

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* (L.)
Medik) TERHADAP KADAR TNF-ALFA JARINGAN DAN DIAMETER LUMEN
AORTA TIKUS MODEL DIABETES MELITUS**

Nanda Yunita Ayu Fitriyah¹, Juliet Tangka², Yeni Amalia¹, Yudi Purnomo^{1*}

¹*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang*

²*Departemen Farmasi, Politeknik Kesehatan Manado, Kementerian Kesehatan, Manado, Indonesia*

*Corresponding author email : yudi.purnomo@unisma.ac.id

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144 Tel. (0341) 558959

ABSTRAK

Pendahuluan: Hiperglikemia kronis meningkatkan produksi ROS dan meningkatkan risiko terjadinya komplikasi makroangopati diabetik. Daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) memiliki potensi sebagai antidiabetik dan anti inflamasi, tetapi penelitian tentang daun gedi merah dalam menghambat peningkatan kadar TNF- α jaringan dan diameter lumen aorta yang berperan terhadap komplikasi belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun gedi merah terhadap kadar TNF- α jaringan dan diameter lumen aorta pada tikus model diabetes melitus.

Metode: Tikus *Sprague dawley* jantan usia 4-6 minggu dibedakan menjadi kelompok normal, kelompok diabetes melitus dan kelompok ekstrak etanol daun gedi merah (EEDGM) dosis I (200 mg/kgBB), II (400 mg/kgBB), dan III (800 mg/kgBB) (n=5 ekor). Tikus diabetes diinduksi DTLF dan STZ 25 mg/kgBB i.p *multiple dose*. EEDGM diberikan per oral selama 4 minggu. Kadar TNF- α jaringan aorta diukur menggunakan *microplate reader* $\lambda = 450$ nm dan diameter lumen aorta diperiksa menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran 40x. Analisa statistik menggunakan One Way ANOVA dan uji BNT ($p < 0,05$).

Hasil: Pemberian EEDGM dosis II dan III menghambat peningkatan kadar TNF- α jaringan aorta dibanding KDM ($p < 0,05$). Pemberian EEDGM dosis I, II, dan III tidak signifikan menghambat penurunan diameter lumen aorta dibandingkan dengan KDM ($p > 0,05$). Induksi DTLF dan STZ meningkatkan kadar TNF- α jaringan dan menurunkan diameter lumen aorta.

Kesimpulan: Pemberian EEDGM dapat menghambat peningkatan kadar TNF- α jaringan aorta dan tidak signifikan menghambat penurunan diameter lumen aorta tikus model diabetes melitus.

Kata Kunci : *Diet tinggi lemak, diet tinggi fruktosa, streptozotocin, diabetes, inflamasi.*

**EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF *Abelmoschus manihot* (L.) Medik ON
TISSUE TNF-ALFA LEVELS AND AORTIC LUMEN DIAMETER OF
DIABETIC RAT**

Nanda Yunita Ayu Fitriyah¹, Juliet Tangka², Yeni Amalia¹, Yudi Purnomo^{1*}

¹*Faculty of Medicine University of Islam Malang (UNISMA), Malang*

²*Pharmacy Department, Manado Health Polytechnic, Ministry of Health, Manado*

*Corresponding author email : yudi.purnomo@unisma.ac.id

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144 Tel. (0341) 558959

ABSTRACT

Introduction : Chronic hyperglycemia increase ROS production and risk of diabetic macroangopathy complications. *Abelmoschus manihot* (L.) Medik has potential as an antidiabetic and anti-inflammatory, but research on *Abelmoschus manihot* (L.) Medik inhibiting elevated levels of TNF- α tissue and aortic lumen diameter that contribute to complications has not been widely reported. This research aimed to determine the effect of ethanol extract *Abelmoschus manihot* (L.) Medik by observing the level of TNF- α tissue and aortic lumen diameter in diabetic rats.

Methods : This study use 4-6-weeks-old *Sprague dawley* male rats which divided into normal group, diabetes mellitus group, and ethanol extracts of gedi merah leaves doses I (200 mg/kgBW), II (400 mg/ kgBW), and III (800 mg/kg BW) (n = 5 rats). The rats were induced HFFD and 25 mg/kgBW of STZ injection i.p with multiple dose. The rats were administrated orally EEDGM for 4 weeks. The level of TNF-Alfa aortic tissue was measured using microplate reader $\lambda = 450$ nm, while the aortic lumen diameter was examined using a trinocular microscope at 40x magnification. Statistical analysis using One Way ANOVA and LSD test ($p < 0.05$).

Results : EEDGM dose II and III inhibit the increase levels of TNF- α rat aortic tissue. EEDGM doses I, II, and III were not significant inhibit the decrease of aortic lumen diameter compared to KDM ($p > 0.05$). DTLF and STZ induction increases tissue TNF- α levels and decreases the aortic lumen diameter.

Conclusion : Ethanolic extract of *Abelmoschus manihot* (L.) Medik could inhibit the increase in TNF- α levels of aortic tissue and did not significant inhibit the decrease of aortic lumen diameter.

Keywords : *High fat diet, high fructose diet, streptozotocin, diabetes, inflammation.*

PENDAHULUAN

Komplikasi makroangiopati diabetik pada diabetes melitus masih menjadi permasalahan di Indonesia. Makroangiopati diabetik adalah perubahan struktur dan fungsi pada dinding pembuluh darah yang disebabkan karena inflamasi kompleks pada keadaan hiperglikemia kronis¹. Beberapa bentuk dari komplikasi makroangiopati diabetik antara lain penyakit jantung koroner (PJK), stroke, dan penyakit arteri perifer². Angka kejadian komplikasi makroangiopati diabetik di Indonesia mencapai angka 16 - 20%³ yang didominasi oleh Penyakit Jantung Koroner (PJK) pada pasien DM dengan jumlah sekitar 45-70%⁴. Angka kematian karena komplikasi makroangiopati diabetik mencapai 7,4 juta per tahun dan diperkirakan akan terus meningkat setiap tahunnya⁵.

Komplikasi makroangiopati pada DM didasari oleh reaksi inflamasi. Komplikasi makroangiopati pada DM didasari oleh reaksi inflamasi. Hiperglikemia menginduksi peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang lebih besar dari level *antioxidant defenses* sehingga terjadi kondisi stress oksidatif⁶. Keadaan stress oksidatif menginduksi terjadinya kerusakan oksidatif jaringan dan memicu terjadinya inflamasi. Salah satu sitokin pro inflamasi yang berperan penting adalah *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α)⁷. TNF- α menginduksi penurunan *Nitric Oxide* (NO) sehingga terjadi vasokonstriksi, peningkatan proliferasi *Vascular Smooth Muscle Cells* (VSMCs), dan agregasi platelet⁸. Agregasi platelet berkontribusi pada peningkatan pembentukan trombus dan oklusi pembuluh darah⁹ sementara proliferasi VSMCs dan vasokonstriksi menimbulkan peningkatan ketebalan dinding dan penyempitan diameter lumen pembuluh darah. Mekanisme tersebut dapat berperan terhadap terjadinya komplikasi makroangiopati diabetik.

Daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) merupakan salah satu herbal yang dimanfaatkan untuk pengobatan. Berdasarkan data empirik daun gedi merah dimanfaatkan untuk mengobati penyakit kencing manis, tekanan darah tinggi dan kolesterol¹⁰. Hasil uji preklinik *Abelmoschus manihot* (L.) Medik memiliki aktifitas sebagai anti diabetes yang dikendalikan oleh senyawa aktif flavonoid dan saponin. Flavonoid bekerja melalui mekanisme regenerasi sel β pankreas sehingga kadar glukosa darah dapat menurun karena produksi insulin yang meningkat. Sedangkan, saponin bekerja melalui mekanisme inhibisi enzim alfa glukosidase yang bertanggung jawab untuk mengubah disakarida menjadi monosakarida sehingga terjadi penurunan penyerapan glukosa¹¹.

Hingga saat ini penelitian tentang daun gedi merah dalam menghambat terjadinya komplikasi makroangiopati diabetik belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun gedi merah dalam mencegah terjadinya komplikasi makroangiopati diabetik dengan mengamati kadar TNF- α jaringan aorta serta diameter lumen aorta pada tikus model DM.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan desain *control group post test only*. Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik Universitas Brawijaya Malang dengan sertifikat etik No. 028-KEP-UB tahun 2020. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FK UB), Laboratorium Patologi Anatomi FK UB, Laboratorium Farmakologi FK UB, dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA).

Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus galur *Sparague Dawley* berusia 4-6 minggu dengan berat badan sekitar 180-200 gram. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok kontrol (kelompok normal dan kelompok diabetes melitus) dan 3 kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (EEDGM) yakni kelompok EEDGM 200 mg/kgBB, EEDGM 400 mg/kgBB, dan EEDGM 800 mg/kgBB.

Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus

Pembuatan tikus model DM dilakukan dengan induksi diet tinggi lemak fruktosa (DTLF) dan induksi streptozotocin (STZ). DTLF terdiri dari kuning telur (4%), minyak kambing (6,5%), minyak babi (6,5%), asam kolat (0,2 %) , pakan ayam (82,8%), dan air secukupnya yang diberikan 25 gram/hari setiap sore¹². Pemberian fruktosa 20% terdiri dari 200 ml fruktosa dicampur kedalam 1000 ml air. Fruktosa diberikan 40ml/hari *ad libitum*. Induksi STZ dilakukan setelah memasuki minggu ke-4 pemberian DTLF, dengan dosis STZ sebanyak 25 mg/kgBB secara intraperitoneal *multiple dose*. Pengukuran kadar gula darah puasa dilakukan 72 jam pasca injeksi¹³.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah

Serbuk Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) diperoleh dari Balai Materia Medika, Batu, Jawa Timur, dengan surat keterangan determinasi nomer 074/193A /102.7/2020. Dosis ekstrak etanol daun gedi merah yang digunakan adalah 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB¹⁴. Ekstraksi daun gedi merah menggunakan metode soxhletasi. Serbuk daun gedi merah ditimbang sebanyak 25 gram kemudian

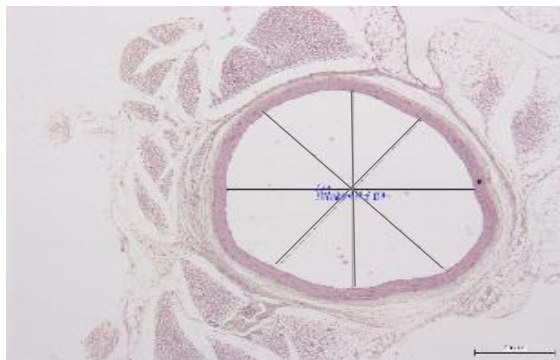
dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan kedalam timbal. Labu alas kosong diisi dengan batu didih dan 250 ml etanol 96%, kemudian timbal berisi sampel disambungkan dengan labu alas dan ditempatkan pada alat pemanas serta kondensor. Setelah itu, dilakukan pemanasan pada pelarut sesuai dengan titik didih pelarut dan hasil ekstrak diuap dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan bentuk pasta. Selanjutnya, ekstrak diberikan dalam 3 dosis.

Pengukuran kadar TNF- α jaringan

Pengukuran kadar TNF- α jaringan menggunakan TNF- α ELISA Rat Kit Elabscience. Preparasi penentuan kadar TNF- α jaringan dijalankan sesuai ketentuan Kit. Hasil nilai OD ditentukan dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm, kemudian hasil dikonversi dalam satuan pg/mL dalam kurva standar linear.

Preparasi dan Pengukuran Diameter Lumen Aorta

Organ Aorta diiris 0,5 cm dari arkus aorta dan dimasukan ke botol flakon kemudian direndam kedalam larutan fiksatif formalin 10 %. Aorta dipotong (*trimming*) kurang lebih 2-3 mm dan diproses dengan alat *automatic tissue texture processor* selama 90 menit dengan teknik *dehydration* untuk mengeluarkan cairan dalam jaringan agar dapat diisi dengan parafin. Selanjutnya dilakukan *clearing* dengan xylol dilanjutkan dengan *infiltration* dengan parafin, kemudian jaringan diangkat dari mesin *tissue processor* dan dilakukan blok parafin. Blok parafin jaringan dipotong dengan alat *microtome* ketebalan 3-5 mikron dan dilakukan proses pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dilanjutkan pengamatan menggunakan mikroskop trinokuler perbesaran 40x dengan satuan mikrometer (μm). Pengukuran dilakukan pada 4 arah jarum jam (12.00 ke 06.00, 03.00 ke 09.00, 01.30 ke 07.30, dan 10.30 ke 04:30) dan dihitung rata-ratanya seperti pada **gambar 1** dibawah ini¹⁵.



Gambar 1. Lumen Aorta Pewarnaan Hemaoylin-Eosin dengan Pembesaran 40x.

Analisa Statistik

Data yang diperoleh dianalisa dengan uji normalitas dan homogenitas. Apabila data dinyatakan terdistribusi normal maka dilakukan uji

beda menggunakan metode statistik parametrik yaitu *one way ANOVA* dan dilanjutkan uji *least significance different* (LSD). Hasil dinyatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Analisa data dilakukan dengan memakai software statistik SPSS.

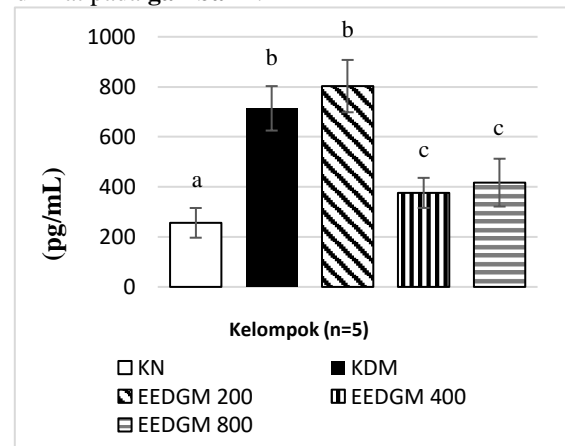
HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini didapatkan hasil karakteristik hewan coba yang tercantum dalam **tabel 1**. Berdasarkan **tabel 1**, berat badan pra perlakuan tidak berbeda antar semua kelompok. Berat badan pasca perlakuan cenderung meningkat pada semua kelompok dibandingkan dengan berat badan pra perlakuan. Kelompok pemberian ekstrak menunjukkan BB yang lebih besar dibandingkan KDM. Berat badan pada KN lebih besar dibandingkan dengan KDM. Asupan pakan terendah terdapat pada kelompok EEDGM 200 mg/kgBB dan tertinggi terdapat pada KN. KGDP pra perlakuan pada kelompok EEDGM dan KDM cenderung meningkat setelah induksi DTLF dan STZ. KGDP pada kelompok KDM pasca perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan KN ($p < 0,05$). KGDP setelah pemberian ekstrak lebih rendah dibandingkan dengan KDM ($p < 0,05$).

Kadar TNF- α Jaringan Aorta Tikus Model Diabetes Melitus

Efek ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terhadap kadar TNF- α jaringan aorta tikus model Diabetes dapat dilihat pada **gambar 2**.



Gambar 2. Histogram kadar TNF- α jaringan aorta tikus model diabetes melitus yang telah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah

Keterangan : *a,b,c,...=huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$,LSD) terhadap kadar TNF- α jaringan aorta tikus model diabetes melitus

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) pada kelompok EEDGM dosis 400 mg/kgBB dan EEDGM 800 mg/kgBB menghambat peningkatan kadar TNF- α berturut-turut sekitar 45% dan 40% dibandingkan dengan kelompok KDM ($p < 0,05$). Sedangkan

kelompok EEDGM 200 mg/kgBB tidak signifikan menghambat peningkatan kadar TNF- α dibandingkan dengan kelompok KDM ($p>0,05$). Pemberian EEDGM 400 mg/kgBB tidak berbeda dengan EEDGM 800 mg/kgBB dalam menghambat peningkatan kadar TNF- α jaringan aorta.

Tabel 1. Karakteristik sampel

n=5	KN	KDM	EEDGM 200 mg/KGBB	EEDGM 400 mg/KGBB	EEDGM 800 mg/KGBB
BB pra perlakuan (g)	242.8 \pm 12.7	230.4 \pm 11.5	246.8 \pm 18.9	256.2 \pm 32.20	253.0 \pm 25.08
BB pasca perlakuan (g)	335.4 \pm 34.9 ^a	279.2 \pm 54.0 ^b	304.80 \pm 52.0	324.8 \pm 24.1	315.5 \pm 43.0 ^a
Δ BB (g)	92.6 \pm 27.6	48.8 \pm 44.5	58.0 \pm 48.9	68.6 \pm 33.2	80.6 \pm 10.7
Asupan Pakan (%)	89.6 \pm 9.6	84.8 \pm 7.7	77.6 \pm 15.1	86.4 \pm 9.21	81.6 \pm 12.2
KGDP awal (mg/dL)	74.6 \pm 3.0	85.0 \pm 8.5	83.2 \pm 5.3	87.6 \pm 3.9	81.6 \pm 3.2
KGDP pra- perlakuan (mg/dL)	100.0 \pm 7.9	182.6 \pm 43.1	171.6 \pm 11.6	172.2 \pm 26.6	163.6 \pm 9.9
KGDP pasca- perlakuan (mg/dL)	111.6 \pm 5.9 ^a	149.8 \pm 11.1 ^b	130.6 \pm 4.8 ^c	120.8 \pm 11.4 ^d	113.8 \pm 5.7 ^e

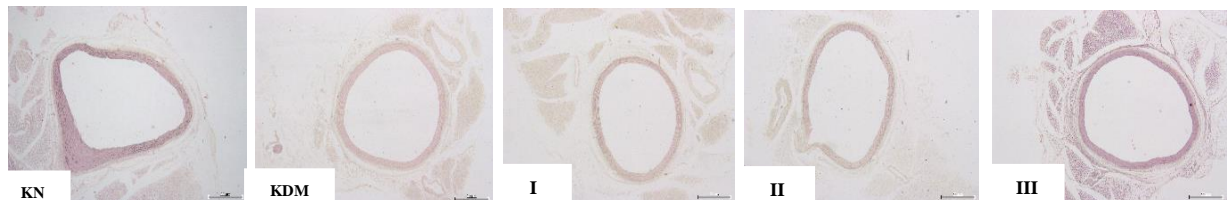
Keterangan: Data dalam mean \pm SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, BB: Berat Badan, Δ BB: selisih BB akhir dan awal, KGDP : Kadar Glukosa Darah Puasa, KN: Kelompok Normal, KDM: Kelompok Diabetes Melitus, EEDGM: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah. Notasi yang berbeda menunjukkan signifikansi ($p<0,05$).

Diameter Lumen Aorta Tikus Model Diabetes Melitus

Efek pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terhadap

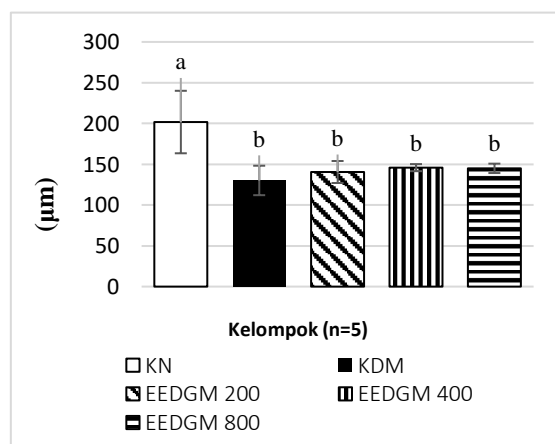
Sementara kadar TNF- α jaringan aorta pada pemberian EEDGM 200- 800 mg/kgBB lebih tinggi dibandingkan KN ($p<0,05$). Induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ meningkatkan kadar TNF- α jaringan aorta secara signifikan sekitar 2,5 kali lipat dibandingkan KN ($p<0,05$).

diameter lumen aorta tikus model diabetes melitus dapat dilihat pada **gambar 3** dan **gambar 4**.



Gambar 3. Histopatologi Lumen Aorta Tikus Diabetes Melitus

Keterangan: Gambaran histopatologi lumen aorta setelah dilakukan pewarnaan Hematoxylin-Eosin, pembesaran 40x pada kelompok KN; KDM; (I) EEDGM 200 mg/kgBB; (II) EEDGM 400 mg/kgBB; (III) EEDGM 800 mg/kgBB.



Gambar 4. Histogram diameter lumen aorta tikus model diabetes melitus yang telah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah

Keterangan : *a,b,c,...=huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$,LSD) terhadap diameter lumen aorta tikus model diabetes melitus

Induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ menurunkan diameter lumen aorta secara signifikan sekitar 35% dibandingkan KN ($p<0,05$). Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) pada kelompok EEDGM dosis 200mg/kgBB, EEDGM dosis 400 mg/kgBB dan EEDGM 800 mg/kgBB tidak signifikan menghambat penurunan diameter lumen aorta dibandingkan kelompok KDM ($p>0,05$). Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan secara signifikan dalam menghambat penurunan diameter lumen Aorta ($p>0,05$).

PEMBAHASAN

Efek Induksi DTLF dan STZ terhadap kadar TNF- α Jaringan dan Diameter Lumen Aorta Tikus Model Diabetes Melitus

Pada kelompok diabetes melitus (KDM), induksi dari DTLF dan STZ menginduksi

peningkatan dari produksi TNF- α jaringan aorta. Hal ini terjadi karena Induksi DTLF menyebabkan terjadinya hiperglikemia melalui mekanisme peningkatan *Free Fatty Acid* (FFA) dan Trigliserida (TG). Peningkatan FFA dan TG mengaktivasi Protein Kinase C (PKC). Aktivasi dari PKC menimbulkan terjadinya gangguan pada *insulin receptor substrate (IRS)-1* sehingga menginduksi resistensi insulin sel β pankreas. Selain itu, peningkatan FFA dan TG memicu aktivasi *toll-like receptor-4* (TLR-4) yang menginduksi terbentuknya sitokin pro inflamasi TNF- α . Fruktosa masuk melalui GLUT 2 menuju hepatosit dan diubah menjadi fruktosa 1-fosfat oleh fruktokinase C. Fruktokinase 1-fosfat diubah menjadi D-gliseraldehid dan dihydroxyaceton fosfat. Kedua jalur ini menginduksi terbentuknya trigliserida sehingga menimbulkan resistensi insulin^{16,17}. Sedangkan induksi streptozotocin (STZ) menyebabkan destruksi sel β pankreas melalui metilasi DNA yang selanjutnya mengaktivasi *Poly ADP-Ribose Polymerase* (PARP) dan menurunkan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (NAD⁺) sel β pankreas sehingga terjadi penurunan dari produksi insulin¹⁸. Kedua mekanisme ini menyebabkan terjadinya hiperglikemia kronis sehingga memicu terjadinya pembentukan ROS yang berlebih dan penurunan kerja dari antioksidan. Ketidakseimbangan ini akan memicu terjadinya stress oksidatif dan lebih lanjut menyebabkan kerusakan oksidatif pada jaringan dan terjadi peningkatan pelepasan sitokin pro inflamasi TNF- α yang berlebihan.

Sitokin pro inflamasi TNF- α utamanya diproduksi oleh sel imun seperti makrofag dan limfosit. TNF- α berperan sebagai respon imun terhadap terjadinya inflamasi, infeksi maupun kerusakan jaringan. TNF- α yang diproduksi berlebihan memicu penurunan *nitric oxide* (NO) sehingga menginduksi peningkatan dari endothelin-1 (ET-1) sehingga menyebabkan terjadinya proliferasi otot polos pembuluh darah¹⁹. TNF- α menginduksi migrasi dan proliferasi sel otot polos pembuluh darah melalui aktivasi *Tumor Necrosis Factor Receptor 2* (TNFR2) sehingga memicu transaktivasi *vascular endothelial growth factor receptor 2* (VEGFR2) dan Etk. Selanjutnya, Etk mengaktivasi persinyalan dari PI3K /Akt (*phosphatidylinositol 3-kinase / Akt*) yang merangsang migrasi sel endotel⁸.

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah terhadap Kadar TNF- α Jaringan Aorta Tikus Model Diabetes Melitus

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah menurunkan kadar TNF- α pada jaringan aorta. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa aktif daun gedi merah yang berperan sebagai anti inflamasi, antioksidan, dan antidiabetik^{11,20}. Mekanisme kerja senyawa aktif daun gedi merah tersebut dijelaskan

sebagai berikut. Kandungan senyawa aktif flavonoid pada daun gedi merah memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi yang memiliki efek langsung pada penghambatan peningkatan TNF- α jaringan aorta. Kandungan quercetin pada flavonoid daun gedi merah diduga memiliki mekanisme penurunan aktivitas faktor transkripsi NF κ B sehingga menghambat peningkatan dari TNF- α ^{20,21}. Potensi daun gedi merah dalam menghambat peningkatan TNF- α diduga karena adanya senyawa aktif flavonoid dan polifenol yang berperan sebagai *scavenger* radikal hidroksil dan superhidroksil^{11,21} sehingga dapat menghambat terjadinya peroksidasi lipid membran sel β pankreas dan mencegah konversi superoksida menjadi rantai superoksida hidrogen dengan menyumbangkan atom hidrogen polifenol aromatik hidroksil (OH) sehingga memicu penurunan produksi ROS¹⁴. Produksi ROS yang menurun akan menghambat terjadinya stress oksidatif dan kerusakan oksidatif jaringan sehingga tidak memicu terjadinya inflamasi dan pelepasan sitokin pro inflamasi TNF- α . Kandungan zat aktif flavonoid, saponin, dan alkaloid pada daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) memiliki aktivitas antidiabetik. Senyawa flavonoid bekerja melalui mekanisme regenerasi sel β pankreas sehingga kadar glukosa darah dapat menurun karena produksi insulin yang meningkat. Senyawa aktif saponin bekerja saponin bekerja melalui mekanisme inhibisi enzim alfa glukosidase yang bertanggung jawab untuk mengubah disakarida menjadi monosakarida sehingga terjadi penurunan penyerapan glukosa¹¹. Sedangkan alkaloid menginduksi penurunan kadar glukosa darah dengan menstimulasi hipotalamus untuk meningkatkan *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH) sehingga memicu sekresi *Growth Hormone* (GH) pada hipofisis. Peningkatan sekresi GH memicu hepar melepaskan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) yang menginduksi penurunan kadar glukosa darah¹⁴. Mekanisme ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Tandi (2016) bahwa ekstrak etanol daun gedi merah memiliki potensi menurunkan kadar glukosa darah pada tikus setelah induksi diabetes melitus sehingga menghambat peningkatan pelepasan sitokin pro inflamasi TNF- α .

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (EEDGM) dosis 400 mg/kgBB tidak berbeda dengan EEDGM 800 mg/kgBB dalam menghambat peningkatan kadar TNF- α jaringan aorta. Efek yang tidak berubah dengan penambahan dosis diakibatkan karena sampel yang diberikan dalam bentuk ekstrak kasar sehingga memiliki berbagai mekanisme kerja dari kandungan senyawa aktif yang dimiliki yang menyebabkan peningkatan dosis tidak diikuti dengan peningkatan efek. Selain itu, hal ini dapat disebabkan karena interval antar dosis ekstrak terlalu dekat sehingga dengan pemberian dosis bertingkat tidak memberikan efek penurunan TNF- α jaringan aorta yang setara dengan peningkatan dosis¹¹. Faktor lain yang dapat mempengaruhi

adalah lama pemberian yang tergolong singkat dan dosis yang kurang. Hal ini menyebabkan efek perbedaan dosis tidak berbeda secara signifikan. Kadar TNF- α pada kelompok pemberian EEDGM 200 mg/kgBB lebih tinggi jika dibandingkan dengan KDM sehingga hasil yang didapat tidak signifikan. Hal ini dapat disebabkan oleh durasi pemberian ekstrak yang relatif singkat maupun dosis ekstrak yang kurang sehingga dapat mempengaruhi dari kerja senyawa aktif untuk mencapai reseptor dan memberikan efek dalam menghambat peningkatan kadar TNF- α jaringan aorta.

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah Terhadap Diameter Lumen Aorta Tikus Model Diabetes Melitus.

Pada penelitian ini, pemberian EEDGM dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB tidak memiliki hasil signifikan dalam menghambat penurunan diameter lumen aorta tikus model diabetes namun memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan KDM. Hal ini diduga karena durasi pemberian EEDGM pada tikus model diabetes yang singkat sehingga belum mampu mengurangi efek dari kerusakan oksidatif jaringan aorta yang disebabkan oleh peningkatan dari ROS²² serta peningkatan sitokin pro inflamasi ataupun faktor dosis yang kurang. Dosis pemberian EEDGM yang kurang menghasilkan aktivitas biologis yang rendah untuk menghambat terjadinya proliferasi sel otot polos aorta sehingga penghambatan penurunan dari diameter lumen aorta tikus model diabetes melitus ini mendapatkan hasil yang tidak signifikan. Selain itu, dosis pemberian EEDGM yang berlebihan juga mampu menyebabkan terjadinya penurunan kepekaan reseptor terhadap senyawa aktif sehingga menyebabkan efek biologis dari senyawa aktif menurun. Faktor lain yakni kondisi hiperglikemia memicu kerusakan pembuluh darah yang *irreversible* sehingga pemberian EEDGM dalam berbagai tingkatan dosis tidak signifikan menghambat penurunan diameter lumen aorta²³. Pemberian EEDGM dosis I, II, III tidak signifikan menghambat penurunan dari diameter lumen aorta ($p>0.05$). Hal ini dapat diduga karena pemberian ekstrak kasar dari EEDGM memiliki kandungan multikomponen sehingga kerja senyawa aktif memiliki beberapa mekanisme kerja. Faktor ini menyebabkan perbedaan tingkatan dosis yang diberikan tidak disertai dengan peningkatan efek dalam menghambat penurunan diameter lumen aorta tikus model DM.

Aorta adalah pembuluh terbesar dalam tubuh yang memiliki fungsi mengedarkan darah tinggi akan oksigen menuju seluruh tubuh. Aorta memiliki 3 struktur lapisan dinding diantaranya adalah tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia²⁴. Keadaan hiperglikemia kronis memicu terjadinya kerusakan jaringan pembuluh darah melalui proliferasi sel otot polos aorta yang disebabkan oleh

kerusakan oksidatif jaringan sehingga perfusi darah ke jaringan akan terganggu.

Bentuk bias dalam penelitian ini adalah bentuk lumen aorta yang tidak sama. Hal ini dapat disebabkan karena pemotongan maupun peletakan sampel pada *slide* sehingga peneliti melakukan pengukuran diameter lumen aorta pada 4 arah jarum jam (12.00 ke 06.00, 03.00 ke 09.00, 01.30 ke 07.30, dan 10.30 ke 04:30) dan menghitung reratanya. Pemotongan organ aorta dilakukan pada bagian lengkung aorta karena bagian tersebut merupakan bagian paling elastis dan rentan terjadi kerusakan akibat turbulensi aliran darah yang tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dan pembahasan di atas maka dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB menghambat peningkatan kadar TNF- α jaringan aorta
2. Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB tidak signifikan menghambat penurunan diameter lumen aorta tikus model diabetes melitus

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan bahwa :

1. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan metode *in silico* untuk mengetahui mekanisme kerja zat aktif yang terkandung dalam herbal uji.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan *Nitric oxide* sebagai marker untuk mengetahui hubungannya proliferasi sel otot polos aorta.

UCAPAN TERIMAKASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Petrie JR, Guzik TJ, Touyz RM. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: clinical insights and vascular mechanisms. *Canadian Journal of Cardiology*. 2018 May 1;34(5):575-84.
- [2] Norris T. Porth's Essentials of Pathophysiology. Lippincott Williams & Wilkins; 2019 Oct 17.pp:1225
- [3] Soewondo P, Soegondo S, Suastika K, Pranoto A, Soeatmadji DW, Tjokroprawiro A. The DiabCare Asia 2008 study—Outcomes

- on control and complications of type 2 diabetic patients in Indonesia. *Medical Journal of Indonesia*. 2010 Nov 1;19(4):235-44.
- [4] Aquarista NC. Differences Characteristics Patients Diabetes Mellitus Type 2 with and without Coronary Heart Disease. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 2017 Apr 28;5(1):37-47.
- [5] Kementrian Kesehatan RI. " Penyakit Jantung Penyebab Kematian Tertinggi, Kemenkes Ingatkan CERDIK". Available: <http://www.depkes.go.id/article/view/17073100005/penyakit-jantung-penyebab-kematian-tertinggi-kemenkes-ingatkan-cerdik.html>. [Accessed: 28-Maret-2020].
- [6] Morales-Gonzalez JA, editor. Oxidative stress and chronic degenerative diseases: A role for antioxidants. *BoD-Books on Demand*; 2013 May 22.
- [7] Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*. 2019;11(3):45.
- [8] Urschel K, Cicha I. TNF- α in the cardiovascular system: from physiology to therapy. *Internat J Interferon Cytokine Med Res*. 2015 Jul 9;7:9-25.9. Barale, C. and Russo, I., 2020. Influence of Cardiometabolic Risk Factors on Platelet Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), p.623
- [9] Barale C, Russo I. Influence of cardiometabolic risk factors on platelet function. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Jan;21(2):623.
- [10] Adeline F, Wuisan J, Awaloei H. Uji efek ekstrak gedi merah (*Abelmoschus Manihot* L. Medik) terhadap kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi aloksan. *eBiomedik*. 2015;3(1).
- [11] Tandil J, Muthi'ah HZ, Yuliet Y, Yusriadi Y. Efektivitas Ekstrak Daun Gedi Merah terhadap Glukosa Darah, Malondialdehid, 8-Hidroksi-Deoksiguanosin, Insulin Tikus Diabetes. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 2016 Dec 31;3(4):264-76.
- [12] Murwani S, Ali M, Muliarta K. Diet atherogenik pada tikus putih (*Rattus novergicus* strain Wistar) sebagai model hewan aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2013 Apr 18;22(1):6-9.
- [13] Xiang X, Wang Z, Zhu Y, Bian L, Yang Y. Dosage of streptozocin in inducing rat model of type 2 diabetes mellitus. *Wei sheng yan jiu= Journal of hygiene research*. 2010 Mar;39(2):138-42.
- [14] Tandil J, As'ad S, Natzir R, Bukhari A. Test Of Ethanolextract Red Gedi Leaves (*Abelmoschus Manihot*.(L.) Medik) In White Rat (*Rattus Norvegicus*) Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal Of Sciences*. 2016;30(4):84-94.
- [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] Boden G, Laakso M. Lipids and glucose in type 2 diabetes: what is the cause and effect?. *Diabetes care*. 2004 Sep 1;27(9):2253-9.
- [17] Saponaro C, Gaggini M, Gastaldelli A. Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes: common pathophysiologic mechanisms. *Current diabetes reports*. 2015 Jun 1;15(6):34.
- [18] Goud BJ, Dwarakanath V, Chikka BK. Streptozotocin-a diabetogenic agent in animal models. *Int J Pharm Pharm Res*. 2015;3(1):253-69.
- [19] Marso SP, Hiatt WR. Peripheral arterial disease in patients with diabetes. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006 Mar 7;47(5):921-9.
- [20] Tadarwal A, Jain P, Bari S. *Abelmoschus manihot* Linn: ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *Asian Journal of Traditional Medicines*. 2011 Feb 20;4(1):21-5.
- [21] Choy KW, Murugan DD, Leong XF, Abas R, Alias A. Flavonoids as natural anti-inflammatory agents targeting nuclear factor-kappa B (NF κ B) signalling in cardiovascular diseases: A mini review. *Frontiers in pharmacology*. 2019;10:1295.
- [22] Waris R, AM ED, Najib A. Radical scavenging activity of leaf extract of edible *Hibiscus* (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) using 1, 1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil (DPPH). *International Journal of PharmTech Research*. 2016;9(6):343-7.
- [23] Li C, Miao X, Wang S, Adhikari BK, Wang X, Sun J, Liu Q, Tong Q, Wang Y. Novel curcumin C66 that protects diabetes-induced aortic damage was associated with suppressing JNK2 and upregulating Nrf2 expression and function. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018 Jan 1;2018.
- [24] Eroschenko VP (2013). *Atlas of Histology*. Edisi ke 12. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, pp: 367-72.