

Pengaruh *Centella asiatica* dan Angiotensin II Terhadap Produksi *Nitric Oxide* Sel Endotel

Muhammad Nauval Daffa Salsabil, Diah Andriana, Rio Risandiansyah, Erna Sulistyowati*

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Angiotensin II yang berikatan dengan sel endotel pembuluh darah dapat menyebabkan hipertensi, jumlah angiotensin II yang berlebihan secara kontinu yang merangsang enzim NOX untuk membentuk *Reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan kondisi stres oksidatif pada sel endotel pembuluh darah sehingga terjadi disfungsi endotel pembuluh darah yang ditandai penurunan produksi *Nitric Oxide* (NO) sebagai vasodilator. Daun Pegagan (*C. asiatica*) memiliki efek antioksidan yang dapat menurunkan ROS dan memperbaiki produksi *Nitric Oxide* dari sel endotel. Penelitian ini membuktikan daun *C. asiatica* memiliki efek antioksidan karenanya meningkatkan produksi NO sel endotel yang diinduksi angiotensin II.

Metode: Narrative review ini menggunakan artikel atau jurnal, termasuk artikel penelitian, review, dan uji klinis dalam bahasa Inggris dan Indonesia. Untuk mendapatkan sumber artikel ilmiah, pencarian tangan digunakan pada Google Scholar, Google Cendekia, PubMed, NCBI, dan ResearchGate. Fokus pencarian adalah jurnal yang diterbitkan dari tahun 2015 hingga 2024. Dengan total 40 artikel ilmiah yang memenuhi kriteria untuk direview, kata kunci yang digunakan adalah "*Centella asiatica*", "hipertensi", "stres oksidatif", "angiotensin II", "*reactive oxygen species*", "sel endotel", dan "*nitric oxide*".

Hasil: Angiotensin II dapat meningkatkan pembentukan ROS melalui jalur NOX sehingga menyebabkan kondisi stres oksidatif pada sel endotel sehingga pembentukan *nitric oxide* sel endotel terganggu, namun ekstrak daun *C. asiatica* dapat menghambat kondisi stres oksidatif sehingga kadar *nitric oxide* sel endotel dapat kembali normal.

Kesimpulan: Ekstrak daun *C. asiatica* dapat meningkatkan produksi *Nitric Oxide* sel endotel yang dalam kondisi stres oksidatif akibat angiotensin II

Kata kunci: *Centella asiatica*; *Nitric Oxide*; Angiotensin II; sel endotel; hipertensi.

*Corresponding author: dr. Erna Sulistyowati, M.Kes., PhD

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

Email: dr_erna@unisma.ac.id

Centella asiatica and Angiotensin II's Effect on the Production of Nitric Oxide by Endothelial

Muhammad Nauval Daffa Salsabil, Diah Andriana, Rio Risandiansyah, Erna Sulistyowati*

Faculty of Medicine University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Introduction: Angiotensin II binding to endothelial cells of blood vessels can cause hypertension, with excessive continuous angiotensin II stimulating the NOX enzyme to form Reactive Oxygen Species (ROS), leading to oxidative stress conditions in endothelial cells of blood vessels. This results in endothelial dysfunction characterized by a decrease in the production of Nitric Oxide (NO) as a vasodilator. Gotu Kola leaves (*C. asiatica*) have antioxidant effects that can reduce ROS and increase nitric oxide production. This study prove that *C. asiatica* leaves have antioxidative effects leading to increase NO production in endothelial cells induced by angiotensin II.

Method: This narrative review uses articles or journals, including research articles, reviews, and clinical trials in English and Indonesian. To obtain sources of scientific articles, a hand search was conducted on Google Scholar, Google Cendekia, PubMed, NCBI, and ResearchGate. The focus of the search is journals published from 2015 to 2024. With a total of 40 scientific articles that meet the criteria for review, the keywords used are "*Centella asiatica*," "hypertension," "oxidative stress," "angiotensin II," "reactive oxygen species," "endothelial cells," and "nitric oxide."

Results: Angiotensin II can increase ROS formation through the NOX pathway, leading to oxidative stress conditions in endothelial cells, thereby disrupting the formation of nitric oxide in endothelial cells. However, *C. asiatica* leaf extract can inhibit oxidative stress conditions, allowing the nitric oxide levels in endothelial cells to return to normal.

Conclusion: The extract of *C. asiatica* leaves can increase the production of Nitric Oxide in endothelial cells under oxidative stress conditions caused by angiotensin II.

Key word: *Centella asiatica*; Nitric Oxide; Angiotensin II; Griess assay; Endothelial cells; Hypertension.

*Corresponding author: dr. Erna Sulistyowati, M.Kes., PhD

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

Email: dr_erna@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Hipertensi di Indonesia masih memiliki prevalensi yang cukup tinggi pada tiap kelompok umur dan menjadi faktor resiko utama dalam perkembangan penyakit kardiovaskular(1). Penyakit kardiovaskular memiliki korelasi dengan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menyebabkan kondisi stres oksidatif(2). Stres oksidatif disebabkan oleh peningkatan akumulasi dan produksi ROS dalam sel dan jaringan sehingga dapat memberikan kerusakan dan kematian sel(3,4). Pembentukan ROS bersumber dari *NAD(P)H oxidase*, *xanthine oxidase*, *mitochondria*, *lipoxygenase* dan *nitric oxide synthase* (NOS) yang terjadi di dalam sel endotel dan *Vascular Smooth Muscle Cells* (VSMCs)(5). *Human Umbilical Vein Endothelial Cells* (HUVECs) digunakan sebagai sampel penelitian karena telah diakui sebagai model penelitian yang berguna untuk penelitian pada sel endotel(6).

Dalam penelitian ini pemberian Angiotensin II (Ang II) pada HUVECs ditujukan sebagai model ROS, dalam penelitian sebelumnya secara *in vitro* tikus didapatkan bahwa Ang II menginduksi genotip pro-inflamatori yang ditandai dengan infiltrasi monosit ke dinding pembuluh darah diikuti dengan peningkatan kadar ROS(7). Aktivasi *NAD(P)H oxidase* oleh Ang II menginduksi pembentukan ROS sehingga meningkatkan *NOS uncoupling*(5). *NOS uncoupling* adalah kondisi patologis yang menyebabkan peningkatan produksi ROS dalam sel sehingga terjadi disfungsi sel. *Endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) menjadi kehilangan fungsinya untuk memproduksi NO sebagai vasodilator dan berubah menghasilkan superoksida, yang merupakan radikal yang menginduksi kondisi eNOS *uncoupling* sehingga jika kadar NO terus menurun maka pembuluh darah tidak dapat ber vasodilatasi maksimal(8,9). Vasodilator dari daun herbal *Centella asiatica* (*C. asiatica*) memiliki senyawa aktif *triterpenoid* dapat meningkatkan aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) untuk mengurangi stres oksidatif sehingga bermanfaat menurunkan kondisi hipertensi(10,11).

METODE

Narrative review ini menggunakan artikel atau jurnal, termasuk artikel penelitian, review, dan uji klinis dalam bahasa Inggris dan Indonesia. Untuk mendapatkan sumber artikel ilmiah, pencarian tangan digunakan pada Google Scholar, Google Cendekia, PubMed, NCBI, dan ResearchGate. Fokus pencarian adalah jurnal yang diterbitkan dari tahun 2015 hingga 2024.

Dengan total 40 artikel ilmiah yang memenuhi kriteria untuk direview, kata kunci yang digunakan adalah "*Centella asiatica*", "hipertensi", "stres oksidatif", "angiotensin II", "*reactive oxygen species*", "sel endotel", dan "*nitric oxide*".

HASIL DAN ANALISA DATA

Hipertensi

Hipertensi adalah istilah untuk tekanan darah arteri yang meningkat secara sistemik dan kronis melampaui ambang batas normal. Penyakit ini adalah sindrom kardiovaskular dengan berbagai penyebab. Fungsi dan struktur jantung dan pembuluh darah yang menyuplai jantung, otak, ginjal, dan organ lainnya memengaruhi perkembangan penyakit. Pemeriksaan untuk hipertensi dan penyakit kardiovaskular merupakan kebutuhan selain pemeriksaan tekanan darah. Tekanan darah masih merupakan biomarker hipertensi(12). Tekanan darah sistolik lebih dari 140 mmHg atau tekanan darah distolik lebih dari 90 mmHg dianggap sebagai hipertensi(13).

Di Indonesia, prevalensi hipertensi terus meningkat. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menunjukkan peningkatan sebesar 34.1% dari data Riskesdas tahun 2013. Ini adalah peningkatan dari 25.8% pada tahun 2013(13). Pada tahun 2018, prevalensi hipertensi sebesar 13.22% pada kelompok umur 18-24 tahun, 20.13% pada kelompok umur 25-34 tahun, dan 31.61% pada kelompok umur 35-44 tahun(14).

Hipertensi secara klinis dibagi menjadi dua kategori: hipertensi primer (esensial), yang terjadi pada 85% hingga 95% kasus yang terdeteksi dan tidak terdeteksi; hipertensi sekunder adalah hipertensi yang disebabkan oleh kondisi yang dapat dikenal seperti stenosis arteri renalis, *pheochromocytoma*, adenoma adrenal, atau mutasi *single gen*(15). Tekanan darah diatur oleh ginjal. Stroke volume mL/denyut dikali dengan denyut jantung denyut/menit menentukan output jantung mL/menit, yang sebagian besar diatur oleh ginjal dan bergantung pada aliran balik vena. Natriuresis adalah proses yang dilakukan oleh ginjal untuk mengontrol jumlah cairan yang ada dalam tubuh. Renin diproduksi oleh sel juxtaglomerular arteriol aferen ginjal, yang dalam kondisi normal berfungsi sebagai pembatas laju aktivasi RAS. Protease aspartik (ACE) memecah angiotensinogen menjadi angiotensin I, yang kemudian dikatalis oleh ACE untuk menghasilkan angiotensin II. Penurunan tekanan perfusi, reaksi natrium klorida ke sel makula densa, atau peningkatan stimulasi simpatis memicu pelepasan renin(15). Patogenesis hipertensi didasarkan pada keseimbangan natrium dan air dalam darah(16). Peningkatan volume dan tekanan darah disebabkan oleh retensi cairan, atau air, karena konsentrasi tinggi serum Na⁺. Untuk menjaga tekanan darah stabil, hemodinamika kompensatif dilakukan pada orang yang normotensik. Produksi *nitric oxide*, yang merupakan vasodilator endotel, meningkat, dan resistensi vaskular ginjal dan perifer menurun. Tetapi jika efek NO hilang atau tidak ada sama sekali karena disfungsi sel endotel, tekanan darah akan meningkat(17).

Angiotensin II

Angiotensin merupakan hormon endokrin peptida dan menjadi bagian penting dalam sistem RAS

dan sistem endokrin penting lain yang terkait pengontrolan tekanan dan volume darah(18). Ketika tekanan darah turun atau ada rangsangan saraf simpatis, produksi angiotensin II diatur. Di liver, angiotensinogen, yang merupakan *alfa-globulin* dan *prohormone peptide*, diubah oleh renin di sel juxtaglomerular ginjal menjadi Angiotensin I. Selanjutnya, ACE mengubahnya menjadi Angiotensin II di sel endotel pulmonar dan di sel endotel organ lain, seperti jantung(19).

Angiotensin II memiliki potensi untuk menjadi mediator aktivasi *NAD(P)H oxidase* dengan *phospholipase A2* (PLA2), *Phospholipase D* (PLD), *Protein kinase C* (PKC), *e-Src*, *epidermal growth factor receptor* (EGFR), *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) dan *Rac*. Angiotensin II mengaktivasi *phospholipase* termasuk PLA2, PLD dan PKC yang menginduksi fosforilasi dari subunit *cytosolic p47phox* dan dibawa ke membran plasma, pengaktifan *p47phox* oleh Angiotensin II juga menyebabkan translokasi pada komponen membrane melalui jalur *e-Src*(5). Aktivasi *NAD(P)H oxidase* oleh Angiotensin II menginduksi pembentukan ROS sehingga meningkatkan NOS *uncoupling*. Studi baru menunjukkan bahwa NOS *uncoupling* meningkatkan produksi ROS dan menyebabkan disfungsi endotel. Ini menunjukkan bahwa NOS *uncoupling* adalah sumber yang berasal dari peningkatan ROS sebagai respon terhadap Angiotensin II(5).

Nitric Oxide

Nitric oxide (NO) adalah molekul gas yang tersebar luas, larut dalam air, dan dapat melewati membran sel dengan bebas karena struktur radikal bebasnya yang berbahaya dan memiliki elektron tambahan, yang membuatnya sangat reaktif(20). NO adalah komponen relaksasi endotel yang dihasilkan pembuluh darah dan berperan penting dalam proses vasodilatasi(21). Vasodilatasi, respons imun, transmisi neuron, apoptosis, reproduksi, regulasi transkripsi gen, translasi mRNA, dan modifikasi pasca-translasi protein adalah beberapa proses seluler di mana NO endogen berfungsi sebagai molekul transduksi sinyal penting yang dapat bekerja pada konsentrasi yang sangat rendah sekitar piko-nanomolar(22).

Nitric oxide dibentuk oleh NO endogen yang dihasilkan secara enzimatis dari L-arginin oleh keluarga khusus dari sintase NO (NOS). NOS adalah enzim homodimerik *oksidoreduktase* yang diekspresikan secara konstitutif oleh sel-sel neuron (nNOS atau NOS1), sel-sel kekebalan (inducible NOS, iNOS atau NOS2) dan sel-sel endotel (eNOS atau NOS3)(23). Untuk mengkatalisis L-arginin, semua isoform NOS menggunakan kofaktor seperti *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) sebagai donor elektron untuk mengoksidasi dan memecah gugus guanidin dari L-arginin, yang menghasilkan L-sitruilin sebagai produk sampingan(24). ketersediaan L-arginin intraseluler mempengaruhi laju pelepasan NO oleh eNOS yang diatur oleh *arginosuccinate lyase* yang

merubah sitruilin kembali menjadi arginin sehingga ketersediaan L-arginin intrasel selalu ada(25).

Reactive Oxygen Species (ROS)

Metabolisme seluler menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Tidak semua ROS termasuk dalam kategori radikal bebas karena ROS terdiri dari berbagai molekul yang memiliki sifat oksidatif, seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($HO\cdot$), radikal lipid, dan oksida nitrat (NO). Mereka yang memiliki elektron yang tidak berpasangan dianggap radikal bebas(26). Hidrogen peroksida (H_2O_2), *peroxynitrite* ($ONOO^-$), dan asam hipoklorit ($HOCl$) adalah beberapa ROS yang memiliki sifat oksidatif tetapi tidak radikal bebas(27). Sangat penting untuk diingat bahwa menggambarkan ROS sebagai kelompok dengan sifat yang sama dapat menyiratkan bahwa semua spesies kimia ini memiliki peran yang sama dalam lingkungan seluler; oleh karena itu, peristiwa seperti kerusakan atau sinyal mungkin memiliki agen tertentu. Selain itu, ROS memiliki peran ganda tergantung pada berbagai aspek lingkungan seluler, seperti kompartementalisasi, konsentrasi, dan paparan waktu(28). Dampak negatif yang diterima sel akibat ROS adalah dari sifat ROS sebagai partikel reaktif yang berbahaya karena dapat merusak lipid, protein intraseluler dan asam nukleat. Disamping dari sifat reaktifnya, ROS memiliki peran penting dalam resistensi patogen dan persinyalan sel(29). Tiga spesies utama pada ROS yaitu O_2^- , H_2O_2 , dan $HO\cdot$, dibuat dari oksigen molekuler dalam empat tahap berturut-turut dari reduksi 1 elektron(28).

Pegagan (*Centella asiatica*)

Tanaman Pegagan (*C. asiatica*) termasuk kedalam tanaman yang dapat tumbuh di iklim tropis seperti di Asia Tenggara(30). Pegagan tumbuh menjalar dan memiliki rimpang yang pendek. Stolonya panjang dan berwarna coklat. Satu daun pegagan dengan tangkai panjang sekitar lima hingga lima belas sentimeter dan bentuknya mirip dengan ginjal dengan tepinya yang bergerigi. Tanaman variatif tingginya berkisar antara 6–14 cm, dengan jumlah daun terkadang 6 untuk tanaman induk dan 2–5 untuk anaknya dan Tempat tumbuh pegagan berada di antara 700 dan 2.500 mdpl, di lingkungan yang lembab, dan terkena sinar matahari penuh(30,31).

Daun *C. asiatica* memiliki *asiaticosides*, *asiatic acid*, *madecassoside*, dan *madecassic acid* yang juga dikenal sebagai *triterpenoid* sebagai bahan aktif utama(18). *Madecassoside*, dengan *pubchem compound identifier* (CID): 131801373, adalah saponin triterpen pentasiklik yang berasal dari daun *C. asiatica* dan memiliki berbagai aktivitas farmasi. Dosis oral ini menyebar ke jantung, hati, lambung, paru-paru, otak, perut, kulit, dan ginjal dalam waktu 5-15 menit setelah diberikan(10). *Asiaticoside* dengan Rumus molekul *pubchem* C48H78O19, dengan berat molekul 959,1g/mol. Tingkat maksimumnya dicapai dalam 5-15 menit setelah diberikan oral. Dalam satu jam setelah

dosis, *Asiaticoside* tersebar luas di otak, perut, dan kulit(10). *Triterpenoid* lain seperti *madecassic acid* dengan rumus molekul pubchem C30H48O6, dengan berat molekul 504,7 g/mol. Studi sebelumnya mengkonfirmasi bahwa setelah diberikan secara oral, *madecassic acid* ditemukan di plasma, otak, jantung, hati, ginjal, usus besar, dan kandung kemih(10). *Asiatic acid* sebagian besar diserap di jejunum, tetapi juga di plasma, otak, jantung, hati, ginjal, usus besar, dan kandung kemih. Formula molekulnya pubchem C30H48O5, dan derajat larutannya dalam air adalah $5,98 \times 10^{-2}$ mg/L pada 25°C, Senyawa ini memiliki efek anti hipertensi dengan menurunkan tekanan darah dan remodeling vaskular dari penelitian menggunakan tikus dengan kondisi hipertensi, senyawa ini bekerja dalam mekanisme ACE inhibitor dengan menghambat ACE dalam jalur *renin-angiotensin aldosterone system* (RAAS) dan efek antioksidan dan antiinflamasi dengan meningkatkan aktivasi eNOS dan iNOS yang dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MAD) di jaringan, dan meningkatkan *nitric oxide* di plasma(10,32).

PEMBAHASAN

Disfungsi sel endotel merupakan kondisi kerusakan yang dialami oleh sel endotel sehingga sel endotel kehilangan kemampuan mempertahankan fungsinya yang disebabkan oleh kondisi stres oksidatif(2). Kondisi ini secara berlanjut menyebabkan remodelling pembuluh darah, peradangan, fibrosis, serta vasokonstriksi sehingga dapat dianggap disfungsi sel endotel akibat stres oksidatif berkaitan dengan kejadian penyakit hipertensi(33,34).

NO adalah molekul penting yang berperan dalam berbagai proses biologis yang dilakukan tubuh. Dalam sistem vaskular, NO (sebagian besar berasal dari NOS3, tetapi NOS1 ada di sekitar arterioli) mengontrol tonus dan aliran darah dengan mengaktifkan *soluble guanylate cyclase* (sGC) di otot polos vaskular. Ini juga berperan penting dalam agregasi trombosit dan adhesi leukosit serta pengendalian konsumsi oksigen mitokondria dengan mencegah oksidasi *cytochrome C*. Disfungsi endotel memiliki keterkaitan dengan berbagai penyakit kardiovaskular seperti hipertensi, aterosklerosis, dan gangguan terkait angiogenesis dapat disebabkan oleh kelainan dalam produksi dan transportasi NO vaskular(35,36). NO disintesis di sel endotel oleh *endotelial nitric oxide synthase* (eNOS), yang mengubah *L-arginine* menjadi *L-citrullin* dan NO. Pada sel endotel, NOS terikat pada caveolae yang berada di membran sel endotel. Aliran darah dapat menyebabkan *Shear stress* pada sel endotel merupakan rangsangan fisiologis utama eNOS untuk produksi NO vaskular (37,38).

Peningkatan angiotensin II yang berlebihan dan kontinu memiliki hubungan dengan disfungsi endotel dengan menurunkan produksi Nitric Oxide (NO) endotel(39). Angiotensin II dan NO memiliki efek yang saling menetralkan dalam tubuh(40). peningkatan

Angiotensin II akibat aktivasi angiotensin converting enzyme (ACE) endotel mengakibatkan inhibisi produksi NO dan peningkatan pembentukan *superoxide* (O_2^-)(41). Peningkatan (O_2^-) menyebabkan sel endotel menghasilkan faktor vasokonstriktor dan kehilangan faktor vasorelaksasi(42). Dalam mekanisme khusus proses ini, Angiotensin II dapat mendorong pembentukan ROS melalui aktivasi *NADPH oxidase* (NOX) dan menurunkan produksi NO akibat eNOS *uncoupling*(28).

Ekstrak daun *C. asiatica* memiliki *triterpenoid* yang dapat berfungsi sebagai antioksidan dengan meningkatkan produksi NO oleh sel endotel, antioksidan dapat menurunkan ROS yang terjadi dalam kondisi stres oksidatif sehingga menghambat terjadinya disfungsi sel endotel (11,43). Penelitian sebelumnya secara *in-vivo* pada tikus yang diinduksi dengan L-NAME agar terbentuk model hipertensi kemudian diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak daun *C. asiatica* 500mg/Kg dikombinasikan dengan captopril 5mg/Kg secara oral dengan lama penelitian selama 8 (delapan) minggu dengan mendapatkan hasil efek yang signifikan dari kombinasi ekstrak daun *C. asiatica* dengan captopril dalam mencegah peningkatan tekanan darah sistol tikus dan penurunan level serum *nitric oxide*(44).

SIMPULAN

1. Angiotensin II dapat mempengaruhi produksi *nitric oxide* sel endotel akibat efek stres oksidatif yang diberikan terhadap sel dibuktikan dengan penurunan produksi *nitric oxide* sel endotel sebagai vasodilator pembuluh darah.
2. Ekstrak daun *C. asiatica* berpotensi dapat membantu meningkatkan produksi *nitric oxide* sel endotel yang berkurang akibat kejadian stres oksidatif.

SARAN

1. Melakukan Uji klinis terhadap efek daun *C. asiatica* sebagai obat alternatif anti hipertensi.
2. melakukan uji lebih lanjut untuk mengetahui bagaimana dan cara dari ekstrak daun *C. asiatica* dalam mencegah hipertensi melalui peningkatan produksi *nitric oxide* sel endotel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kemdikbud Ristek Dikti No. 0667/E5/AL.04/2024 yang telah mendanai penelitian dengan nomor 0667. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada IOM dan FK yang telah mendanai penelitian yang telah memberikan dukungan pendanaan dari awal hingga akhir pelaksanaan tugas akhir ini.

REFERENSI

1. Debora C, Tolimba C, Palunggi S, Siregar D, Harefa L. Risk Factors for Hypertension

- Among Adults Living in A Rural Area, Minahasa. *J Keperawatan Indones*. 2023;26(1):36–45.
2. Xu S, Touyz RM. Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: Still alive. *Can J Cardiol*. 2006;22(11):947–51.
3. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017.
4. Griendling KK, Camargo LL, Rios FJ, Alves-Lopes R, Montezano AC, Touyz RM. Oxidative Stress and Hypertension. *Circ Res* [Internet]. 2021 Apr 2;128(7):993–1020. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.121.318063>
5. Hitomi H, Kiyomoto H, Nishiyama A. Angiotensin II and oxidative stress. *Curr Opin Cardiol*. 2007;22(4):311–5.
6. Medina-Leyte DJ, Domínguez-Pérez M, Mercado I, Villarreal-Molina MT, Jacobo-Albavera L. Use of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) as a Model to Study Cardiovascular Disease: A Review. *Appl Sci* [Internet]. 2020 Jan 31;10(3):938. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3417/10/3/938>
7. Birk M, Baum E, Zadeh JK, Manicam C, Pfeiffer N, Patzak A, et al. Angiotensin ii induces oxidative stress and endothelial dysfunction in mouse ophthalmic arteries via involvement of at1 receptors and nox2. *Antioxidants*. 2021;10(8).
8. Chen W, Druhan LJ, Chen CA, Hemann C, Chen YR, Berka V, et al. Peroxynitrite Induces Destruction Of The Tetrahydrobiopterin and Heme in Endothelial Nitric Oxide Synthase: Transition From Reversible to Irreversible Enzyme Inhibition. *Biochemistry* [Internet]. 2010 Apr 13;49(14):3129–37. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi9016632>
9. Herman LL, Padala SA, Ahmed I, Bashir K. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors (ACEI) [Internet]. *StatPearls*. 2024. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28613705/>
10. Sun B, Wu L, Wu Y, Zhang C, Qin L, Hayashi M, et al. Therapeutic Potential of Centella asiatica and Its Triterpenes: A Review. *Front Pharmacol*. 2020;11(September):1–24.
11. Bunaim MK, Kamisah Y, Mohd Mustazil MN, Fadhlullah Zuhair JS, Juliana AH, Muhammad N. Centella asiatica (L.) Urb. Prevents Hypertension and Protects the Heart in Chronic Nitric Oxide Deficiency Rat Model. *Front Pharmacol*. 2021;12(December):1–12.
12. Nugrahani AD, Azis MMA, Agustin DF. Penerapan Teknologi Mutakhir Intranasal Low Intensity LASER Therapy (ILILT) 650 nm untuk Mereduksi Viskositas Darah dan Mencegah Aktivasi NAD(P)H Oxidase (Nox) Sebagai Tatalaksana Efektif Ameliorasi Homeostasis pada Penderita Hipertensi. 2018;6(2):125–37.
13. Faisal DR, Lazuarda T, Ichwansyah F, Fitria E. Risk Factors of Hypertension for The Productive Age in Indonesia and Prevention Measures. 2022;
14. Kementrian Kesehatan RI. Hasil Utama RISKESDAS 2018 [Internet]. 2018. Available from: https://kesmas.kemkes.go.id/assets/upload/dir_519d41d8cd98f00/files/Hasil-riskesdas-2018_1274.pdf
15. Harrison DG, Coffman TM, Wilcox CS. Pathophysiology of Hypertension. *Circ Res* [Internet]. 2021 Apr 2;128(7):847–63. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.121.318082>
16. Ma J, Chen X. Advances in pathogenesis and treatment of essential hypertension. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9(October):1–12.
17. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cifková R, Dominiczak AF, et al. Hypertension. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2018;4(4):1–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29565029/>
18. K.J G, J.A P, A.K G. Pharmacological Review on Centella asiatica: A Potential Herbal Cure-all. *Indian J Pharm Sci*. 2010;(October):546–56.
19. Patel P, Sanghavi DK, Morris DL, Kahwaji CI. Angiotensin II [Internet]. *StatPearls*. 2024. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763087/>
20. Snyder SH, Bredt DS. Biological Roles of Nitric Oxide. *Sci Am* [Internet]. 1992 May;266(5):68–77. Available from: <https://www.scientificamerican.com/article/biological-roles-of-nitric-oxide>
21. Ignarro LJ. Wei Lun Visiting Professorial Lecture: Nitric Oxide in the Regulation of Vascular Function: An Historical Overview. *J Card Surg* [Internet]. 2010 Jul 12;17(4):301–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1540-8191.2001.tb01148.x>
22. Andrabi SM, Sharma NS, Karan A, Shahriar SMS, Cordon B, Ma B, et al. Nitric Oxide: Physiological Functions, Delivery, and Biomedical Applications. *Adv Sci* [Internet]. 2023 Oct 26;10(30). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202303259>
23. Forstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* [Internet]. 2012 Apr 1;33(7):829–37. Available from:

- <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehr304>
24. Giroud C, Moreau M, Mattioli TA, Balland V, Boucher JL, Xu-Li Y, et al. Role of Arginine Guanidinium Moiety in Nitric-oxide Synthase Mechanism of Oxygen Activation. *J Biol Chem* [Internet]. 2010 Mar;285(10):7233–45. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819587117>
 25. Stuehr D, Pou S, Rosen GM. Oxygen Reduction by Nitric-oxide Synthases. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Jan;276(18):14533–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819567278>
 26. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2018 Jun 5;115(23):5839–48. Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1804932115>
 27. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, And Their Implication In Various Diseases. *Indian J Clin Biochem* [Internet]. 2015 Jan 15;30(1):11–26. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12291-014-0446-0>
 28. Almeida AJPO, de Oliveira JCPL, da Silva Pontes LV, de Souza Júnior JF, Gonçalves TAF, Dantas SH, et al. ROS: Basic Concepts, Sources, Cellular Signaling, and its Implications in Aging Pathways. Giustarini D, editor. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2022 Oct 19;2022:1–23. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2022/1225578/>
 29. Yang S, Lian G. ROS and diseases: role in metabolism and energy supply. *Mol Cell Biochem* [Internet]. 2020 Apr 7;467(1–2):1–12. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11010-019-03667-9>
 30. Sulistio AD. Pemanfaatan Daun Pegagan (*Centella asiatica*) menjadi Olahan Keripik Oleh Masyarakat Desa Wisata Jatimulyo, Girimulyo. 2020;
 31. Sutardi S. Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *J Penelit dan Pengemb Pertan*. 2017;35(3):121.
 32. Bunbupha S, Prachaney P, Kukongviriyapan U, Kukongviriyapan V, Welbat JU, Pakdeechote P. Asiatic acid alleviates cardiovascular remodelling in rats with L- NAME -induced hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* [Internet]. 2015 Nov 6;42(11):1189–97. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1440-1681.12472>
 33. Sena CM, Leandro A, Azul L, Seica R, Perry G. Vascular Oxidative Stress: Impact and Therapeutic Approaches. *Front Physiol*. 2018 Dec 4;9.
 34. Rodrigo R, González J, Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens Res*. 2011;34(4):431–40.
 35. Chen K, Pittman RN, Popel AS. Nitric Oxide in the Vasculature: Where Does It Come From and Where Does It Go? A Quantitative Perspective. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2008 Jul;10(7):1185–98. Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2007.1959>
 36. Epstein FH, Moncada S, Higgs A. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *N Engl J Med* [Internet]. 1993 Dec 30;329(27):2002–12. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199312303292706>
 37. Li H, Brodsky S, Basco M, Romanov V, De Angelis DA, Goligorsky MS. Nitric Oxide Attenuates Signal Transduction. *Circ Res* [Internet]. 2001 Feb 2;88(2):229–36. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.RES.88.2.229>
 38. Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* [Internet]. 1986 Jan;8(1):37–44. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.HYP.8.1.37>
 39. Ding J, Yu M, Jiang J, Luo Y, Zhang Q, Wang S, et al. Angiotensin II Decreases Endothelial Nitric Oxide Synthase Phosphorylation via AT1R Nox/ROS/PP2A Pathway. *Front Physiol* [Internet]. 2020 Sep 30;11. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2020.566410/full>
 40. Raj L. Workshop: Hypertension and Cardiovascular Risk Factors. *Hypertension* [Internet]. 2001 Feb;37(2):767–73. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.HYP.37.2.767>
 41. Bataineh A, Raj L. Angiotensin II, nitric oxide, and end-organ damage in hypertension. *Kidney Int* [Internet]. 1998 Dec;54:S14–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815309364>
 42. Guzik TJ, West NEJ, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, et al. Vascular Superoxide Production by NAD(P)H Oxidase. *Circ Res* [Internet]. 2000 May 12;86(9). Available from:

<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.RES.86.9.e85>

43. Sulistyowati E, Hsu JH, Cheng YB, Chang FR, Chen YF, Yeh JL. Indonesian herbal medicine prevents hypertension-induced left ventricular hypertrophy by diminishing NADPH oxidase-dependent oxidative stress. *Oncotarget*. 2017 Oct 17;8(49):86784–98.
44. Razali NNM, Ng CT, Fong LY. Cardiovascular Protective Effects of *Centella asiatica* and Its Triterpenes: A Review. *Planta Med*. 2019;85(16):1203–15.