBB¹³. Pembuatan sari biji kedelai menggunakan metode digesti yaitu dengan mencampurkan 80 gram biji kedelai dan dipanaskan selama 15 menit, kemudian didiamkan selama 12 jam dan dicuci hingga kulit ari lepas. Sari biji kedelai kemudian diblender dan hasilnya diperas di atas penyaring, lalu ditambahkan air bersih hingga volumenya menjadi 100 ml dan dipanaskan pada suhu 50°C. Sedangkan dosis pemberian sari rimpang jahe adalah 500 mg/kgBB¹⁴. Pembuatan sari rimpang jahe menggunakan metode infudasi yaitu dengan

pemanasan 15 ml air hingga suhu mencapai 90°C, kemudian dimasukkan 1500 mg serbuk jahe ke dalam air dan dibiarkan selama 15 menit. Hasil sarisi rimpang jahe kemudian ditunggu hingga dingin, kemudian disaring dan dibuang ampasnya. Bentuk kombinasi delja dibuat dalam 2 dosis kombinasi yang berbeda yaitu 2500:250 mg/kgBB pada kelompok delja 1 dan 5000:500 mg/kgBB pada kelompok delja 2.

Preparasi Sampel Serum

Setelah dilakukan pengorbanan hewan coba dengan cara dislokasi leher, dilakukan pengambilan darah dari intra kardiak dan aorta abdominalis dengan menggunakan spuit 3 ml. Darah tersebut dimasukkan ke dalam vacuntainer non EDTA dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian dilakukan sentrifugasi selama 10-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk mendapatkan serum dari bagian supernatan.

Pengukuran Kadar TNF- α Serum

Pengukuran kadar TNF- α serum menggunakan TNF rat kit. Larutan sampel atau standard 50 μ L dimasukkan ke dalam well dan ditambahkan 50 μ L larutan Biotinylated Detection Ab kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C. Aspirasi pada masing-masing well dan ditambahkan 30 μ L wash buffer dan dicuci sebanyak 3 kali. Kemudian HRP conjugate working solution dimasukkan ke dalam well sebanyak 100 μ L lalu diinkubasi selama 30 menit. Tambahkan 90 μ L substrate reagent setelah diaspirasi, lalu diinkubasi selama 15 menit. Stop solution kemudian dimasukkan pada well sebanyak 50 μ L dan dibaca dengan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm.

Preparasi dan Pengukuran Diameter Lumen Aorta

Jaringan Aorta diiris 0,5 cm dari arkus aorta dan dimasukkan ke dalam botol flakon. Kemudian difiksasi menggunakan formalin 10% selama 24 jam lalu dehidrasi dengan alkohol selama 30 menit. Xylol murni diteteskan dan ditambahkan Parafin lalu dimasukkan dalam oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. Kemudian diganti parafin murni dan tunggu hingga mengeras di dalam oven. Jaringan diiris dan direkatkan pada object glass, lalu dilakukan pewarnaan menggunakan Hematoxylin-Eosin (HE) dan diamati menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 40x dengan satuan mikrometer (μ m). Pengukuran dilakukan pada 4 arah jarum jam (12:00-06:00, 01:30-07:30, 03:00-09:00, 04:30-09:30) kemudian dihitung rata-ratanya¹⁵.

Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas, apabila terdistribusi normal akan dilanjutkan uji beda menggunakan One Way ANOVA. Kemudian dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan. Hasil dinyatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Analisa data menggunakan software statistik SPSS versi 22.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik hewan coba yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Sampel

N = 5	K N	K P	Kedelai 5000 mg/KBB	Jahe 500 mg/kgBB	Delja 1 2500:250 mg/kgBB	Delja 2 5000:500 mg/kgBB
BB-awal (g)	285.4 $\pm$ 18,6	246.5 $\pm$ 26.5	217.2 $\pm$ 19.9	224.3 $\pm$ 19.0	254.6 $\pm$ 20.7	233 $\pm$ 19.3
BB pre-treat (g)	352.7 $\pm$ 29.7	300.5 $\pm$ 31.0	244.8 $\pm$ 17.7	225 $\pm$ 36.0	300.5 $\pm$ 19.6	297.3 $\pm$ 30.5
BB post treat (g)	336.6 $\pm$ 29.7 ^a	335.3 $\pm$ 38.7 ^a	253.2 $\pm$ 33.1 ^b	282.5 $\pm$ 45.3 ^c	312 $\pm$ 24.5 ^d	317.5 $\pm$ 31.8 ^d
Asupan Pakan (%)	74.7 $\pm$ 8.0	68.3 $\pm$ 13	89 $\pm$ 8	87 $\pm$ 11	72 $\pm$ 27	78,5 $\pm$ 27
KGDP awal (mg/dL)	92.6 $\pm$ 5.9	83.0 $\pm$ 0.8	85.0 $\pm$ 8.5	80.5 $\pm$ 5.1	87.75 $\pm$ 4.5	82.3 $\pm$ 5.7
KGDP pre-treat (mg/dL)	105.4 $\pm$ 7.5	201.3 $\pm$ 35	182.6 $\pm$ 43.1	168.5 $\pm$ 35.8	205.8 $\pm$ 56.5	163.5 $\pm$ 11.5
KGDP post-treat (mg/dL)	105.4 $\pm$ 7.5 ^a	139.0 $\pm$ 14.9 ^b	109.0 $\pm$ 13.2 ^c	132.3 $\pm$ 17.9 ^b	129.5 $\pm$ 9.4 ^b	124.0 $\pm$ 12.5 ^d

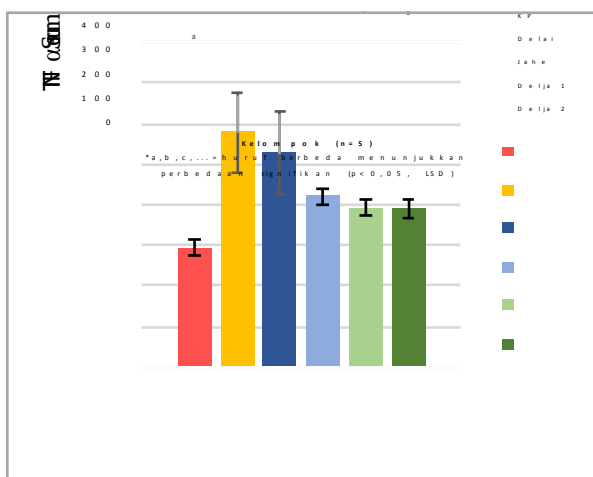
*a.b.c.... = huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$ LSD)

Berdasarkan tabel 1, terdapat penurunan berat badan (BB) pada kelompok kedelai, jahe, kombinasi delja 1 dan delja 2 dibandingkan KP ($p < 0,05$). Sedangkan KN tidak ditemukan perbedaan BB dibandingkan KP. Asupan pakan pada semua kelompok perlakuan cenderung meningkat dibandingkan dengan KP, tetapi pada kelompok kombinasi delja 1 dan 2 lebih rendah dibandingkan kelompok tunggalnya. KP mengalami penurunan asupan pakan dibandingkan dengan KN. KGDP pada kelompok kedelai dan kombinasi delja 2 mengalami penurunan ($p < 0,05$), sedangkan kelompok

jahe dan kombinasi delja 1 tidak berbeda signifikan dibandingkan KP ($p > 0,05$). KGDP pada KP mengalami peningkatan dibandingkan KN ($p < 0,05$).

Efek Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya terhadap Kadar TNF- α Serum Tikus Model DM

Efek sari biji kedelai (*Glycine max*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*) dan kombinasinya terhadap kadar TNF- α serum tikus model DM dapat dilihat pada gambar 1.

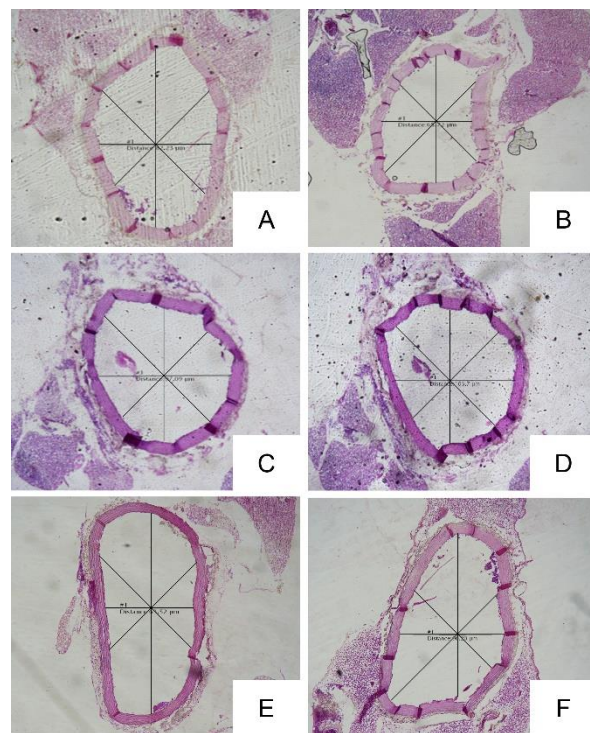


Gambar 1. Histogram kadar TNF- α serum tikus model diabetes yang telah diberikan sari biji kedelai, rimpang jahe, dan kombinasinya

Pemberian sari rimpang jahe 500 mg/kgBB, kombinasi delja 1 dan delja 2 menurunkan kadar TNF α serum tikus model DM dengan potensi yang sama sekitar 35% dibandingkan kelompok KP ($p < 0,05$). Sedangkan pemberian sari biji kedelai tidak signifikan dalam menurunkan kadar TNF- α serum ($p > 0,05$). Pemberian sari rimpang jahe, kombinasi delja 1, dan kombinasi delja 2 tidak berbeda signifikan dalam menurunkan kadar TNF- α serum. Sementara induksi DM dengan DTLF dan STZ meningkatkan kadar TNF- α serum secara signifikan sekitar 2 kali lipat dibandingkan KN ($p < 0,05$).

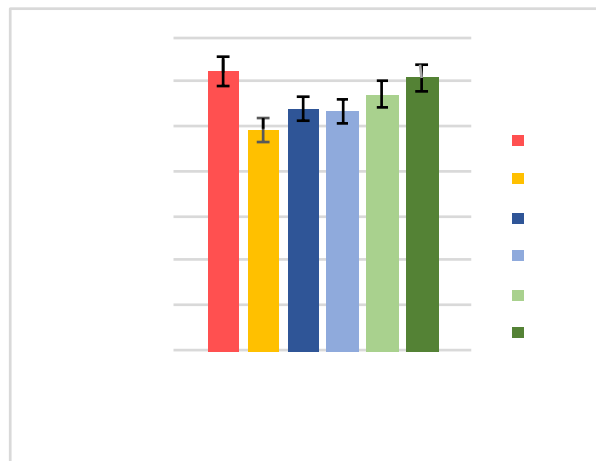
Efek Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan Kombinasinya terhadap Diameter Lumen Aorta Tikus Model DM.

Pemberian sari biji kedelai 5 gram/kgBB, rimpang jahe 500 mg/kgBB, kombinasi delja 1 dan delja 2 menghambat penurunan diameter lumen aorta tikus model DM berturut-turut sekitar 10%, 10%, 15% dan 20% dibandingkan kelompok KP ($p < 0,05$). Pemberian sari biji kedelai dan rimpang jahe tidak berbeda signifikan dalam menghambat penurunan diameter lumen aorta ($p > 0,05$). Sementara bentuk kombinasi lebih kuat sekitar 10-15% dibandingkan bentuk tunggal dalam menghambat penurunan diameter lumen aorta dengan efek paling kuat pada kelompok kombinasi delja 2 ($p < 0,05$). Induksi DM dengan DTLF dan STZ menurunkan diameter lumen aorta sekitar 20% dibandingkan kelompok normal ($p < 0,05$).



Gambar 2. Histopatologi Lumen Aorta Tikus DM

Keterangan: Gambaran histopatologi aorta setelah dilakukan pewarnaan Hematoxylin-Eosin, pembesaran 40x pada kelompok (A) KN; (B) KP; (C) Kedelai; (D) Jahe; (E) Kombinasi Delja 1; (F) Kombinasi Delja 2



Gambar 3. Histogram diameter lumen aorta tikus model diabetes yang telah diberikan sari biji kedelai, rimpang jahe, dan kombinasinya

PEMBAHASAN

Efek Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe, dan Kombinasinya Terhadap Kadar TNF- α Serum

Pemberian sari rimpang jahe menurunkan kadar TNF- α serum tikus model DM. Hal ini diduga karena kandungan zat aktif yang dimiliki rimpang jahe yaitu sebagai anti diabetes, antioksidan, dan anti inflamasi. Senyawa gingerol rimpang jahe berperan sebagai anti inflamasi melalui supresi *5-lipoxygenase* sehingga terjadi supresi biosintesis leukotrien dan sitokin pro inflamasi salah satunya TNF- α ¹⁶. Selain itu, gingerol juga berperan sebagai anti diabetes melalui peningkatan sensitivitas insulin serta stimulasi metabolisme glukosa pada jalur *AMPK alpha-2 mediated AS160-Rab5*, sehingga menghambat terjadinya kondisi hiperglikemik. Inhibisi kondisi hiperglikemik tersebut sesuai dengan data kelompok bahwa KGDP tikus mengalami penurunan setelah pemberian sari rimpang jahe. Inhibisi kondisi hiperglikemik akan menghambat terjadinya stress oksidatif serta kerusakan oksidatif melalui penurunan produksi *reactive oxygen species* (ROS) sehingga menghambat pengeluaran mediator inflamasi, salah satunya TNF- α . Senyawa polifenol rimpang jahe berperan sebagai *scavenger* radikal bebas sehingga mencegah terjadinya peroksidasi lipid serta mempertahankan struktur dan fungsi membran sel. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Santoso, 2018 (*Unpublished*) bahwa pemberian 500 mg/kgBB sari rimpang jahe dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA) serum. Efek tersebut mencegah terjadinya kerusakan oksidatif jaringan yang berperan menginduksi pengeluaran sitokin pro inflamasi salah satunya TNF α ¹⁷.

Pemberian sari biji kedelai tidak signifikan dalam menurunkan kadar TNF- α serum. Hal ini diduga karena dosis dan durasi pemberian sari biji kedelai yang kurang atau berlebihan. Dosis sari biji kedelai yang kurang menghasilkan aktivitas biologis yang rendah. Sedangkan dosis sari biji kedelai yang berlebihan mampu memicu terjadinya desensitisasi zat aktif. Desensitisasi adalah stimulasi dosis tinggi dalam jangka waktu pendek dan diberikan terus menerus sehingga menurunkan kepekaan reseptor serta efek biologisnya. Aktivitas zat aktif ditentukan oleh dosis pemberian sari herbal uji. Penurunan kadar TNF α serum diduga karena kandungan saponin biji kedelai yang mampu menekan produksi mediator pro inflamasi oleh makrofag, salah satunya TNF- α ¹⁸. Selain itu, pada penelitian Davis *et al* (2001)¹⁹ dikatakan bahwa isoflavon biji kedelai menghambat aktivasi NFkB sehingga terjadi inhibisi produksi TNF α .

Pemberian kombinasi delja 1 dan delja 2 tidak berbeda dalam menurunkan kadar TNF- α serum tikus model DM dibandingkan sari rimpang jahe. Kandungan zat aktif dari kedua herbal uji diduga mengalami interaksi antagonistik sehingga melemahkan aktivitas biologisnya²⁰. Bentuk kombinasi

delja 1 dan delja 2 menurunkan kadar TNF- α serum dengan mekanisme yang telah dijelaskan sebelumnya.

Induksi STZ dan DTLF pada kelompok KP secara signifikan meningkatkan kadar TNF- α serum. Induksi STZ memicu terjadinya destruksi sel beta pankreas melalui metilasi dan alkilasi *deoxyribonucleic acid* (DNA) sel beta pankreas¹¹. Sedangkan induksi DTLF menyebabkan peningkatan kadar *free fatty acid* (FFA) dan gangguan *insulin signaling* serta resistensi insulin²¹. Destruksi sel beta pankreas dan resistensi insulin memicu penurunan sekresi insulin, sehingga menimbulkan hiperglikemi kronis dan peningkatan produksi ROS. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Purnomo (2018) bahwa induksi STZ dan DTLF mampu meningkatkan KGDP tikus model DM. Ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan akan memicu terjadinya stress oksidatif dan kerusakan oksidatif jaringan sehingga memicu peningkatan pengeluaran mediator inflamasi, antara lain TNF- α ⁵.

TNF- α adalah sitokin pleiotropik yang berperan sebagai mediator inflamasi. TNF- α disintesis oleh sel endotel, sel otot polos, fibroblast, serta sel turunan monosit seperti makrofag. TNF- α berperan sebagai respon imun tubuh melalui induksi inflamasi terhadap stimulasi infeksi ataupun injuri jaringan tubuh sehingga mencegah kerusakan lebih lanjut²². Namun, peningkatan TNF- α yang berlebihan mampu memicu efek patologis seperti pembentukan plak endotel, gangguan fibrinolisis, serta penebalan dinding otot polos pembuluh darah^{25,26}.

Efek Sari Biji Kedelai, Rimpang Jahe, dan Kombinasinya Terhadap Diameter Lumen Aorta

Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe, serta kombinasi delja 1 dan delja 2 secara signifikan menghambat penurunan diameter lumen aorta tikus model DM. Hal ini diduga karena efek zat aktif dalam herbal uji yang memiliki potensi sebagai anti inflamasi, antioksidan, anti diabetes, dan anti hiperlipidemia.

Kandungan zat aktif sari biji kedelai yaitu senyawa genistein berperan menghambat produksi sitokin pro inflamasi. Penurunan sitokin pro inflamasi akan menghambat terjadinya proliferasi sel otot polos pembuluh darah sehingga menghambat terjadinya penebalan dinding dan penurunan diameter lumen pembuluh darah²⁵. Senyawa isoflavon berperan dalam mengontrol kadar gula darah melalui inhibisi amilase dan glukosidase intestinal. Hal ini sesuai dengan data kelompok bahwa KGDP tikus pada kelompok kedelai mengalami penurunan. Efek tersebut akan menghambat pembentukan ROS dan kerusakan oksidatif jaringan sehingga menghambat pengeluaran sitokin pro inflamasi yang berperan terhadap proliferasi sel otot polos²⁶. Senyawa isoflavon sari biji kedelai juga berperan dalam optimalisasi fungsi fibrinolisis sehingga menghambat terjadinya penurunan diameter lumen aorta²⁷. Senyawa saponin sari biji kedelai mampu meningkatkan *efflux* kolesterol sehingga

menurunkan kadar *low density lipid* (LDL). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kuncahyo, 2018 (*Unpublished*) bahwa pemberian 5000 mg/kgBB biji kedelai mampu menurunkan kadar LDL serum tikus model DM. Efek tersebut menurunkan risiko terjadinya oksidasi LDL yang berperan terhadap pembentukan plak atherosklerosis sehingga menghambat penurunan diameter lumen aorta²⁶.

Gingerol dalam sari rimpang jahe memiliki efek anti lipogenesis dan anti plak melalui ekspresi gen *peroxisome proliferator-activator receptor delta* (PPAR δ). Ekspresi PPAR δ menekan lipogenesis dan akumulasi lemak serta menghambat penurunan diameter lumen aorta²⁸. Senyawa polifenol yang terkandung dalam sari rimpang jahe berperan sebagai antioksidan yaitu mencegah terjadinya peroksidasi lipid serta kerusakan oksidatif jaringan. Pencegahan terhadap kerusakan oksidatif jaringan akan menghambat pengeluaran sitokin pro inflamasi yang mampu memicu proliferasi sel otot polos serta penurunan diameter lumen pembuluh darah¹⁷. Selain itu, shogaol dan paradol sari rimpang jahe berperan sebagai anti inflamasi melalui inhibisi aktivitas cyclooxygenase-2 (COX-2). Penurunan aktivitas COX-2 akan menurunkan kadar *C reactive protein* (CRP) sehingga produksi endothelin-1 (ET-1) menurun. Penurunan endothelin akan menghambat terjadinya proliferasi sel otot polos sehingga menghambat penurunan diameter lumen aorta²⁹.

Pemberian sari kombinasi delja lebih kuat dalam menghambat penurunan diameter lumen aorta tikus model DM dibandingkan bentuk tunggalnya. Hal ini diduga karena adanya interaksi kandungan zat aktif dalam kedua herbal uji yang bersifat sinergis. Interaksi tersebut meningkatkan efikasi sari kombinasi delja dalam menghambat penurunan diameter lumen aorta dengan mekanisme yang telah dijelaskan sebelumnya. Hal ini didukung oleh penelitian Santoso, 2018 (*Unpublished*) bahwa pemberian kombinasi sari biji kedelai dan rimpang jahe mampu menghambat penebalan dinding aorta tikus model DM. Pemberian kombinasi delja 2 lebih kuat menghambat penurunan diameter lumen aorta dibandingkan kombinasi delja 1. Hal ini diduga karena dosis sari kombinasi delja 2 lebih tinggi dibandingkan kombinasi delja 1²⁰.

Induksi STZ dan DTLF pada kelompok KP menurunkan diameter lumen secara signifikan. Induksi STZ memicu kerusakan sel beta pankreas, sedangkan DTLF memicu terjadinya resistensi insulin. Kerusakan sel beta pancreas dan resistensi insulin akan memicu penurunan sekresi insulin sehingga terjadi kondisi hiperglikemi kronis^{11,21}. Peningkatan ROS akan terjadi pada kondisi hiperglikemi kronis sehingga memicu stress oksidatif serta kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan tersebut akan menstimulasi pengeluaran sitokin pro inflamasi¹⁷. Peningkatan sitokin pro inflamasi menyebabkan peningkatan *C-reactive protein* (CRP) yang berperan menurunkan ekspresi *endothelial*

nitric oxide synthase (eNOS), sehingga menurunkan produksi *nitric oxide* (NO). Penurunan NO akan memicu peningkatan ET-1 dan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1). Peningkatan ET-1 akan memicu terjadinya proliferasi sel otot polos. Sedangkan peningkatan PAI-1 memicu terjadinya gangguan fibrinolisis sehingga memicu penurunan diameter lumen pembuluh darah. Selain itu, peningkatan sitokin pro inflamasi meningkatkan molekul adhesi yang berperan dalam *requitment* leukosit terhadap lesi inflamasi. Monosit kemudian memfagositosis LDL yang teroksidasi sehingga membentuk *foam cell* yang kemudian akan menjadi plak endotel. Proliferasi sel otot polos, pembentukan plak endotel, serta gangguan fibrinolisis menyebabkan terjadinya penebalan dinding aorta serta menurunkan diameter lumen aorta^{23,29}.

Aorta adalah pembuluh darah utama tubuh yang berperan menyuplai darah dan nutrisi dari jantung menuju sirkulasi. Aorta terdiri dari 3 lapisan yaitu tunika intima, tunika media dan tunika *adventitia*. Aorta berperan penting dalam proses homeostasis yaitu dengan mendistribusikan darah tinggi oksigen menuju organ-organ tubuh²³. Kondisi hiperglikemi kronis mampu menyebabkan injuri pada aorta melalui peningkatan ROS dan kerusakan oksidatif. Injuri pada aorta menyebabkan terjadinya penebalan dinding serta penurunan diameter lumen aorta. Efek tersebut mengganggu perfusi darah ke jaringan sehingga sel akan mengalami kematian²⁹.

Bias dalam penelitian ini adalah lokasi pemotongan dan peletakan jaringan aorta tikus pada *slide*. Prosedur ini menimbulkan ketidaksamaan bentuk lumen aorta pada masing-masing preparat. Oleh karena itu, peneliti melakukan pengukuran diameter lumen aorta pada 4 arah jarum jam (12.00-18.00, 15.00-21.00, 13.30-19.30, dan 22.30-16:30). Pemotongan aorta dilakukan sekitar 0,5 cm pada bagian arkus aorta dengan pertimbangan daerah yang paling elastis dan rentan terjadi kerusakan akibat turbulensi aliran darah yang tinggi¹⁵.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dan pembahasan di atas maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian sari rimpang jahe, kombinasi delja 1 dan delja 2 menurunkan kadar TNF- α serum, sedangkan pemberian sari biji kedelai tidak menurunkan kadar TNF- α serum
2. Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe, kombinasi delja 1 dan delja 2 menghambat penurunan diameter lumen aorta.
3. Pemberian bentuk kombinasi delja 1 dan delja 2 tidak berbeda dibandingkan sari rimpang jahe dalam menurunkan kadar TNF- α serum
4. Pemberian bentuk kombinasi delja lebih kuat dibandingkan bentuk tunggalnya dalam

menghambat penurunan diameter lumen aorta dengan efek paling kuat pada kelompok kombinasi delja 2.

SARAN

1. Melakukan penelitian terkait kandungan zat aktif sari biji kedelai dan rimpang jahe.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan metode *in silico* untuk mengetahui mekanisme kerja zat aktif yang terkandung dalam herbal uji.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang karena telah membantu pendanaan dalam penelitian ini..

DAFTAR PUSTAKA

1. Cade, W., Chawla, A., and Jaggi, S. Diabetes-Related Microvascular and Macrovascular Disease in Physical Therapy Setting. *Physical Therapy*. 2008
2. Aquarista, N. Differences Characteristics Patients Diabetes Mellitus Type 2 with and without Coronary Heart Disease. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 2017
3. Chawla, R., Chawla, R., and Jaggi, S. Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum?. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2016
4. Giacco, F. and Brownlee, M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circulation Research*. 2010
5. Ahmed et al., Largazole, a class I histone deacetylase inhibitor, enhances TNF- α -induced ICAM-1 and VCAM-1 expression in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013
6. Jamil et al., TNF- α -308G/A and -238G/A polymorphisms and its protein network associated with type 2 diabetes mellitus. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2017
7. Astuti, A., Irawan, D. Pengaruh Asupan Susu Kedelai Terhadap Ca Darah. *Yogyakarta. Mutiara Medika*. 2007
8. Setyaningrum, N and Soejoto, B.S. Pengaruh Sari Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap Kadar AST dan ALT darah Tikus setelah Paparan Asap Rokok. Semarang. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 2016
9. Mustofa, M.S., Syamsiarsih, T., and Royhan A. Pengaruh Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi Insulin Sel Beta Pankreas pada Tikus Diabetik. Jakarta. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 2010
10. Yanto, A.R., Mahmudati, N., and Susetyorini, R.E. Seduhan Jahe (*Zingiber Officinale* Roscoe.) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Model Diabetes Tipe-2 (NIDDM) Sebagai Sumber Belajar Biologi. Malang. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 2016
11. Xiang et al. Dosage of Streptozotocin in Inducing Rat Model of Type 2 Diabetes Mellitus. 2010
12. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. 2010
13. Bolla, K. Soybean consumption and Healths Benefits. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 2015.
14. Al-Amin et al. Anti-Diabetic and Hypolipidaemic Properties of Ginger (*Zingiber officinale*) in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Br. J. Nutr.* 2006. 660-666.
15. Permana RJ, Azaria C, and Rosnaeni. Pengaruh pemberian Sari Etanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamnk.) terhadap Gambaran Mikroskopis Aorta Hewan Model Aterosklerosis. *Journal of Medicine and Health*. 2016. 1(4):306-318
16. Mashhadi et al. Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects of Ginger in Health and Physical Activity: Review of Current Evidence. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013
17. Akash et al. *Zingiber officinale* and Type 2 Diabetes Mellitus: Evidence from Experimental Studies. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*. 2015
18. Lee et al. Soysaponin I Attenuates TNBS-Induced Colitis in Mice by Inhibiting NF- κ B pathway. *J Agric Food Chem*. 2010
19. Davis et al. Soy Isoflavone Supplementation in Healthy Men Prevents NF- κ B Activation by TNF- α in Blood Lymphocytes. *Free Radical Biology & Medicine*. 2001.
20. Neal, M.J. *At a Glance Farmakologi Medis*. Jakarta: Penerbit Erlangga. 2007
21. Jeong et al. Integrated Expression Profiling and Genome-Wide Analysis of ChREBP Targets Reveals the Dual Role for ChREBP in Glucose-Regulated Gene Expression. *PLoS ON*. 2011
22. Parameswaran, N. and Patial, S. Tumor Necrosis Factor- α Signaling in Macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene*. 2010. 20(2): 87-103.
23. Marso, S., and Hiatt, W. Peripheral Arterial Disease in Patients With Diabetes. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006. 47(5): 921-929
24. Huang et al. Macrovascular Complications in Patients with Diabetes and Prediabetes. *BioMed Research International*. 2017.
25. Tidke et al. Assessment of Anticancer, Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Isoflavones Present in Soybean. 2018
26. Mahmoud, M.H., Taha, M.M., and Shahy, E.M. Germination of Glycine max Seeds Potentiates its Antidiabetic Effects in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *International of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2016. 8(10): 1429-1437.
27. Husumuma et al, Effect of Isoflavones and Soybeans Fermented In Vivo,

- Immunopharmacology and Immunotoxicology.
2007. 29(2): 322-333
28. Misawa et al. Ginger extract prevents high-fat diet-induced obesity in mice via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor δ . 2015.
29. Fowler, M.J. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. Clinical Diabetes. 2008. 26(2):77-80