

**EFEK PROTEKSI EKSTRAK DAUN SAMBUNG NYAWA  
(*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) TERHADAP DISFUNGSI  
SEL ENDOTEL PADA MENCIT PUTIH JANTAN DENGAN  
PENGINDUKSI LARUTAN NaCl 3%**

**SKRIPSI**



**OLEH**

**SYAFIRA ADHLIANY**  
**1404084**

**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN PERINTIS  
PADANG  
2018**

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Shalawat beserta salam kepada Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana strata satu (S-1) pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang, dengan judul **“Efek Proteksi Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) Terhadap Disfungsi Sel Endotel Pada Mencit Putih Jantan Dengan Penginduksi Larutan NaCl 3%”**.

Terimakasih yang sebesar-besarnya ingin penulis sampaikan kepada keluarga tercinta atas dukungan moril dan material yakni Ayahanda Asman N S.Pd, M.Si, Ibunda Dra. Defri Andayani, Kakak Febri Farhanny S.P dan Adik Nur Ismi Deas Dzaka Fadhillah serta seluruh keluarga untuk segala kasih sayang, semangat, nasihat beserta do'a tulus yang tiada tara bagi penulis.

Pada kesempatan ini perkenankan penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada :

1. Ibu Dr.Suhatri, M.S, Apt dan ibu Mimi Aria, M.Farm, Apt selaku dosen pembimbing yang dengan perhatian dan kesabaran telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis dalam penulisan hingga penyelesaian skripsi.
2. Bapak H. Zulkarni R, S.Si, MM, Apt selaku ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang.
3. Ibu Farida Rahim, S.Si, M.Farm, Apt selaku Pembimbing Akademik, yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama

masa perkuliahan hingga menyelesaikan pendidikan program strata 1 (S1).

4. Kepala Laboratorium Penelitian bagian Farmakologi dan Kepala Laboratorium Instrumen Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang serta Kepala Laboratorium Biomedik yang telah menyediakan alat dan bahan dalam pengerjaan penelitian ini.
5. Diani Pratiwi, Irvan Zuliansyah, Rhestyka Suci Mandasari, Minang Sari Yuliani, Eureka Fadillah Susanti, Desy Nurdianti, Rizky Wulandari, Julia Nuzulandari, Khairani Sa'adah, Dian Fatmawati, Aulia Putri Jasril, Wirdatul Jannah, Kurnia Hidayat, S.Farm, Suci Indah Kartika, S.Farm, Rozin Zilfa, S.Farm, Rifka Irhamna, S.Farm, Fandi Firmawan Putra, Kakak dan abang senior, teman – teman angkatan 2014 (Metamorfosis) serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karuniaNya kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Mudah-mudahan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca lainnya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Padang, Agustus 2018  
Hormat Saya

Penulis

## ABSTRAK

Sel endotel adalah selapis sel pada lapisan intima dinding pembuluh darah yang berperan dalam mengatur tonus otot polos pembuluh darah dengan melepaskan *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) dan *Endothelium Derived Contracting Factor* (EDCF). Disfungsi sel endotel terjadi karena ketidakseimbangan antara EDRF dan EDCF. Penelitian tentang efek proteksi disfungsi sel endotel ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) telah dilakukan pada mencit putih. Disfungsi sel endotel diinduksi dengan larutan NaCl 3%. Pada penelitian ini hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan berat badan 20-30g dan berumur 2-3 bulan. Dosis pemberian ekstrak daun sambung nyawa yang digunakan yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Ekstrak dan larutan NaCl 3% diberikan bersamaan secara oral selama 21 hari. Kelompok negatif hanya diberikan suspensi Na.CMC 0,5%. Hasil penelitian setelah pemberian ekstrak daun sambung nyawa semua dosis uji dapat meningkatkan kadar NO. Berdasarkan uji statistik kadar NO serum dengan menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan, dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol positif ( $P < 0,05$ ), sedangkan dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ). Penggunaan ekstrak daun sambung nyawa selama 3 minggu tidak mempengaruhi organ jantung, ginjal dan hati hewan percobaan ( $P > 0,05$ ).

## ABSTRACT

Endothelial cell is a layer cell in wall coating blood vessels which plays a role to regulate smooth muscle tone of blood vessels by releasing *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) and *Endothelium Derived Contracting Factor* (EDCF). Endothelial cell dysfunction occur due to the imbalance condition between EDRF and EDCF. A Research of endothelial cell dysfunction test of sambung nyawa leaves extract (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) has been done in white male mice. Endothelial cell dysfunction is induced by 3% NaCl solution. Endothelial cell dysfunction is characterized by decreased NO levels. In this study, the animal experiments were used white male mice weighing 20-30g and 2-3 months old. Dose of Sambung nyawa leaves extract were used 50 mg/kgBW, 100 mg/kgBW and 200 mg/kgBW. The extracts and 3% NaCl solution were administered orally for 21 days. The negative control group was given a 0.5% NaCMC suspension. The result of research after giving the extract of sambung nyawa leaves extract all tested dose can increase the level of NO. Based on NO serum concentration statistic test by using one way ANOVA and continued by Duncan test, dose 100 mg/kgBW and dose 200 mg/kgBW significantly different compared to positive groups ( $P < 0,05$ ), while dose 50 mg/kgBW was not significantly different ( $P > 0.05$ ). The using of sambung nyawa leaves extract for 3 weeks does not affect the heart organ, kidney and liver of experimental animals ( $P > 0.05$ ).

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	i
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Daun Sambung Nyawa.....	6
2.1.1 Klasifikasi .....	6
2.1.2 Nama Daerah.....	6
2.1.3 Nama Asing .....	6
2.1.4 Asal dan Tempat Tumbuh.....	7
2.1.5 Morfologi Tumbuhan.....	7
2.1.6 Kegunaan Tumbuhan.....	7

2.2 Tinjauan Kimia .....	8
2.2.1 Flavonoid .....	8
2.3 Tinjauan Farmasetik .....	10
2.4 Tinjauan Farmakologi.....	11
2.5 Sel Endotel .....	12
2.5.1 Fungsi Sel Endotel.....	13
2.5.2 Disfungsi Sel Endotel .....	15
2.5.3 Hubungan Garam (NaCl) dengan Disfungsi Sel Endotel..	17
2.6 Nitrogen Monoksida (NO) .....	18
2.6.1 Biosintesa Nitrogen Monoksida (NO).....	19
2.6.2 Pengukuran NO Menggunakan Reagen GRIESS.....	19
2.6.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi NO .....	20
2.7 Pengobatan Disfungsi Endotel pada Hipertensi.....	21
2.8 Radikal Bebas .....	23
2.8.1 Efek Radikal Bebas dalam tubuh.....	23
2.9 Antioksidan.....	24
2.10 <i>Enzyme-Linked Immunosorbant Assay (ELISA)</i> .....	27
<b>BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	29
3.2 Alat dan Bahan .....	29
3.2.1 Alat .....	29
3.2.2 Bahan .....	29
3.2.3 Hewan Percobaan .....	30
3.3 Metode Penelitian .....	30

3.3.1 Pengambilan sampel .....	30
3.3.2 Identifikasi Sampel .....	30
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa .....	30
3.3.4 Evaluasi Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa.....	31
A. Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak .....	31
B. Pemeriksaan Rendemen Ekstrak .....	31
C. Pemeriksaan Susut Pengeringan Ekstrak.....	31
D. Penetapan Kadar Abu.....	32
E. Uji Skrining Fitokimia.....	32
3.3.5 Pembuatan Larutan NaCl.....	34
3.3.6 Perencanaan Dosis .....	34
3.3.7 Pembuatan Sediaan Uji.....	35
3.3.8 Perlakuan pada Hewan Uji .....	36
3.3.9 Penyiapan Serum .....	36
3.3.10 Pemeriksaan Rasio Berat Organ .....	37
3.3.11 Pemeriksaan Kadar NO serum .....	37
3.3.12 Analisis Data Pengolahan Data Hasil Penelitian .....	38
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>39</b>
4.1 Hasil.....	39
4.2 Pembahasan .....	41
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan .....	49
5.2 Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Gambar .....	55
2. Skema Kerja .....	60
3. Hasil Karakterisasi Ekstrak Daun Sambung Nyawa ( <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.) .....	63
4. Hasil Pengukuran Kadar NO Serum.....	66
5. Pengukuran Rasio Berat Organ Hati .....	70
6. Pengukuran Rasio Berat Organ Ginjal .....	73
7. Pengukuran Rasio Berat Organ Jantung .....	76

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Flavonoid .....	8
2. Sediaan Sambung Nyawa yang Beredar di Pasaran.....	11
3. Sel Endotel Pada Pembuluh Darah .....	13
4. Gangguan Pembentukan NO Akibat Disfungsi Sel Endotel Pada Penderita Hipertensi .....	17
5. Reaksi Kimia Yang Terlibat Pada Pengukuran Nitrit Dengan Reagen GRIESS .....	20
6. Prinsip Kerja <i>Enzym Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA).....	28
7. Tanaman Daun Sambung Nyawa ( <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.)	55
8. Daun Sambung Nyawa ( <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.).....	55
9. Surat Hasil Identifikasi Daun Sambung Nyawa ( <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.).....	56
10. Plat Mikrotiter Yang Berisi Serum Dengan Reagen GRIESS .....	57
11. Alat ELISA Spektrofotometer Bio-Rad.....	57
12. Reagen Nitrit Oxide Colorimetric Assay .....	58
13. Organ Hati Mencit Putih Jantan.....	58
14. Organ Ginjal Mencit Putih Jantan.....	59
15. Organ Jantung Mencit Putih Jantan .....	59
16. Skema Kerja Ekstraksi dan Evaluasi Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa ( <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.).....	60
17. Skema Kerja Perlakuan Terhadap Hewan Percobaan.....	61
18. Skema Kerja Pengukuran NO .....	62

19.	Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rata-Rata Kadar NO .....	67
20.	Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rata-Rata Rasio Berat Organ Hati .....	71
21.	Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rata-Rata Rasio Berat Organ Ginjal .....	74
22.	Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rata-Rata Rasio Berat Organ Jantung.....	77

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
I. Sifat dan Fungsi Sel Endotel .....	14
II. Pengelompokan Hewan Percobaan .....	36
III. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa .....	63
IV. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Daun Sambung Nyawa ....	63
V. Hasil Pemeriksaan Susut Pengeringan .....	63
VI. Hasil Pemeriksaan Kadar Abu .....	64
VII. Hasil Pemeriksaan Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sambung Nyawa ...	65
VIII. Kadar NO Serum.....	66
IX. Persentase Peningkatan Kadar NO Terhadap Kontrol Positif.....	67
X. Hasil Analisa Statistik Kadar NO Mencit yang Diinduksi Larutan NaCl 3% (ANOVA satu arah,SPSS 16) .....	68
XI. Hasil Perhitungan Statistik Kadar NO Mencit yang Diinduksi Larutan NaCl 3% Dengan Uji Lanjut Duncan (SPSS 16).....	69
XII. Hasil Pengukuran Rasio Berat Organ Hati.....	70
XIII. Hasil Analisa Statistik Rasio Berat Organ Hati (ANOVA satu arah, SPSS 16) .....	71
XIV. Hasil Pengukuran Rasio Berat Organ Ginjal .....	73
XV. Hasil Analisa Statistik Rasio Berat Organ Ginjal (ANOVA satu arah, SPSS 16) .....	74
XVI. Hasil Pengukuran Rasio Berat Organ Jantung .....	76
XVII. Hasil Analisa Statistik Rasio Berat Organ Jantung (ANOVA satu arah, SPSS 16) .....	77

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sel endotel adalah selapis sel pada intima pembuluh darah yang berperan dalam mengatur tonus otot polos pembuluh darah (Ignarro *et al.*, 1987). Sel endotel mempunyai peran yang sangat penting untuk mengatur tonus pembuluh darah yaitu dengan melepaskan *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) dan *Endothelium Derived Contracting Factor* (EDCF) sehingga dapat dipertahankan keadaan tekanan darah yang normal. Sel endotel juga berperan pada migrasi dan pertumbuhan dari sel otot polos pembuluh darah, menghambat proses koagulasi darah, merangsang disolusi pembekuan darah yang telah terbentuk pada lumen pembuluh darah serta mengatur adesi dan migrasi sel-sel radang pada dinding pembuluh darah (Inoue *et al.*, 1998).

Disfungsi endotel adalah perubahan status fungsional sel endotel yang terjadi sebagai respon terhadap rangsangan lingkungan (Kumar *et al.*, 2007). Disfungsi endotel akan menurunkan daya vasodilatasi pembuluh darah, karena terjadi penurunan produksi dan bioaktivitas faktor vasodilatasi lokal, khususnya *Nitrogen Monoksida* (NO) atau *Endothelium Derivate Relaxing Factor* (EDRF). Disfungsi endotel mengawali terjadinya perubahan struktur pembuluh darah, sehingga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan tahanan perifer di dalam arteri. Hal ini menunjukkan betapa pentingnya peranan endotel yang utuh dalam memproteksi pembuluh darah. Salah satu penyebab terjadinya disfungsi sel endotel adalah berkurangnya produksi *Nitric Monoxide* (NO) akibat berubahnya

proses reaksi oksidasi reduksi yang terjadi pada sel endotel. (Srinivasan *et al.*, 2004).

Sebagian penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Reaksi oksidasi yang terjadi setiap saat dapat mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif (*Reactive Oxygen Species*). Radikal bebas ini pada akhirnya akan merusak struktur serta fungsi sel (Marx, 1985). Kerusakan sel endotel dapat disebabkan oleh hipertensi karena meningkatnya tekanan pada dinding pembuluh darah. Pada keadaan tersebut endotel dapat menghasilkan substrat yang bersifat vasokonstriktor, termasuk EDCF yang dibentuk melalui jalur siklooksigenase, seperti PGH<sub>2</sub>, TxA<sub>2</sub> dan anion superoksida. Anion superoksida tersebut secara langsung dapat mempengaruhi tonus struktur pembuluh darah serta menghancurkan NO (Taddei *et al.*, 1998).

NaCl yang tinggi dapat menurunkan produksi nitrogen monoksida, hal ini terjadi akibat terganggunya sintesis nitrogen monoksida dari asam amino L-arginin dengan bantuan enzim NO sintase (NOS) pada endothelium pembuluh darah ginjal (Higashi *et al.*, 1996). Tingginya kadar garam akan menekan produksi NO atau akan menyebabkan pembuluh darah tepi resisten terhadap NO. Hal ini akan berpengaruh terhadap tekanan pembuluh darah arteri (Fujiwara *et al.*, 2000). Asupan garam yang berlebih dapat menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya hipertensi. Hipertensi akan menyebabkan meningkatnya tekanan pada dinding pembuluh darah sehingga terjadi aktivasi dan kerusakan sel endotel yang menimbulkan adanya disfungsi sel endotel (Taddei *et al.*, 1998).

Pada penderita hipertensi essensial terjadi gangguan vasodilatasi pembuluh darah dan terbentuknya superoksida radikal oleh endotel (Panza *et al.*, 1995).

Hipertensi menyebabkan stress oksidatif sehingga terjadi disfungsi sel endotel. Akibatnya terjadi penurunan produksi *Nitric Oxide* (NO) dan peningkatan suatu produk akhir peroksidasi lipid yakni *Malondealdehyde* (MDA). Dengan demikian diperlukan antioksidan untuk mengatasi stress oksidatif yang ditimbulkan oleh hipertensi (Sulistiyowati *et al.*). Berdasarkan hasil penelitian Musanti *et al* (2016) menemukan bahwa daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) mengandung senyawa flavonoid yang memiliki potensi sebagai antioksidan.

Penelitian Firmansyah *et al* (2017) membuktikan bahwa ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) mengandung senyawa flavonoid (isoflavon, flavonol, kuersetin) dan asam klorogenat. Dimana kandungan isoflavon dan flavonol berfungsi sebagai antioksidan alami (Yuting *et al.*, 1990), sedangkan kandungan quercetin dan asam klorogenat berfungsi sebagai vasodilator yang dimediasi oleh peningkatan produksi *Nitric Oxide* (NO) dalam pembuluh darah (Kim *et al.*, 2006).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti mencoba melakukan penelitian mengenai “Efek Proteksi Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) terhadap Disfungsi Sel Endotel Pada Mencit Putih Jantan dengan Penginduksi NaCl 3%”. Parameter yang diamati yaitu efek proteksi terhadap sel endotel dilihat melalui kadar NO serum pada hewan percobaan serta ada atau tidaknya efek toksik terhadap hewan uji dilihat melalui perhitungan ratio berat organ hati, ginjal dan jantung, dimana apabila kadar NO meningkat artinya ekstrak daun sambung nyawa dapat memberikan efek proteksi terhadap sel endotel dan apabila tidak ada efek toksik maka hasil perhitungan ratio berat organ hati, ginjal dan jantung tidak menunjukkan perubahan berat organ.

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dapat memberikan efek proteksi terhadap disfungsi sel endotel yang diinduksikan dengan larutan NaCl 3% melalui parameter kadar *nitrit oxide* (NO) serum hewan percobaan?
2. Apakah dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dapat meningkatkan efek proteksi terhadap disfungsi sel endotel yang diinduksikan dengan larutan NaCl 3%?
3. Apakah pemberian ekstrak daun sambung nyawa dapat mempengaruhi ratio organ hati, ginjal dan jantung pada hewan percobaan?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui efek proteksi ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) terhadap disfungsi sel endotel yang diinduksikan dengan larutan NaCl 3%.
2. Untuk mengetahui dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) akan meningkatkan atau menurunkan efek proteksi terhadap disfungsi sel endotel yang diinduksikan dengan larutan NaCl 3%.
3. Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) terhadap ratio organ hati, ginjal dan jantung.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Dapat menambah informasi ilmiah mengenai khasiat dan aktivitas senyawa yang terkandung dalam daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.).
2. Dapat menjadi dasar pengembangan lebih lanjut terhadap daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) sebagai obat tradisional.
3. Sebagai bahan pembelajaran dan pengetahuan bagi peneliti tentang penggunaan tumbuhan sebagai obat.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Tinjauan Biologi Tumbuhan Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)**

##### **2.1.1 Klasifikasi**

Sistematika dari tumbuhan daun sambung nyawa menurut Winarto (2003) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Subdivision : Angiospermae  
Classis : Dicotyledonae  
Ordo : Asterales  
Familia : Asteraceae  
Genus : *Gynura*  
Spesies : *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.

##### **2.1.2 Nama Daerah**

Tanaman ini memiliki nama daerah: sambung nyawa, beluntas cina (Melayu), daun sambung nyawa (Sumatera), ngokilo, tempuyung (Jawa) Jombang, lalakina, galibug, lempung, rayana (Sunda) (Dalimartha, 2006).

##### **2.1.3 Nama Asing**

Di Negara lain tumbuhan sambung nyawa juga dikenal dengan : Niu she tou (China), laitron des champs (Perancis), Sow thistle (Inggris) (Iskandar, 2007).

#### **2.1.4 Asal dan Tempat Tumbuh**

Tanaman sambung nyawa berasal dari daerah Afrika yang beriklim tropis menyebar ke Srilangka, selain itu tanaman ini juga tersebar di wilayah Asia Tenggara terutama di daerah melayu seperti Thailand, Malaysia, dan Indonesia. Tumbuh liar dipekarangan, ladang atau ditanam orang untuk obat-obatan. Tumbuhan sampai ketinggian 500m diatas permukaan laut (Pramono, 1996 ; Sudarsono *et al.*, 2002).

#### **2.1.5 Morfologi Tumbuhan**

Tumbuhan ini merupakan tumbuhan semak semusim dengan tinggi sekitar 20-60 cm. Berbatang lunak dengan penampang bulat dan berwarna ungu kehijauan. Berdaun tunggal, berbentuk bulat telur, berwarna hijau, tepi daun rata atau agak bergelombang, serta panjangnya bias mencapai 15 cm dan lebar 7 cm. Daun bertangkai, letak berseling, berdaging, ujung dan pangkal meruncing, serta pertulangan menyirip. Tumbuhan sambung nyawa berakar serabut dan tidak berbunga (Maryani, 2003).

#### **2.1.6 Kegunaan Tanaman**

Tumbuhan sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) telah sejak lama, digunakan sebagai obat secara empiris dan telah banyak diteliti oleh para peneliti mengenai aktivitas dari senyawanya untuk mencegah dan menyembuhkan penyakit. Efek farmakologis daun sambung nyawa diperoleh dari penggunaan daun. Daun sambung nyawa oleh sebagian masyarakat Indonesia digunakan sebagai obat kanker kandungan, kanker payudara, dan kanker darah (Meiyanto, 1996). Selain itu, sambung nyawa dimanfaatkan sebagai pengencer

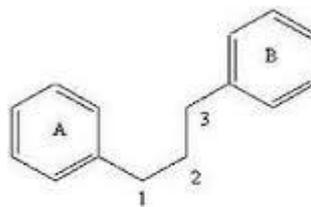
darah, menghilangkan panas dan infeksi kerongkongan (Wijayakusuma *et al.*, 1992). Tanaman ini juga memiliki khasiat antara lain sebagai antipiretik, hipotensi, hipoglikemik, mencegah dan meluruhkan batu ginjal dan batu kandung kemih, antihiperlipidemia, antibakteri, sitostatik, serta mencegah dan memperbaiki kerusakan sel-sel jaringan ginjal (Winarto, 2003).

## 2.2 Tinjauan Kimia

Daun tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) mengandung senyawa flavonoid, sterol tak jenuh, triterpen, polivenol dan minyak atsiri (Sudarto *et al.*, 1985). Hasil penelitian lain juga melaporkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa flavonoid (flavonol dan isoflavon), tanin, saponin, steroid, triterpenoid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam parakumarat, asam p-hidroksi benzoate dan kuersetin (Suganda *et al.*, 1988 ; Kim *et al.*, 2006). Dimana senyawa flavonoid pada daun sambung nyawa berfungsi sebagai antioksidan (Rahman *et al.*, 2013), sedangkan senyawa asam klorogenat dan kuersetin telah terbukti bisa meningkatkan produksi nitrit oksida pada pembuluh darah dan menyebabkan vasodilatasi (Kim *et al.*, 2006).

### 2.2.1 Flavonoid

#### a. Monografi



**Gambar 1. Struktur Flavonoid**

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau. Flavonoid terdapat dalam semua bagian tumbuhan seperti batang, daun, bunga, buah dan akar. Flavonoid mempunyai

kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6C_3C_6$ . Terdiri dari 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga buah karbon yang dapat atau tidak membentuk cincin ketiga (Markham, 1988).

Flavonoid merupakan senyawa polar dengan adanya beberapa gugus hidroksil bebas, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti mentanol, etanol, butanol dan air. Adanya gula yang terikat pada flavanoid menyebabkan flavanoid lebih mudah larut dalam air, sedangkan aglikon yang kurang polar seperti flavon yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti eter dan kloroform (Harborne, 1987).

Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang merupakan pigmen tumbuhan. Saat ini lebih dari 6.000 senyawa yang berbeda masuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Fungsi kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik.

#### **b. Identifikasi**

Dapat diidentifikasi dengan besi (III) klorida yang menunjukkan adanya gugus fenolik pada flavanoid. Pereaksi asam klorida pekat dan

logam magnesium menunjukkan adanya gugus iron. Pereaksi alumunium klorida bereaksi dengan basa (natrium hidroksida, ammonia) yang akan membentuk garam (Harborne, 1987).

#### **c. Isolasi**

Isolasi dapat dilakukan dengan cara menimbang, mencuci, dan membelah tanaman terlebih dahulu, kemudian diekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi dan sokletasi menggunakan pelarut yang sesuai dengan kepolaran flavonoid, kemudian pelarut dipisahkan sampai volume yang dibutuhkan dan dibebaskan dari senyawa-senyawa non polar menggunakan N-heksan atau kloroform, lalu difraksinasi dengan pelarut yang cocok dan selanjutnya dilakukan pada tahap kromatografi (Harborne, 1987).

#### **d. Penetapan Kadar**

Ambil ekstrak sebanyak 0,5 mL tambahkan 1,5 mL metanol, tambahkan 0,1 mL alumunium klorid 10% tambah 0,1 mL pottasium asetat 1M dan tambahkan air suling 2,8 mL, biarkan 10 menit dan ukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-visible (Pourmorad *et al.*, 2006).

### **2.3 Tinjauan Farmasetik**

Salah satu bentuk sediaan daun sambung nyawa yang beredar dipasaran yaitu Kapsul herbal Daun Sambung Nyawa®, sediaan obat tradisional jamu dalam bentuk kapsul yang memiliki komposisi tiap kapsul mengandung ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr) 500 mg. Kapsul herbal Daun Sambung Nyawa® dapat berfungsi sebagai antineoplastik, menurunkan tekanan

darah, penyembuhan penyakit ginjal, disentri, infeksi kerongkongan, dan digunakan pada upaya menghentikan pendarahan. Aturan minum sebagai berikut :

1. Untuk pencegahan 2 x sehari @1 kapsul
2. Untuk pengobatan 2 x sehari @2 kapsul



**Gambar 2. Sediaan Sambung nyawa yang beredar di pasaran.**

#### **2.4 Tinjauan Farmakologi**

Sambung nyawa telah sejak lama digunakan sebagai obat secara empirik dan telah banyak diteliti oleh para peneliti mengenai aktivitas dari senyawanya untuk mencegah dan menyembuhkan penyakit. Penggunaannya bervariasi, ada yang mengkonsumsi daun mentah sebagai lalapan, dan ada yang mengkonsumsinya dengan direbus terlebih dahulu.

Beberapa peneliti telah meneliti berbagai manfaat dari sambung nyawa bagi kesehatan manusia. Diantaranya sambung nyawa digunakan sebagai test untuk mengetahui adanya hiperkolesterolemia pada hati (Ismail et al., 2015), angiogenik (Jenie et al., 2006). antioksidan (Afandi et al., 2014) dan antihipertensi (Firmansyah et al., 2015). Antihipertensi dari sambung nyawa dapat diperoleh dari ekstrak air yang kemudian di ujikan pada tikus sebagai hewan percobaan (Kaur *et al.*, 2008). Hartanto (2008) membuktikan bahwa ekstrak etanol 95%

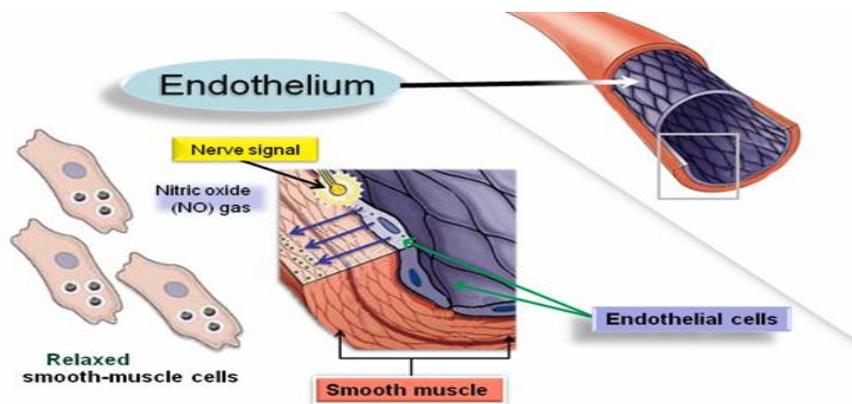
daun sambung nyawa dapat menurunkan tekanan darah arteri tikus yang dibuat hipertensi dengan larutan NaCl 2% sebagai penginduksi hipertensi. Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan DPPH untuk mengukur kemampuan dari sambung nyawa untuk menghilangkan radikal bebas (Afandi et al., 2014). Berdasarkan penelitian Kumar (2013) dan Luerang (2010) sambung nyawa juga diketahui menghambat pembentukan peroksidasi lipid dengan konsentrasi rata-rata 2.75 mg/ml.

## **2.5 Sel Endotel**

Sel endotel merupakan suatu lapisan tunggal yang melapisi seluruh pembuluh darah. Sel ini melapisi dinding vaskular yang menghadap ke lumen dan melekat pada jaringan subendotel yang terdiri atas kolagen dan berbagai glikosaminoglikan termasuk fibronectin (Cines *et al.*, 1998 ; Holvoet *et al.*, 1997). Meskipun hanya merupakan satu lapis sel saja pada bagian dalam dari vascular, sel ini merupakan organ penting yang mempunyai multifungsi yang berkaitan dengan kesehatan fisiologis vascular. Karena letaknya yang strategis diantara sirkulasi dan dinding vaskuler, endotel berinteraksi dengan mediator selular maupun hormonal dari kedua kompartemen tersebut (Wijaya *et al.*, 1999).

Sel endotel adalah organ dengan luas  $700\text{ m}^2$  dan berat 1,5 kg dan memiliki inti panjang 5-25 $\mu\text{m}$  dan tebal 3 $\mu\text{m}$ . Sel ini menghasilkan beberapa factor yang menyebabkan vasodilatasi lokal. Sebagai respon terhadap fisik dan humoral, endotel akan mensekresikan beberapa zat yang mengendalikan tonus serta pertumbuhan vascular. Fungsi pengendalian meliputi tonus pembuluh darah, aktivasi trombosit, adhesi monosit, trombogenesis, dan pertumbuhan pembuluh darah (Pribadi *et al.*, 2000).

Sel endotel mempunyai peranan penting dalam sistem kardiovaskular melalui pelepasan mediator vasodilator dan vasokonstriksi. Pada arteri dengan resistensi kecil, endotel berperan dalam keseimbangan antara vasokonstriksi dan vasodilatasi. Kerusakan fungsi endotel, dievaluasi oleh respon vasodilator terhadap asetilkolin, yang telah dideteksi pada hipertensi sekunder maupun essensial. Abnormalitas struktur resistensi pembuluh darah umumnya bersamaan dengan hipertensi kronik dan memiliki peran penting dalam peningkatan resistensi vascular (Sargowo, 2015).



**Gambar 3. Sel endotel pada pembuluh darah**

### 2.5.1 Fungsi Sel Endotel

Sebagai suatu membran semipermeabel penting yang mempunyai multifungsi, endotel berperan dalam keseimbangan antara vasokonstriksi dan vasodilatasi. Sel endotel mengendalikan perpindahan molekul besar dan kecil ke dalam dinding pembuluh. Selain itu, sel endotel juga berperan dalam memelihara antarmuka darah-jaringan nontrombogenik, memodulasi aliran darah dan resistensi vaskuler, metabolisme hormon, pengendalian reaksi imun dan peradangan, serta pengaturan pertumbuhan sel lain, terutama sel otot polos pembuluh darah (Kumar, 2007).

Fungsi endotel sangat banyak dan bermacam-macam, tergantung dari ukuran dan distribusi pembuluh darah. Endotel merupakan sumber yang potensial dari berbagai mediator kimia yang akan memengaruhi aliran darah, deposisi bekuan, lisis bekuan dan aktivitas fagositik selektif (Ramesh *et al.*, 2003). Sel endotel melapisi bagian dalam lumen dari seluruh pembuluh darah dan berperan sebagai penghubung antara sirkulasi darah dan sel-sel otot polos pembuluh darah. Disamping berperan sebagai barrier fisik antara darah dan jaringan, sel endotel memfasilitasi berbagai fungsi yang kompleks dari sel otot polos pembuluh darah dan sel-sel di dalam kompartemen darah. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa sel endotel memegang peran penting dalam proses homeostatis yang terjadi melalui integrasi berbagai mediator kimiawi. Sistem ini mempunyai efek baik terhadap sel-sel otot polos pembuluh darah maupun sel-sel darah sehingga dapat menimbulkan berbagai perubahan antara lain (Sargowo, 2015) :

1. Vasodilatasi atau vasokonstriksi untuk mengatur kebutuhan suplai darah bagi seluruh organ tubuh manusia.
2. Pertumbuhan dan atau perubahan-perubahan khas dari sel-sel otot polos pembuluh darah.
3. Perubahan-perubahan proinflamasi atau inflamasi
4. Mempertahankan kekentalan darah dan mencegah pendarahan.

Tabel I. Sifat dan fungsi sel endotel (Sargowo, 2015)

<b>Traget fungsional dari sel endotel</b>	<b>Fungsi spesifik</b>	
	<b>Lumen</b>	<b>Vasokonstriksi</b>
	<i>Endothelin</i>	<i>NO</i>

	<i>Angiotensi II</i> <i>ET-1</i> <i>Throboxane A2</i> <i>PGH<sub>2</sub></i>	<i>Bradykinin</i>  <i>Hyperpolarizing factor</i>
<b>Pertumbuhan</b>	<b>Stimulasi</b>	<b>Inhibisi</b>
	<i>Platelet growth-derived factor (PGDF)</i> <i>Fibroblast Growth factor</i>  <i>IGF-1</i>  <i>Endothelin</i>  <i>Angiotensin II</i>	<i>NO</i>  <i>PGI<sub>2</sub></i>  <i>TGF</i>
<b>Inflmasi</b>	<b>Proinflamasi</b>	<b>Antiinflamasi</b>
	<i>Adhesion molecules</i>  <i>ELAM, VCAM, ICAM</i>	
<b>Hemostatis</b>	<b>Protombotik</b>	<b>Antitrombotik</b>
	<i>PAI-1</i>	<i>Prostacylin</i>  <i>TPA</i>

### 2.5.2 Disfungsi Sel Endotel

Disfungsi endotel didefinisikan sebagai ketidak seimbangan antara faktor-faktor relaksasi dan kontraksi antara mediator prokoagulan dan antikoagulan atau zat-zat yang menghambat dan mendorong pertumbuhan (Pribadi *et al.*, 2000).

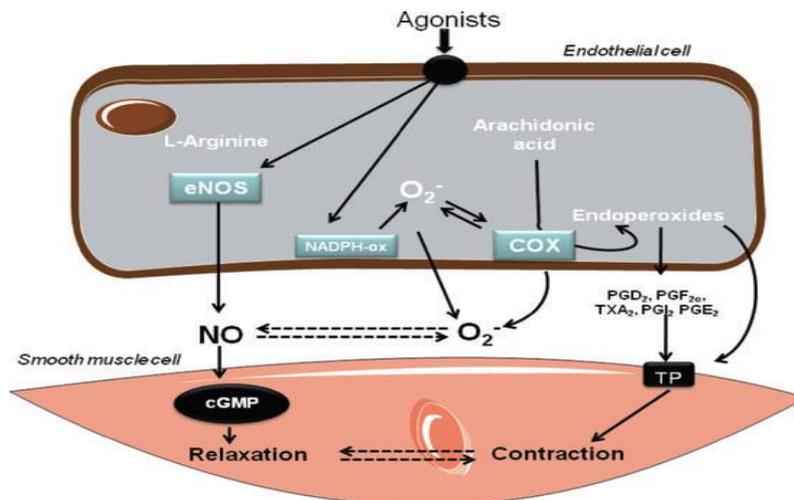
Disfungsi sel endotel terjadi karena fungsi dan jumlah endotel mengalami penurunan, hal ini mengawali adanya perubahan struktur pembuluh darah, sehingga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan tahanan perifer di dalam arteri (Srinivasan, 2004). Kerusakan endotel disebabkan oleh meningkatnya tekanan pada dinding pembuluh darah sehingga menimbulkan adanya disfungsi endotel. Pada keadaan tersebut endotel dapat menghasilkan substrat yang bersifat vasokonstriktor, termasuk EDCF yang dibentuk melalui jalur siklooksigenase, seperti  $\text{PGH}_2$ ,  $\text{TxA}_2$  dan anion superoksida. Anion superoksida tersebut secara langsung dapat mempengaruhi tonus struktur pembuluh darah serta menghancurkan NO. Selain itu, disfungsi sel endotel juga menyebabkan gangguan vasodilatasi dependen endotel, peningkatan kadar endotelin dan pembentukan radikal bebas oksigen (Cooke, 1997 ; Taddei *et al.*, 1998).

Dari penelitian yang dilakukan untuk menjelaskan disfungsi sel pada penderita hipertensi, dimana diteliti pengaruh aliran darah pada lengan atas dengan memberikan asetilkolin dan hasilnya dibandingkan dengan penderita normotensi. Dari penelitian tersebut ditemukan, bahwa disamping usia, hal lain yang mempengaruhi terjadinya disfungsi sel endotel adalah tekanan darah yang tinggi. Dari hasil penelitian tersebut didapat bahwa pada penderita normotensi adanya perubahan respon asetilkolin terhadap aliran darah mulai tampak pada usia diatas 30 tahun. Sebaliknya pada penderita hipertensi adanya perubahan pada jalur

NO dapat diketahui sejak usia 18 tahun. Dengan demikian hipertensi akan mempercepat terjadinya disfungsi endotel (Taddei *et al.*, 1998).

Pada penderita hipertensi essential terjadi gangguan vasodilatasi pembuluh darah dan dominannya faktor konstiksi serta terbentuknya superoksida radikal oleh endotel. Hal ini disebabkan karena berkurangnya aktivitas NO. Aktivitas NO yang berkurang ini disebabkan oleh beberapa hal antara lain (Panza *et al.*, 1998) :

1. Sintesa NO pada endotel berkurang
2. Penghancuran NO oleh anion superoksida, prostanioid (melalui jalur siklooksigenase)
3. Terbentuknya endotelin-1 yang berlebihan



**Gambar 4. Gangguan pembentukan NO akibat disfungsi sel endotel pada penderita hipertensi (Taddei *et al.*, 1998)**

Pada gambar diatas dapat dilihat adanya gangguan pembentukan NO dari L-Arginin pada penderita hipertensi esensial.

### 2.5.3 Hubungan Garam (NaCl) dengan Disfungsi Sel Endotel

Asupan garam (NaCl) yang tinggi dapat menurunkan produksi nitrogen monoksida, hal ini terjadi akibat terganggunya sintesis nitrogen monoksida dari

asam amino L-arginin pada endothelium pembuluh darah ginjal (Higashi *et al.*, 1996). Konsentrasi nitrogen monoksida plasma menurun akibat adanya asupan garam berlebih. Hal ini menunjukkan produksi nitrogen monoksida endogen dipengaruhi oleh asupan garam (Fujiwara *et al.*, 2000).

Pada kebanyakan model hipertensi, tekanan darah yang tinggi disertai oleh hambatan relaksasi otot polos pembuluh darah. Mekanisme disfungsi sel endotel pada berbagai model hipertensi ditandai dengan peningkatan tekanan darah. Pada kasus hipertensi induksi garam terjadi gangguan pada aktivitas NO sintase dari sel endotel, sedangkan produksi endothelin dan aktivitas fungsional endothelium converting enzyme (ECE) pada pembuluh darah tikus Wistar – Kyoto mengalami peningkatan (Thomas *et al.*, 1997).

## **2.6 Nitrogen Monoksida (NO)**

Nitrogen monoksida (NO) juga disebut nitrogen monoksida atau nitrit oksida (*Nitric Oxide*) adalah suatu gas tak berwarna, larut di dalam air, pada kondisi seperti ini NO sangat stabil. Gas NO dihasilkan dari asam amino L-arginin oleh enzim *nitric oxide synthase* dalam sel-sel mamalia termasuk sel manusia (Silalahi, 2005).

NO yang diproduksi secara kontinu oleh sel-sel endothelium berperan mengendalikan tonus pembuluh darah, aliran darah, tekanan darah, fungsi platelet, gerakan saluran pencernaan, saluran pernafasan dan saluran kemih. NO dalam jumlah banyak dapat menimbulkan perubahan patofisiologis seperti hipotensi yang fatal dan kerusakan jaringan (Silalahi, 2005).

Pada endotel, NO diproduksi dari L-Arginin dengan bantuan enzim NO sintase (NOS). Enzim ini dirangsang oleh adanya aliran darah melewati

permukaan endotel, bradikinin, serotonin dan trombin. Selanjutnya NO tersebut secara difusi memasuki sel otot polos pembuluh darah dan mengaktifkan enzim guanilat siklase yang terdapat dalam otot polos tersebut. Enzim guanilat siklase ini selanjutnya menghasilkan siklik guanidine mono pospat (cGMP) yang menyebabkan relaksasi pada otot polos pembuluh darah. Disamping bersifat vasodilator, NO juga berfungsi menghambat proliferasi sel otot polos pembuluh darah dan menghambat leukosit (Mac Allister, 1998).

### **2.6.1 Biosintesa Nitrogen Monoksida (NO)**

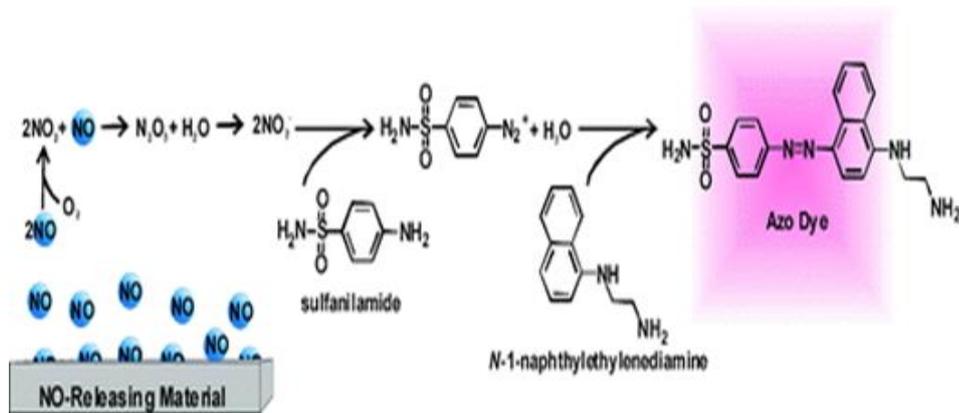
Nitrogen monoksida (NO) atau dikenal juga dengan nitrit oksida disintesa di dalam sel oleh enzim *Nitric Oxide Syntase* (NOS) melalui reaksi yang kompleks. *Nitric Oxide Syntase* (NOS) pada manusia mempunyai tiga macam bentuk, yaitu *Neuron Nitric Oxide* (nNOS) yang ditemukan pada sel saraf, *Inducible Nitric Oxide* (iNOS) yang ditemukan pada makrofag dan *Endothelial Nitric Oxide* (eNOS) yang ditemukan pada sel endotel pembuluh darah. Kadar nNOS dan eNOS dalam tubuh relative stabil, sedangkan untuk kadar iNOS dipengaruhi oleh rangsangan seperti ingesti dari parasit (Silalahi, 2005).

Semua jenis NOS dapat membentuk nitrit oksida dari arginin dengan bantuan oksigen molekuler dan NADPH, hasil lain dari reaksi ini adalah sitrulin. NO diproduksi karena pengaruh asetilkolin, bradikinin, serotonin yang mempengaruhi reseptor spesifik pada sel endotel. Di dalam darah NO hanya bertahan 100 milidetik dan di jaringan hanya beberapa detik karena zat ini

berikatan dengan oksigen membentuk nitrit. Nitrit kemudian diubah menjadi nitrat dan diekskresikan dalam urin (Silalahi, 2005).

### 2.6.2 Pengukuran NO Menggunakan Reagen GRIESS

NO merupakan gas yang tidak stabil dengan waktu paruh yang pendek sehingga sulit untuk diukur secara langsung. Meskipun begitu, dua produk stabil dari NO yaitu nitrat ( $\text{NO}_3$ ) dan Nitrit ( $\text{NO}_2$ ) dapat diukur dengan fotometri menggunakan percobaan GRIESS berdasarkan reaksi diazotasi diperkenalkan oleh Peter Griess pada tahun 1879.



**Gambar 5. Reaksi kimia yang terlibat pada pengukuran Nitrit dengan Reagen GRIESS**

Konversi nitrat menjadi nitrit menggunakan Enzim Nitrat Reduktase. Nitrit di deteksi dari pembentukan warna merah muda akibat reaksi nitrit ditambahkan dengan reagen GRIESS melalui dua langkah. Pada saat nitrit ditambahkan sulfanilamide, nitrit membentuk garam diazonium. Dengan penambahan *alpha-naphthylamine* atau *N-(1-naphthyl)-ethylenediamine* akan terbentuk senyawa azo yang berwarna merah muda (Ghasemi *et al.*, 2007).

### 2.6.3 Faktor – faktor Yang Mempengaruhi Nitrogen Monoksida (NO)

Faktor resiko seperti hipertensi, merokok, diabetes, umur, obesitas, dislipidemia, dan *sedentary life style*, semuanya dapat menyebabkan

disfungsi endotel. Proses sistemis yang menginduksi disfungsi endotel adalah melibatkan aktivasi *intracellular oxidative signaling*, juga terjadi oksidasi LDL (Xi *et al.*, 2007).

Telah terbukti adanya penurunan bioavailabilitas NO akibat disfungsi endotel. Terjadi gangguan vaskuler karena kelebihan produksi ROS, diantaranya anion superoksida dan LDL (*low density lipoprotein*) teroksidasi. Penurunan antioksidan diduga bertanggung jawab terhadap peningkatan degradasi NO. Anion superoksida dapat secara langsung menginaktifkan NO melalui proses reaksi oksidasi membentuk peroksi nitrit, yang merupakan komponen radikal bebas yang sangat kuat (Xi *et al.*, 2007).

## **2.7 Pengobatan Disfungsi Endotel pada Hipertensi (Sargowo, 2015)**

Mengingat peran penting dari endotel dalam mengontrol fungsi vaskular, inflamasi, trombosis dan proliferasi, serta mempertimbangkan perubahan dalam fungsi endotel pada hipertensi, jelas bahwa disfungsi endotel harus dianggap sebagai target utama untuk pengobatan hipertensi.

Beberapa pengobatan disfungsi endotel telah diuji pada hipertensi, misalnya antioksidan, *tetrahydrobiopterin* (BH4), atau L-arginin. Namun, saat ini pengobatan “selektif” untuk disfungsi sel endotel masih kurang. Sebagai hasilnya, saat ini sulit untuk menentukan dengan tepat kemungkinan kaitan antara disfungsi endotel dan hipertensi atau pengaruhnya pada organ target seperti jantung, otak atau ginjal. Namun, pengaruh pada disfungsi endotel dari berbagai obat antihipertensi telah diuji meskipun umumnya sulit untuk membedakan antara efek

langsung yang mungkin timbul dari obat pada fungsi endotel dari proteksi tidak langsung terhadap penurunan tekanan darah.

#### 1. Penghambat Sistem Renin-Angiotensin

Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa *angiotensin converting enzyme* (ACE) inhibitor meningkatkan fungsi endotel pada hipertensi. Misalnya, dalam SHR, ACE inhibitor cilazapril meningkatkan dilatasi endotel terhadap asetilkolin di aorta. Suatu peningkatan yang serupa juga ditemukan dengan kombinasi ACE inhibitor-diuretik perindopril-indapamide, yang mengembalikan produksi NO dan mengurangi respon kontraktilitas endotel aorta SHR.

Bukti untuk perlindungan endotel oleh *blocker* sistem renin-angiotensin juga ada pada manusia. Pada hipertensi essensial, penghambatan ACE inhibitor dan angiotensin II reseptor tipe I (AT<sub>1</sub>) meningkatkan pelepasan NO basal dan respon aliran darah koroner atau lengan terhadap asetilkolin, sementara ACE inhibitor atau kombinasi perindopril-Indapamide juga meningkatkan vasodilatasi yang diperantarai aliran dari arteri brakhialis.

#### 2. Antagonis Kalsium

*Calcium channel blockers* dapat meningkatkan fungsi endotel pada hipertensi eksperimental dan pada pasien hipertensi. Perbaikan diinduksi oleh *dihydropyridine* *lacidipine* yang tidak ditemukan dengan  $\beta$ -blocker dan disertai dengan perbaikan dalam beberapa *marker* stres oksidatif. Namun, tampaknya penurunan serupa pada tekanan arteri, Ca antagonis dari generasi pertama seperti nifedipine kurang efektif dari pada ACE

inhibitor dalam hal peningkatan fungsi endotel. Mekanisme pengaruh pelindung endotel dari Ca antagonis dalam hipertensi masih belum diketahui tetapi bisa terjadi akibat pencegahan stres oksidan.

### 3. $\beta$ -Blocker

Sejumlah studi menunjukkan bahwa fungsi endotel tidak terpengaruh oleh kelas obat ini. Namun, obat-obatan seperti nebivolol, suatu  $\beta_1$ -blocker dengan NO, telah ditunjukkan untuk meningkatkan fungsi endotel pada hipertensi. Bahkan jika pengaruh ini jelas hasil peningkatan NO, ini menunjukkan bahwa  $\beta$ -blocker dengan sifat vaskular spesifik dapat memiliki efek menguntungkan pada fungsi endotel.

## 2.8 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya, contohnya seperti superoksida ( $O_2^+$ ) dan hidrosil ( $OH^{\cdot}$ ). Radikal bebas ini bersifat tidak stabil sehingga untuk menjadi stabil cenderung untuk mengambil elektron dari molekul lain, dan hal ini akan menimbulkan radikal bebas baru terhadap molekul yang elektronnya diambil. Oleh karena itu radikal bebas cenderung berupa reaksi rantai dan menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif, sehingga dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel seperti protein, lipid, karbohidrat dan nukleotida (Gitawati, 1995).

Secara garis besar radikal bebas dapat terbentuk melalui 2 cara (Setiati, 2003):

#### a. Secara Endogen

Radikal bebas yang terbentuk adalah sebagai respon normal dari peristiwa biokimia dalam tubuh. Radikal bebas ini diproduksi didalam

mitokondria membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma dan inti sel yang berupa hasil sampingan dari proses metabolisme tubuh.

b. Secara Eksogen

Radikal bebas didapat dari polusi yang berasal dari luar tubuh, seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, obat-obatan, pestisida dan radiasi yang masuk serta bereaksi dalam tubuh melalui inhalasi, injeksi, makanan dan penyerapan oleh kulit.

### **2.8.1 Efek Radikal Bebas Dalam Tubuh**

Dalam jumlah yang berlebihan di dalam tubuh, radikal bebas akan memberikan dampak negatif. Membran sel merupakan tempat utama terjadinya reaksi radikal bebas, karena membran sel memiliki struktur yang terdiri dari *polyunsaturated fatty acids* yang sangat mudah mengalami oksidasi. Akibat dari proses oksidasi tersebut, maka permeabilitas membran sel terganggu sehingga radikal bebas akan mudah masuk ke dalam sel dan mempengaruhi atau bereaksi dengan organel sel didalamnya.

## **2.9 Antioksidan**

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu kestabilan molekulnya (Bellevile, 1996).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik :

### **A. Antioksidan Alami**

Antioksidan alami yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alam. Senyawa antioksidan alami dari tumbuhan semuanya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuramin dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin, dan kalkon. Turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klogonat, dan lain-lain. Beberapa contoh antioksidan alami yang sudah diketahui sebagai antioksidan adalah (Ramelan, 2003) :

#### 1. Vitamin C

Vitamin C adalah substansi yang larut dalam air dan mempunyai efek multifungsi, diantaranya ada yang bersifat antioksidan, peroksidan, pengikat logam, pereduksi dan penangkap oksigen. Dalam bentuk larutan yang mengandung logam yang menjadi katalis aktif untuk oksidasi tingkat rendah. Bila tidak terdapat logam, vitamin C sangat efektif sebagai antioksidan pada konsentrasi tinggi. Tubuh sangat memerlukan vitamin C, kekurangan vitamin C dapat menyebabkan penyakit asma, kanker, diabetes, dan penyakit hati. Selain itu, vitamin C dapat memperkecil terbentuknya katarak dan penyakit mata lainnya. Kelebihan vitamin C menyebabkan dapat terbentuknya batu ginjal dan diare.

## 2. Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)

Vitamin E adalah substansi yang larut dalam lemak dan merupakan antioksidan yang cukup kuat dan dapat memproduksi membran sel serta kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) dari kerusakan radikal bebas. Selain itu, vitamin E juga dapat membantu memperlambat proses penuaan pada arteri dan melindungi tubuh dari kerusakan sel-sel yang dapat menyebabkan penyakit kanker, hati dan katarak. Bila vitamin ini dikonsumsi dengan vitamin C dapat mencegah penyakit kronik lainnya.

## 3. $\beta$ -karoten

$\beta$ -karoten merupakan pro-vitamin A yang berfungsi meredam radikal bebas pada sel tubuh, serta melindungi sel dari kerusakan oksidatif.  $\beta$  –karoten bekerja pada tekanan parsial oksigen tinggi. Sumber  $\beta$ -karoten adalah sayuran yang berwarna hijau tua dan kuning jingga seperti bayam dan wortel.

## 4. Flavonoid

Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidan dari flavonoid ini dapat diperkirakan berhubungan dengan strukturnya. Aktivitas akan meningkat sesuai dengan jumlah OH pada cincin B aromatik. Flavonoid sebagai antioksidan dapat bereaksi dengan radikal bebas melalui pemerangkapan langsung

terhadap radikal bebas oksigen dan menghambat enzim penyebab terbentuknya radikal bebas seperti siklooksigenase dan lipooksigenase.

## **B. Antioksidan Sintetik**

Antioksidan sintetik yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya dalam makanan adalah butyl hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propyl galat, tetra- butyl hidrokuinon (TBHQ), dan tokoferol.

Dalam tulisan Winarsih (2007) antioksidan sintetik dikelompokkan menjadi 2 yaitu :

### **1. Antioksidan enzimatis**

Antioksidan enzimatis ini disebut juga antioksidan primer atau endogen. Antioksidan ini meliputi enzim-enzim seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroxidase (GSH-Px). Antioksidan enzimatis merupakan system pertahanan utama terhadap kondisi stress oksidatif. Cara kerja antioksidan kelompok ini dengan mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru.

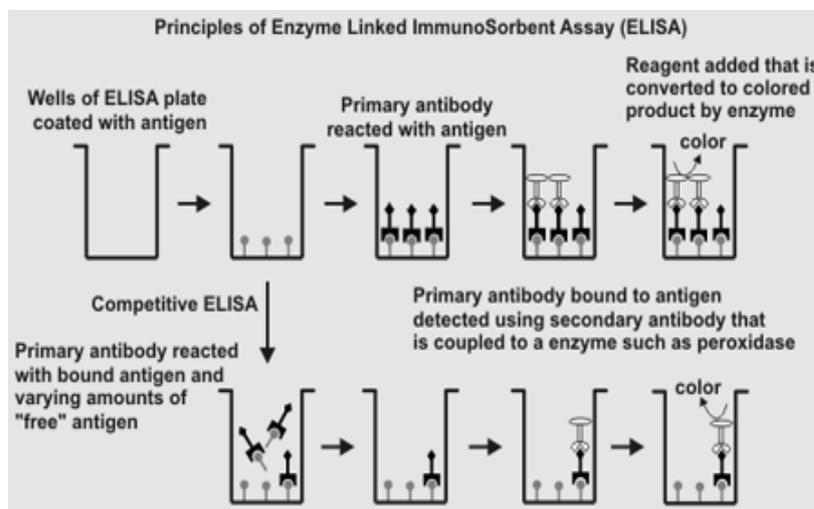
### **2. Antioksidan non-enzimatis**

Antioksidan kelompok ini disebut juga antioksidan sekunder yang dapat diperoleh dari asupan bahan makanan seperti vitamin C, E, A dan  $\beta$ -karoten. Sayur dan buah-buahan merupakan sumber utama penghasil antioksidan non-enzimatis. Cara kerja

kelompok ini dengan jalan memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya radikal tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

### 2.10 *Enzyme – Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*

ELISA merupakan metode analisis kuantitatif yang pada salah satu reagensinya dilabelkan dengan enzim, baik itu antigen atau antibodi. Sumur medium pembawa (biasanya plat mikrotiter) dilapisi dengan antigen yang berhubungan dengan antibodi sasaran. Bila antibodi tersebut berada pada sampel (contohnya serum), antibodi ini akan mengikat antigen. Setelah itu, enzim akan terikat pada antibodi. Enzim yang telah dilabelkan oleh antibodi sekunder tersebut akan menyebabkan warna pada substrat. Konsentrasi antibodi dapat ditentukan dengan membandingkan warna yang dihasilkan dengan standar yang telah diketahui konsentrasinya (Burmester *et al.*, 2003).



**Gambar 6. Prinsip kerja *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)***

## **BAB III**

### **PELAKSANAAN PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan kurang lebih selama 3 bulan (Maret-Mei 2018) di Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat-alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol maserasi, seperangkat alat rotary evaporator, wadah hewan, timbangan analitik (Adam®), timbangan hewan, corong, batang pengaduk, cawan penguap, pipet tetes, gelas ukur (Iwaki®), beaker gelas (Iwaki®), jarum oral, erlemeyer (Iwaki®), plat tetes,

pipet mikro (Accumax®), krus porselen, oven, desikator, sentrifugator (Heraeus®), tabung sentrifuge, tabung reaksi, lumpang dan stamper, alat bedah, lemari pendingin, alat Spektrofotometer BIO-RAD (xMark ®).

### **3.2.2 Bahan-bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.), etanol 70% (Brataco), Na.CMC (Merck®), aquades (Novalindo), makanan mencit biasa, NaCl (Brataco), dan Kit *Nitric Oxide Calorimetric Assay* (BioVision).

### **3.2.3 Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) jantan dengan berat badan 20 - 30 g dan berumur 2-3 bulan. Jumlah mencit yang digunakan adalah 25 ekor, dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Satu minggu sebelum penelitian mencit diaklimatisasi. Mencit yang digunakan adalah yang sehat dan selama aklimatisasi berat badannya tidak berubah lebih dari 10% (Federer, 1991).

## **3.3 Metoda Penelitian**

### **3.3.1 Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sambung nyawa segar (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) yang diambil di daerah Baserah, Kuantan Singingi, Riau.

### **3.3.2 Identifikasi Sampel**

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang.

### **3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)**

Daun Sambung Nyawa yang telah diambil dibersihkan dari pengotor dan ditimbang sebanyak 2 kg, lalu keringkan diudara terbuka yang terlindung dari cahaya matahari langsung. Setelah kering daun dirajang dan dijadikan serbuk dan ditimbang. Kemudian sampel kering yang telah ditimbang sebanyak 320 gram dimasukkan dalam botol maserasi dan tambahkan etanol 70% sampai terendam. Biarkan di tempat gelap selama 9 hari sambil sesekali diaduk. Pisahkan hasil maserasi dengan penyaringan menggunakan kapas. Ulangi maserasi sebanyak 3 kali sampai diperoleh maserat yang jernih dengan cara yang sama. Seluruh filtrat digabungkan menjadi satu dan diaduk hingga rata, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental dengan berat konstan (Depkes RI, 2008).

### **3.3.4 Evaluasi Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)**

#### **A. Pemeriksaan Organoleptis**

Pengamatan dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, rasa, warna dan bau.

#### **B. Penentuan Rendemen Ekstrak**

Penentuan rendemen ekstrak dihitung dengan cara membandingkan berat ekstrak etanol yang didapat dengan berat awal sampel.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100\%$$

### C. Pemeriksaan Susut Pengeringan Ekstrak

Keringkan krus porselen dan tutupnya di dalam oven pada suhu 150°C selama 30 menit dan biarkan dingin, lalu timbang beratnya. Masukkan ekstrak ke dalam krus tersebut hingga beratnya 1 gram diluar berat krus dengan penutup yang telah diketahui sebelumnya. Dengan perlahan goyang krus agar ekstrak merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam oven. Krus yang berisi ekstrak dipanaskan dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan : A = berat krus kosong

B = berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C = berat krus + sampel setelah dipanaskan

### D. Penetapan Kadar Abu

Krus porselen ditara terlebih dahulu dan timbang. Ekstrak sebanyak 1 gram masukkan dalam krus tersebut dan ditimbang. Kemudian pijarkan secara perlahan-lahan dalam furnes pada suhu 600°C selama 24 jam, dinginkan dalam desikator dan timbang.

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat Krus Kosong

B = Berat Krus + Ekstrak Sebelum Pemijaran

C = Berat Krus + Ekstrak Sesudah Pemijaran

### **E. Uji Skrining Fitokimia (Harborne, 1987)**

Sebanyak 0,5 gram ekstrak kental daun sambung nyawa dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform, dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan, lapisan air dan kloroform. Beberapa uji yang dapat dilakukan terhadap ekstrak etanol daun sambung nyawa adalah sebagai berikut:

#### **1. Uji Flavonoid (Metoda "Sianidin Test")**

Ambil lapisan air 1-2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan serbuk Mg dan HCl (p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

#### **2. Uji Terpenoid dan Steroid (Metoda "Simes")**

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan norit kemudian disaring, tambahkan asam asetat anhidrat, tambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (p), terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid.

#### **3. Uji Saponin**

Diambil lapisan air, kocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen ( $\pm$  15 menit) menunjukkan adanya saponin.

#### **4. Uji Fenolik**

Diambil lapisan air 1-2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan pereaksi FeCl<sub>3</sub>, terbentuknya warna biru menunjukkan adanya fenolik.

#### 5. Uji Alkaloid (Metode “Culvenore – Fristgerald”)

Diambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

### 3.3.5 Pembuatan Larutan NaCl

NaCl dibuat dalam konsentrasi 3%, dimana dosis 3 gram dilarutkan dalam 100 mL air suling. Sebanyak 0,6 mL larutan NaCl 3% diberikan pada mencit tiap harinya selama 3 minggu secara oral (Modifikasi Siska dkk, 2010).

### 3.3.6 Perencanaan Dosis

Dari penelitian sebelumnya 2 kg daun sambung nyawa diekstraksi, diperoleh ekstrak kental sebanyak 84,6 gram, nilai rendemen yang didapat adalah sebesar 4,23%. Penggunaan tradisional sebanyak 7 lembar daun ± 10 gram.

$$\text{Dosis ekstrak untuk manusia} = \frac{4,23}{100} \times 10 \text{ gram} = 0,423 \text{ gram} = 423 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak untuk mencit} &= 423 \text{ mg} \times 0,0026 \\ &= 1,0998 \text{ mg/20 gramBB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= 1,0998 \text{ mg} \times \frac{1000 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \\
&= 54,99 \text{ mg/kgBB} \\
&= \sim 50 \text{ mg/kgBB} \\
\text{Dosis ekstrak terendah} &= 50 \text{ mg/kgBB} \\
\text{Dosis ekstrak tertinggi} &= 200 \text{ mg/kgBB} \\
\text{Jumlah dosis ekstrak} &= 3 \\
\text{Nilai F} &= \sqrt[3-1]{200 \frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} / 50 \text{mg/kgBB}} \\
&= \sqrt[2]{4} \\
&= 2 \\
\text{Dosis ekstrak 1} &= 50 \text{ mg/kgBB} \\
\text{Dosis ekstrak 2} &= 50 \text{ mg/kgBB} \times 2 \\
&= 100 \text{ mg/kgBB} \\
\text{Dosis ekstrak 3} &= 100 \text{ mg/kgBB} \times 2 \\
&= 200 \text{ mg/kgBB}
\end{aligned}$$

Dosis pemberian ekstrak daun sambung nyawa yang direncanakan adalah 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB. VAO (volume Administrasi Obat) ekstrak yang diberikan kepada mencit yaitu 1% dari berat badan mencit normal (20 gram).

$$\text{VAO} = 1\% \times 20 \text{ g} = 0,2 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned}
\text{Konsentrasi ekstrak yang dibuat} &= \frac{\text{dosis (mg/kgBB)} \times \text{berat badan (g)}}{\text{VAO (ml)}} \\
&= \frac{50 \text{ mg/kgBB} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ ml}} \\
&= \underline{50 \text{ mg/1000 gBB} \times 20 \text{ g}}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& 0,2 \text{ ml} \\
& = 5 \text{ mg/ml} \\
& = 50 \text{ mg/10 ml} \\
& = 500 \text{ mg/100 ml} \\
& = 0,5 \text{ gram/100 ml} \\
& = 0,5\%.
\end{aligned}$$

### 3.3.7 Pembuatan Sediaan Uji

Timbang Na CMC sebanyak 50 mg ditaburkan ke dalam lumpang yang berisi air suling panas sebanyak 1 ml, ditutup dan biarkan selama 15 menit hingga diperoleh masa yang transparan, digerus lalu masukkan ekstrak yang telah ditimbang sesuai dosis, gerus sampai homogen encerkan dengan air suling hingga 10 ml.

### 3.3.8 Perlakuan Pada Hewan Uji

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan dan diperlakukan dengan cara berikut :

Tabel II : Pengelompokkan Hewan Percobaan

<b>Perlakuan</b>	<b>Dosis</b>
Kontrol Negatif	Na.CMC 0,5%
Kontrol Positif	Larutan NaCl 3%
Kelompok III	Larutan NaCl 3% + ekstrak 50 mg/kgBB
Kelompok IV	Larutan NaCl 3% + ekstrak 100 mg/kgBB
Kelompok V	Larutan NaCl 3% + ekstrak 200 mg/kgBB

Hewan kelompok I diberi makanan mencit biasa dan suspensi Na CMC 0,5% setiap hari selama penelitian. Hewan kelompok II diberi larutan NaCl 3% secara peroral. Hewan kelompok III, IV dan V diberi larutan NaCl 3%, 1 jam setelahnya diberi ekstrak dosis berturut-turut 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB. Perlakuan dilakukan selama 3 minggu.

### **3.3.9 Penyiapan Serum**

Setelah perlakuan selama 3 minggu hewan percobaan dikorbankan untuk mendapatkan serum. Pengambilan serum dilakukan dengan cara mengambil darah melalui pembuluh darah leher hewan percobaan. Darah diambil dengan cara memotong pembuluh darah pada leher mencit dan ditampung dengan tabung mikrotube, dan didiamkan selama 15 menit. Kemudian dilakukan sentrifuge dengan 4000 rpm selama 20 menit. Serum diambil dengan jarum suntik dan dituangkan ke dalam tabung mikro dan disimpan dalam freezer dengan posisi tegak.

### **3.3.10 Pemeriksaan Rasio Berat Organ (Thomas, 1998)**

Hewan yang dikorbankan pada hari ke 22 setelah perlakuan dibedah pada bagian abdomen secara vertikal. Organ hati, ginjal, dan jantung diambil lalu dibersihkan kemudian ditimbang. Selanjutnya ditentukan rasio berat organ terhadap berat badan dengan menggunakan persamaan :

$$RO = \frac{BO}{BB}$$

Keterangan : RO = Rasio berat organ

BO = Berat organ (gram)

BB = Berat badan mencit (gram)

### **3.3.11 Pemeriksaan Kadar NO Serum**

Pemeriksaan kadar NO dilakukan dengan menggunakan Kit *Nitric Oxide Colorimetric Assay* dan alat spektrofotometer produksi Bio-Rad. Jumlah sumur pada plat mikrotiter yang digunakan sebanyak 55 buah yang terdiri dari 5 sumur standar, 25 sumur blanko dan 25 sumur sampel.

Pemeriksaan kadar NO serum dilakukan dengan cara memipet 85  $\mu\text{L}$  sampel dan tambahkan 115  $\mu\text{L}$  *Assay Buffer* ke dalam sumur sampel. Tambahkan 5  $\mu\text{L}$  *Nitrate Reductase* dan tambahkan 5  $\mu\text{L}$  *Enzyme Cofactor*. Tutup plat dan inkubasi dalam temperatur ruangan selama 1 jam untuk mengubah nitrat menjadi nitrit. Setelah itu, tambahkan 5  $\mu\text{L}$  *Enhancer* dan inkubasi selama 10 menit. Kemudian tambahkan 50  $\mu\text{L}$  *Griess Reagen R1* dan 50  $\mu\text{L}$  *Griess Reagen R2* ke dalam sumur sampel. Untuk sumur blanko, pipet 85  $\mu\text{L}$  serum dan tambahkan 115  $\mu\text{L}$  *Assay Buffer* masukkan ke dalam sumur blanko. Sedangkan untuk sumur standar, dibuat 6 seri konsentrasi dengan cara memipet 0  $\mu\text{L}$ , 2  $\mu\text{L}$ , 4  $\mu\text{L}$ , 6  $\mu\text{L}$ , 8  $\mu\text{L}$ , dan 10  $\mu\text{L}$  larutan *Nitrate Standard* kemudian ditambahkan *Assay Buffer* sampai volume 85 $\mu\text{L}$ . Kemudian *Microplate* dimasukkan ke dalam *plate reader* spektrofotometer-BioRad<sup>®</sup>, absorban diukur pada panjang gelombang 540 nm.

### **3.3.12 Analisis Data dan Pengolahan Data Hasil Penelitian**

Data hasil penelitian yang didapat akan diolah dengan uji analisa variasi (ANOVA). Uji analisa variasi (ANOVA) yang dipakai adalah uji ANOVA satu arah dengan persyaratan data yang diambil harus objektif dan integer (dua kategori), yaitu variabel kategorik (hewan kelompok percobaan) dan variabel numerik (kadar NO serum). Uji ANOVA satu arah artinya membandingkan satu variabel bebas dan satu variabel terikat, dimana variabel bebas adalah dosis atau konsentrasi sedangkan variabel terikat adalah nilai atau kadar dari masing-masing

konsentrasi (Pidekso, 2009). Tujuan digunakan uji ANOVA adalah untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata antar kelompok uji, data yang didapatkan akan dianalisa dengan menggunakan SPSS 16 dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan data hasil antar kelompok uji.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Hasil**

1. Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas, Padang dengan hasil identifiikasi yaitu spesies (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) (Lampiran 3).
2. Hasil penelitian dari 2 kg sampel daun sambung nyawa segar yang telah dikeringanginkan selama beberapa hari diperoleh 320 gram daun sambung

nyawa kering yang telah dirajang dan diserbukkan. Kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 70% selama 9 hari dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 84,6 gram dengan hasil randemen 4,23%. (Lampiran 3, tabel III).

3. Hasil pemeriksaan organoleptis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambung nyawa berupa ekstrak kental, berwarna hijau lumut-kecoklatan, bau khas aromatik, dan rasa pahit (Lampiran 3, tabel IV).
4. Hasil pengujian susut pengeringan ekstrak etanol daun sambung nyawa adalah 8,46% (Lampiran 3, tabel V). Hasil pemeriksaan kadar abu ekstrak etanol daun sambung nyawa adalah 2,19% (Lampiran 3, tabel VI).
5. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambung nyawa mengandung: flavonoid, fenolat, saponin, steroid dan alkaloid (Lampiran 6, tabel VII).
6. Hasil pengukuran kadar NO serum rata-rata dari kelompok negatif adalah 3,255 nmol/ $\mu$ L, kontrol positif 1,495 nmol/ $\mu$ L, dosis ekstrak daun sambung nyawa 50 mg/kgBB 2,185 nmol/ $\mu$ L, dosis ekstrak daun sambung nyawa 100 mg/kgBB yaitu 3,960 nmol/ $\mu$ L, dan dosis ekstrak daun sambung nyawa 200 mg/kgBB yaitu 3,795 nmol/ $\mu$ L (Lampiran 4, tabel VIII).
7. Hasil pengukuran ratio berat organ diperoleh sebagai berikut:
  - a. Rata-rata rasio berat organ hati kelompok kontrol negatif adalah  $0,0521 \pm 0,0036$ , kontrol positif  $0,0582 \pm 0,0080$ , dosis ekstrak daun sambung nyawa 50 mg/kgBB  $0,0552 \pm 0,0048$ , dosis ekstrak daun sambung nyawa 100 mg/kgBB  $0,0550 \pm 0,0073$ , dan dosis ekstrak daun

sambung nyawa 200 mg/kgBB  $0,0531 \pm 0,0033$  (Lampiran 5, tabel XII).

- b. Rata-rata rasio berat organ ginjal kelompok kontrol negatif adalah  $0,0110 \pm 0,0009$ , kontrol positif  $0,0116 \pm 0,0023$ , dosis ekstrak daun sambung nyawa 50 mg/kgBB  $0,0107 \pm 0,0010$ , dosis ekstrak daun sambung nyawa 100 mg/kgBB  $0,0109 \pm 0,0009$ , dan dosis ekstrak daun sambung nyawa 200 mg/kgBB  $0,0112 \pm 0,0007$  (Lampiran 6, tabel XIV).
- c. Rata-rata rasio berat organ jantung kelompok kontrol negatif adalah  $0,0041 \pm 0,0005$ , kontrol positif  $0,0044 \pm 0,0010$ , dosis ekstrak daun sambung nyawa 50 mg/kgBB  $0,0042 \pm 0,0005$ , dosis ekstrak daun sambung nyawa 100 mg/kgBB  $0,0041 \pm 0,0005$ , dan dosis ekstrak daun sambung nyawa 200 mg/kgBB  $0,0039 \pm 0,0004$  (Lampiran 7, tabel XVI).

## 4.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek proteksi ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) terhadap disfungsi sel endotel. Simplisia yang digunakan pada penelitian ini diambil di daerah Baserah, Kecamatan Kuantan Hilir, Kabupaten Kuantan Singingi, Provinsi Riau. Alasan pengambilan sampel di daerah tersebut karena banyak ditemukan dan digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional sebagai obat antihipertensi dengan cara meminum air rebusan daun sambung nyawa sebanyak 7 lembar. Telah dilakukan identifikasi di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan

Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang. Dari hasil identifikasi didapatkan bahwa sampel yang diambil memang benar daun sambung nyawa dengan nama spesies (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.), sama dengan koleksi yang ada di herbarium. Pada pemakaian masyarakat, biasanya daun yang diambil adalah daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, dimana biasanya daun ini berada pada daun ke-4 sampai ke-9 dari pucuknya. Alasan pemilihan daun ini karena apabila daun yang terlalu tua dikhawatirkan kandungan zat aktif yang diharapkan telah menurun, begitupun dengan daun yang terlalu muda. Daun yang dipakai pada penelitian ini adalah daun segar yang telah dikering anginkan.

Sebanyak 2 kg daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) segar dicuci dan dikering anginkan terlebih dahulu, setelah kering diperoleh sebanyak 320 gram daun sambung nyawa kering. Tujuan dari penyerbukkan sampel adalah untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan sampel dengan demikian lebih banyak bagian sampel yang berkontak dengan pelarut sehingga proses penyarian lebih sempurna. Ekstraksi sampel daun sambung nyawa dilakukan dengan cara maserasi. Metode maserasi dipilih karena pengerjaannya mudah, peralatan yang digunakan sederhana serta efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan zat termolabil akibat suhu tinggi.

Daun sambung nyawa kering dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Pemilihan etanol sebagai pelarut dikarenakan etanol merupakan pelarut universal artinya etanol dapat menarik komponen kimia baik yang polar, non polar maupun semi polar. Etanol memiliki kemampuan untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga zat aktif terhindar dari proses

hidrolisis dan oksidasi (Harborne, 1987). Maserasi dilakukan selama 9 hari sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian hasil maserat ditampung dalam wadah yang gelap dan selanjutnya dilakukan penguapan pelarut dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 84,6 gram.

Karakterisasi ekstrak etanol daun sambung nyawa yang dilakukan antara lain perhitungan rendemen, pemeriksaan organoleptis, penentuan susut pengeringan, penentuan kadar abu dan pemeriksaan kandungan metabolit sekunder (fitokimia). Rendemen ekstrak etanol daun sambung nyawa terhadap sampel kering adalah 4,23% (Lampiran 3, tabel III). Setelah dilakukan pemeriksaan organoleptis diperoleh data bahwa ekstrak etanol daun sambung nyawa berupa ekstrak kental, berwarna hijau lumut-kecoklatan, berbau khas, dan rasa pahit (Lampiran 3, tabel IV).

Berat susut pengeringan ekstrak etanol daun sambung nyawa yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu 8,46% (Lampiran 3, tabel V), dimana persyaratan untuk susut pengeringan ekstrak etanol daun sambung nyawa yaitu tidak  $> 10\%$ . Tujuan dilakukan pemeriksaan susut pengeringan adalah untuk mengetahui persentase senyawa yang hilang selama proses pemanasan, tidak hanya air tapi juga senyawa menguap lainnya (Depkes RI, 2008). Kadar abu dari ekstrak etanol daun sambung nyawa memenuhi persyaratan yaitu 2,19% (Lampiran 3, tabel VI), dimana persyaratan untuk kadar abu ekstrak etanol daun sambung nyawa yaitu tidak  $> 3,1\%$  (Depkes RI, 2008). Tujuan dilakukan penetapan kadar abu adalah untuk mengetahui dan memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari awal sampai akhir terbentuknya ekstrak,

dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan senyawa anorganik saja (Depkes RI, 2008) Pada pemeriksaan metabolit sekunder (fitokimia) ekstrak etanol daun sambung nyawa mengandung flavonoid, fenolik, saponin, steroid dan alkaloid (Lampiran 3, tabel VII).

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih jantan. Pemilihan mencit sebagai hewan percobaan karena mencit putih jantan memiliki fisiologi mirip dengan manusia, selain itu lebih mudah ditangani, mudah didapat dan harganya relatif murah. Pemberian sediaan ekstrak kepada hewan percobaan dilakukan secara oral, cara ini disesuaikan dengan pemakaian sehari-hari oleh masyarakat. Sebelum dilakukan pengujian, hewan percobaan di aklimatisasi selama 7 hari dan dinyatakan sehat serta siap untuk diberi perlakuan apabila selama aklimatisasi tidak menunjukkan perubahan berat badan (<10%) dari berat badan awal. Sebelum diperlakukan, mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan.

Penginduksi yang digunakan untuk menyebabkan disfungsi sel endotel pada hewan percobaan adalah larutan NaCl 3%. NaCl dipilih karena diketahui bahwa konsumsi garam yang tinggi (20-23 g/hari) pada manusia dapat menurunkan kadar NO dalam darah akibat terganggunya sintesis asam amino L-Arginin dengan mempengaruhi enzim NO sintase (NOS) (Fujiwara *et al.*, 2000; Higashi *et al.*, 1996). Konsentrasi NaCl yang digunakan adalah NaCl 3%, dimana pemberian garam dengan konsentrasi tersebut dapat mempengaruhi tekanan darah arteri pada hewan percobaan dan memicu terjadinya hipertensi (Fujiwara *et al.*, 2000). Keadaan hipertensi dapat meningkatkan produksi anion superoksida.

Anion superoksida dapat merusak dan menghancurkan NO, sehingga kadar NO menurun (Versari *et al.*, 2009).

Untuk mengoptimalkan terjadinya disfungsi sel endotel pada mencit, induksi NaCl 3% dilakukan selama 3 minggu. Ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) diberikan 3 variasi dosis, yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB. Tujuan pemberian dengan beberapa varian adalah untuk melihat dosis mana yang lebih efektif dalam meningkatkan kadar NO pada mencit. Adanya efek proteksi diamati dengan mengukur kadar NO pada serum semua mencit dari keseluruhan kelompok perlakuan sehingga dapat dilihat kemampuan ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dalam memproteksi sel endotel yang telah dirusak oleh larutan NaCl 3%. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis ekstrak daun sambung nyawa yang dapat meningkatkan kadar NO adalah dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

Hasil penelitian disfungsi sel endotel dengan penginduksian larutan NaCl 3% dapat ditandai dengan terjadinya penurunan kadar NO yang ditunjukkan oleh rendahnya kadar NO pada kelompok kontrol positif yaitu 1,495 nmol/ $\mu$ l jika dibandingkan dengan kadar NO kelompok kontrol negatif yakni 3,255 nmol/ $\mu$ l. Ini disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif tidak diberikan larutan NaCl 3% sehingga tidak terjadi gangguan pada proses sintesis NO dari asam amino L-Arginin yang menggunakan enzim NO sintase (NOS) (Higashi *et al.*, 1996). Penentuan adanya aktivitas proteksi dari ekstrak daun sambung nyawa terhadap disfungsi sel endotel ditandai dengan meningkatnya kadar NO pada kelompok pemberian dosis 50 mg/kgBB 2,185 nmol/ $\mu$ l, dosis 100 mg/kgBB 3,960 nmol/ $\mu$ l dan dosis 200 mg/kgBB 3,795 nmol/ $\mu$ l dibandingkan dengan kadar NO kelompok

kontrol positif. Dari data penelitian nilai rata-rata kadar NO kontrol negatif 3,255 nmol/ $\mu$ l dan kontrol positif 1,495 nmol/ $\mu$ l terlihat bahwa kadar NO kontrol negatif lebih tinggi dibandingkan kontrol positif. Berdasarkan uji analisis data secara statistik diperoleh nilai signifikansi  $P < 0,05$  (Lampiran 4, tabel X). Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif mengalami kerusakan sel endotel yang ditandai dengan turunnya kadar NO yang berbeda nyata.

Berdasarkan hasil data analisa varian (ANOVA) yang membandingkan nilai rata-rata kadar NO dari kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 50 mg/kgBB, kelompok 100 mg/kgBB, dan kelompok dosis 200 mg/kgBB didapat nilai signifikansi  $P < 0,05$  (Lampiran 4, tabel X). Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang nyata antara kadar NO kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan (kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 50 mg/kgBB, kelompok dosis 100 mg/kgBB, dan kelompok dosis 200 mg/kgBB).

Berdasarkan hasil data analisa uji lanjut Duncan, nilai rata-rata kadar NO kelompok kontrol negatif yaitu 3,255 nmol/ $\mu$ l lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yakni 1,495 nmol/ $\mu$ l dimana ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan signifikansi  $P < 0,05$ . (Lampiran 4, tabel XI).

Nilai rata-rata kadar NO kelompok dosis 50 mg/kgBB yaitu 2,185 nmol/ $\mu$ l jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif 1,495 nmol/ $\mu$ l tidak menunjukkan perbedaan. Secara analisis tidak berbeda dengan signifikansi  $P > 0,05$  (Lampiran 4, tabel XI), ini menunjukkan bahwa dosis 50 mg/kgBB belum mampu memproteksi sel endotel karena tidak meningkatkan kadar NO dalam darah. Hal ini dilihat dari nilai rata-rata kadar NO pada konsentrasi dosis 50 mg/kgBB yaitu

2,185 nmol/ $\mu$ l yang lebih rendah dibandingkan dengan nilai rata-rata kadar NO kontrol negatif 3,255 nmol/ $\mu$ l (Lampiran 4, tabel VIII).

Nilai rata-rata kadar NO kelompok dosis 100 mg/kgBB yaitu 3,960 nmol/ $\mu$ l jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yakni 1,495 nmol/ $\mu$ l menunjukkan adanya peningkatan dan perbedaan nyata dengan signifikansi  $P < 0,05$  (Lampiran 4, tabel XI), serta meningkat dari kelompok dosis 50 mg/kgBB 2,185 nmol/ $\mu$ l. Tetapi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif 3,255 nmol/ $\mu$ l dan dosis 200 mg/kgBB 3,795 nmol/ $\mu$ l tidak berbeda nyata dengan nilai signifikansi  $P > 0,05$  (Lampiran 4, tabel XI).

Nilai rata-rata kadar NO kelompok dosis 200 mg/kgBB yaitu 3,795 nmol/ $\mu$ l jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yakni 1,495 nmol/ $\mu$ l menunjukkan terjadi peningkatan nilai rata-rata kadar NO dan ada perbedaan nyata dengan signifikansi  $P < 0,05$  (Lampiran 4, tabel XI) serta meningkat dari kelompok dosis 50 mg/kgBB 2,185 nmol/ $\mu$ l. Namun jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif 3,255 nmol/ $\mu$ l dan kelompok dosis 100 mg/kgBB 3,960 nmol/ $\mu$ l tidak berbeda nyata dengan nilai signifikansi  $P > 0,05$  (Lampiran 4, tabel XI).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa variasi pemberian dosis ekstrak daun sambung nyawa dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB mempengaruhi nilai rata-rata kadar NO serum dalam darah. Dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB mengalami peningkatan nilai rata-rata kadar NO jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, sedangkan pada dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua variasi dosis dapat memproteksi sel endotel dan

meningkatkan konsentrasi NO dalam darah. Dosis daun sambung nyawa 100 mg/kgBB pilih sebagai dosis yang paling efektif diantara variasi dosis lainnya, karena memiliki nilai rata-rata kadar NO yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, dosis 50 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB (Lampiran 4, tabel VIII).

Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan rasio berat organ hati, ginjal, dan jantung. Penentuan rasio berat organ dapat berguna untuk melihat apakah pemberian ekstrak daun sambung nyawa selama 3 minggu akan memberikan efek terhadap organ hati, ginjal, dan jantung. Hasil analisa statistik terhadap rasio berat organ hati, ginjal, dan jantung tidak mengalami perbedaan karena memiliki nilai signifikansi  $P > 0,05$  (Lampiran 5 – 7). Nilai rata-rata rasio organ hati, ginjal, dan jantung kelompok dosis ekstrak daun sambung nyawa 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif secara analisa statistik tidak mengalami perbedaan yang nyata. Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak daun sambung nyawa selama 3 minggu tidak mempengaruhi organ hati, ginjal, dan jantung.

Adanya kandungan asam klorogenat dan kuersetin dalam daun sambung nyawa telah terbukti dapat meningkatkan produksi NO pada pembuluh darah dan menyebabkan vasodilatasi (Kim *et al.*, 2006), selain itu kandungan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang dapat merangsang produksi oksida nitrit dan juga bereaksi dengan radikal bebas (Miller, 1996). Peran antioksidan terhadap sel endotel yaitu menghambat oksidasi, mengurangi inaktivasi NO, menurunkan adhesi monosit terhadap endotel dan merangsang aktivasi enzim endothelial NO (eNO) (Lawrence, 2004). Mekanisme kerja antioksidan menurut Nimse dan Pal

(2015) adalah senyawa antioksidan akan bereaksi dengan mendonorkan satu electron kepada atom elektron sunyi hydrogen peroksida untuk mencegah kerusakan oksidatif membran sel endotel sehingga tidak terjadi disfungsi sel endotel.

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat dijelaskan bahwa pemberian ekstrak daun sambung nyawa dapat meningkatkan kadar NO pada mencit putih jantan yang diinduksi dengan larutan NaCl 3%. Ekstrak daun sambung nyawa dosis 100 mg/kgBB memberikan hasil yang paling baik dibandingkan dengan dosis 50 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB dalam meningkatkan kadar NO serum mencit putih jantan. Artinya ekstrak daun sambung nyawa mampu memproteksi sel endotel dari kerusakan yang diinduksi dengan larutan NaCl 3%. Pemberian ekstrak daun sambung nyawa dalam jangka waktu lama tidak mempengaruhi organ hati, ginjal, dan jantung jika dilihat dari perbandingan rasio berat organnya.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) terhadap kadar *nitrit oxide* (NO) pada mencit putih jantan yang diinduksi dengan larutan NaCl 3%, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dapat memberikan efek proteksi terhadap sel endotel dari kerusakan akibat penginduksian menggunakan larutan NaCl 3%.

2. Dosis 100 mg/kgBB menunjukkan hasil yang paling baik dibandingkan dengan pemberian dosis 50 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB ditandai dengan perolehan kadar NO yang paling tinggi.
3. Pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) tidak mempengaruhi ratio organ hati, ginjal dan jantung.

## 5.2 Saran

Dengan adanya pengaruh ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) terhadap sel endotel, maka diharapkan penelitian ini dilanjutkan dengan melihat adanya perbaikan histopatologi pembuluh darah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, A., Sadikun, A., dan Ismail, S., 2014, Antioxidant Properties Of *Gynura Procumbens* Extract Dan Their Inhibitory Effects On Two Major Human Recombinant Cytochrome P450s Using A High Throughout Luminescence Assay. *Asian J. Pharm. Clin.*, 7, 36-41.
- Bellevile, N.F., 1996, *Zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan Dalam Sistem Biologis : Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan, Reaksi Biomolekular, Dampak Terhadap Kesehatan dan Penangkalan*, IPB, Bogor.
- Burmester, G.R., dan Pezzuto, A., 2003, *Color Atlas of Immunology*, Thieme, Stuttgart, New York.
- Cines, D.B., Pollak, E.S., Buck, C.A., Loscalzo, J., Zimmerman dan McEver, R.P., 1998, Blood, Endothelial Cells in Physiology and in Pathophysiology of Vascular Disorder, *J Am Soc Hematol*, 9: 3527-3561.

- Cooke, J.P., 1997, Therapeutics Interventions in Endothelial Dysfunction, Endothelium as Target Organ, *Jurnal Clin Cardiol*, 2(2), 45-51.
- Dalimartha, S., 2006, *Atlas Tumbuhan Obat Jilid 4*, Puspa Swara, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Federer, W., 1991, *Statistics dan Society: Data Collection dan Interpretation*, Second Edition, New York.
- Firmansyah, R.R., Reza, H., dan Dini S.R., 2015, Efek Antihipertensi Dekokta Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Melalui Penghambatan ACE (Studi In Silico), *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 3(1).
- Fujiwara, N., Osanai, T., Kamada, T., Katoh, T., Takahashi, K., dan Okumura, K., 2000, Study on the relationship Between Plasma Nitrite Dan nitrate Level Dan Salt Sensitivity in Human Hypertension modulation of Nitric Oxide Synthesis by Salt intake, *J.Cir*, 101(8), 856-861.
- Ghasemi, A., Hedayati, M. dan Biabani, H., 2007, Protein Precipitation Methods Evaluated for Determination of Serum Nitric Oxide End Products by the Griess Assay, *Journal of Medical Science Research*, 15, 29-32.
- Gitawati, 1995, Radikal Bebas, Antioksidan dan Proses Menua. *Kedokteran Dan Farmasi*, 6, 366-369.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh K. Pandanawita dan I. Soediro, ITB Press, Bandung, 5, 234.
- Hartanto, M.S., 2008, Efek Antihipertensi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) dan Ekstrak Daun Sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr) pada Tikus Putih Jantan yang dibuat Hipertensi, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Depok.
- Higashi, Y., Oshima, T., Watanabe, M., Matsuura, H., dan Kajiyama, G., 1996, Renal Response to L-arginine in Salt-Sensitive Patients with Essential Hypertension, *Hypertension*, 27, 643-648.
- Holvoet P., dan Collen D., 1997, Thrombosis and Atherosclerosis, *Curr Opin Lipidol*, 8, 320-328

- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E dan Chaudhuri, G., 1987, Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide, *Proceeding National Academic Sciences*, 84, 9265-9269
- Inoue N., dan Nishida K., 1998, Probucol Improves Endothelial-Dependent Relaxation and Decreases Vascular Superoxide Production in Cholesterol-Fed Rabbits, *American Journal Of the Medical Sciences*, 242-247.
- Iskandar, Y., 2007, Tanaman obat yang berkhasiat sebagai antihipertensi, *Karya Ilmiah*, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, 23.
- Ismail, Mohd, Ebby A.B., Farrah, S.I., Razif, Dasiman, Zulkhairi, A., 2015, Effects Of Gynura Procumbens Extract On Liver Test Of Hypercholesterolemia Induced Rabbits, *Jurnal Teknologi*, 15, 213-221.
- Jenie, R.I., Edy, M., dan Retno, M., 2006, Efek Antiangiogenik Ekstrak Etanolik Daun Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens* (Lour.) Merr.) Pada Membran Korio Alantois (Cam) Embrio Ayam, *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(1), 50-55.
- Kaur, N., Kumar, R., Yam, M.F., Sadikun, A., Abdul, S.Mz., dan Asmawi, Mz., 2008, Antihypertensive Effect Of Gynura Procumbens Water Extract In Spontaneously Hypertensive Rats, *International Journal Applied Research In Natural Products*, 6 (3), 20-27.
- Kim, M.J., Lee, H.J., Wiryowidadgo, S., dan Kim, H., 2006, Antihypertensive Effects of *Gynura procumbens* Extract in Spontaneously Hypertensive Rats, *J Med Food*, 587-590.
- Kumar, V., Cotran, R, S., dan Robin, S, I., 2007, *Buku Ajar Patologi (Ed. 7)*, Penerjemah, Brahm, U. Pendit, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Lawrence, G.S., 2004, *Implikasi Klinis Disfungsi Endotel dan Radikal Bebas*, Makassar: Unit Riset Vaskular, bagian Patologi, FK Unhas, RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo.
- Luerang, A., Thammasarn, K., Sittiwet, C., Naowaratwattana, W., Chaichanadee, S., dan Puangpronpitag, D., 2010, Evaluation Of Nutritional Value And Antioxidative Properties Of The Medical Plant *Gynura procumbens* Extract, *Asian J. Plant Sci*, 9, 146-151.
- Mac Allister, R. J., Fickling, S. A., Kimoto, M., Ogawa, T., Russell, R. J., Hodson, H., Whitley, G. S. J. dan Vallence, P., 1996, Regulation of nitric synthesis by dimethylarginine dimethylamino-hydrolase, *British Journal of Pharmacology*. 119, 1-8.
- Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh K. Padmawinata, 15, ITB, Bandung.

- Marx, J. L., 1985, Oxygen free radicals linked to many diseases, *Science*, 235, 529-531.
- Maryani, H., 2003, *Khasiat dan Manfaat Daun Dewa dan Sambung Nyawa*, Agro Media Pustaka, Jakarta
- Meiyanto, E., Sugiyanto, dan Sudarto, B., 1997, Uji Antikarsinogenik dan Antimutagenik Preparat Tradisional Daun *Gynura procumbens* (Lour.) Merr., Fakultas Farmasi UGM, *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII*, 32.
- Miller, A.L., 1996, Antioxidant flavanoids: Structure Function, Function and Clinical Usage, *Journal flavanoids*, 1, 1-7
- Musanti, D., Fachriyah, E., dan Kusriani, D., 2016, Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid, *Departemen Kimia FSM, Universitas Diponegoro*, 315–321.
- Nafrialdi, 2009, *Antihipertensi dalam Farmakologi dan Terapi, edisi 5*, Penerbit Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 341-360.
- Nimse, S.B., dan Pal, D., 2015, Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanism, *Royal Society of Chemistry*, 5, 27986-28006.
- Panza, J. A., Garcia, C. E., Kilcoyne, C. M., Quyyumi, A. A., dan Cannon, R. O., 1995, Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension, Evidence that nitric oxide abnormally is not localized to a single signal transduction pathway, *Circulation*, 91, 1732-1738.
- Pidekso, Ari, 2009, *Panduan Praktis SPSS 17 untuk Pengolahan Data Statistik*, Penerbit Dani, Yogyakarta.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., dan Shahabimajd, N., 2006, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, *African Journal of Biotechnology*, 5 (11), 1142–1145.
- Pramono, S., 2006, Penanganan Pascapanen dan Pengaruhnya terhadap Efek Terapi Obat Alami, *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII*, Bogor, 1-6.
- Pribadi, M.J., Makmun, L.H., dan Abdurahman N., 2000, *Disfungsi Endotel dan Aterosklerosis Koroner*, *Acta Medica Indonesiana*, 32 (2) , 67-79.
- Rahman, A., dan Asad, M., 2013, Chemical dan Biological Investigations Of The Leaves Of *Gynura Procumbens*. *Int. J. Biosci.* 3, 36-43.

- Ramelan, W., 2003, Antioksidan dan Peranannya dalam dalam Kedokteran, *Jurnal Kedokteran dan Farmasi*, 6, 370-371.
- Ramesh, K.V., dan Shenoy, KA., 2003, Endothelial Dysfuction: Many ways to correct- trends that promise, *Indian J Pharmacol*, 35, 73-82.
- Sargowo, Djanggan., 2015, *Disfungsi Endotel*, Universitas Brawijaya Press (UB Press), Malang.
- Setiati, S., 2003, Radikal Bebas, Antioksidan dan Proses Menua, *Jurnal Kedokteran dan Farmasi*, 6, 366-369.
- Silalahi, J., 2005, Gas Nitrogen monoksida Polutan atau Vital Bagi Kehidupan Kita, *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*, 147, 26-30.
- Siska, Nursal, F.K., dan Farida., 2010, Pemanfaatan Akar Seledri (*Apium Graveolens* Linn.) Sebagai Antihipertensi, *Farmasains*, Uhamka, Jakarta, 1, 1-6.
- Srinivasan, S., Hatley, M.E., Bolick, D.T., Palmer, L.A., Edelstein, D., Brownlee, M., dan Hendrick, C.C., 2004, Hyperglycaemia Induced Superoxide Production Decreases eNOS Expression via AP-1 activation in Aortic Endothelial Cells, *Diabetologia*, University of Virginia, USA, 1727–1734.
- Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I.A., dan Purnomo, 2002, *Tumbuhan Obat II, Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan, Pusat Studi Obat Tradisional*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 96-100.
- Sudarto, B., dan Pramono, S., 1985, Skrining Fitokimia Daun Dewa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) yang Diduga Berkhasiat sebagai Anti-kanker. PPPT-UGM, Lembaga Penelitian UGM, Yogyakarta.
- Suganda, A., Sudiro, I., dan Ganthina, 1988, *Skrining Fitokimia dan Asam Fenolat Daun Dewa (Gynura procumbens (Lour.) Merr)*, *Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sulistiyowati, E., Nour A.A.S., Purnomo, Y., dan Hayati, A., Aktivitas Antioksidan Herbal Benalu Teh Terhadap Disfungsi Endotel pada Tikus Hipertensi. *Universitas Islam Malang*, 9–19.
- Susalit, E., Kapojos, J.E, dan Lubis, H.R., 2001, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam II*, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Taddei, S., Virdis, A., Ghiadoni, L., dan Salvetti, A., 1998, The Role of Endothelium in Human Hypertension, *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 7, 203-209.
- Thomas, L., 1998, *Clinical Laboratory Diagnostic, (1<sup>st</sup> ed) the Basic Verlagessell*

*Schaft*, Frankfurt.

Versari, D., Daghini, E., Viridis, A., Ghiadoni, L., dan Taddei, S., 2009, Endothelium-dependent contractions dan endothelial dysfunction in human hypertension. *British journal of Pharmacology*. 157: 527-536.

Wijaya, A., dan Karniawati, M., 1999, Petdana Biokimia untuk Disfungsi Endotel, *Forum Disagnosticum. Lab.Klinik Prodia*, 1-7.

Wijayakusuma, H.M.H., Wirian, A.S., Yaputra, I., Dalimartha, S., dan Wibowo, B., 1994, *Tanaman Berkhasiat Obat di Jilid 1*, Pustaka Kartini, Jakarta

Winarsih, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta.

Winarto, dan Tim Karyasari., 2003, *Sambung Nyawa, Budi Daya dan Pemanfaatan untuk Obat*, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta, 4-30.

Xi, H., Akishita, M., Nagai, K., Yu, W., Hasegawa, H., dan Eto, M., 2007, Potent free radical scavenger, edaravone, suppresses oxidative stress-induced endothelial damage and early atherosclerosis, *Atherosclerosis*, 191, 281-289.

Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J. dan Young, J., 1990, Flavonoid As Superoxide Scavengers and Antioxidant. *Free Radical Biol. Med*, 9, 19-21.

### **Lampiran 1. Gambar**



**Gambar 7. Tanaman Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)**



**Gambar 8. Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.**

**Lampiran 1. (Lanjutan)**



## HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar  
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. \*811 e-mail: [nas\\_herb@yahoo.com](mailto:nas_herb@yahoo.com);  
[herbariumandaunand@gmail.com](mailto:herbariumandaunand@gmail.com)

Nomor : 130/K-ID/ANDA/IV/2018  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,  
Syafira Adhliany  
Di  
Padang

Dengan hormat,  
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Syafira Adhliany  
No. BP : 14 04 084  
Instansi : STIFI- YP Padang

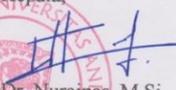
Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Famili	Spesies
1.	Compositae	<i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

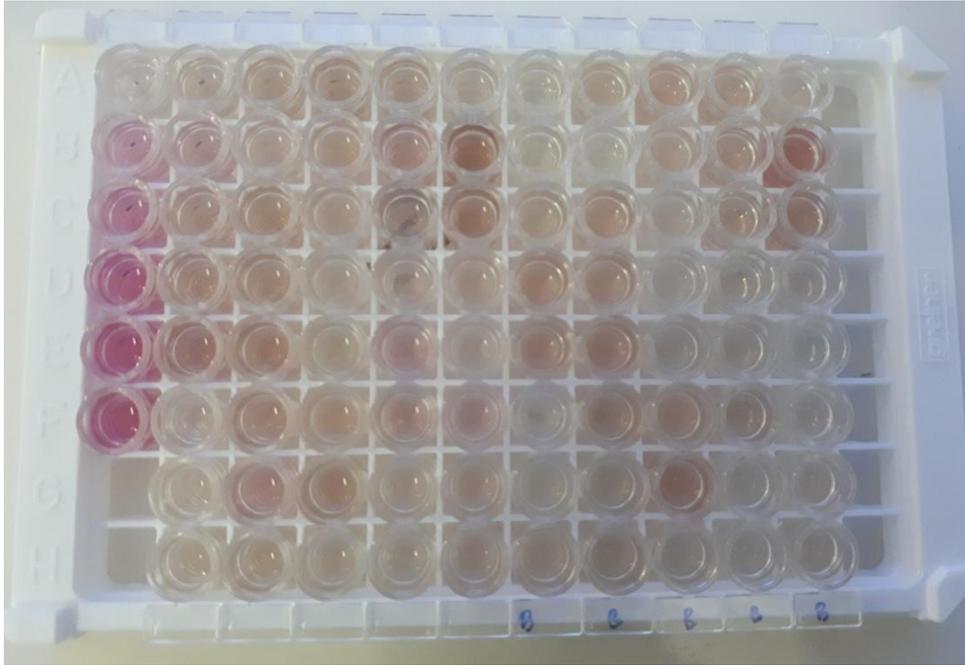
Padang, 10 April 2018

Kepala

  
Dr. Nurainas, M.Si  
NIP. 196908141995122001

**Gambar 9. Surat Identifikasi Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)**

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

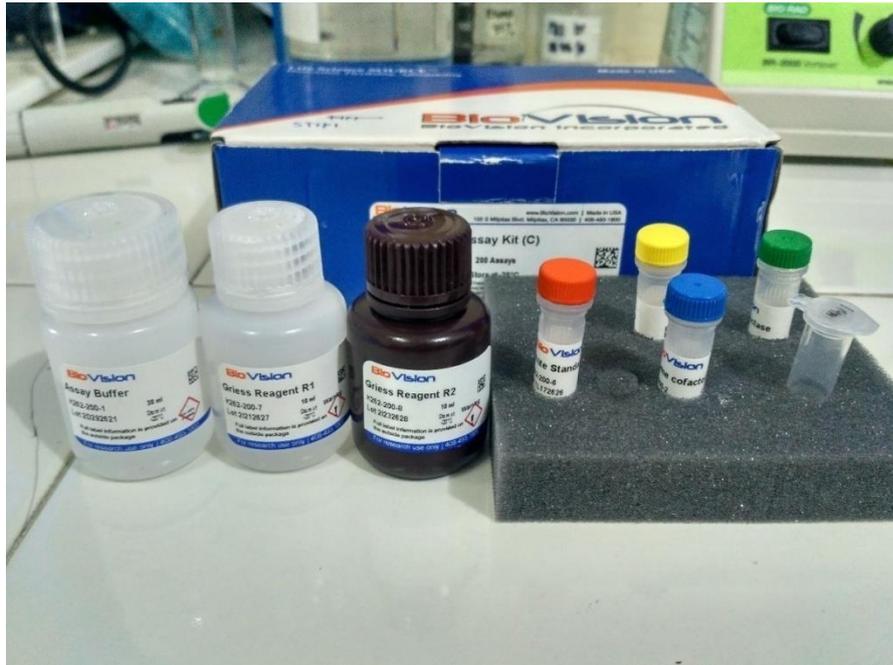


**Gambar 10. Plat Mikrotiter yang Berisi Serum Dengan Reagen GRIESS**



**Gambar 11. Alat ELISA Spektrofotometer *Bio-Rad***

**Lampiran 1. (Lanjutan)**



**Gambar 12. Reagen Nitrit Oxide Colorimetric Assay Kit *BioVision***



**Gambar 13. Gambar Organ Hati Mencit Putih Jantan**

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

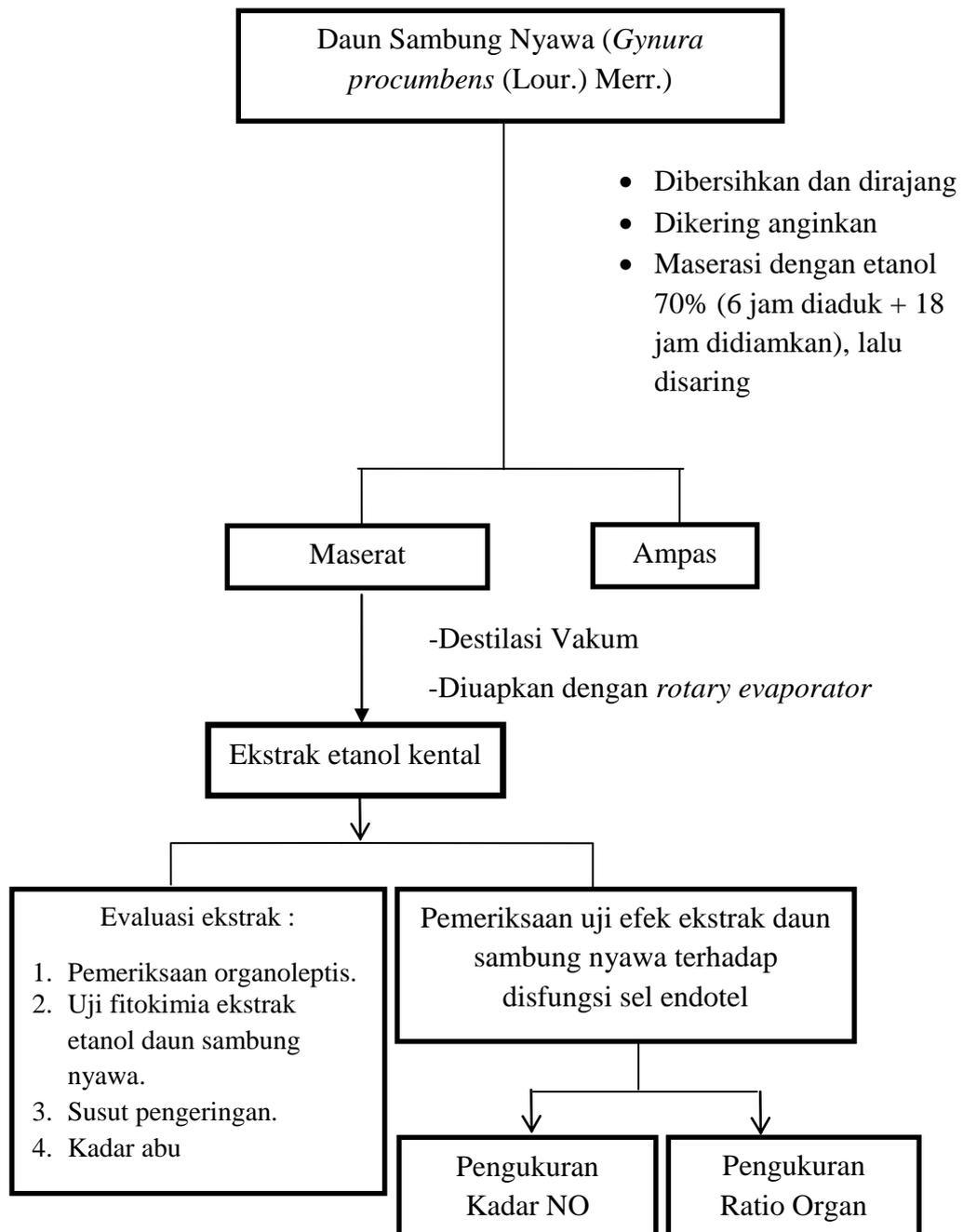


**Gambar 14. Gambar Organ Ginjal Mencit Putih Jantan**



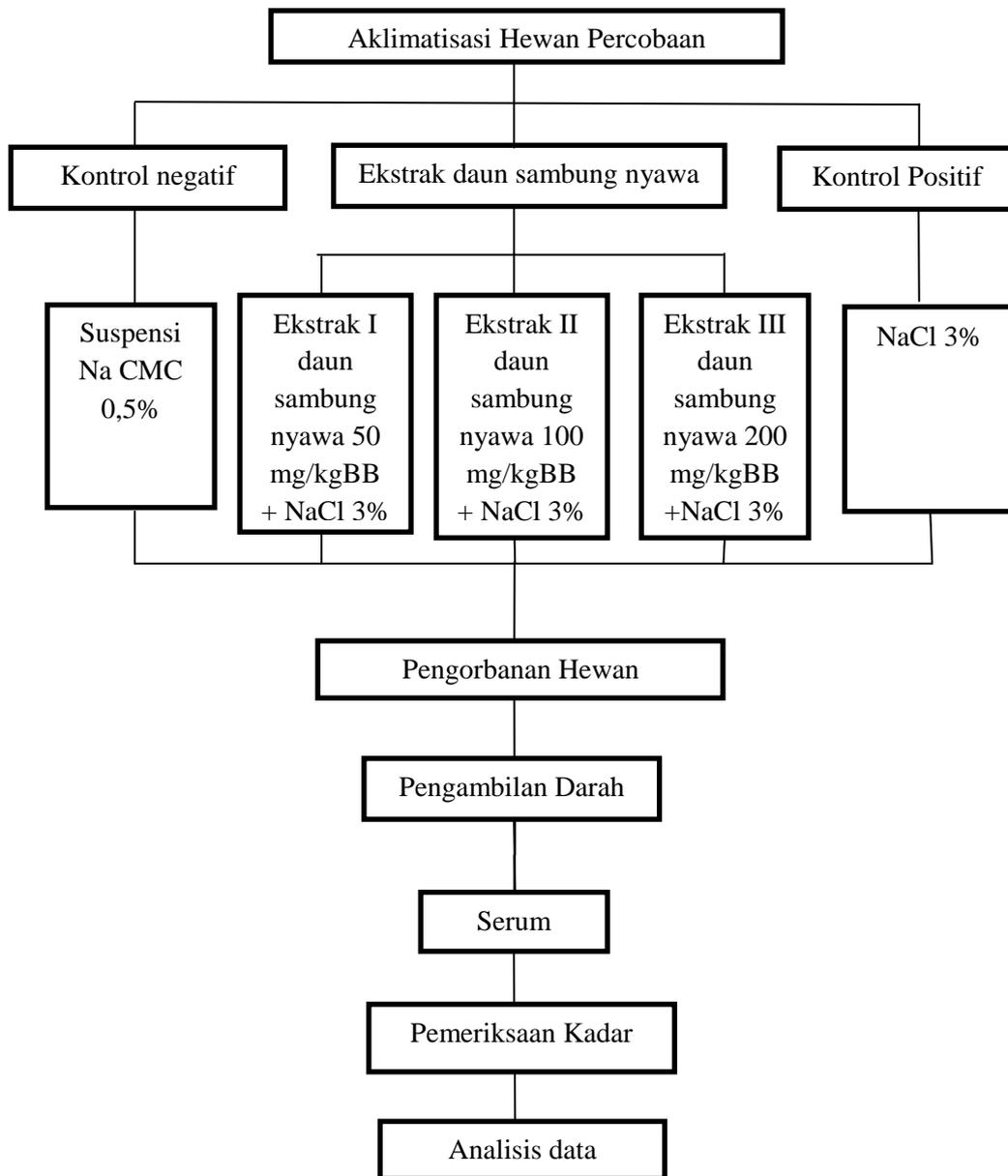
**Gambar 15. Gambar Organ Jantung Mencit Putih Jantan**

**Lampiran 2. Skema Kerja**



**Gambar 16. Skema Kerja Ekstraksi Dan Evaluasi Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)**

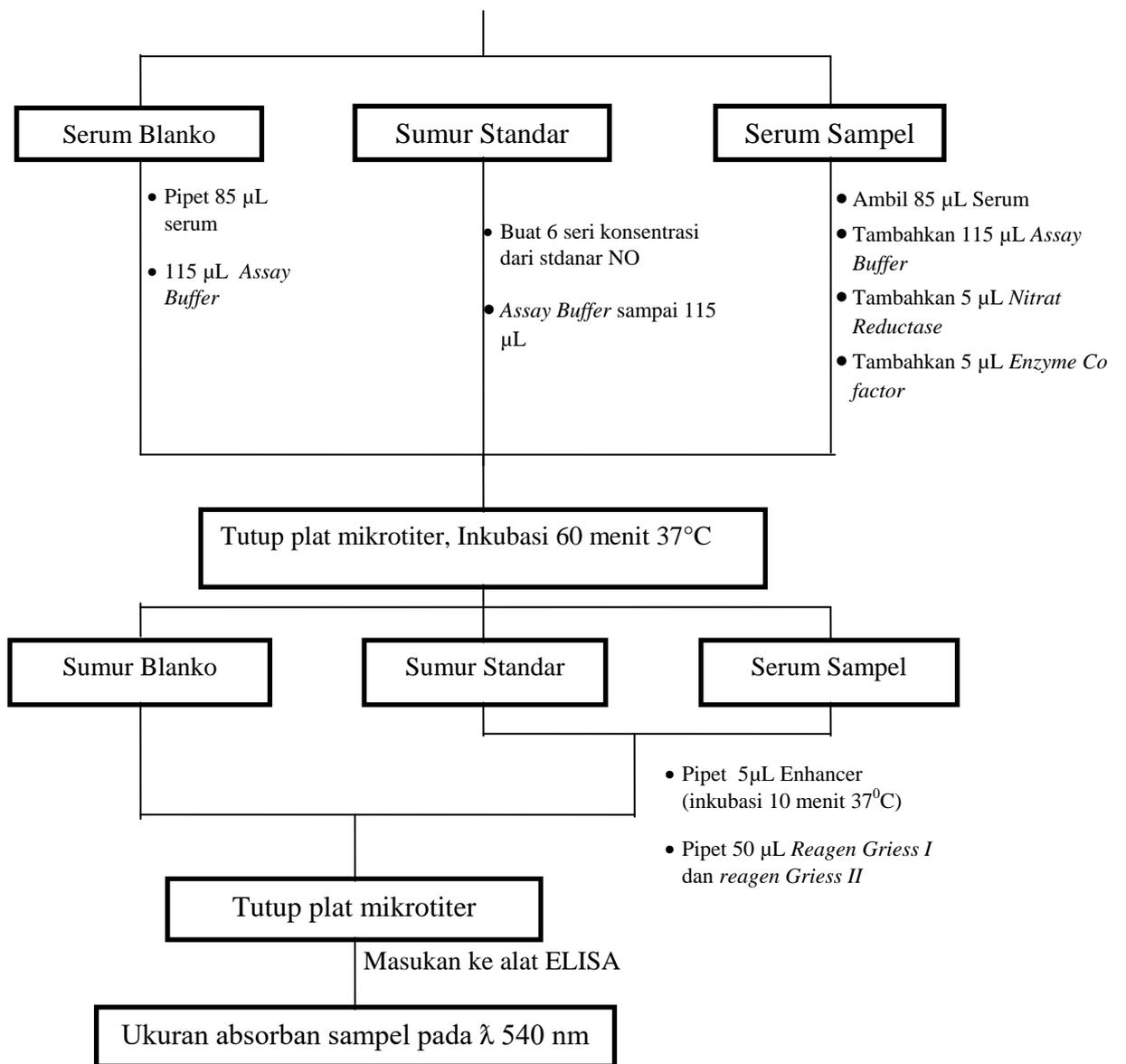
**Lampiran 2. (Lanjutan)**



**Gambar 17. Skema Kerja Perlakuan Terhadap Hewan Percobaan**

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

Plat Mikrotiter



**Gambar 18. Skema Kerja Pengukuran NO (Nitrit Oksida)**

**Lampiran 3. Hasil Karakterisasi Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.)**

Tabel III. Hasil Perhitungan Rdanemen Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)

Berat sampel segar awal	Berat sampel kering	Berat ekstrak kental	Rdanemen
2000 gr	320 gr	84,6 gr	4,23 %

Perhitungan rdanemen :

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rdanemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100 \% \\
 &= \frac{84,6 \text{ gr}}{2000 \text{ gr}} \times 100 \% \\
 &= 4,23 \%
 \end{aligned}$$

Tabel IV. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)

No	Pemeriksaan	Pengamatan
1.	Bentuk	Ekstrak kental
2.	Warna	Hijau lumut kecoklatan
3.	Bau	Khas aromatik
4.	Rasa	Pahit

Tabel V. Hasil Pemeriksaan Susut Pengeringan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)

Berat krus kosong (A)	Krus + ekstrak sebelum di oven (B)	Krus + ekstrak setelah di oven (C)	% Susut pengeringan
35,3810 gr	36,3813 gr	36,2966 gr	8,46%

Lampiran 3. (Lanjutan)

Perhitungan susut pengeringan ekstrak :

$$\begin{aligned}
 \% \text{ susut pengeringan} &= \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(36,3813 \text{ gr}-35,3810 \text{ gr})-(36,2966 \text{ gr}-35,3810 \text{ gr})}{(36,3813 \text{ gr}-35,3810 \text{ gr})} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,0003 \text{ gr}-0,9156 \text{ gr}}{1,0003 \text{ gr}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,0847 \text{ gr}}{1,0005 \text{ gr}} \times 100 \% \\
 &= 8,46 \%
 \end{aligned}$$

Tabel VI. Hasil Pemeriksaan Kadar Abu Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)

Berat krus kosong (A)	Berat krus + ekstrak sebelum pemijaran (B)	Berat krus + ekstrak setelah di furnace (C)	% Kadar abu
33,1972 gr	35,1940 gr	33,241 gr	2,19%

Perhitungan kadar abu ekstrak :

$$\begin{aligned}
 \% \text{ kadar abu} &= \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100 \% \\
 &= \frac{33,241 \text{ gr}-33,1972 \text{ gr}}{35,1940 \text{ gr}-33,1972 \text{ gr}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,0438 \text{ gr}}{1,9968 \text{ gr}} \times 100 \% \\
 &= 2,19 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Tabel VII. Hasil Pemeriksaan Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)

<b>No</b>	<b>Kandungan kimia</b>	<b>Pereaksi</b>	<b>Pengamatan</b>	<b>Hasil</b>
1	Flavonoid	Lapisan air + Mg dan HCL (p)	Terbentuk warna merah	+
2	Fenolat	Lapisan air + FeCl <sub>3</sub>	Terbentuk warna biru	+
3	Saponin	Lapisan air dikocok kuat	Terbentuk busa 18 menit 20 detik	+
4	Steroid/Terpenoid	Lapisan kloroform + norit, as.asetat anhidrat, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Terbentuk warna hijau kebiruan	+
5	Terpenoid	Lapisan kloroform + norit, as.asetat anhidrat, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Tidak terbentuk warna merah	-
6	Alkaloid	Lapisan kloroform + kloroform amoniak, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N, mayer	Terbentuk kabut putih	+

Keterangan :

(+) = Positif

(-) = Negatif

#### Lampiran 4. Hasil Pengukuran Kadar NO Serum

Tabel VIII. Kadar NO Serum

Mencit	Kadar NO (nmol/ $\mu$ L)				
	KN	KP	D1	D2	D3
1	2,838	1,037	3,184	1,966	4,136
2	3,207	1,897	2,552	3,548	2,727
3	2,841	1,593	1,197	2,156	5,872
4	4,288	1,235	1,950	7,090	3,150
5	3,100	1,715	2,040	5,042	3,093
<b>Rata-Rata</b>	3,255 <sup>b,c</sup>	1,495 <sup>a</sup>	2,185 <sup>a,b</sup>	3,960 <sup>c</sup>	3,795 <sup>b,c</sup>
<b><math>\pm</math>SD</b>	$\pm$ 0,599	$\pm$ 0,352	$\pm$ 0,739	$\pm$ 2,142	$\pm$ 1,272

a,b, dan c : Nilai dengan superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata

$P < 0,05$ .

Keterangan :

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

D1 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 50 mg/kgBB

D2 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 100 mg/kgBB

D3 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 200 mg/kgBB

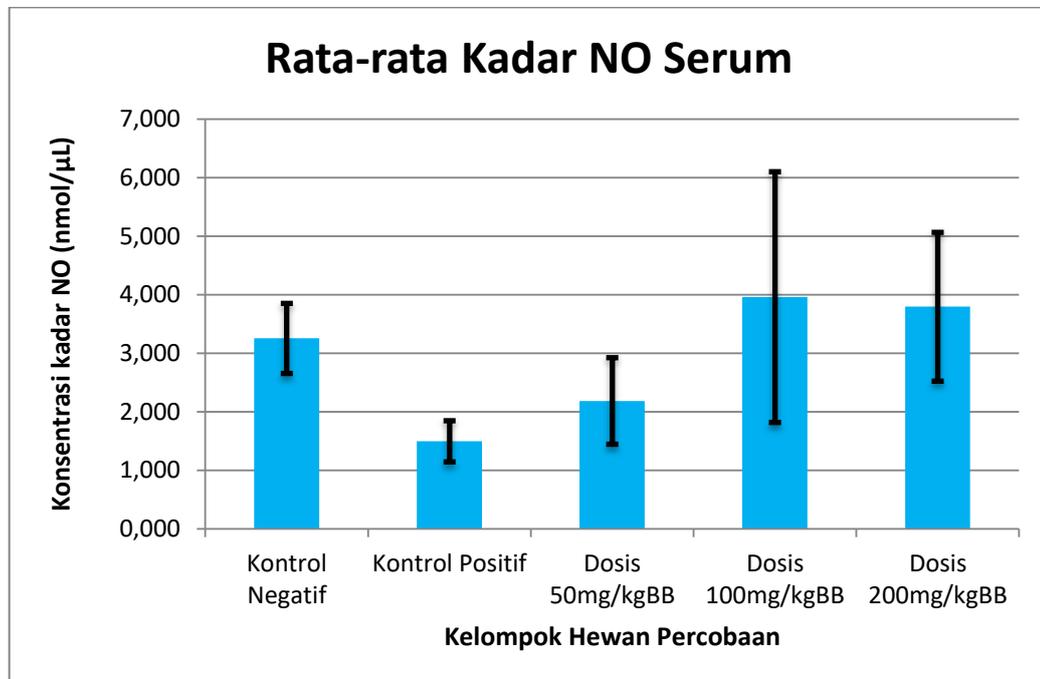
SD : Standar Deviasi

**Lampiran 4. (Lanjutan)**

Tabel IX. Persentase Peningkatan Kadar NO Terhadap Kontrol Positif

Rata-rata Peningkatan Persentase Kadar NO Terhadap Kontrol Positif		
Dosis 50 mg/kgBB	Dosis 100 mg/kgBB	Dosis 200 mg/kgBB
46,15 %	164,88 %	153,85 %

$$\text{Rumus : \% D} = \frac{(\text{Kelompok Dosis} - \text{Kontrol Positif})}{(\text{Kontrol Positif})} \times 100 \%$$



Gambar 19. Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rata-rata Kadar NO

Lampiran 4. (Lanjutan)

Tabel X. Hasil Analisa Statistik Kadar NO Mencit yang Diinduksi Larutan NaCl 3% ( ANOVA satu arah, SPSS 16)

**Descriptives**

Kadar No

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	5	3.25480	.599730	.268207	2.51014	3.99946	2.838	4.288
Kontrol Positif	5	1.49540	.352481	.157634	1.05774	1.93306	1.037	1.897
Dosis 50 mg/KgBB	5	2.18460	.739101	.330536	1.26688	3.10232	1.197	3.184
Dosis 100 mg/KgBB	5	3.96040	2.142885	.958327	1.29966	6.62114	1.966	7.090
Dosis 200 mg/KgBB	5	3.79560	1.272759	.569195	2.21526	5.37594	2.727	5.872
Total	25	2.93816	1.466536	.293307	2.33280	3.54352	1.037	7.090

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar No

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.371	4	20	.011

**ANOVA**

Kadar No

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.649	4	5.662	3.909	.017
Within Groups	28.968	20	1.448		
Total	51.617	24			

Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung = 3,909 dengan signifikan 0,017 ( $P < 0,05$ ), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa mempengaruhi kadar NO secara bermakna.

Tabel XI. Hasil Perhitungan Kadar NO Mencit yang Diinduksi Larutan NaCl 3% dengan Uji Lanjut Duncan (SPSS 16)

**Kadar NO**

Duncan

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol Positif	5	1.49540		
Dosis 50 mg/kgBB	5	2.18460	2.18460	
Kontrol Negatif	5		3.25480	3.25480
Dosis 200 mg/kgBB	5		3.79560	3.79560
Dosis 100 mg/kgBB	5			3.96040
Sig.		.376	.058	.392

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Lampiran 5. Pengukuran Rasio Berat Organ Hati**

Tabel XII. Hasil Pengukuran Rasio Berat Organ Hati

Mencit	Rasio Berat Organ Hati				
	KN	KP	D1	D2	D3
1	0,0580	0,0551	0,0610	0,0664	0,0504
2	0,0521	0,0598	0,0526	0,0501	0,0546
3	0,0510	0,0588	0,0543	0,0559	0,0579
4	0,0481	0,0700	0,0591	0,0472	0,0496
5	0,0516	0,0477	0,0490	0,0557	0,0531
<b>Rata-Rata ±SD</b>	0,0521 ±0,0036	0,0582 ±0,0080	0,0552 ±0,0048	0,0550 ±0,0073	0,0531 ±0,0033

Keterangan :

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

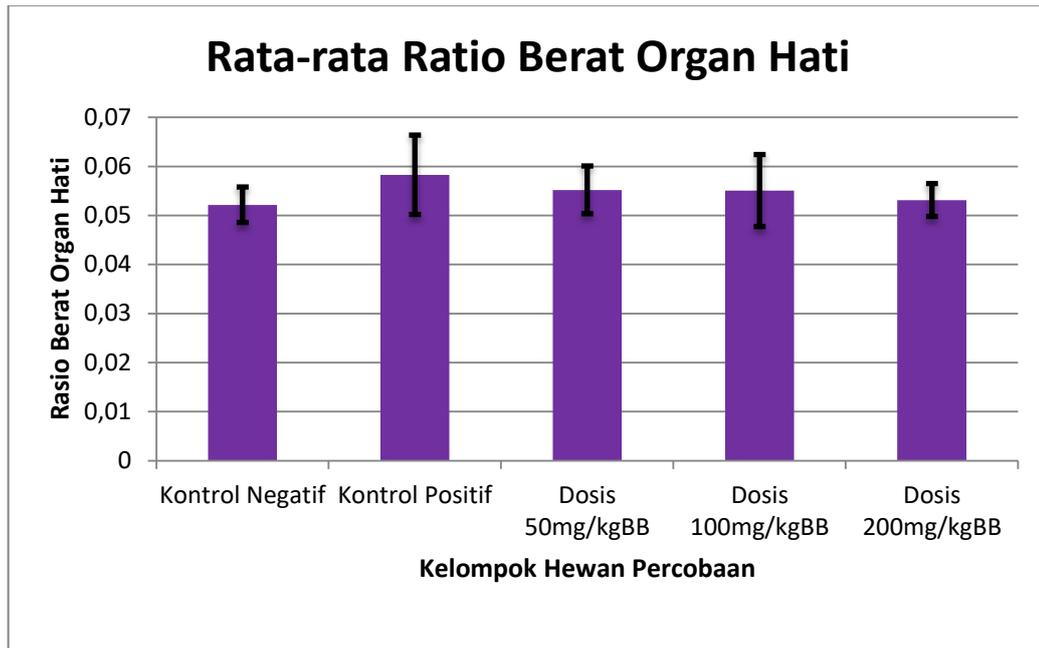
D1 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 50 mg/kgBB

D2 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 100 mg/kgBB

D3 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 200 mg/kgBB

SD : Standar Deviasi

**Lampiran 5. (Lanjutan)**



**Gambar 20. Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rata-rata Rasio Berat Organ Hati**

**Tabel XIII. Hasil Analisa Statistik Rasio Berat Organ Hati (ANOVA satu arah, SPSS 16)**

**Descriptives**

Ratio Berat Organ

Hati

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	5	.052160	.0036143	.0016164	.047672	.056648	.0481	.0580
Kontrol Positif	5	.058280	.0080930	.0036193	.048231	.068329	.0477	.0700
Dosis 50 mg/KgBB	5	.055200	.0048698	.0021778	.049153	.061247	.0490	.0610
Dosis 100 mg/KgBB	5	.055060	.0073500	.0032870	.045934	.064186	.0472	.0664
Dosis 200 mg/KgBB	5	.053120	.0033477	.0014971	.048963	.057277	.0496	.0579
Total	25	.054764	.0057032	.0011406	.052410	.057118	.0472	.0700

### Test of Homogeneity of Variances

Ratio Berat Organ Hati

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.837	4	20	.518

### ANOVA

Ratio Berat Organ Hati

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	.825	.524
Within Groups	.001	20	.000		
Total	.001	24			

Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung = 0,825 dengan signifikan 0,524 ( $P > 0,05$ ), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa tidak mempengaruhi rasio berat hati secara bermakna.

### Lampiran 6. Pengukuran Rasio Berat Organ Ginjal

Tabel XIV. Hasil Pengukuran Rasio Berat Organ Ginjal

Mencit	Rasio Berat Organ Ginjal				
	KN	KP	D1	D2	D3
1	0,0117	0,0110	0,0103	0,0114	0,0107
2	0,0108	0,0112	0,0106	0,0112	0,0111
3	0,0123	0,0123	0,0117	0,0120	0,0117
4	0,0102	0,0150	0,0117	0,0098	0,0105
5	0,0103	0,0085	0,0092	0,0102	0,0123
<b>Rata-Rata</b>	0,0110	0,0116	0,0107	0,0109	0,0112
<b>±SD</b>	±0,0009	±0,0023	±0,0010	±0,0009	±0,0007

Keterangan :

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

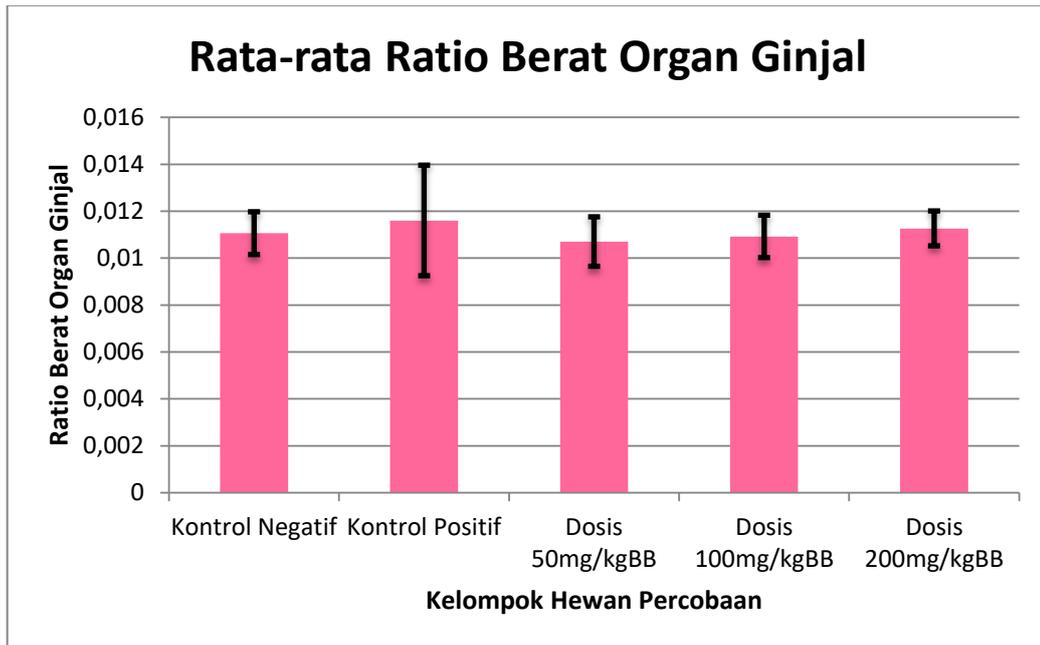
D1 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 50 mg/kgBB

D2 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 100 mg/kgBB

D3 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 200 mg/kgBB

SD : Standar Deviasi

**Lampiran 6. (Lanjutan)**



**Gambar 21. Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rasio Berat Organ Ginjal**

**Tabel XV. Hasil Analisa Statistik Rasio Berat Organ Ginjal (ANOVA satu arah, SPSS 16)**

**Descriptives**

Ratio Berat Organ  
Ginjal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	5	.011060	.0009127	.0004082	.009927	.012193	.0102	.0123
Kontrol Positif	5	.011600	.0023548	.0010531	.008676	.014524	.0085	.0150
Dosis 50 mg/KgBB	5	.010700	.0010512	.0004701	.009395	.012005	.0092	.0117
Dosis 100 mg/KgBB	5	.010920	.0009011	.0004030	.009801	.012039	.0098	.0120
Dosis 200 mg/KgBB	5	.011260	.0007403	.0003311	.010341	.012179	.0105	.0123

### Descriptives

Ratio Berat Organ

Ginjal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	5	.011060	.0009127	.0004082	.009927	.012193	.0102	.0123
Kontrol Positif	5	.011600	.0023548	.0010531	.008676	.014524	.0085	.0150
Dosis 50 mg/KgBB	5	.010700	.0010512	.0004701	.009395	.012005	.0092	.0117
Dosis 100 mg/KgBB	5	.010920	.0009011	.0004030	.009801	.012039	.0098	.0120
Dosis 200 mg/KgBB	5	.011260	.0007403	.0003311	.010341	.012179	.0105	.0123
Total	25	.011108	.0012536	.0002507	.010591	.011625	.0085	.0150

### Test of Homogeneity of Variances

Ratio Berat Organ Ginjal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.533	4	20	.231

### ANOVA

Ratio Berat Organ Ginjal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	.332	.853
Within Groups	.000	20	.000		
Total	.000	24			

Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung = 0,332 dengan signifikan 0,853 ( $>0,05$ ), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa tidak mempengaruhi rasio berat ginjal secara bermakna.

## Lampiran 7. Pengukuran Rasio Berat Organ Jantung

Tabel XVI. Hasil Pengukuran Rasio Berat Organ Jantung

Mencit	Rasio Berat Organ Jantung				
	KN	KP	D1	D2	D3
1	0,0044	0,0044	0,0039	0,0046	0,0033
2	0,0044	0,0043	0,0042	0,0046	0,0038
3	0,0046	0,0040	0,0044	0,0035	0,0040
4	0,0033	0,0061	0,0050	0,0044	0,0040
5	0,0039	0,0033	0,0037	0,0038	0,0044
<b>Rata-Rata</b> <b>±SD</b>	0,0041 ±0,0005	0,0044 ±0,0010	0,0042 ±0,0005	0,0041 ±0,0005	0,0039 ±0,0004

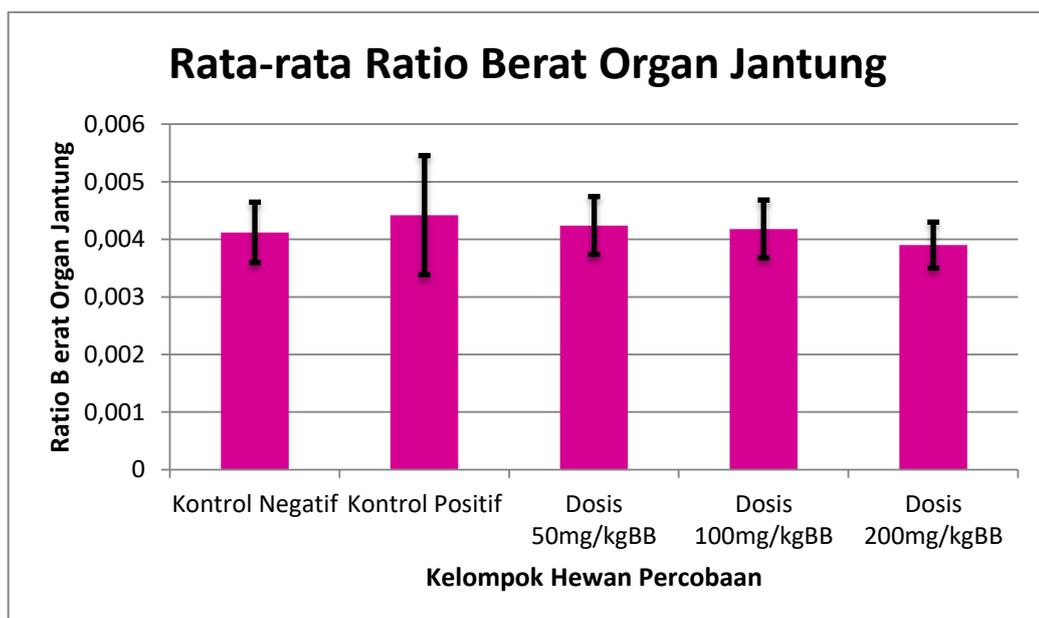
Keterangan :

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

- D1 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 50 mg/kgBB
- D2 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 100 mg/kgBB
- D3 : Ekstrak Daun Sambung Nyawa 200 mg/kgBB
- SD : Standar Deviasi

444Lampiran 7. (Lanjutan)



**Gambar 22. Hubungan Antara Kelompok Perlakuan Dengan Rasio Berat Organ Jantung**

Tabel XVII. Hasil Analisa Statistik Rasio Berat Organ Jantung (ANOVA satu arah, SPSS 16)

Descriptives

Ratio Berat Organ

Jantung

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	5	.004120	.0005263	.0002354	.003467	.004773	.0033	.0046
Kontrol Positif	5	.004420	.0010330	.0004620	.003137	.005703	.0033	.0061
Dosis 50 mg/KgBB	5	.004240	.0005030	.0002249	.003615	.004865	.0037	.0050
Dosis 100 mg/KgBB	5	.004180	.0005020	.0002245	.003557	.004803	.0035	.0046
Dosis 200 mg/KgBB	5	.003900	.0004000	.0001789	.003403	.004397	.0033	.0044
Total	25	.004172	.0006038	.0001208	.003923	.004421	.0033	.0061

Test of Homogeneity of Variances

Ratio Berat Organ Jantung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.723	4	20	.587

ANOVA

Ratio Berat Organ Jantung

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	.444	.775
Within Groups	.000	20	.000		
Total	.000	24			

Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung = 0,444 dengan signifikan 0,775 ( $>0,05$ ), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa tidak mempengaruhi rasio berat jantung secara bermakna.