Jurnal Pharmascience, Vol. 12, No. 2, Oktober 2025, hal: 542-557
ISSN-Print 2355 – 5386
ISSN-Online 2460-9560
https://dx.doi.org/10.20527/jps.v12i2.23813
Research Article

Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) dan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap Ekspresi Gen eNOS pada Jaringan Hati Tikus Obes

Agus Sulaeman, Salim Agustian, Elis Susilawati*, Soni Muhsinin, Marita Kaniawati, Marita Feliana

Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Kota Bandung, Jawa Barat, Indonesia.
Email: elis.susilawati@bku.ac.id

ABSTRAK

Obesitas adalah kondisi patologis akibat akumulasi lemak berlebih yang meningkatkan risiko gangguan metabolik, termasuk disfungsi endotel yang ditandai oleh penurunan produksi Nitric Oxide (NO) sintesis oleh enzim Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS). Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma longa L.*) dan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap kadar NO serum dan ekspresi gen eNOS pada jaringan hati tikus obesitas. Penelitian eksperimental ini menggunakan tikus jantan yang diinduksi obesitas dengan pakan tinggi lemak dan karbohidrat selama 60 hari. Tikus dibagi enam kelompok: normal (kontrol negative), obesitas (kontrol positif), pembanding orlistat 10,8 mg/kgBB, ekstrak kunyit 200 mg/kgBB, ekstrak pegagan 20 mg/kgBB, dan kombinasi kunyit-pegagan 200:100 mg/kgBB. Parameter yang diukur meliputi berat badan, kadar NO serum (metode Griess), ekspresi gen eNOS (qPCR), kadar SGOT dan SGPT. Hasil menunjukkan kombinasi ekstrak secara signifikan menurunkan berat badan dan meningkatkan kadar NO dibandingkan kelompok obesitas ($p < 0,05$), meningkatkan ekspresi gen eNOS serta secara ($p< 0,05$) signifikan menurunkan kadar SGOT dan SGPT . Penelitian ini mengindikasikan potensi kombinasi ekstrak kunyit dan pegagan sebagai agen preventif disfungsi endotel pada obesitas melalui peningkatan produksi NO dan regulasi ekspresi gen eNOS serta berperan sebagai hepatoprotektor.

Kata Kunci: Ekstrak Kunyit, Ekstrak Pegagan, Ekspresi Gen eNOS, Jaringan Hati, Obesitas

ABSTRACT

Obesity is a pathological condition caused by excessive fat accumulation that increases the risk of metabolic disorders, including endothelial dysfunction characterized by

decreased Nitric Oxide (NO) synthesis by the enzyme Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS). This study aims to evaluate the effects of a combination of ethanol extracts of turmeric rhizome (Curcuma longa L.) and gotu kola leaves (Centella asiatica (L.) Urb) on serum NO levels and eNOS gene expression in the liver tissue of obese rats. This experimental study used male rats induced to become obese with a high-fat and high-carbohydrate diet for 60 days. The rats were divided into six groups: normal (negative control), obese (positive control), orlistat 10.8 mg/kgBW, turmeric extract 200 mg/kgBW, gotu kola extract 20 mg/kgBW, and turmeric-gotu kola combination 200:100 mg/kgBW. The measured parameters included body weight, serum NO levels (Griess method), eNOS gene expression (qPCR), SGOT and SGPT levels. The results showed that the combination of extracts significantly reduced body weight and increased NO levels compared to the obesity group ($p < 0.05$), increased eNOS gene expression, and significantly ($p < 0.05$) decreased SGOT and SGPT levels. This study indicates the potential of the combination of turmeric and pegagan extracts as a preventive agent for endothelial dysfunction in obesity through the enhancement of NO production and regulation of eNOS gene expression as well as acting as a hepatoprotector.

Keywords: Turmeric Extract, Gotu Kola Extract, eNOS Gene Expression, Liver Tissue, Obesity

I. PENDAHULUAN

Obesitas merupakan kondisi penumpukan lemak berlebihan pada tubuh yang menyebabkan berat badan di atas normal. Obesitas saat ini dianggap salah satu permasalahan dunia. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2016, terdapat lebih dari 1,9 miliar orang dewasa berusia 18 tahun ke atas yang mengalami kelebihan berat badan, di mana WHO melaporkan bahwa 39 persen laki-laki dan 40 persen perempuan di kelompok usia ini mengalami kondisi Obesitas (WHO,2016).

Beberapa faktor diduga berperan dalam mekanisme obesitas, khususnya yang berkaitan dengan peningkatan resistensi perifer, seperti disfungsi endotel. Obesitas berkontribusi terhadap peningkatan resistensi perifer melalui berbagai mekanisme yang memicu disfungsi endotel, sehingga menurunkan bioavailabilitas NO (Jayaraj & Aburawi, 2025).

Disfungsi endotel ditandai dengan penurunan ekspresi dan aktivitas *enzim Nitric Oxide Synthase Endotel* (eNOS), yang berperan dalam sintesis Nitrogen Monoksida (NO). Suatu molekul yang berperan penting dalam mengatur tonus vaskular, menjaga integritas endotel, serta mencegah aktivasi dan agregasi trombosit. Nitric oxide yang dihasilkan oleh eNOS bertindak sebagai vasodilator utama dan memiliki sifat vasoprotektif (Asker *et al.* 2024). Penurunan ekspresi gen eNOS pada sel endotel sering terkait dengan berbagai faktor risiko, termasuk hipertensi, diabetes, dan obesitas. Dalam kondisi ini, stres oksidatif cenderung meningkat, yang

dapat mengurangi ketersediaan NO dan menyebabkan kerusakan lebih lanjut pada sel endotel. Penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat menghambat sintesis eNOS, mengakibatkan penurunan produksi NO, yang pada akhirnya berkontribusi pada disfungsi endotel (Maseeh *et al.*, 2023). Selain itu, peradangan yang diinduksi oleh faktor-faktor risiko ini juga dapat menyebabkan penurunan ekspresi gen eNOS, yang semakin memperburuk keadaan disfungsi endotel (Sharma *et al.*, 2024).

Selain ekspresi gen eNOS dan kadar NO, parameter fungsi hati berupa enzim SGPT *(Serum Glutamic Pyruvic Transaminase)* dan SGOT *(Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase)* juga dapat dijadikan indikator kerusakan hepatosit yang sering menyertai disfungsi endotel pada obesitas. Peningkatan SGPT dan SGOT pada obesitas dan sindrom metabolik berhubungan dengan akumulasi lemak hepatik, stres oksidatif, dan inflamasi kronis. Kondisi ini sejalan dengan mekanisme pada *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)*, yang ditandai oleh peningkatan ALT, AST, dan GGT (Raya-Cano *et al.,* 2023). Mekanisme ini berhubungan erat dengan disfungsi endotel, karena stres oksidatif menekan ekspresi gen *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS), sehingga mengurangi ketersediaan nitric oxide (NO) (Cyr *et al.*, 2020).

Kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan tanaman herbal yang mengandung bahan aktif kurkumin yang berkhasiat sebagai penambah nafsu makan dan antibakteri terutama pada saluran pencernaan. Pada masyarakat penggunaannya dapat diekstrak maupun berupa jamu seduhan (Rahman *et al.*, 2018).

Kurkumin mempunyai berbagai manfaat untuk kesehatan, antara lain untuk melawan obesitas (Putra *et al.,* 2023). Selain tanaman kunyit, pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) juga diketahui memiliki potensi untuk mengatasi obesitas, pegagan telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Asiatikosida yang merupakan kandungan utama pegagan juga memiliki aktivitas hipertensi dengan memperbaiki disfungsi endotel (Wang *et al.* 2018).

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis ingin melakukan penelitian mengenai efek kombinasi ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) dan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap ekspresi gen eNOS pada jaringan hati tikus obesitas.

II. METODE

Penelitian dilakukan di Hewan pada penelitian ini menggunakan tikus galur wistar jantan yang semua prosedurnya sudah disetujui oleh Komisi

Etik Penelitian Universitas Padjajaran dengan Nomor Surat : 426/UN6.KEP/EC/2025.

A. Bahan

Ekstrak rimpang kunyit dan daun pegagan yang digunakan adalah ekstrak yang telah dilakukan karakterisasi sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia baik kadar abu total maupun kadar abu tidak larut asam. Bahan yang digunakan dalam pembuatan pakan tinggi lemak dan karbohidrat adalah tepung jagung, tepung ikan, tepung kacang hijau, tepung terigu ,tepung beras, minyak sayur dan lemak sapi. Timbang semua bahan dan mencampurkannya menjadi satu olahan, digiling memanjang dan dipanggang menggunakan oven selama kurang waktu 15 menit hingga matang merata.

B. Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus jantan putih sebanyak 36 ekor. Hewan tikus diaklimatisasi selama 1 minggu dalam kandang hewan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana, kemudian tikus diinduksi dengan pemberian pakan tinggi lemak dan karbohidrat beserta sampel zat uji untuk meningkatkan obesitas pada tikus uji. Hewan tikus diberikan perlakuan selama 60 hari. Hewan tikus dibagi menjadi 6 kelompok perlakukan seperti pada Tabel II.

Tabel I. Pakan Normal dan Induksi

NO	Komposisi	Pakan Normal (%)	Pakan tinggi lemak dan karbohidrat (%)
1	Tepung jagung	251,1	204
2	Tepung ikan	185,5	130
3	Tepung kacang hijau	166	114
4	Tepung terigu	377	172
5	Tepung beras	-	189
6	Minyak sayur	20	20
7	Lemak sapi	-	120

Tabel II. Kelompok Hewan

Kelompok	Perlakuan
Normal	Pakan Normal
Induksi	Pakan Induksi
Pembanding (Orlistat)	Pakan Induksi + Orlistat 10,8 mg/BBkg
ERK 200 mg	Pakan Induksi + Konsentrasi Ekstrak daun Pegagan 200mg/kgBB
EDP 200 mg	Pakan Induksi + Konsentrasi Rimpang Kunyit 200 mg/kgBB
ERKDP 200/100 mg	Pakan Induksi + Konsentrasi Ekstrak Daun Pegagan 100mg/kgBB dan Rimpang Kunyit 200mg/kgBB

C. Pembuatan Pereaksi Griess

Pereaksi Griess disiapkan dengan mencampur larutan I dan larutan II secara berimbang (perbandingan 50 : 50) dalam botol berwarna coklat. Larutan I dibuat dengan melarutkan 0,5 g asam sulfanilat dalam 150 mL asam asetat 30 % v/v. Larutan II disiapkan dengan melarutkan 0,1 g naftil-etilendiamin dalam 20 mL air demineralisasi (aqua bidestilata) hingga larut, kemudian larutan panas tersebut dituang ke dalam 150 mL asam asetat glasial (Emawati *et al.*, 2017).

D. Pengukuran Kadar *Nitric Oxide* (NO)

Pengukuran kadar NO dilakukan pada sampel darah yang diambil pada hari ke-61 dari semua kelompok hewan. Sampel darah kemudian disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serum. Serum sebanyak 400 µL di deproteinasi dengan 80 µL $ZnSO_4$ 6 %, kemudian disentrifugasi kembali. Supernatan yang diperoleh direaksikan dengan 80 µL kadmium 6 % selama 15 menit; selanjutnya 380 µL larutan tersebut ditambahkan 1,5 mL reagen Griess dan diinkubasi selama 1 jam. Kadar NO diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 535 nm.

E. Pengukuran enzim SGOT *(Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase)*

Pengukuran enzim SGOT *(Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase)* menggunakan metode kinetik enzimatik dan spektrofotometri untuk mengukur konsentrasi enzim dalam darah. Pereaksi yang digunakan merek Reiged dengan no catalog SGOT RD-GOT250.

F. Pengukuran enzim SGPT *(Serum Glutamic Pyruvic Transaminase)*

Pengukuran enzim SGPT *(Serum Glutamic Pyruvic Transaminase)* menggunakan metode kinetik enzimatik dan spektrofotometri untuk mengukur konsentrasi enzim dalam darah. Pereaksi yang digunakan merek Reiged dengan no catalog SGPT RD-GPT450.

G. Pengukuran Ekspresi Gen eNOS

Ekspresi gen *eNOS* diukur dengan metode semi-kuantitatif polymerase chain reaction (qPCR). Tahapan yang dilakukan meliputi penyiapan organ hati, isolasi RNA, sintesis cDNA, amplifikasi DNA, karakterisasi PCR dengan elektroforesis, dan analisis semi-kuantitatif. Setelah tikus dibedah, hati diambil, dibersihkan berulang-ulang dengan NaCl fisiologis hingga bersih, kemudian dikeringkan dengan kertas saring untuk menghilangkan kontaminasi darah; selanjutnya hati ditambahkan nitrogen cair dan digerus

selama beberapa detik hingga menjadi halus.

1. Isolasi RNA

Jaringan hati yang telah dipersiapkan selanjutnya diisolasi RNA sesuai protokol *SV Total RNA Isolation System*. Untuk sampel jaringan besar (≥ 30 mg), tambahkan 1 mL RNA Lysis Buffer (dengan BME) ke tabung, timbang, lalu masukkan jaringan secara cepat; homogenkan pada kecepatan tinggi hingga tidak ada fragmen tersisa. Hitung kembali massa jaringan; rasio massa jaringan terhadap RNA Lysis Buffer harus sekitar 1,71 mg/µL. Ambil 175 µL lisat jaringan dan pindahkan ke tabung sentrifugal 1,5 mL; sisanya beku pada –20 °C atau –70 °C. Tambahkan 350 µL RNA Dilution Buffer, balik 3–4 kali, kemudian inkubasi pada blok pemanas (alat PCR) pada 70 °C selama 3 menit (inkubasi lebih lama dapat merusak integritas RNA). Sentrifugasi 10 menit pada 14.000 rpm.

Purifikasi dengan metode spin :

a. Tambahkan 200 µL etanol absolut ke 500 µL lisat jaringan hati, pipet 3–4 kali untuk homogenisasi, lalu transfer ke *Spin Column Assembly* (spin basket + collection tube). Sentrifugasi 1 menit pada 14 000 rpm, buang cairan limbah.
b. Pasang kembali spin basket, tambahkan 600 µL RNA Wash Solution, sentrifugasi 1 menit pada 14 000 rpm, buang cairan limbah.
c. Tambahkan 250 µL RNA Wash Solution, sentrifugasi 2 menit untuk memastikan RNA bersih.
d. Lepaskan spin basket, letakkan di tabung elusi, tambahkan 100 µL Nuclease-Free Water, sentrifugasi 1 menit untuk melarutkan RNA ke dalam tabung elusi. Buang spin basket, tutup tabung elusi, dan simpan RNA pada –70 °C untuk menjaga kualitasnya.

Tabel III. Campuran DNase

Komponen	**1 reaksi**
Yellow core buffer	40µl
0,09 M MnCl2	5µl
Enzime Dase 1	5µl

2. Sintesis cDNA

Sintesis cDNA dilakukan dengan protokol *GoScript™ Reverse Transcription System*. Pada tahap First-Strand cDNA Synthesis, total RNA direaksikan menjadi untai pertama cDNA. Komponen-komponen (lihat tabel campuran primer sintesis cDNA) dicampur dalam tabung PCR, kemudian disentrifugasi. Tabung diletakkan pada blok pemanas (alat PCR) pada suhu 70 °C selama 5 menit, selanjutnya didinginkan di atas es selama 5 menit dan disentrifugasi kembali selama 10 detik.

Tabel IV. Campuran Primer Sintesis cDNA

Komponen	1 reaksi
Primer random	0,2µl
Primer oligo	0,2µl
Nuclease-Free Water	2,6µl
RNA sampel	0,2µl

Siapkan campuran reaksi reverse transcriptase (sesuai tabel campuran reverse transcriptase) dalam tabung mikrosentrifugasi di atas es. Tambahkan 15 µL alikuit campuran reverse transcriptase ke dalam 5 µL campuran primer cDNA sehingga volume akhir menjadi 20 µL per tabung. Lakukan tahapan anil dengan menempatkan tabung pada suhu 25 °C selama 5 menit, kemudian tahap perpanjangan pada suhu 42 °C selama 1 jam.

Tabel V. Campuan Reverse Transcriptase

Komponen	1 reaksi
Nuclease-Free Water	15 µl
GoScript™5× reaction buffer	4 µl
$MgCl_2$	1,6 µl
PCR Nucleotide Mix	0,5 µl
Recombinanr Rnasin®	0,5 µl
GoScript™ Reverase Transcriptase	1 µl

3. Amplikasi DNA

PCR dilakukan dengan mencampurkan komponen (Tabel VI), kemudian tabung PCR dimasukkan ke blok pemanas untuk amplifikasi. *Thermocycling* meliputi 35 siklus: denaturasi awal 95°C selama 2 menit; denaturasi tiap siklus 95°C selama 30 detik; annealing 57°C selama 30 detik; dan ekstensi 72°C selama 30 detik, diikuti ekstensi akhir 72°C selama 5 menit. Produk amplifikasi selanjutnya disimpan pada 4°C.

Tabel VI. PCR Mix

Komponen	1 reaksi
GoTaq Green Mix	12,5 µl
Primer eNOS/iNOS Forward	2,5 µl
Primer eNOS/iNOS Reverse	2,5 µl
Nuclease-Free Water	2,5 µl
DNA Template	2 µl
Volume akhir	2,5 µl

4. Karakterisasi PCR dengan Elektroforesis dan Analisis Semi Kuantitatif

Hasil amplifikasi (amplicon) dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa 1,5% (TBE) yang ditambahkan 0,5 µL pewarna Diamond; 5 µL amplicon dicampur 1 µL loading dye, dimuat bersama ladder 100 bp, dan dijalankan 30 menit pada 100 V. Gel dipindai di bawah sinar UV planar, direkam menggunakan kamera (ISO 3200, fokus 37 mm, aperture F), kemudian dianalisis dengan Image Edge Mobile; nilai Area Under Curve (AUC) dihitung lewat perangkat lunak Image untuk menilai intensitas serta ketebalan pita, yang mencerminkan total ekspresi gen dan integritas DNA (Aligita *et al.,* 2020).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini untuk melihat efek kombinasi ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.*)* dan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap ekspresi gen eNOS pada jaringan hati tikus obesitas.

Berdasarkan percobaan in-vivo pada tikus yang diinduksi pakan tinggi lemak, perubahan berat badan tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel VII. Kelompok kontrol negatif (normal) menunjukkan peningkatan berat badan sebesar 11,73 %. Kelompok induksi (high-fat diet) mengalami kenaikan terbesar 30,70 %, menandakan akumulasi lemak yang signifikan (α).

Kelompok Orlistat menurunkan berat badan -12,10 %, berbeda secara signifikan dengan kelompok induksi (α) dan normal (*). Ekstrak kunyit (200 mg/kg BB) menurunkan berat badan -6,09 % (signifikan dibanding induksi, α) namun tidak berbeda dengan kontrol normal. Ekstrak pegagan (200 mg/kg BB) menurunkan -6,90 %, juga signifikan terhadap induksi (α) tetapi tidak berbeda dengan kontrol normal maupun Orlistat.

Kombinasi ekstrak kunyit + pegagan (200/100 mg/kg BB) menurunkan berat badan -10,14 %, menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol normal (*) dan induksi (α) serta signifikan bila dibandingkan Orlistat (β). Penurunan ini dapat dijelaskan oleh kandungan kurkumin (kunyit) dan asiaticoside (pegagan) yang memiliki aktivitas anti-obesitas, anti-inflamasi, dan anti-oksidan, memperbaiki metabolisme lipid, menghambat adipogenesis, serta meningkatkan lipolisis (Kaniawati *et al*., 2024). Selanjutnya, pengukuran kadar NO diukur dengan menggunakan metode Griess hasil dapat dilihat pada Tabel VIII.

Pada hasil penelitian ini, kelompok induksi menunjukkan penurunan kadar NO yang bermakna dibandingkan kelompok normal (*), mengindikasikan bahwa paparan agen obesogen berhasil memicu disfungsi homeostasis dan meningkatkan stres oksidatif. Penurunan ini memperlihatkan adanya penurunan produksi atau bioavailabilitas NO, yang selaras dengan tanda-tanda disfungsi endotel yang umum terjadi dalam kondisi inflamasi kronis, seperti obesitas (Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023). Sebaliknya, kelompok yang menerima perlakuan orlistat, ekstrak kunyit, maupun pegagan secara terpisah mengalami peningkatan kadar NO yang signifikan dibanding kelompok induksi (α). Hal ini mencerminkan adanya perbaikan terhadap gangguan redoks tubuh. Orlistat diketahui dapat menurunkan stres metabolik, sedangkan senyawa aktif seperti kurkumin dalam kunyit dan triterpenoid (misalnya asiatikosida) dalam pegagan memiliki

aktivitas dan anti-inflamasi yang berperan dalam peningkatan kadar NO (Handayani *et al.*, 2023).

Efek paling menonjol terlihat pada kelompok kombinasi kunyit dan pegagan (ERKDP), di mana kadar NO meningkat secara signifikan dan memiliki perbedaan bermakna dibandingkan kelompok normal (*), induksi (α), dan orlistat (β).Hasil ini menunjukkan adanya potensi antara kunyit dan pegagan yang saling melengkapi dalam menurunkan stres oksidatif dan mengembalikan produksi NO ke arah normal.

Tabel VII. Berat Badan Tikus

Rata-rata bobot badan (gram± SD)			
Kelompok	**H0**	**H60**	**% kenaikan**
Normal	220,3 ± 12,26	244,3 ± 11,93 $^{\beta}$	11,73± 2,34
Induksi	204,3 ± 8,95	266,8 ± 8,30 $^{\beta}$	30,70± 4,86
Orlistat	229,8 ± 19,81	200,3 ± 16,82 *$^{\alpha}$	-12,10 ± 2,00
ERK 200 mg	211,8 ± 35,20	198,3 ± 28,00 $^{\alpha}$	-6,09 ± 2,35
EDP 200 mg	220,7± 24,69	205,5 ± 22,84 $^{\alpha}$	-6,90 ± 0,17
ERKDP 200/100	199,7 ± 5,12	179,5 ± 4,80 *$^{\alpha}$	-10,14 ± 0,57

Keterangan : ERK : Ekstrak rimpang kunyit; EDP : Ekstrak daun pegagan; ERKDP : Ekstrak rimpang kunyit daun pegagan; * Ada perbedaan signifikan dengan normal ($p < 0,05$); α Ada perbedaan signifikan dengan induksi ($p < 0,05$); β Ada perbedaan signifikan dengan orlistat ($p < 0,05$)

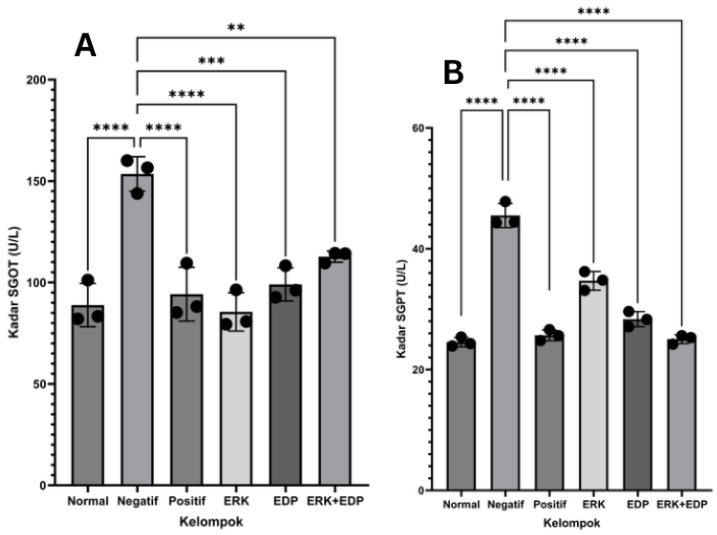
Tabel VIII. Pengukuran Kadar NO Serum

Kelompok	**Nitrit Oxide (µmol/L) ± SD H60**
Normal	189,53± 3,39 α
Induksi	45,60± 1,03 *β
Orlistat	142,68 ± 15,99 α
ERK 200 mg	89.36± 1,40 *αβ
EDP 200 mg	64,04± 2,32 *αβ
ERKDP 200/100	167,42± 17,68 α

Keterangan :
ERK : Ekstrak rimpang kunyit
EDP : Ekstrak daun pegagan
ERKDP : Ekstrak rimpang kunyit daun pegagan
* Ada perbedaan signifikan dengan normal (enz 0.05)
α Ada perbedaan signifikan dengan induksi ($p < 0,05$)
β Ada perbedaan signifikan dengan orlistat ($p < 0,05$)

Kombinasi ekstrak kunyit dan pegagan tidak hanya memperbaiki kerusakan endotel, tetapi juga mempercepat pemulihan sistem vaskular dan regulasi NO. Hal ini menandakan potensi penggunaan kombinasi tanaman obat herbal dalam menangani gangguan yang berkaitan dengan stres oksidatif.

Pengukuran kadar enzim SGOT dan SGPT dilakukan untuk mengevaluasi adanya kerusakan hati akibat induksi pakan tinggi lemak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar SGOT dan SGPT meningkat signifikan pada kelompok obesitas dibandingkan kelompok normal, menandakan adanya gangguan fungsi hati.



Gambar 1. Biomarker darah tikus setelah perlakuan selama 60 hari. Pemeriksaan biomarker darah tikus dilakukan untuk menilai fungsi metabolic hati. (A) SGOT, (B) SGPT. Normal = Kontrol normal; Negatif = Induksi pakan tinggi lemak; Positif = Orlistat (10,8 mg/kgBB); ERK = Ekstrak etanol kunyit (200 mg/kgBB); EDP = Ekstrak etanol pegagan (200 mg/kgBB); ERK+EDP = Kombinasi ekstrak etanol kunyit dan pegagan (200 + 100 mg/kgBB). Data ditampilkan sebagai mean ± SD (n = 3). Analisis statistik menggunakan One-Way ANOVA diikuti uji post hoc Tukey; *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, dan ****p < 0,0001, dan ns = tidak signifikan.

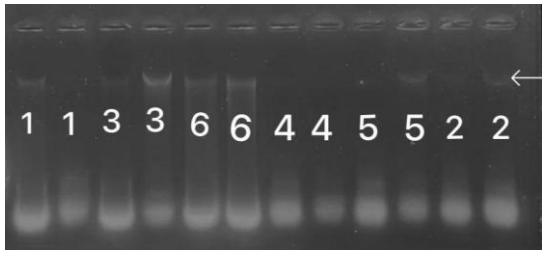
Gambar 1 Nilai SGOT dan SGPT menunjukkan adanya peningkatan signifikan kadar SGPT dan SGOT pada kelompok induksi (45,50 U/L dan 153,53 U/L) dibandingkan kelompok normal (24,53 U/L dan 88,87 U/L). Peningkatan ini menandakan adanya kerusakan hepatosit pada kondisi obesitas. Peningkatan transaminase hati ini sejalan dengan penurunan ekspresi gen eNOS dan kadar NO serum yang diamati pada kelompok obesitas, mengindikasikan bahwa disfungsi endotel turut berkontribusi terhadap kerusakan hati. Inflamasi hati dan stres oksidatif adalah pemicu utama disfungsi endotel, yang meningkatkan resistensi intrahepatik, mempercepat kerusakan jaringan hati, serta memperburuk komplikasi sirosis (Vairappan, B. 2015).

Pemberian ekstrak kunyit dan pegagan, baik secara tunggal maupun kombinasi, menurunkan kadar SGPT dan SGOT dibandingkan kelompok induksi. Efek penurunan paling baik diperlihatkan oleh kelompok kombinasi (25,03 U/L dan 112,73 U/L), mendekati kelompok normal. Hasil ini konsisten dengan peningkatan ekspresi gen eNOS dan kadar NO serum pada kelompok yang sama, yang menunjukkan bahwa perbaikan fungsi endotel turut mendukung pemulihan hepatosit. Regulasi eNOS oleh kinase AMP-activated protein kinase (AMPK), serine/threonine protein kinase (Akt), dan

protein kinase A (PKA), serta beberapa konsekuensi metabolik yang dihasilkan dari modulasi eNOS oleh sinyal-sinyal tersebut. Sebagai respons terhadap rangsangan eksternal dan internal, eNOS diaktifkan oleh kinase AMPK, Akt, dan PKA pada situs fosforilasi utama – S1177 dan S615. Kinase ini juga dapat mengalami penurunan regulasi selama obesitas. Setelah aktivasi eNOS, nitric oxide (NO) diproduksi sebagai produk sampingan selama konversi L-arginin menjadi L-sitrulin. Aktivasi AMPK mengakibatkan penurunan lipogenesis de novo dan peningkatan oksidasi asam lemak serta biogenesis mitokondria sehingga mengurangi akumulasi trigliserida di hati pada obesitas. Penururnan akumulasi trigilserida dapat menurunkan pembengkakan sel hati sehingga dapat menurunkan kadar enzim SGOT dan SGPT (Cunningham, R. 2020)

Ekspresi gen eNOS diukur menggunakan metode quantitative PCR (qPCR) dengan tahapan isolasi RNA total dari jaringan, sintesis cDNA, dan amplifikasi target gen untuk mengevaluasi tingkat transkripsi eNOS secara kuantitatif.

Proses sintesis cDNA dilakukan untuk mengubah RNA total hasil isolasi dari jaringan hati tikus uji coba menjadi bentuk DNA komplementer (cDNA) yang dapat digunakan untuk analisis ekspresi gen berbasis qPCR. Keberhasilan sintesis cDNA divalidasi melalui visualisasi hasil amplifikasi awal gen target menggunakan teknik PCR konvensional dan elektroforesis gel agarosa (Aligita *et al.*, 2020).



Gambar 2 .Hasil visualisasi elektroforesis gen eNOS
Keterangan : Kelompok (1, Normal), (2, Induksi) ,(3 Orlistat), (4 Kunyit Tunggal), (5 Pegagan Tunggal), (6 Kombinasi)

Hasil elektroforesis memperlihatkan bahwa seluruh kelompok (1) Normal, (2) Induksi, (3) Orlistat, (4) Kunyit Tunggal, (5) Pegagan Tunggal, dan (6) Kombinasi Kunyit + Pegagan menghasilkan pita RNA yang cukup jelas. Pita-pita tersebut muncul pada posisi yang telah ditandai sejajar dengan ketebalan yang relatif konsisten antar duplo, menandakan bahwa isolasi RNA dilakukan secara konsisten dan berhasil di setiap kelompok.

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa seluruh kelompok, yaitu (1) Normal, (2) Induksi, (3) Orlistat, (4) Kunyit Tunggal, (5) Pegagan Tunggal, dan (6) Kombinasi Kunyit + Pegagan, menghasilkan pita DNA yang cukup konsisten antar duplo. Pita-pita tersebut muncul sejajar pada posisi yang sesuai

dengan ukuran target gen, menandakan bahwa sintesis cDNA telah berhasil dilakukan dan dapat digunakan untuk tahapan analisis ekspresi gen selanjutnya.

Kelompok kombinasi kunyit dan pegagan (6), yang berfungsi sebagai kelompok pembanding terhadap Orlistat, juga menunjukkan keberhasilan sintesis cDNA yang sebanding dari segi kualitas dengan kelompok terapi standar. Hal ini memperkuat bahwa tahapan sintesis cDNA pada seluruh kelompok dilakukan secara optimal, sehingga data yang dihasilkan layak digunakan untuk studi ekspresi gen atau RT-PCR. Jika RNA mengalami degradasi, hasil ekspresi gen yang diperoleh akan bias dan tidak dapat dipercaya (Aligita *et al.*, 2020).

Untuk memastikan kualitas dan kelayakan cDNA sebagai template dalam reaksi qPCR, dilakukan analisis kuantitas dengan mengukur konsentrasi cDNA hasil transkripsi balik dari RNA total. Pengukuran dilakukan secara duplo menggunakan spektrofotometer microvolume. Data ini bertujuan untuk mengevaluasi apakah seluruh sampel memiliki konsentrasi cDNA yang seragam dan sesuai dengan standar untuk analisis ekspresi gen lebih lanjut.

Konsentrasi cDNA dari masing-masing sampel hati berdasarkan hasil pengukuran duplo. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer mikro volume untuk menentukan konsentrasi cDNA (dalam µg/mL) dari enam kelompok sampel, yaitu hati normal, hati induksi, hati dengan perlakuan orlistat, hati ekstrak kunyit, hati ekstrak pegagan, dan hati ekstrak kombinasi.

Tabel IX. Konsentrasi cDNA

		Konsentrasi (µg/mL)	
NO	Kelompok	Sampel 1	Sampel 2
1	Hati normal	1,611	1,623
2	Hati induksi	1,429	1,705
3	Hati orlistat	1,546	1,672
4	Hati ERK	1,411	1,261
5	Hati EDP	1,787	1,927
6	Hati ERKDP	1,984	1,933

Keterangan :
ERK : Ekstrak rimpang kunyit
EDP : Ekstrak daun pegagan
ERKDP : Ekstrak rimpang kunyit daun pegagan

Pengukuran konsentrasi cDNA dilakukan untuk memastikan jumlah asam nukleat hasil transkripsi balik dari RNA cukup dan layak untuk digunakan dalam proses qPCR. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa semua sampel memiliki konsentrasi cDNA yang berada dalam kisaran 1,2–1,9 µg/mL, yang secara umum dianggap memadai untuk keperluan reaksi PCR kuantitatif (Luluk R *et al.*, 2021).

Nilai konsentrasi dari masing-masing sampel hasil pengukuran duplo relatif konsisten, yang mencerminkan kualitas ekstraksi RNA yang baik dan efisiensi proses *reverse transcription*. Sebagai contoh, konsentrasi cDNA dari

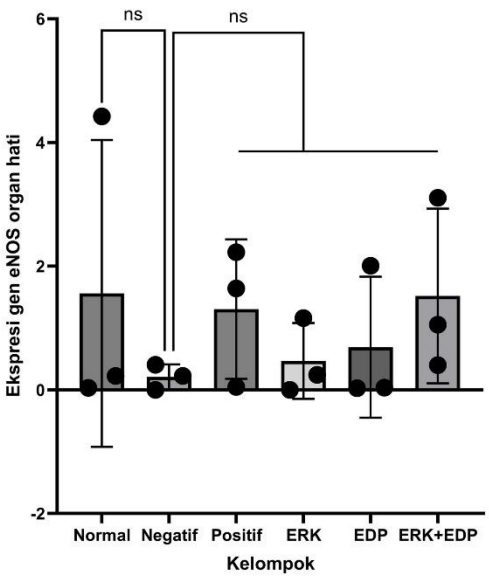
sampel hati normal adalah 1,611 dan 1,623 µg/mL, sementara pada sampel hati ekstrak kombinasi tercatat sebagai salah satu yang tertinggi, yaitu 1,984 dan 1,933 µg/mL. Konsentrasi ini memberikan indikasi awal bahwa hasil isolasi RNA maupun proses sintesis cDNA berjalan optimal.

Dalam praktik standar, konsentrasi cDNA yang dibutuhkan untuk qPCR biasanya berada dalam rentang 1–100 ng/µL tergantung pada sensitivitas deteksi dan target gen yang diuji. Oleh karena itu, hasil ini juga mengindikasikan bahwa cDNA yang diperoleh sudah sesuai dengan standar umum kuantifikasi, dan siap digunakan untuk tahap amplifikasi pada qPCR.

Representasi dari ekspresi relatif eNOS di jaringan hati tikus pada berbagai kelompok perlakuan yang ditampilkan pada Gambar 3.

Kelompok Kunyit *(Curcuma longa* L.) memperlihatkan ekspresi sedang (0,70), menunjukkan adanya efek antioksidan dan antiinflamasi dari kurkumin terhadap peningkatan eNOS.

Kelompok Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) menunjukan nilai sebesar 0,69. Hal ini diduga karena kandungan triterpenoid seperti asiaticoside yang mampu merangsang ekspresi eNOS dan produksi *nitric oxide* (NO), sehingga mengandung perbaikan fungsi endotel vaskular.



Gambar 3. Ekspresi gen eNOS di organ hati tikus pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok Kombinasi (Kunyit + Pegagan) menunjukkan peningkatan ekspresi eNOS (1,51) melebihi Kelompok Orlistat, yang mengindikasikan adanya efek sinergis dalam meningkatkan ekspresi eNOS secara signifikan.

Curcumin, senyawa bioaktif utama dari *Curcuma longa L.*, telah banyak dilaporkan berinteraksi dengan berbagai jalur molekuler yang berperan dalam menjaga fungsi endotel. Artikel ini menjelaskan bahwa kurkumin dapat menargetkan beberapa sinyal kunci pada sel endotel, termasuk jalur NF-κB/PI3K/Akt dan regulasi enzim NO synthase, sehingga mendukung peningkatan bioavailabilitas nitric oxide serta menekan aktivitas inflamasi dan stres oksidatif yang berkontribusi pada kerusakan endotel (Tang *et al.*, 2023).

Sementara pegagan diketahui meningkatkan aktivitas antioksidan karena kandungan flavonoid dan polifenolnya (Yulianti *et al.*, 2019). Kombinasi keduanya tampak memberi efek aditif atau sinergis terhadap aktivasi ekspresi eNOS.

Gen eNOS *(endothelial nitric oxide synthase*) memainkan peran penting dalam produksi *nitric oxide* (NO), yaitu molekul vasodilator utama yang mengatur tekanan darah dan respons inflamasi (Cyr *et al.*, 2020). Penurunan ekspresi eNOS sering ditemukan pada kondisi obesitas dan resistensi insulin, serta menjadi biomarker disfungsi endotel.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengukuran kadar NO didapatkan bahwa Kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan daun pegagan memiliki efek paling optimal untuk meningkatkan kadar NO pada tikus obesitas. Sedangkan, pada sediaan tunggal kunyit memiliki efek paling baik dibanding pegagan namun tidak sebaik efek kombinasi. Sejalan dengan hasil tersebut, analisis ekspresi gen eNOS menggunakan metode PCR dihasilkan bahwa kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan daun pegagan dapat meningkatkan ekspresi gen eNOS secara lebih signifikan dibandingkan kelompok perlakuan tunggal.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Bhakti Kencana dan tidak ada konflik kepentingan dari siapapun.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima Kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Bhakti Kencana.

DAFTAR PUSTAKA

Aligita, W., Muhsinin, S., Wijaya, K. T., Artarini, A., & Adnyana, I. K. (2020). Effect of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) fruit extract in improving insulin sensitivity by modifying glucose-regulating gene expression. *Rasayan Journal of Chemistry*, *13*(1), 739–746. https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1315555

Asker, M. H., Emad, N. A.-M., & Fadhil, O. A. (2024). Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and physiology cardiovascular system. *The Pharma Innovation Journal, 13*(9), 203–211. https://doi.org/10.22271/tpi.2024.v13.i9c.25863

Cunningham, R. P., Sheldon, R. D., & Rector, R. S. (2020). The emerging role of hepatocellular eNOS in non-alcoholic fatty liver disease development. *Frontiers in Physiology, 11*, 767. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00767

Cyr, A. R., Huckaby, L. V., Shiva, S. S., & Zuckerbraun, B. S. (2020). *Nitric oxide and endothelial dysfunction*. *Critical Care Clinics*, 36(2), 307-

321. https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.12.009

Emawati, S. I., Mustika, A., & Tursino, T. (2017). Analisis kandungan nitrat dan nitrit dalam air minum isi ulang dengan pereaksi Griess menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy), 3*(1), 26–33. https://journal.bku.ac.id/jfg/index.php/jfg/article/view/83

Handayani, D., Halimatushadyah, E., & Krismayadi, K. (2023). Standarisasi Mutu Simplisia Rimpang Kunyit Dan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa Linn*). *Pharmacy Genius*, *2*(1), 43–59. https://doi.org/10.56359/pharmgen.v2i1.173

Janaszak-Jasiecka, A., Płoska, A., Wierońska, J. M., Dobrucki, L. W., & Kalinowski, L. (2023). Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: Molecular mechanisms as potential therapeutic targets. *Cellular & Molecular Biology Letters, 28*(1), 21. https://doi.org/10.1186/s11658-023-00423-2

Jayaraj, R. L., & Aburawi, E. H. (2025). Mechanistic relationship between obesity-induced inflammation triggering endothelial dysfunction and the initiation of atherosclerosis development. *Heart, Vessels and Transplantation, 9*. https://doi.org/10.24969/hvt.2024.542

Kaniawati, M., Mulyani, Y., & Kurniasih, E. (2024). Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (Curcuma domestica Val.) dan Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urb.). *Bakti Tunas Husada Conference Series, 4,* 1–6. https://ejurnal.universitas-bth.ac.id/index.php/conference/article/view/1493

Luluk Rahmania, Y., Winarni Agustini, T., Suzery, M., Ni, A., Albaari, matullah, & Kajian Halal, P. (2021). Pengukuran Kandungan Dna Babi Dalam Berbagai Produk Pangan Dengan Metode Real Time-Polymerase Chain Reaction (Rt-Pcr). *Indonesian Journal of Halal*, *3*(2), 129-133. https://doi.org/10.14710/halal.v3i2.10276

Maseeh, A., Paskaleva, A., & Rajendran, P. (2023). Endothelial dysfunction and its role in cardiovascular diseases: New insights. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 28(1), 25-36. https://doi.org/10.1177/10742484221080999

Putra, H. M., Nurfazri, A., & Safitri, S. (2023). Aktivitas Antidislipidemia Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urb) Pada Tikus Wistar Jantan Obesitas Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak Dan Karbohidrat. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, *8*(2), 155–165. https://doi.org/10.36387/jiis.v8i2.1076

Rahman, A. A., Yulia, N., & Kosasih, E. D. (2018). Optimalisasi pemanfaatan kunyit dalam peningkatan status kesehatan dan kemandirian ekonomi masyarakat Kelurahan Kahuripan Kota Tasikmalaya. *Journal of Character Education Society, 1*(1), 82–88. https://doi.org/10.31764/jces.v1i1.158

Raya-Cano, E., Molina-Luque, R., Vaquero-Abellán, M., Molina-Recio, G., Jiménez-Mérida, R., & Romero-Saldaña, M. (2023).

Metabolic syndrome and transaminases: systematic review and meta-analysis. *Diabetology & Metabolic Syndrome, 15*(1), 220. https://doi.org/10.1186/s13098-023-01200-z

Sharma, R., Gupta, S., & Kumar, A. (2024). The role of eNOS in endothelial function: Pathophysiology and therapeutic strategies. *Current Vascular Pharmacology*, *22*(3), 225-240. https://doi.org/10.2174/1570161119666200313120713

Tang, F., Liu, D., Zhang, L., Xu, L.-Y., Zhang, J.-N., Zhao, X.-L., Ao, H., & Peng, C. (2023). Targeting endothelial cells with golden spice curcumin: A promising therapy for cardiometabolic multimorbidity. *Pharmacological Research, 197*, 106953. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106953

Vairappan, B. (2015). Endothelial dysfunction in cirrhosis: Role of inflammation and oxidative stress. *World Journal of Hepatology, 7*(3), 443–459. https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i3.443

Wang, X., Cai, X., Wang, W., Jin, Y., Chen, M., Huang, X., Zhu, X., & Wang, L. (2018). Effect of asiaticoside on endothelial cells in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Molecular Medicine Reports, 17*(2), 2893–2900. https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8254

WHO. *(2016). Obesity and overweight.* Retrieved from https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

Yulianti, D., Sunyoto, M., & Wulandari, E. (2019). Aktivitas antioksidan daun pegagan (Centella asiatica L. Urban) dan bunga krisan (Chrysanthemum sp.) pada tiga variasi suhu pengeringan. *Pasundan Food Technology Journal, 6*(3), 142–147. https://doi.org/10.23969/pftj.v6i3.1215