



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506



Toksistas Akut dan Efek Penurunan Tekanan Darah Formula Daun Mangga arumanis (*Mangifera indica* L.), Lemon (*Citrus limon*) dan Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.)

Lusi Agus Setiani*, Nina Herlina, Sonia Widya Sopyan, Tia Amalia Berlian

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, Bogor, Indonesia

*E-mail : lusi.setiani@unpak.ac.id

(Submit 03/11/2024, Revisi 25/11/2024, Diterima 06/12/2024, Terbit 18/12/2024)

Abstrak

Daun mangga arumanis, lemon dan buah cabe jawa adalah tanaman lokal Indonesia yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat serta memiliki potensi sebagai agen penurun tekanan darah. Namun, potensi ini perlu didukung oleh bukti ilmiah yang mencakup uji keamanan dan efektivitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek antihipertensi dan toksistas akut dari campuran daun mangga arumanis, lemon dan cabe jawa (MLC). Tikus diinduksi hipertensi selama 21 hari menggunakan prednison (1,5 mg/kgBB) dan natrium klorida (2%). Hewan dikelompokkan menjadi tujuh kelompok: kontrol normal, kontrol negatif (Na CMC 0,05%), kontrol positif I (Captopril 0,45 mg/200 gBB), kontrol positif II (ramuan jamu 14,4 mg/200 gBB), serta tiga kelompok MLC dengan dosis berbeda: MLC I (6 mg:10 mg:4,2 mg/200 gBB), MLC II (3 mg:5 mg:2,1 mg/200 gBB), dan MLC III (12 mg:10 mg:4,2 mg/200 gBB). Tekanan darah diukur setiap 7 hari selama 35 hari menggunakan CODA® Blood Pressure, mencakup parameter utama tekanan darah sistolik dan diastolik serta parameter pendukung seperti Mean Arterial Pressure (MAP) dan Heart Rate (HR). Uji toksistas akut dilakukan dengan metode *fixed dose* yang dimodifikasi menggunakan pemberian MLC dengan perbandingan formula 1:1 dosis 300 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formula MLC memiliki efek signifikan dalam menurunkan tekanan darah. Selain itu, nilai LD50 formula MLC berada di atas 2000 mg/kgBB, yang dikategorikan sebagai tidak toksik. Hasil penelitian menunjukkan potensi formula MLC sebagai kandidat agen antihipertensi yang aman dan efektif.

Kata kunci: Captopril, Hipertensi, Lemon, NaCl, Prednison, Toksistas

Pendahuluan

Hipertensi adalah salah satu penyakit penyebab utama di kalangan masyarakat yang sering disebut sebagai "*silent killer*" karena gejalanya sering tidak terdeteksi sampai terjadi komplikasi yang serius (1). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), pada tahun 2021 sekitar 1,28 miliar orang di dunia menderita hipertensi, yang berarti 1 dari 5 orang mengalami kondisi ini. Di Indonesia, prevalensi hipertensi pada tahun 2025 diperkirakan mencapai 30,8% dari populasi (2). Hipertensi dapat menyebabkan berbagai komplikasi serius, seperti penyakit jantung, stroke, dan gangguan ginjal, yang mengancam kualitas hidup penderitanya (2).

Pengobatan hipertensi umumnya dilakukan dengan terapi konvensional menggunakan obat-obat sintetis yang dapat menurunkan tekanan darah. Namun, pengobatan konvensional ini sering memerlukan penggunaan jangka panjang dan dapat menyebabkan efek samping, yang mendorong banyak masyarakat untuk mencari alternatif pengobatan tradisional. Pengobatan tradisional, yang banyak berbasis pada tanaman obat, kembali diminati karena dianggap lebih alami dan memiliki efek samping yang lebih sedikit. Penggunaan obat herbal berbahan alam sudah dikenal secara luas di banyak budaya, termasuk di Indonesia, sebagai bagian dari warisan budaya dalam mengelola kesehatan (3).

Penggunaan tanaman obat dalam masyarakat Indonesia melibatkan berbagai jenis tanaman yang telah lama dikenal, salah satunya adalah kombinasi tanaman lokal seperti mangga arumanis (*Mangifera indica* L.), lemon (*Citrus limon*), dan cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.). Ketiga tanaman ini memiliki potensi sebagai antihipertensi, yang didasarkan pada kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman tersebut. Flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid yang terkandung dalam tanaman ini diduga memiliki efek bioaktivitas yang dapat menurunkan tekanan darah (4). Sebagai contoh, kuersetin, salah satu senyawa flavonoid dalam mangga arumanis, memiliki kemampuan meningkatkan disfungsi endotel dan mengatur kontraksi otot polos pada pembuluh darah, yang berpotensi menurunkan tekanan darah. Hesperidin yang terkandung dalam lemon diketahui memiliki efek vasodilatasi (5), sedangkan senyawa piperine yang ada dalam cabe jawa memiliki efek vasomodulator dan penurunan tekanan darah melalui saluran kalsium (Ca^{2+}) (6). Berdasarkan hal ini, kombinasi ketiga tanaman tersebut diharapkan dapat memberikan efek sinergis dalam menurunkan tekanan darah.

Meskipun potensi tersebut sudah diketahui, belum banyak penelitian yang mengevaluasi efektivitas dan keamanan dari kombinasi ketiga ekstrak tanaman ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek antihipertensi dan toksisitas akut dari kombinasi daun mangga arumanis, cabe jawa dan lemon (MLC). Evaluasi ini mencakup pengukuran parameter klinis seperti tekanan darah sistolik, diastolik, dan gejala toksisitas serta organ yang secara langsung berhubungan dengan risiko penyakit kardiovaskular. Selain itu, uji toksisitas akut dilakukan untuk memastikan keamanan formula. Kombinasi ini diharapkan tidak hanya memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk penggunaan obat tradisional, tetapi juga menawarkan alternatif pengobatan yang aman dan efektif bagi penderita hipertensi.

Metode

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas (Pyrex®, USA), ayakan mesh 40, alat bedah, botol coklat, cawan porselen, gunting batang, blender, freeze dryer, alat pengukur NonInvasive Blood Pressure (NIBP) CODA (Kent Scientific, USA), timbangan analitik (And®, Jepang), panci infundasi, papan bedah, kandang, kapas, kertas saring, kain batis, kertas label, sarung tangan, tabung eppendorf, timbangan hewan, tempat minum dan pakan mencit, thermometer, tanur (Ney®, USA), sonde, dan oven (INA).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cabe jawa, daun mangga arumanis, lemon, jamu *scientific* antihipertensi dari Klinik Saintifikasi Jamu Hortus Medicus di Balai Besar Penelitian Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu (komposisi : herba seledri, herba pegagan, daun kumis kucing, rimpang temulawak, rimpang kunyit dan herba meniran), akuades (Brataco®, Indonesia), amoniak (Merck®, Jerman), etanol 96% (Brataco, Indonesia), HCl 2 N (Merck®, Jerman), HCl pekat (Merck, Jerman), NaCl (Brataco®, Indonesia), Na CMC (Brataco®, Indonesia), kloroform (Merck®, Jerman), H₂SO₄ pekat (Merck®, Jerman), pereaksi Mayer (Merck®, Jerman), pereaksi Dragendorff (Merck®, Jerman), pereaksi Bouchardat, mencit (*Mus musculus*) galur DDY, tikus putih jantan galur Sprague Dawley, metanol (Merck®, Jerman), larutan FeCl₃ 1% (Merck®, Jerman), dan serbuk magnesium (Merck®, Jerman).

Prosedur Rinci

Pengumpulan bahan baku dan determinasi

Daun mangga arumanis, lemon dan cabe jawa dikumpulkan dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Bogor, Indonesia. Determinasi dilakukan di Balai Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Bogor, Jawa barat.

Proses ekstraksi

Daun mangga arumanis, cabe jawa, dan lemon disortasi basah untuk memisahkan bahan yang tidak diinginkan, kemudian dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kontaminan. Daun mangga dan cabe jawa dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40-50°C hingga mencapai kadar air yang optimal. Bahan kering tersebut kemudian dihaluskan menggunakan blender untuk mendapatkan serbuk simplisia. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode infus dengan pelarut aquadest dalam perbandingan bahan terhadap pelarut 1:10 (yaitu 1 gram simplisia dilarutkan dalam 10 mL aquadest). Proses ini berlangsung selama 30 menit dengan pemanasan pada suhu 80°C. Filtrat hasil ekstraksi kemudian dikeringkan menggunakan metode *freeze-dry*. Pada buah lemon, air perasan diperoleh dengan memeras daging buahnya. Air perasan dikeringkan menggunakan metode *freeze-dry*.

Ekstrak yang dihasilkan kemudian diuji karakteristiknya, seperti kadar air dan kadar abu, mengacu pada pedoman Kemenkes RI (2017), serta dilakukan uji fitokimia untuk mendeteksi keberadaan senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin dengan mengacu pada metode Hanani (7).

Uji toksisitas dengan modifikasi metode fixed doses

Prosedur ini telah lulus kaji etik pada Tim Komite Etik Hewan Universitas Pakuan (No.003/KEPHP-

UNPAK/05-2013). Formula daun mangga arumanis, ekstrak cabe jawa, dan lemon diberikan dengan perbandingan 1:1:1 dimulai dengan uji pendahuluan untuk menentukan dosis yang akan digunakan dalam uji utama. Sebanyak 16 ekor mencit betina dengan berat badan berkisar antara 20 hingga 30gram digunakan dalam uji toksisitas akut oral. Uji ini dilakukan sesuai dengan pedoman OECD 420 dengan modifikasi menggunakan METODE fixed doses. Uji dibagi menjadi dua tahap, yaitu tahap awal dan tahap utama. Tahap awal dilakukan untuk menentukan dosis awal yang sesuai untuk uji utama, dengan dosis awal yang digunakan adalah 50, 300, dan 2000 mg/kg. Pada uji pendahuluan tidak terdapat kematian sampai dosis 2000 mg/KgBB, akan tetapi muncul tremor dan letargi pada dosis 300 mg/KgBB sehingga dosis utama yang dipilih yaitu dimulai dari dosis 300 mg/KgBB.

Dosis yang digunakan dalam uji utama adalah 300 mg, dan 2000 mg/kg BB, dengan kelompok kontrol yang hanya diberikan *aquadest*. Dalam uji utama ini, diperlukan 5 hewan uji untuk setiap dosis yang diuji, terdiri dari 1 hewan dari uji pendahuluan dan 4 hewan tambahan. Pemberian perlakuan dilakukan secara oral dalam satu kali pemberian, dan pengamatan gejala toksik dan kematian dilakukan secara bertahap pada menit ke-0, 30, 60, 120, dan 240 selama 24 jam, serta satu kali sehari hingga hari ke-14 (Abrori et al., 2019). Gejala yang diamati pada hewan uji berupa perubahan perilaku, grooming, letargi (kelesuan), gelantung, straub, reflek pineal, reflek korneal, tremor, kejang, ptosis piloereksi, urinasi dan defekasi serta jumlah hewan yang mati selama uji. Kisaran nilai LD₅₀ berdasarkan kriteria *Generally Recognized As Safe* (GRAS) mengacu pada pedoman Hodge and Sterner (8). Hasil pengamatan gejala dibandingkan dengan kelompok kontrol, berat badan diukur setiap minggu. Pada hari ke-15 hewan uji dimatikan dalam chamber CO₂ selanjutnya dibedah untuk diambil organ organ hati, ginjal, limpa dan jantung. Berat organ ditimbang dan index organ dihitung dengan rumus:

$$\text{Rumus Indeks Organ} = \text{Berat organ vital (g)} : \text{BB tikus (g)} \times 100\%$$

Uji Antihipertensi

Protokol pengujian aktivitas antihipertensi kombinasi ekstrak daun mangga arumanis, lemon, dan cabe jawa telah mendapatkan persetujuan Tim Komite Etik Hewan Universitas Pakuan (No. 007/KEPHP-UNPAK/06/2023). Sebanyak 35 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan dengan berat 150–200 g dan koefisien variasi (CV) <15%. Tikus diinduksi hipertensi menggunakan prednisone (1,5 mg/kgBB) dan larutan NaCl 2% (1 mL/hari) selama 21 hari hingga tekanan darah mencapai $\geq 140/90$ mmHg. Setelahnya, tikus dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan, termasuk kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif (captopril 0,45 mg/200gBB dan sediaan jamu saintifik 414 mg/200gBB),

serta tiga kelompok perlakuan kombinasi MLC I (Daun mangga arumanis, lemon dan cabe jawa dosis 30, 50 dan 21 mg/kgBB); MLC II (Dosis 15, 25 dan 10,5 mg/kgBB) dan MLC III (Dosis 60, 50 dan 21 mg/kgBB).

Pengukuran parameter tekanan darah sistolik, diastolik menggunakan alat *Non-Invasive Rat Tail Blood Pressure CODA®* pada hari ke-0 (sebelum induksi), hari ke-21 (setelah induksi), serta hari ke-28 dan ke-35 (setelah pemberian sediaan secara oral selama 14 hari).

Analisis statistik

Semua data hasil pengukuran tekanan darah sistolik dan diastolik, MAP, HR dianalisis secara statistik menggunakan SPSS. Rancangan yang digunakan *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan uji Duncan. Data dinyatakan signifikan secara statistik apabila $p < 0,05$. Analisis statistik pada uji toksisitas dan efek antihipertensi dilakukan menggunakan software IBM SPSS Statistics 24.

Pada uji efek antihipertensi, data tekanan darah sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis menggunakan rancangan One-Way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey untuk membandingkan kelompok perlakuan. Analisis dilakukan berdasarkan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola faktorial untuk 7 kelompok perlakuan dan 5 pengulangan.

Hasil

Hasil analisis fitokimia Daun mangga positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid dan steroid sejalan dengan penelitian yang dilakukan Afifah dkk (9) dan pada lemon positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid sejalan dengan penelitian Lindawati dkk (10) sedangkan cabe jawa positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid sejalan dengan penelitian Meyke (11). Hasil pengamatan skrining fitokimia, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak

Golongan senyawa	Cabe jawa	Daun mangga	Lemon
Alkaloid:			
• Dragendorff	(-)	(-)	(+)
• Mayer	(+)	(+)	(+)
• Bouchardat	(-)	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)	(-)
Fenolik	(+)	(+)	(-)
Steroid	(+)	(+)	(+)
Triterpenoid	(-)	(+)	(+)

Keterangan:

- + : mengandung senyawa
- : tidak mengandung senyawa

Hasil Uji Toksisitas Akut

Pengamatan kematian dan gejala toksisitas dilakukan pada menit ke-0, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 240 menit dan selama 24 jam kemudian dilanjutkan pengamatan selama 14 hari untuk melihat gejala tertunda yang muncul setelah pemberian perlakuan. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa pemberian MLC pada uji pendahuluan dan uji utama tidak menimbulkan kematian pada hewan coba sampai dosis 2000mg/kgBB. Hasil pengamatan gejala toksik yang muncul dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengamatan gejala toksisitas

Kelompok	Jumlah hewan (n)	Gejala Toksik yang muncul				
		30 menit	4 jam	8 jam	24 jam	14 hari
Uji Pendahuluan						
Kontrol Normal	1	-	-	-	-	-
MLC Dosis 50 mg/kg BB	1	-	-	-	-	-
MLC dosis 300 mg/kg BB	1	-	-	-	+	-
MLC dosis 2000 mg/kg BB	1	-	-	-	+	-
Uji Utama						
Kontrol Normal	4	-	-	-	-	-
MLC dosis 300 mg/kg BB	4	-	-	-	-	-
MLC dosis 2000 mg/kg BB	4	-	-	-	-	-

Keterangan: (√) ada; (-) tidak ada

Gejala toksik yang muncul terjadi pada MLC dosis 300 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB pada uji pendahuluan. Meskipun begitu, namun tidak ada gejala toksik yang muncul pada uji utama. Hal ini mungkin menunjukkan bahwa dosis ini tidak cukup kuat untuk menyebabkan efek toksik yang terukur dalam pengamatan yang lebih ketat. Pengamatan gejala toksik lebih lanjut dapat ditunjukkan dari perubahan berat badan selama pengujian. Pengamatan perubahan berat badan dilakukan dengan menimbang berat hewan uji sebelum dan setelah pemberian sediaan. Data berat badan ditunjukkan dalam Tabel II.

Tabel 2. Pengamatan berat badan mencit sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Rata-rata Berat Badan (g) ± sd		P Value
	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan	
Kontrol Normal	30 ±1,2247	30 ±1,9493	0,587
MLC dosis 300 mg/kg BB	30 ± 0,8366	29 ± 2,0736	0,294
MLC dosis 2000 mg/kg BB	30 ± 1,0954	31 ± 1,788	0,305
P Value	0,808	0,200	-

Keterangan : P Value menunjukkan bahwa secara statistic perubahan yang terjadi tidak berbeda signifikan

Berdasarkan pengamatan berat badan pada Tabel 2, hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($P \geq 0,05$) dalam berat badan antara sebelum dan setelah perlakuan pada semua kelompok yang diuji dan juga antara kelompok normal dengan kelompok perlakuan. Selain berat badan, indeks organ hewan uji dievaluasi, data ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengamatan indeks organ mencit

Kelompok	Indeks Organ (%) \pm sd			
	Jantung	Hati	Ginjal	Limpa
Kontrol Normal	0,14 \pm 0,02	1,23 \pm 0,25	0,19 \pm 0,02	0,23 \pm 0,05
MLC dosis 300 mg/kg BB	0,14 \pm 0,03	1,55 \pm 0,22	0,22 \pm 0,02	0,18 \pm 0,0
MLC dosis 2000 mg/kg BB	0,14 \pm 0,02	1,42 \pm 0,25	0,21 \pm 0,01	0,21 \pm 0,04
P Value	0,440	0,145	0,588	0,234

Tabel 3 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam indeks organ (jantung, hati, ginjal, dan limpa) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (MLC dengan dosis 300 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB). Secara keseluruhan data toksisitas akut MLC menunjukkan bahwa tidak muncul kematian pada hewan uji sampai dosis 2000 mg/kgBB, tidak muncul gejala toksik pada uji utama dan tidak ada perubahan yang signifikan baik pada berat badan, dan indeks organ dibandingkan kelompok kontrol normal ($P > 0,05$). Oleh karena itu berdasarkan kriteria *Generally Recognized As Safe* (GRAS) mengacu pada Hodge and Sterner (8), kisaran LD50 yang diperoleh >2000 mg/kg BB dengan kriteria tidak toksik.

Hasil Uji Tekanan Darah

Pengukuran tekanan darah dilakukan pada sebelum induksi, 21 hari setelah induksi, 7 hari setelah pemberian perlakuan uji dan 14 hari setelah perlakuan uji. Data yang diukur meliputi tekanan darah sistolik dan diastolik. Data tekanan darah sistolik dan tekanan darah diastolik dapat ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Tekanan Darah Sistolik dan Diastolik

Kelompok	Rata-rata Tekanan Darah Sistolik \pm Sd			Rata-rata Tekanan Darah Diastolik \pm Sd		
	Setelah Induksi	Setelah 7 hari perlakuan	Setelah 14 hari perlakuan	Setelah Induksi	Setelah 7 hari perlakuan	Setelah 14 hari perlakuan
Kontrol Normal*	114,92 \pm 2,75 _{bc}	79,17 \pm 1,74 _{ab}	109,00 \pm 1,11 ^a	79,17 \pm 1,74 ^{uv}	77,25 \pm 2,07 ^{uv}	72,33 \pm 1,78 ^u
Kontrol Negatif	152,67 \pm 1,39 _h	114,00 \pm 2,35 _{ef}	164,83 \pm 0,73 ⁱ	114,00 \pm 2,35 ^{yz}	117,83 \pm 2,11 ^z	115,25 \pm 0,68 ^{yz}
Kontrol Positif I (Captopril®)	151,58 \pm 1,50 _h	110,83 \pm 2,23 _{ef}	114,42 \pm 1,32 _{bc}	110,83 \pm 2,23 ^{yz}	82,75 \pm 6,36 ^{uvw}	72,50 \pm 7,07 ^u
Kontrol Positif II (Jamu <i>Scientific</i>)	150,17 \pm 1,28 ^h	111,42 \pm 2,28 _{ef}	115,50 \pm 0,55 _{bc}	111,42 \pm 2,28 ^{yz}	85,33 \pm 3,73 ^{vw}	73,83 \pm 4,41 ^u
MLCI	150,50 \pm 1,38 ^h	108,00 \pm 4,52 _e	118,92 \pm 0,95 ^c	108,00 \pm 4,52 ^y	92,33 ^{cd} \pm 1,93 ^{wx}	76,67 \pm 3,50 ^{uv}
MLCII	152,67 \pm 1,31 _h	113,17 \pm 1,86 _{ef}	125,58 \pm 0,64 ^d	113,17 \pm 1,86 ^{yz}	109,67 \pm 1,22 ^{yz}	96,58 \pm 0,86 ^x
MLCIII	151,17 \pm 1,19 _h	114,00 \pm 4,13 _{ef}	117,58 \pm 0,83 ^c	114,00 \pm 4,13 ^{yz}	85,42 \pm 4,82 ^{vw}	73,92 \pm 2,53 ^u

Ket : angka yang diikuti huruf superskrip yang sama pada baris maupun kolom memiliki suatu pengaruh yang sama, (*): Kelompok normal tidak diberi induksi, namun diberikan Na CMC 0,05%), Kontrol negatif (diberi induksi + Na CMC 0,05%), Kontrol Positif I(Captopril 2,5 mg/kgBB), Kontrol Positif II (72 mg/kgBB) MLC I (daun mangga 30 mg/kgBB, lemon 50 mg/kgBB dan cabe jawa 21 mg/kgBB), MLC II (daun mangga 15 mg/2kgBB, lemon 25 mg/kgBB dan cabe jawa 10,5 mg/kgBB), MLC III (daun mangga 60 mg/kgBB, lemon 50 mg/kgBB dan cabe jawa 21 mg/kgBB).

Data yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan perubahan pada tekanan darah sistolik dan diastolik di antara berbagai kelompok selama periode pengamatan. Pada tekanan darah sistolik, diastolik semua kelompok yang diberi induksi menunjukkan nilai lebih tinggi dan berbeda signifikan dengan kontrol normal ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi prednisone dosis 1,5 mg/kgBB dan larutan NaCl 2% (1 mL/hari) selama 21 hari dapat menginduksi hewan uji menjadi hipertensi. Tekanan darah sistolik pada semua kelompok mengalami penurunan setelah pemberian perlakuan pada hari ke-7, namun angka tekanan darah baik pada kelompok perlakuan uji tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok negative ($P \geq 0,05$). Sedangkan pada tekanan darah diastolik pada hari ke-7 menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol negatif ($P \geq 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan MLC yang diberikan memiliki efek dalam mengurangi tekanan darah diastolik.

Pada hari ke-14 perlakuan, tekanan darah sistolik, diastolic dan MAP pada semua kelompok MLC, kontrol positif dan jamu saintifik mengalami penurunan, dengan tekanan darah yang berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok negative ($P < 0,05$). Tekanan darah sistolik dan diastolik pada kelompok kontrol positif dan jamu saintifik sebanding dengan kelompok normal ($P \geq 0,05$). Sementara itu, tekanan darah diastolik pada kelompok MLC, khususnya MLCI dan MLCIII, juga menunjukkan kesetaraan dengan kelompok kontrol normal ($P > 0,05$). Hasil secara keseluruhan menunjukkan bahwa pemberian perlakuan MLC, khususnya MLCI dan MLCIII, selama

14 hari memiliki efek yang lebih baik dalam mengurangi tekanan darah, baik sistolik maupun diastolic dibandingkan dengan hasil yang diperoleh pada hari ke-7.

Pembahasan

Skrining fitokimia

Senyawa yang diduga memiliki aktivitas farmakologi sebagai antihipertensi meliputi flavonoid kuersetin, hesperidin, dan alkaloid piperin. Daun mangga mengandung kuersetin yang berfungsi dalam mekanisme kerja sistem renin-angiotensin-aldosteron dengan meningkatkan disfungsi endotel serta mengatur kontraksi otot polos pada pembuluh darah. Lemon mengandung flavonoid hesperidin yang dapat memberikan efek vasodilatasi. Kawakami dkk (12) menyatakan bahwa residu dari perasan jus lemon dapat menurunkan tekanan darah pada tikus putih jantan. Cabe jawa mengandung alkaloid piperin, yang dilaporkan memberikan efek vasomodulator dan menurunkan tekanan darah melalui mekanisme Ca^{2+} .

Selain hipertensi, kandungan senyawa dalam kombinasi tanaman ini juga berpotensi untuk membantu dalam pengobatan penyakit kardiovaskular lainnya. Misalnya, flavonoid seperti kuersetin telah terbukti memiliki efek positif dalam menurunkan risiko penyakit jantung koroner dengan cara mengurangi peradangan dan meningkatkan fungsi endotel (5). Penggunaan pengobatan alternatif-komplementer juga menunjukkan efektivitas dalam menurunkan gejala pada pasien penyakit jantung koroner, termasuk pengurangan kadar kolesterol LDL.

Lebih lanjut, senyawa-senyawa ini dapat berkontribusi pada pengobatan kondisi lain seperti diabetes tipe 2 dan obesitas, yang merupakan faktor risiko utama bagi penyakit jantung (6). Misalnya, jahe dan kunyit juga dikenal memiliki sifat antihipertensi dan dapat membantu mengontrol kadar gula darah serta kolesterol (6). Oleh karena itu, penggunaan kombinasi ketiga tanaman ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat dalam mengatasi berbagai penyakit, termasuk hipertensi.

Uji toksisitas akut metode fix dose

Hasil uji toksisitas aku yang didapatkan kisaran nilai $LD_{50} > 2000$ mg/KgBB, dimana masuk dalam kategori tidak toksik. Dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi daun manga, cabe jawa dan lemon aman. Penelitian yang menggunakan tanaman tunggal cabe jawa menunjukkan bahwa nilai LD_{50} yang didapatkan yaitu 3,32 mg/10 g atau sebesar 332 mg/KgBB termasuk kedalam kategori toksik sedang terhadap mencit (14). Penelitian lain yang menggunakan daun mangga arumanis, menunjukan bahwa uji toksisitas akut pada tikus diperoleh hasil nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kg BB (15). Hal tersebut dibuktikan karena tidak adanya kematian dan gejala toksisitas yang berbahaya pada mencit setelah diberikan sediaan uji kombinasi formula cabe jawa, daun mangga arumanis dan lemon pada dosis 2000 mg/kg BB sehingga tidak dilanjutkan dengan uji batas 5000 mg/KgBB.

Efek Induksi Hipertensi DOCA-Salt

Uji antihipertensi dimulai dengan pembuatan model hewan hipertensi dengan memberikan induksi Doca-Salt (kombinasi prednisone 1,5 mg/kgBb dan NaCl 2%). Hasil menunjukkan bahwa kombinasi ini mampu meningkatkan tekanan darah baik

sistolik, diastolik maupun MAP. Tekanan darah normal yaitu 113,13 mmHg menjadi 151,46 mmHg dengan persentase peningkatan sebesar 33,89% serta meningkatkan tekanan darah diastolik normal yaitu 81,27 mmHg menjadi 111,90 mmHg dengan peningkatan sebesar 37,70% persentase peningkatan tekanan darah pada sistolik dan diastolik tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian (17) yaitu sebesar 38,22% dan 31,66% dengan lama pemberian induksi selama 21 hari. Menurut BPOM (18) induksi hewan coba dapat dikatakan berhasil apabila tekanan darah >140/90 mmHg.

DOCA salt mekanisme

Prednisone merupakan golongan kortikosteroid yang dapat menyebabkan peningkatan tekanan darah. Ini terjadi karena efeknya yang mirip dengan mineralokortikoid, yaitu hormon yang berperan dalam pengaturan keseimbangan natrium dan air. Hormon ini bertindak sebagai prekursor aldeosterone, hormon ini dihasilkan di korteks adrenal. Efek dari aldeosterone yaitu meretensi natrium sehingga air akan ikut teretensi. Retensi natrium dan air akan meningkatkan volume darah ke ginjal dan akan menekan sekresi renin (19).

Konsumsi NaCl atau garam berlebih menyebabkan konsentrasi natrium dalam cairan ekstraseluler meningkat, maka untuk menormalkannya cairan intraseluler ditarik ke luar, sehingga volume cairan ekstraseluler meningkat yang menyebabkan volume darah meningkat. Mengonsumsi natrium dalam jumlah yang banyak pun dapat mengecilkan diameter arteri, sehingga jantung harus memompa lebih keras lagi untuk mendorong volume darah yang meningkat melalui ruang yang semakin sempit yang mengakibatkan hipertensi.

Efek Penurunan Tekanan Darah Formula MLC

Hasil pengujian menunjukkan bahwa MLC memiliki dapat menurunkan tekanan darah mulai dari hari ke-7 perlakuan, namun penurunan ini hanya ditunjukkan pada tekanan darah diastolik dan MAP dengan angka yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol normal ($P \geq 0,05$). Efek penurunan tekanan darah meningkat setelah pemberian MLC selama 14 hari, khususnya MLCI dan MLCIII, baik tekanan darah sistolik, diastolik maupun MAP turun dengan angka setara dengan kelompok normal ($P \geq 0,05$). Sehingga disimpulkan bahwa pemberian MLC, khususnya MLCI dan MLCIII selama 14 hari memiliki efek menurunkan tekanan darah hingga normal.

Efek ini terjadi muncul lebih cepat jika dibandingkan dengan penelitian lain dengan bahan yang Tunggal. Hajir (20) melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun manga arumanis secara tunggal dengan dosis 30 mg/kg BB selama 30 hari dapat menurunkan tekanan darah hingga normal, dengan tekanan darah sistolik mencapai 113,25 mmHg dan tekanan darah diastolik mencapai 88 mmHg. Sementara itu, Abdulkarimi et al. (21) melaporkan bahwa pemberian jus lemon selama 20 hari dapat menurunkan tekanan darah pada 33 pasien, dengan tekanan darah sistolik setelah pemberian mencapai 143,18 mmHg dan diastolik mencapai 91,51 mmHg.

Penurunan tekanan darah setelah pemberian MLC yang mengandung ekstrak daun manga arumanis, lemon dan cabe jawa berkaitan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki, terutama flavonoid. Senyawa quercetin pada daun mangga memiliki mekanisme kerja pada sistem renin-angiotensin-aldosterone yang meningkatkan disfungsi endotel dan dengan mengatur kontraksi otot polos pada

pembuluh darah (5). Lemon memiliki kandungan flavonoid yaitu hesperidin yang dapat memberikan efek vasodilatasi, Efek antioksidan pada hesperidin membantu meningkatkan jumlah oksida nitrat dan mengurangi ion kalsium, sehingga menghasilkan relaksasi otot polos di pembuluh darah (5). Hesperidin menghasilkan efek menguntungkan yaitu salah satunya menurunkan tekanan darah (23). Berdasarkan hasil penelitian terdahulu pada memiliki efek antiinflamasi dari senyawa flavonoid dan alkaloid (piperine) Inflamasi adalah salah satu faktor yang dapat meningkatkan tekanan darah melalui mekanisme stress oksidatif yang menyebabkan vasokonstriksi atau penyempitan pembuluh darah sehingga menyebabkan terjadinya hipertensi. Piperine memberikan efek kardioprotektif dengan mengatur metabolisme lipid, peradangan dan stres oksidatif juga memberikan efek vasomodulator dan penurunan tekanan darah melalui saluran Ca^{2+} (6).

Angiotensin Converting Enzym-inhibitor (ACE-inhibitor) merupakan suatu komponen penting dalam Renin Angiotensin Aldosteron System (RAAS) dimana RAAS merupakan sistem hormon yang mengatur keseimbangan tekanan darah dan cairan dalam tubuh. ACE-inhibitor merupakan salah satu golongan obat antihipertensi pilihan utama yang digunakan pada terapi hipertensi dengan mekanisme penurunan tekanan darah menghambat terjadinya konversi enzim angiotensin I menjadi angiotensin II, angiotensin II menyebabkan pembuluh darah menyempit sehingga meningkatkan tekanan darah. Senyawa flavonoid pada ekstrak herba suruhan memiliki aktivitas ACE-inhibitor menyebabkan pembuluh darah melebar sehingga menurunkan tekanan darah (22).

Penggunaan kontrol positif kedua (jamu saintifikasi) bertujuan sebagai pembanding; ramuan ini merupakan kumpulan jamu yang telah teruji klinis oleh rumah riset jamu. Ini berarti jamu empirik tersebut telah tersaintifikasi dan digunakan oleh dokter serta petugas kesehatan di fasilitas pelayanan kesehatan primer. Uji klinis mengenai keamanan ramuan jamu hipertensi yang terdiri dari herba seledri, herba pegagan, daun kumis kucing, rimpang temulawak, rimpang kunyit, dan herba meniran menunjukkan bahwa ramuan ini efektif dalam menurunkan tekanan darah pada hipertensi derajat I dengan khasiat setara dengan HCT. Ramuan ini juga terbukti aman karena tidak mempengaruhi fungsi hati dan ginjal (24).

Ramuan jamu saintifik ini merupakan kombinasi tanaman yang digunakan di Klinik Saintifikasi Jamu (SJ) Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangun. Formula jamu ini terdiri dari herba seledri, herba pegagan, daun kumis kucing, rimpang temulawak, rimpang kunyit, dan herba meniran. Semua komponen dalam ramuan ini berkontribusi terhadap kemampuannya dalam menurunkan tekanan darah sistolik dan diastolik. Seledri berfungsi sebagai agen hipotensif dan diuretik, yang membantu menurunkan kadar natrium dan kalium dalam darah. Daun kumis kucing juga dapat mengurangi kadar natrium dan kalium, sementara kandungan kuersetinnya berperan dalam menurunkan tekanan darah dengan mencegah pembentukan platelet dan trombus. Temulawak dan kunyit mengandung kurkumin, metabolit sekunder yang merupakan antioksidan kuat yang dapat mengurangi jumlah radikal bebas penyebab kerusakan ginjal dan hipertensi sistemik. Meniran memiliki kemampuan untuk menurunkan tekanan darah melalui mekanisme relaksasi otot polos pada pembuluh darah (24). Ramuan jamu ini telah teruji secara klinis dan praklinis. Penelitian oleh Fatmawati (25) menunjukkan bahwa ramuan jamu

dapat menurunkan tekanan darah pada tikus putih jantan dengan dosis 72 mg/kg BB. Selain itu, uji klinis yang dilakukan oleh Triyono dkk. (24) di B2P2TOOT selama 56 hari menunjukkan bahwa ramuan ini mampu menurunkan tekanan darah sistolik dari 154,12 mmHg menjadi 129,51 mmHg, serta diastolik dari 93,00 mmHg menjadi 83,78 mmHg. Hasil persentase penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik pada kontrol positif 1 (Captopril) lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif 2 (ramuan jamu). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa Captopril lebih efektif dalam menurunkan tekanan darah dibandingkan ramuan jamu. Persentase penurunan tekanan darah pada MLC III juga lebih tinggi dibandingkan MLC I dan MLC II, karena dosis ekstrak daun mangga arumanis pada MLC III merupakan kelipatan dari dosis MLC I. Penelitian oleh Hajir (20) menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga dapat menurunkan tekanan darah dengan persentase penurunan sebesar 19,66%. Sementara itu, penelitian Bahrani et al. (26) melaporkan bahwa ekstrak lemon dapat menurunkan tekanan darah sebesar 10,48% setelah pemberian selama 20 hari. Kombinasi ekstrak daun mangga arumanis, lemon, dan cabe jawa menunjukkan efek sinergis yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian ekstrak secara terpisah. Uji lanjut Tukey menunjukkan bahwa lama pemberian ekstrak tersebut memiliki pengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap tekanan darah sistolik maupun diastolik.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian uji toksisitas akut diperoleh nilai kisaran $LD_{50} > 2000$ mg/kg BB, yang termasuk dalam kategori tidak toksik dan tidak menimbulkan gejala toksisitas berbahaya. Formula kombinasi MLC memberikan efek penurunan tekanan darah yang ditandai dengan penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik yang signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$) pada tikus yang dibuat model hipertensi.

Daftar Pustaka

1. Kemenkes RI. Pedoman Pelayanan Kefarmasian Pada Hipertensi. Departemen Kesehatan RI. 2019:18-9.
2. Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 2018.
3. Elisa N, Anggoro AB, Indriyanti E. Aktivitas antihipertensi ekstrak dan fraksi-fraksi daun avokad (*persea americana* mill) pada tikus jantan dengan parameter sistolik dan diastolik. *Jurnal Ilmiah Sains*. 2021 Oct 7;21(2):145-54.
4. Rahmawati F, Rantelino V. Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth). *Bunga Rampai Saintifika FK UI No.7*. 2019.
5. Ciumarnean, L., Vasile, M., Runcan, O., Vesa, C., Rachisan, A., Negrean, V., Perné, M., Donca, V., Alexescu, T., Para, I. & Dogaru, G. (2020) 'The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases', *Molecules*, pp. 1–18.
6. Tripathi AK, Ray AK, Mishra SK. Molecular and pharmacological aspects of piperine as a potential molecule for disease prevention and management: evidence from clinical trials. *Beni-Suef university journal of basic and applied sciences*. 2022 Jan 28;11(1):16.
7. Hanani, E. Analisis Fitokimia. Jakarta: dalam Buku Kedokteran EGC; 2016

8. Alarie Y, Anderson RC. Toxicologic classification of thermal decomposition products of synthetic and natural polymers. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1981 Feb 1;57(2):181-8.
9. Afifah N, Riyanta AB, Amananti W. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Hasil Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun Mangga Harum Manis (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Crystal: Publikasi Penelitian Kimia dan Terapannya*. 2023 Mar 31;5(1):54-61.
10. Lindawati NY, Nofitasari J. Efektivitas Sari Buah Lemon (*Citrus Limon* (L.) Burm. F. Sebagai Khelating Agent Logam Berat Tembaga. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2021 Apr;8(1):68.
11. Syafitri MH. Efek Buah Cabe Jawa Terhadap Penurunan Edema Kaki Pada Mencit yang Diinduksi Formalin. In *The 3rd science & Pharmacy Conference dengan Tema Perkembangan IPTEK Untuk Mewujudkan Gerakan Masyarakat Sehat*. Graniti. 2018. pp. 29–33
12. Kawakami K, Yamada K, Takeshita H, Yamada T, Nomura M. Antihypertensive effect of lemon juice squeezed residue on spontaneously hypertensive rats. *Food Science and Technology Research*. 2021;27(3):521-7. Japanese Society for Food Science and Technology doi: 10.3136/fstr.27.521
13. Sabina EP, Nasreen A, Vedi M, Rasool M. Analgesic, antipyretic and ulcerogenic effects of piperine: an active ingredient of pepper. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2013 Oct 1;5(10):203.
14. BPOM.RI. Acuan Sediaan Herbal Volume Kelima. In *Direktorat OAI*. 2010
15. Rodeiro I, Donato MT, Jiménez N, Garrido G, Delgado R, Gómez-Lechón MJ. Effects of *Mangifera indica* L. aqueous extract (Vimang) on primary culture of rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 2007 Dec 1;45(12):2506-12.
16. Setiani LA. The Potential of African Leaf Extract (*Gymnanthemum amygdalinum* Del.) as Antihypertensive in Male White Rats. In *Proceeding of The International Conference on Natural Sciences, Mathematics, Applications, Research, and Technology 2022 Dec 30* (Vol. 2, pp. 10-17).
17. Novitri SA, Nurmeilis NN, Kamal DR. Efek antihipertensi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbing* L.) dengan Metode Non-invasiv. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*. 2020 Nov 9;2(1):11-8.
18. BPOM.RI. Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, 2022, 1–220.
19. Sjafoer NA, Permatasari N. Mekanisme Deoxycorticosterone Acetate (DOCA)-garam terhadap Peningkatan Tekanan Darah pada Hewan Coba. 2011: 199-213.
20. Hajir S. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) sebagai Antihipertensi Pada Tikus Putih Jantan di Induksi Prednison dan NaCl. Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia Padang. 2021.

21. Abdulkarimi R, Mohamadi MA, Gomar E, Afshari S, Bozorg MJ. The comparison of the effect of garlic and lemon juice on blood pressure and comfort in hypertensive patients. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*. 2020;15(3).
22. Mun'im, A., Nurpriantia, S., Setyaningsih, R., & Syahdi, R. R. Optimization of Microwave-assisted Extraction of Active Compounds, Antioxidant Activity and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Activity from *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. *Journal of Young Pharmacists*, 2017; 9(1), S73.
23. Mas-capdevila, A., Teichenne, J., Domenech-coca, C. & Caimari, A. 'Effect of Hesperidin on Cardiovascular Disease Risk Factors: The Role of Intestinal Microbiota on Hesperidin Bioavailability', *Nutrients*, 2020; p. 12(4).
24. Triyono, A., Zulkarnain, Z. & Mana, T.A. 'Studi Klinis Ramuan Jamu Antihipertensi pada Pasien Hipertensi Derajat I', *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 2018; 8(1), pp. 17–25.
25. Fatmawati K. *Pengaruh formula jamu antihipertensi enam herbal terhadap tekanan darah tikus wistar-Studi efektivitas formula jamu antihipertensi dengan komponen seledri, kumis kucing, pegagan, meniran, kunyit dan temulawak* (Doctoral dissertation, Fakultas Kedokteran UNISSULA). 2016
26. Bahrani, S.S., Abdulkarimi, R., Sabziyani, Z., Zahrakord, Mohamadi, M.A., Gomar, E., Kord, Z., Afshari, S. & Bozorg, M.J. 'The comparison of the effect of garlic and lemon juice on blood pressure and comfort in hypertensive patients', *Revista Latinoamericana de Hipertension*, 15(3), pp.154–163. 2020

