

Sudi In Vitro Temu Mangga (*Curcuma Mangga*) sebagai Vasodilator Pembuluh Darah

Aprilia Nurlaila Zahro¹, Sjarif Ismail², Khemasili Kosala²

¹ Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman Samarinda

² Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman Samarinda

*Korespondensi: aprilianurlela44@gmail.com

ABSTRACT

Background: The prevalence of hypertension in Indonesia and in the world continues to proliferate. Easily accessible new antihypertensive drugs should be explored further. The rhizomes of mango ginger (*Curcuma mangga*) are abundant in Indonesia, and the rhizome of mango ginger has been known ethnobotanically to treat hypertension, but has yet been scientifically proven.

Purpose: To investigate the vasodilation activity of the rhizome of mango ginger (*Curcuma mangga*) extract in vitro.

Method: The simplicia of the rhizome of mango ginger was macerated with 99% ethanol. The vasodilation activity was observed by bioassay using a separate organ of Wistar rat aorta whose endothelium was precontracted with phenylephrine. The extract group and the control group (extract solvent) were put into the bioassay chamber with log concentrations of -2, -1.5, -1, -0.5, 0, and 0.5 mg/ml cumulatively. This experiment was replicated 6 times. The aorta vasodilation response is expressed as a percentage of aortic tone and the data are presented in (mean $\pm$ SE) %. The statistical test was performed using t-test, and the result is significant if p value < 0.05 .

Results: The results of the bioassay were as follows: the extract group and control group for log concentration of -2 mg/ml showed aortic vasodilation responses of (5.0 ± 1.9) % and (0.16 ± 0.9) % respectively, with p -value of 0.019; the extract group and control group for log concentration of -1.5 mg/ml showed aortic vasodilation responses of (-7.4 ± 2.5) % and (0.06 ± 0.9) % respectively, with p value of 0.01; the extract group and control group for log concentration of -1 mg/ml showed aortic vasodilation responses of (-9.07 ± 2.1) and (0.10 ± 1.1) % respectively, with p -value of 0.02; the extract group and control group for log concentration of -0.5 mg/ml showed aortic vasodilation responses of (-12.75 ± 1.0) % and (-0.39 ± 1.3) % respectively, with p -value < 0.001 ; the extract group and control group for log concentration of 0 mg/ml showed aortic vasodilation responses of (-16.67 ± 2.1) % and (-1.80 ± 1.2) % respectively, with p -value of 0.002; the extract group and control group for log concentration of 0.5 mg/ml showed aortic vasodilation responses of (-19.015 ± 2.9) % and (-1.71 ± 1.2) % respectively, with p -value < 0.001 .

Conclusion: The ethanol extracts of the rhizome of mango ginger (*Curcuma mangga*) show vasodilation activity on the separate organ of rat aorta with endothelium.

Keywords: *Curcuma mangga*, Ethanol Extract, Bioassay, Aorta, Vasodilatation.

PENDAHULUAN

Tekanan darah tinggi atau hipertensi sering disebut *silent killer* karena penyakit ini sering muncul tanpa gejala dan baru diketahui ketika telah terjadi gangguan pada tubuh (WHO, 2018). Secara umum tatalaksana hipertensi berupa perubahan pola hidup dan terapi farmakologi dengan konsumsi obat kimia dalam jangka panjang agar tekanan darah dapat terkontrol. Pengobatan jangka panjang telah dilaporkan keluhan efek samping pada penggunaan calcium channel blockers, angiotensin converting enzyme inhibitors, diuretics, beta blockers, centrally acting, alpha blockers (Olowofela & Isah, 2017). Saat ini sangat mendesak dilakukan eksplorasi penemuan obat antihipertensi dengan bahan baku yang berlimpah, mudah didapatkan dan murah karena banyak tersedia di Indonesia. Penelitian berbasis bahan alam dapat menjadi jalur eksplorasi kekayaan lokal demi pengembangan obat antihipertensi.

Rimpang temu mangga (*Curcuma mangga*) memiliki aktivitas anti inflamasi (Nugraha *et al.*, 2020) Rimpang temu mangga memiliki berbagai senyawa yang berpotensi memiliki khasiat seperti flavonoid, kurkuminoid, polifenol dan minyak atsiri. Metabolit sekunder tersebut memiliki aktivitas yaitu menghambat senyawa-senyawa radikal bebas yang berbahaya (Nugraha *et al.*, 2022). Penelitian juga telah membuktikan Curcuminoid dari rimpang Curcuma longa dapat menyebabkan vasodilatasi pada aorta tikus disebabkan kurkuminoid merupakan antagonis non-kompetitif pada reseptor adrenergik (Dewar *et al.*, 2011). Masih belum diketahui aktivitas vasodilatasi *Curcuma mangga* pada pembuluh darah karena mengandung Curcuminoid juga sehingga diperlukan penelitian bioassay pada pembuluh darah dengan menggunakan organ terpisah aorta.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah ketamin (Combiphar), aorta tikus Wistar, DMSO (Merck), *ethanol absolute* GR (Merck), metakolin (Sigma), fenilefrin (Sigma), HCl (Merck), larutan *Kreb's-Hanseleit*, dan gas karbogen (campuran 95% O₂ + 5% CO₂).

Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah timbangan digital (Sartorius), pH-meter, thermometer digital, *syringe* 5 dan 20 ml, gunting jaringan, pinset, cawan petri, mikropipet, *isolated organ bath* (Ugo Basile), *isometric force transducer* (Ugo Basile), *Octal bridge amplifier* (AD Instrument), *recorder PowerLab/16SP* (AD Instrument), *Chart ver. 5 for Windows* (AD Instrument), *Chart reader ver. 8 for Windows* (AD Instrument), *SigmaPlot for Windows ver. 15* (Systat Software Inc).

Hewan Uji

Tikus putih Wistar (*Rattus novvergicus*) Jantan dari Laboratorium Farmakologi FK-Unmul, berat 200-300 g, berumur 2-4 bulan. Persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK-Unmul No. 218/KEPK-FK0XI-2023. Cincin aorta berendotel digunakan dengan panjang $\pm$ 3 mm.

Prosedur

1. Pengeringan Temu mangga

Rimpang *Curcuma mangga* didapatkan dari Kota Samarinda. Identifikasi dibantu oleh ahli taksonomi dari Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman dengan surat identifikasi jenis No. 101/UN17.4.08/LL/2023.

Sebanyak 2 Kg *Curcuma mangga* yang sudah disortasi dicuci dengan air mengalir, ditiriskan dalam suhu ruang, kemudian

diiris tipis dengan ketebalan $\pm 0,5$ cm, lalu dimasukan lemari pengering suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$, setiap hari dibolak-balik hingga kering selama lima hari yang ditandai dengan regas/getas sehingga mudah dipatahkan. Rimpang kering yang sudah digiling kasar sebanyak 105 gram dimaserasi dengan 2 liter *etanol absolute GR* menggunakan botol coklat ukuran 2,5 liter bertutup rapat selama 5 hari, pada suhu kamar, setiap hari dilakukan pengocokan selama satu menit. Hasil maserasi disaring dengan kertas Whatmann, residu kemudian dikumpulkan dimasukan kembali dalam botol dan diekstraksi secara maserasi dengan etanol yang baru. Tahapan ini diulang sebanyak 2 kali. Filtrat hasil maserasi yang telah dikumpulkan dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C . Ekstrak kental kemudian dikeringkan menjadi pasta dalam oven suhu 50°C selama satu minggu. Lalu dimasukan dalam kulkas suhu 4°C sebelum digunakan untuk penelitian

2. Uji kontraktilitas tonus pembuluh darah secara in vitro

Pada penelitian ini digunakan cincin aorta tikus dengan endotel, preparasi aorta dan pengujian kontraktilitas tonus pembuluh darah aorta seperti yang dideskripsikan oleh Ismail et al., 2019; Ismail et al., 2017; Yuniati & Ismail, 2016. Cincin aorta yang sudah dipotong, dihubungkan dengan *tissue holder* dengan

pengaitan pada salah satu sisi aorta dan pada sisi berlawanan dikaitkan dengan *tissue holder* yang dihubungkan dengan *isometric force transducer* yang telah disambungkan ke *octal bridge amplifier* dan computer yang telah terinstal *Chart ver. 5*. Aorta kemudia dimasukkan ke dalam *chamber* yang didalamnya sudah berisi larutan *Krebs-Henseleit* sebanyak 10 ml dengan suhu 37°C dan dialiri gas karbogen. Aorta dibiarkan ekuilibraasi selama 45 menit hingga tonus menjadi stabil. Larutan *Kreb's-Henselait* diganti setiap 15 menit. Setelah ekuilibraasi dilakukan uji respon kontraksi aorta dengan larutan fenilefrin, setelah mencapai puncak kontraksi yang datar diberikan ekstrak etanol rimpang *Curcuma mangga* (EECM) dengan log konsentrasi -2, -1,5, -1, -0,5, 0 dan 0,5 mg/ml secara kumulatif. Sebagai Kontrol digunakan etanol 10% dalam larutan Krebs-Henselheit (pelarut ekstrak). Prekontraksi dengan Fenilefrin konsentrasi 10^{-6} Pengulangan dilakukan enam kali dengan enam ekor tikus dan hasil dinyatakan dalam persen tonus aorta. Persen tonus aorta adalah nilai tonus aorta setelah pemberian ekstrak/kontrol dikurangi tonus aorta setelah pemberian fenilefrin lalu dibagi dengan tonus aorta setelah pemberian fenilefrin. Hasil yang negatif dari nilai persen tonus aorta menunjukkan aktivitas vasodilatasi pada pembuluh darah.

Kelompok Kontrol				Kelompok Ekstrak				p
Log Konsentrasi	Mean	$\pm$	SE	Log Konsentrasi	Mean	$\pm$	SE	
-2,0	0,16	$\pm$	0,9	-2,0	-5,0	$\pm$	1,9	0,019*
-1,5	0,06	$\pm$	0,9	-1,5	-7,4	$\pm$	2,5	0,01*
-1,0	0,10	$\pm$	1,1	-1,0	-9,07	$\pm$	2,1	0,02*
-0,5	0,39	$\pm$	1,3	-0,5	-12,75	$\pm$	1,0	<0,001 [#]
0,0	-1,8	$\pm$	1,2	0,0	-16,66	$\pm$	2,1	0,002*
0,5	-1,7	$\pm$	1,2	0,5	-19,01	$\pm$	2,9	<0,001 [#]

Keterangan: n=6 ekor tikus. *Uji statistik menggunakan *t-test* dan [#]*Mann-Whitney*, berbeda bermakna jika $p < 0,05$.

Data disajikan dalam bentuk Mean $\pm$ SE. Uji statistik menggunakan one-way anova untuk Kelompok Kontrol dan Ekstrak, kemudian dilanjutkan Uji *t-test* dan *Mann-Whitney* pada setiap konsentrasi. Hasil uji statistik berbeda bermakna jika $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi pada suhu kamar simplisia rimpang *Curcuma mangga* dengan pelarut etanol didapatkan rendemen EECM sebesar 2,34%. Hasil uji kontraktilitas tonus aorta dengan dimasukan EECM pada *organ bath* dengan konsentrasi secara kumulatif yang berisi organ terpisah cincin aorta dengan endotel menyebabkan penurunan persen tonus kontraktilitas aorta yang semakin meningkat dengan peningkatan konsentrasi EECM, seperti yang terlihat pada Tabel diatas. Hasil uji statistik dengan menggunakan *one-way anova* didapatkan $p = 0,136$ untuk Kelompok Kontrol dan $p = < 0,001$ untuk Ekstrak. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa EECM memiliki aktivitas vasodilatasi pada pembuluh darah. Pada kontrol digunakan pelarut ekstrak tampak terjadi peningkatan persen tonus aorta yang tidak signifikan jika konsentrasi ditingkatkan.

Pada pengujian statistik lebih lanjut pada setiap konsentrasi antara kelompok Kontrol dan Ekstrak memperlihatkan hasil yang berbeda bermakna. Hal ini berarti pemberian EECM pada organ terpisah cincin aorta tikus dengan edotel dapat menurunkan tonus aorta jika dibandingkan dengan Kontrol. Semakin tinggi konsentrasi EECM yang diberikan dapat menyebabkan penurunan tonus aorta yang semakin besar dan semakin berbeda bermakna hasil uji statistiknya. Hal ini membuktikan bahwa EECM memiliki aktivitas vasodilatasi pada pemberian *in vitro*.

Vasodilatasi pembuluh darah diperantarai oleh: (1) endotel melalui pelepasan NO lalu mengaktivasi soluble guanylyl siklase (sGC) selanjutnya terjadi modulasi ion kalsium di otot polos pembuluh darah, atau (2) secara langsung pada otot polos pembuluh darah. Pada endotel terdapat berbagai reseptor seperti reseptor muskarinik M2 (asetil kolin), reseptor histamin H2 (histamin), reseptor vasopressin (arginin vasopressin), reseptor adrenergic- α_2 (adrenalin dan nor adrenalin), reseptor 5hidroksitriptamin/serotonin (5-HT1), reseptor kinin (bradikinin), reseptor purinergik (ADP), reseptor trombin (trombin), reseptor endotelin (endotelin). Setelah terjadi interaksi antara reseptor tersebut dengan agonis di sel endotel akan menyebabkan peningkatan ion kalsium di sitosol dan pelepasan NO, selanjutnya difusi ke otot polos pembuluh darah. Pada otot polos pembuluh darah, NO mengaktivasi sGC. Aktivasi sGC menyebabkan peningkatan cGMP. Aktivasi cGMP-dependent protein kinases menyebabkan inhibisi hidrolisis phosphatidil inositol 4,5 bifosfat (PIP2) menjadi inositol 1,4,5 trifosfat (IP3) pada otot polos aorta, peran IP3 adalah menginduksi pelepasan ion kalsium. (Katzung, 2014).

Peningkatan ion kalsium di sitosol otot polos pembuluh darah menyebabkan interaksi ion kalsium dengan kalmodulin sehingga terjadi kompleks kalsium-kalmodulin. Kompleks ini selanjutnya berikatan dengan myosin light chain kinases (MLCK) untuk membentuk enzim kompleks kalsiumkalmodulin-MLCK yang aktif. Kompleks aktif enzim ini menyebabkan fosforilasi pada myosin light chain sehingga terjadi penempelan *thick filament head* pada aktin. Fosforilasi ini membutuhkan satu ATP untuk mengontrol hubungan aktin myosin dalam terjadinya

kontraksi otot. Jika kalsium di sitosol menurun maka aktivitas kompleks kalmodulin-ion kalsium akan menurun, sehingga MLCK yang mengaktivasi miosin ATP-ase akan menurun, maka kepala miosin akan lepas dari aktin sehingga terjadi vasodilatasi pada pembuluh darah (Sherwood, 2014)

Aktivitas vasodilatasi pada penelitian ini diduga karena keberadaan curcuminoid yang ada pada EECM. Penelitian Curcuminoid dari rimpang *Curcuma longa* merupakan antagonis non-kompetitif pada reseptor $\alpha 1$ adrenergik (Nugroho *et al.*, 2008).

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak membuktikan keberadaan metabolit Curcuminoid dalam EECM dan pengujian bioassay dengan aorta tikus tanpa endotel sehingga tidak bisa membuktikan secara pasti aktivitas vasodilatasi EECM

dipengaruhi oleh endotel atau bekerja langsung pada otot polos pembuluh darah dengan memodulasi ion kalsium.

KESIMPULAN

Ekstrak Etanol *Curcuma mangga* telah dibuktikan memiliki aktivitas vasodilatasi pada pembuluh darah secara *in vitro*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kepala Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman yang telah memfasilitasi dan membantu dalam proses preparasi *bioassay*. Yunie Safiri yang turut membantu dalam proses ekstraksi dan pembuatan reagen untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelin, Y. E., Fitri Nugraha, D., & Mahdiyah, D. (n.d.). Pengaruh Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton and Zijp) Terhadap Berat Badan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). In *Sains Medisina* (Vol. 1, Issue 1).
- Adelin, Y. E., Fitri Nugraha, D., & Mahdiyah, D. (n.d.). Pengaruh Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton and Zijp) Terhadap Berat Badan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). In *Sains Medisina* (Vol. 1, Issue 1).
- Ariviani, S., Andriani, M. A. M., & Yani, F. (2013). Potensi temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) sebagai minuman fungsional. *Jurnal Teknosains Pangan*, 2(3).
- Katzung, B. G. (2014). *Basic & clinical pharmacology*.
- Didit Tri Kertapati. (2019). Kemenkes RI. Hipertensi Si Pembunuh Senyap. Publikasi. Jakarta Selatan. Diakses dari <https://mediakom.kemkes.go.id/2019/06/hipertensi-si-pembunuh-senyap-cegah-sebelum-terlambat/>
- Kemenkes RI. 2019. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta. Diakses dari <https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan%20Risikesdas%202018%20Nasional.pdf>
- Nugraha, D. F., Nastiti, K., & Rahmayani, R. (2023). Aktivitas Anti Dislipidemia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton and Zijp). *Jurnal Surya Medika*, 9(1), 260–266. <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5193>
- Olowofela, A. O., & Isah, A. O. (2017). A profile of adverse effects of antihypertensive medicines in a tertiary care clinic in Nigeria. *Annals of African Medicine*, 16(3), 114–119. https://doi.org/10.4103/aam.aam_617
- Ismail, S., Marliana, E., & Kosala, K. (2019). Effect of pH increasing of Wuluh star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) juice on vasodilatation activity. *Journal of Physics: Conference Series*, 1277(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1277/1/012017>
- Ismail, S., Kosala, K., Fikriah, I., & Magdaleni, A. R. (2017). Mechanism of Vasorelaxation Induced by *Coptosapelta flavescens* Stems Extract in Rat Thoracic Aorta. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 4(2), 96–102. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v4i2.146>
- Ismail, S., & Yuniati, D. (2016.). Aktivitas Vasodilatasi Pembuluh Darah secara in vitro dan Uji Toksisitas Akut Minuman Fungsional Herbal Kaltim. *J. Trop. Pharm. Chem.* 2016, 3(3).
- Sherwood, L. (2015). Sherwood Introduction to Human Physiology 8th edition. In *Sherwood Introduction to Human Physiology 8th edition* (pp. 5–24).