

Peran Ekstrak Kunyit dan Pegagan dalam Modifikasi Ekspresi Gen eNOS: Implikasi Terhadap Gangguan Ginjal pada Obesitas

Agus Sulaeman*, Eci Perayani, Soni Muhsinin, Nita Selifiana, Elis Susilawati, Marita Kaniawati, Aghnia Nurvianti Nafilah, Hendra Mahakam Putra

Artikel Penelitian

Abstract: Obesity is a global health problem closely associated with endothelial dysfunction, oxidative stress, and renal impairment, where endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and nitric oxide (NO) levels serve as critical biomarkers for endothelial function. This study aimed to evaluate the effects of turmeric (*Curcuma longa*) extract, pegagan (*Centella asiatica*) extract, and their combination on body weight, organ index, fat index, blood biomarkers, and renal eNOS gene expression in obese rats. Male white rats were randomly divided into six groups: normal control, negative control (high-fat diet), positive control (orlistat 10.8 mg/kgBW), turmeric extract (200 mg/kgBW), pegagan extract (200 mg/kgBW), and a combination of turmeric-pegagan extracts (200:100 mg/kgBW). Treatments were administered for 60 days, and parameters assessed included body weight, organ index, fat index, blood biomarkers (ITT, creatinine, NO, elastin), and renal eNOS expression using PCR. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. The results demonstrated that the combination of turmeric and pegagan extracts significantly reduced body weight, liver, kidney, and heart indices, as well as visceral fat index, while improving blood biomarkers through the reduction of creatinine levels, along with an increase in NO serum approaching normal compared with the negative control group; the respective mean values were $-10.14 \pm 0.57\%$, $5.52 \pm 0.73\%$, $1.23 \pm 0.21\%$, $0.64 \pm 0.06\%$, $1.35 \pm 0.05\%$, 0.33 ± 0.06 mg/dL, dan 5.14 ± 0.58 $\mu\text{mol/L}$. Renal eNOS expression exhibited an increasing trend in the combination group, although not statistically significant. In conclusion, the combination of turmeric and pegagan extracts exerts synergistic effects in improving endothelial dysfunction and renal impairment in obesity through lipid profile modulation, reduction of organ damage biomarkers, and enhancement of NO bioavailability.

Keywords: Turmeric Extract, Centella Asiatica Extract, eNOS Gene Expression, Kidney Tissue, Obesity

Fakultas Farmasi,
Universitas Bhakti
Kencana. Jl. Soekarno
Hatta No. 754.
Bandung

Korespondensi:

Agus Sulaeman
Agus.sulaeman@bku.ac.id

Abstrak: Obesitas merupakan masalah kesehatan global yang berkaitan erat dengan disfungsi endotel, stres oksidatif, dan gangguan ginjal, di mana *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) dan kadar *nitric oxide* (NO) menjadi biomarker penting untuk menjaga fungsi endotel. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek ekstrak kunyit (*Curcuma longa*), pegagan (*Centella asiatica*), serta kombinasinya terhadap bobot badan, indeks organ, indeks lemak, biokimia darah, dan ekspresi gen eNOS pada ginjal tikus obesitas. Penelitian eksperimental ini menggunakan tikus putih jantan Wistar yang dikelompokkan secara acak kedalam enam kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol negatif (diet tinggi lemak), kontrol positif (orlistat 10,8 mg/kgBB), ekstrak kunyit (200 mg/kgBB), ekstrak pegagan (200 mg/kgBB), serta kombinasi kunyit-pegagan (200:100 mg/kgBB). Perlakuan diberikan selama 60 hari, dengan parameter meliputi bobot badan, indeks organ, indeks lemak, biomarker darah (KTTI, kreatinin, NO, elastin), dan ekspresi gen eNOS menggunakan PCR. Analisis statistik dilakukan dengan one-way ANOVA dilanjutkan uji post hoc Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kunyit dan pegagan secara signifikan menurunkan bobot badan, indeks organ hati, ginjal, dan jantung, serta indeks lemak visceral, sekaligus memperbaiki biomarker darah melalui penurunan kreatinin, serta meningkatkan



Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 4.0 International License

kadar NO serum mendekati normal dibandingkan dengan kontrol negatif dengan nilai rata-rata masing-masing sebesar $-10.14 \pm 0.57\%$, $5.52 \pm 0.73\%$, $1.23 \pm 0.21\%$, $0.64 \pm 0.06\%$, $1.35 \pm 0.05\%$, 0.33 ± 0.06 mg/dL, dan 5.14 ± 0.58 μ mol/L. Analisis ekspresi gen eNOS pada ginjal menunjukkan adanya tren peningkatan pada kelompok kombinasi, meskipun tidak signifikan secara statistik. Secara keseluruhan, kombinasi ekstrak kunyit dan pegagan berpotensi memberikan efek sinergis dalam memperbaiki disfungsi endotel dan gangguan ginjal akibat obesitas melalui mekanisme perbaikan profil lipid, penurunan biomarker kerusakan organ, serta peningkatan ketersediaan NO lebih baik dibandingkan ekstrak kunyit dan pegagan tunggal.

Kata kunci: Ekstrak Kunyit, Ekstrak Pegagan, Ekspresi Gen eNOS, Jaringan Ginjal, Obesitas

Pendahuluan

Obesitas merupakan masalah kesehatan global yang prevalensinya terus meningkat setiap tahunnya. Data terbaru dari World Health Organization (WHO) menunjukkan bahwa pada tahun 2022, 1 dari 8 orang di dunia hidup dengan obesitas. Secara global, prevalensi obesitas dewasa lebih dari dua kali lipat sejak 1990, sementara pada remaja meningkat hingga empat kali lipat. Pada tahun 2022, tercatat 2,5 miliar orang dewasa (≥ 18 tahun) mengalami kelebihan berat badan, dan 890 juta di antaranya tergolong obesitas (1). Secara proporsional, sekitar 43% orang dewasa mengalami *overweight* dan 16% obesitas. Lebih mengkhawatirkan lagi, pada 2024 terdapat 35 juta anak di bawah usia 5 tahun yang mengalami *overweight*, serta lebih dari 390 juta anak dan remaja berusia 5–19 tahun yang *overweight*, termasuk 160 juta dengan obesitas (1-3).

Di Indonesia, temuan Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023 menunjukkan bahwa 23,4% penduduk dewasa (≥ 18 tahun) mengalami obesitas (IMT $\geq 27,0$), dan 36,8% memiliki obesitas sentral. Jika digabung, proporsi *overweight* dan obesitas pada dewasa mencapai 51%, menandakan beban kardiometabolik yang tinggi di populasi (4). Kondisi ini tidak hanya berdampak pada metabolisme energi, tetapi juga memicu berbagai komplikasi, termasuk penyakit jantung, diabetes mellitus tipe 2, hipertensi, dan Chronic Kidney Disease (CKD) (5-8).

Salah satu aspek penting dalam patofisiologi obesitas adalah terjadinya disfungsi endotel, yaitu gangguan pada sel-sel endotel pembuluh darah yang memengaruhi kemampuan pembuluh untuk melakukan dilatasi (9, 10). Disfungsi ini disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif, resistensi insulin, dan pelepasan sitokin proinflamasi seperti Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) dan Interleukin-6 (IL-6), yang berkontribusi terhadap penurunan ekspresi dan aktivitas enzim eNOS, penghasil utama NO (11-15). NO merupakan molekul vasodilator yang esensial dalam menjaga tonus vaskular, mencegah agregasi trombosit, dan mempertahankan perfusi organ, termasuk ginjal. Penurunan ketersediaan NO menyebabkan vasokonstriksi, hipoperfusi ginjal, serta kerusakan glomerulus dan tubulus, sehingga

mempercepat progresivitas gangguan ginjal pada penderita obesitas (16, 17).

Dalam beberapa tahun terakhir, meningkatnya resistensi terhadap terapi farmakologis dan efek samping jangka panjang mendorong pencarian alternatif berbasis bahan alam. Tanaman obat tradisional menawarkan senyawa bioaktif yang berpotensi mengatasi berbagai jalur patologi obesitas, termasuk gangguan endotel dan ginjal. Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan tanaman yang kaya akan kurkumin, senyawa polifenol dengan aktivitas anti-inflamasi, antioksidan, dan antiadipogenik (18, 19). Kurkumin telah terbukti dapat menurunkan kadar ROS, menekan ekspresi TNF- α , dan meningkatkan ekspresi eNOS serta kadar NO pada model tikus obesitas (20-22).

Sementara itu, pegagan (*Centella asiatica*), yang kaya akan triterpenoid seperti asiaticoside dan madecassoside (23, 24), telah digunakan secara tradisional untuk meningkatkan sirkulasi darah, memperkuat dinding pembuluh, dan mengurangi fibrosis. Beberapa studi menunjukkan bahwa pegagan juga dapat memperbaiki disfungsi endotel dan mencegah kerusakan vaskular, meskipun mekanisme molekuler secara spesifik terhadap ekspresi eNOS di organ ginjal masih jarang dilaporkan (25, 26). Selain itu mengkombinasikan kunyit dan pegagan menghasilkan efek sinergis pada kekakuan arteri yang disebabkan oleh obesitas dan disfungsi endotel sebagai faktor risiko penyakit kardiovaskular (27).

Meskipun ekstrak kunyit dan pegagan telah diteliti secara terpisah dalam berbagai konteks, belum banyak penelitian yang meneliti efek kombinasi kedua ekstrak tersebut terhadap ekspresi gen eNOS pada organ ginjal tikus obesitas. Padahal, kombinasi tersebut secara teoritis berpotensi memberikan efek sinergis dalam memperbaiki fungsi endotel dan struktur vaskular ginjal melalui penekanan peradangan dan peningkatan bioavailabilitas NO. Selain itu, riset yang secara langsung mengevaluasi ekspresi gen eNOS pada organ ginjal (bukan hanya endotel perifer) dalam konteks obesitas masih sangat terbatas.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi kombinasi ekstrak kunyit

dan pegagan dalam memodifikasi ekspresi gen eNOS pada organ ginjal, sebagai pendekatan terapi alternatif yang aman dan berbasis molekuler untuk mencegah atau memperbaiki disfungsi ginjal akibat obesitas. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah bagi pengembangan fitoterapi integratif yang lebih efektif untuk komplikasi vaskular pada obesitas.

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berupa simplisia rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) yang diperoleh dari BALITTRO, Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat. Untuk memastikan kebenaran identitas, determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Padjadjaran. Hasil determinasi menyatakan bahwa bahan yang digunakan benar merupakan simplisia rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) dengan nomor identifikasi 35/HB/01/2025 dan simplisia herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan nomor identifikasi 34/HB/01/2025.

Larutan Na-CMC 1%, ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.), ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb), pakan tinggi lemak (lemak sapi, tepung terigu, tepung kacang hijau, tepung ikan, tepung jagung, minyak sayur), air, orlistat, etanol 96%, cadmium, asam sulfanilat, NED, ZnSO₄, NaNO₂, aquadest, etanol 95%, RScript cDNA Synthesis Kit Bio-Helix dan PanGreen Universal SYBR Green Master Mix Bio-Helix.

Metode

Pembuatan Ekstrak Etanol Pegagan dan Kunyit

Rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) yang dilakukan sortasi basah dengan memilih bagian-bagian yang tidak rusak kemudian dicuci bersih, dirajang tipis-tipis, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 3 hari untuk selanjutnya diekstraksi. Serbuk simplisia yang telah diperoleh kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% pada suhu ruangan selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan dipisahkan

menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50-60°C.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Pegagan dan Kunyit

Skrining fitokimia ekstrak etanol kunyit dan pegagan dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekundernya. Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan 0,5 g ekstrak dalam alkohol asam, dipanaskan, lalu difiltrasi. Filtrat kemudian diekstraksi dengan kloroform dan asam asetat, selanjutnya diuji dengan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Wagner, yang masing-masing menghasilkan endapan putih serta coklat kemerahan sebagai indikator positif alkaloid (28). Uji flavonoid dilakukan dengan merebus ekstrak dalam air panas, kemudian filtrat dicampur dengan serbuk magnesium, alkohol klorhidrat, dan amil alkohol. Kehadiran flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (28). Uji saponin menggunakan filtrat yang sama dengan metode flavonoid, yang dikocok hingga menghasilkan busa stabil yang tidak hilang setelah penambahan HCl 1% (28). Kandungan tanin diuji dengan merebus ekstrak dalam air, kemudian ditambahkan pereaksi FeCl₃ 0,1% yang menghasilkan warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman, serta uji gelatin yang menghasilkan endapan putih (28). Sementara itu, uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan maserasi sampel menggunakan heksana, lalu ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan perubahan warna hijau atau biru mengindikasikan adanya steroid. Hasil uji ini menunjukkan bahwa ekstrak kunyit dan pegagan positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, serta steroid/terpenoid yang berperan penting dalam aktivitas farmakologisnya.

Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa tikus putih jantan Wistar dengan usia 3 bulan dan berat badan antara 180-220 gram. Sebelum pemberian perlakuan, penelitian telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Padjadjaran, Bandung, dengan nomor persetujuan 426/UN6.KEP/EC/2025.

Hewan uji dipilih secara acak dan diberi penanda khusus untuk memudahkan identifikasi masing-masing individu. Selanjutnya, hewan diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan. Setelah masa aklimatisasi, tikus dibagi

ke dalam 6 kelompok perlakuan (Tabel 1). Penimbangan berat badan dilakukan setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan selama 60 hari.

Tabel 1. Pengelompokkan Perlakuan Hewan Uji

Kelompok	Perlakuan
Kontrol Negatif (-)	Pakan Normal
Kontrol Positif (+)	Pakan Induksi
Kontrol Pemanding (Orlistat)	Pakan Induksi + orlistat
Kelompok Uji 1	Pakan induksi + konsentrasi ekstrak herba pegagan 200 mg/kg BB
Kelompok Uji 2	Pakan induksi + konsentrasi ekstrak rimpang kunyit 200 mg/kg BB
Kelompok Uji 3	Pakan induksi + konsentrasi ekstrak herba pegagan 100 mg/kg BB dan rimpang kunyit 200 mg/kgBB

Pengukuran Kadar NO

Efek vasodilatasi yang melibatkan NO dipelajari secara in vivo dengan mengukur kadar nitrit dalam serum dengan reagen Griess. Darah tikus diambil sebelum dan sesudah pemberian ekstrak. Sampel darah disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 100 µL serum dideproteinasi dengan penambahan 20 µL ZnSO₄ 6%, kemudian disentrifugasi lagi. Supernatan direaksikan dengan kadmium selama 15 menit dan ditambahkan 50 µL reagen Griess, lalu diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 546 nm menggunakan spektrofotometer visibel. Konsentrasi NO dalam serum ditentukan dari kurva baku linier yang ditetapkan (29).

Pengukuran Kadar Kreatinin

Pengukuran kadar kreatinin menggunakan metode Jaffe dan spektrofotometri untuk mengukur konsentrasi kreatinin dalam darah. Reagen yang digunakan dari Reiged dengan nomor katalog kreatinin RD-CRE250.

Pengukuran Kadar Elastin

Kadar elastin serum diukur dengan kit ELISA Rat Elastin (ELN) E1807Ra (Bioassay Technology Laboratory) sesuai petunjuk pabrikan. Reagen, standar, dan sampel dibawa ke suhu ruangan sebelum digunakan. Standar (50 µL) dimasukkan ke sumur standar, sedangkan sampel (40 µL) ditambahkan antibodi ELN (10 µL), lalu ditambahkan streptavidin-HRP (50 µL) ke semua sumur kecuali blanko. Pelat diinkubasi 60 menit pada 37°C, lalu dicuci lima kali dengan buffer pencuci. Substrat A dan B (masing-masing 50 µL) ditambahkan, diinkubasi 10 menit dalam gelap pada 37°C, lalu reaksi dihentikan dengan larutan stop (50 µL), menghasilkan perubahan warna biru menjadi kuning. Intensitas warna diukur pada 450 nm dalam waktu ≤10 menit setelah penambahan stop, dan konsentrasi elastin dihitung berdasarkan kurva standar.

Analisis Ekspresi Gen eNOS

Ekspresi gen eNOS diukur menggunakan metode semi-kuantitatif polymerase chain reaction (qPCR). Organ ginjal dipersiapkan dari tikus yang telah dibius dan didekapitasi,

kemudian ginjal diambil secara cepat dan dibersihkan dengan NaCl fisiologis hingga bening. Ginjal ditimbang, dimasukkan ke dalam mortar, dicampur dengan nitrogen cair, lalu digerus hingga halus. RNA berhasil diisolasi dari organ, kemudian dikonversi menjadi cDNA. Amplifikasi DNA dilakukan melalui qPCR, diikuti oleh karakterisasi produk PCR dengan elektroforesis dan analisis semi-kuantitatif.

Isolasi RNA

Isolasi RNA dilakukan sesuai protokol standar. Organ ginjal dari masing-masing kelompok perlakuan dihancurkan menggunakan lumpang dan alu, lalu segera dicampur dengan nitrogen cair untuk mencegah degradasi RNA. Sebanyak 20 mg organ ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung mikro, kemudian ditambahkan 175 μ L *RNA Lysis Buffer* yang telah dicampur dengan β -mercaptoethanol (BME). Organ dihomogenkan hingga seragam dan tidak ada fragmen tersisa. Tabung kemudian ditimbang kembali untuk memastikan rasio massa organ terhadap *RNA Lysis Buffer* sekitar 171 mg/mL. Sebanyak 175 μ L lisat dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi 1,5 mL, sementara sisanya disimpan pada suhu -20°C atau -70°C . Lisat dicampur dengan 350 μ L *RNA Dilution Buffer*, diaduk pelan dengan membalik tabung 3–4 kali, lalu inkubasi dalam blok pemanas pada suhu 70°C selama 3 menit. Proses inkubasi harus tepat waktu untuk menjaga integritas struktur RNA. Setelah inkubasi, larutan disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan supernatan dari debris.

Selanjutnya, RNA dipurifikasi menggunakan metode *spin*. Supernatan hasil sebelumnya dicampur dengan 200 μ L etanol untuk membantu pengendapan, kemudian dipindahkan ke *Spin Column Assembly* dan disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. Spin basket dipisahkan dari *collection tube* untuk membuang cairan, lalu dipasang kembali. Untuk pencucian, ditambahkan 600 μ L *RNA Wash Solution*, disentrifugasi 1 menit pada kecepatan yang sama, lalu diulang dengan 250 μ L *RNA Wash Solution* selama 2 menit untuk memastikan kebersihan RNA dari kontaminan. DNA genom dihilangkan dengan menambahkan 50 μ L campuran DNase segar (terdiri dari Yellow Core Buffer, MnCl_2 , dan DNase I) ke membran *spin*

column, diinkubasi pada suhu 20 – 25°C selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan 200 μ L DNase Stop Solution dan disentrifugasi kembali 1 menit. RNA murni akhirnya dielusi dengan menambahkan 100 μ L *Nuclease-Free Water* secara langsung ke membran, disentrifugasi selama 1 menit, dan hasil RNA disimpan di tabung elusi pada suhu -70°C untuk penyimpanan jangka panjang. Campuran DNase terdiri dari Yellow Core Buffer 40 μ L, 0,09 M MnCl_2 5 μ L dan Enzim DNase 1 5 μ L

Sintesis cDNA

Sintesis cDNA dilakukan berdasarkan panduan dari protokol Kit Sintesis cDNA RScript Bio-Helix. Untuk setiap reaksi sintesis cDNA 20 μ L dirangkai campuran mix dalam tabung PCR kemudian disimpan di atas es sebelum digunakan. Primer yang digunakan gen eNOS (Forward: AAGTGGGCAGCATCACCTAC, Reverse: GCCTGGGAACCACTCCTTTT) dan β -actin (Forward: CCTCTATGCCAACACAGTGC Reverse: CATCGTACTCCTGCTTGCTG).

Campuran reaksi sintesis cDNA untuk 1 kali reaksi diperlukan 20 μ L terdiri dari RNA template 5 μ L, 5X Sharp Reaction Mix (Including dNTPs, MgCl_2 4 μ L, Primer Oligo d(T) 0,5 μ L, Random Hexamer Primer 0,5 μ L, RScript Enzyme Mix 2 μ L, Rnase Inhibitor 1 μ L dan Nuclease-Free Water 7 μ L.

RNA template, Primer dan RScript Enzyme Mix dicampur dan dipanaskan pada suhu 65°C selama 5 menit sebelumnya. Setelah RNA dipanaskan dan diinkubasi di atas penangas es setidaknya 1 menit kemudian ditambahkan komponen lain sesuai dengan tabel. Dicampur larutan reaksi dengan cara memipet selanjutnya tabung ditutup dan diletakkan di penangas air yang dikontrol suhu atau blok panas, inkubasi tabung pada suhu 55°C selama 50 menit untuk langkah ekstensi pada kisaran suhu 42°C – 60°C kemudian tabung reaksi diinkubasi pada suhu 70°C selama 15 menit untuk menonaktifkan *reverse transcriptase* sebelum amplifikasi.

Karakterisasi cDNA Secara Kualitas dan Kuantitas

Kualitas cDNA dianalisis menggunakan metode elektroforesis gel agarosa untuk mengidentifikasi pola pita DNA di bawah paparan sinar UV. Elektroforesis dilakukan dengan gel

agarosa berkonsentrasi 2 % yang dilarutkan dalam larutan buffer TBE 1x (Tris-borate-EDTA) dan ditambahkan 0,5 µL pewarna diamond. Sampel RNA sebanyak 5 µL dicampurkan dengan 1 µL larutan loading dye. Dalam proses ini, digunakan ladder 100 bp sebagai penanda ukuran (marker). Elektroforesis dijalankan selama 30 menit dengan tegangan 100 V, sesuai dengan protokol yang digunakan (30).

Kemurnian dan konsentrasi cDNA diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Mikrodrip (Thermo Scientific™ Multiskan™ Sky). Sampel sebanyak 1-2 µL kemudian diaplikasikan pada pada microplate, dan pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Rasio A260/A280 digunakan untuk menentukan kemurnian dan konsentrasi cDNA dihitung berdasarkan nilai absorbansi pada A260, yang menghasilkan data konsentrasi dalam

satuan µg/mL. Permukaan microplate dibersihkan menggunakan tisu bebas serat sebelum dan sesudah setiap pengukuran untuk menghindari adanya kontaminasi yang bisa mempengaruhi hasil.

Kuantitatif Real-Time PCR (qPCR)

Kuantifikasi ekspresi gen dilakukan menggunakan metode PCR kuantitatif berbasis pewarna (qPCR) dengan PanGreen™ Universal SYBR® Green Master Mix (Bio Helix). Reagen ini mengandung DNA polimerase hot-start, dNTPs, MgCl₂, pewarna fluoresen SYBR® Green I, serta buffer dan stabilisator yang telah dioptimalkan untuk qPCR. Seluruh komponen, termasuk master mix dan primer (Tabel 2), dicairkan pada suhu 4°C dan dicampur secara merata. Campuran master mix untuk setiap reaksi disiapkan dalam volume total 10 µL dalam tabung 0,1 mL 8 strip tubes PCR.

Tabel 2. Campuran Master Mix qPCR

Komponen	Volume per Reaksi 10 µL	Konsentrasi Akhir
PanGreen™ Universal SYBR® Green Master Mix (2x)	5 µL	1x
Primer Forward	0,5 µL	300 – 500 nM each primer
Primer Reverse	0,5 µL	
DNA Template	1,0 µL	cDNA: 1 pg – 10 ng
Nuclease-free water	3,0 µL	
Total volume campuran reaksi	10 µL	

Reaksi dilakukan dengan *real-time PCR* menggunakan instrumen Agilent AriaMx, dengan siklus awal denaturasi pada 95°C selama 30 detik, diikuti oleh 40 siklus amplifikasi masing-masing terdiri dari denaturasi 95°C selama 15 detik, dan annealing serta ekstensi pada 60°C selama 30 detik. Pembacaan fluoresensi SYBR Green dilakukan di akhir setiap siklus selama tahap annealing/ekstensi. Setelah amplifikasi, dilakukan analisis kurva leleh untuk memverifikasi spesifisitas produk. Hasil amplifikasi dianalisis berdasarkan nilai *Ct* menggunakan perangkat lunak bawaan instrumen. Ekspresi gen relatif dihitung dengan metode $\Delta\Delta Ct$, menggunakan gen referensi sebagai

kontrol internal menggunakan gen referensi sebagai kontrol internal dengan rumus:

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{(enos)} - \Delta Ct_{(\beta-actin)}$$

$$\Delta Ct = Ct_{(enos)} - Ct_{(\beta-actin)}$$

$$Fold\ Chang = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Uji Statistika

Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism versi 10.1.0. Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk rerata ± standar deviasi (mean ± SD). Perbedaan antar kelompok dianalisis menggunakan uji one-way Analysis of Variance (ANOVA), diikuti dengan uji lanjut (post hoc test) Tukey untuk mengetahui

perbedaan antar pasangan kelompok. Tingkat signifikansi ditetapkan pada nilai $p < 0,05$ (*significant*), $p < 0,001$ (*very significant*), dan $p < 0,0001$ (*extremely significant*).

Hasil dan Diskusi

Hasil

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia yang ditampilkan pada Tabel 3 mengungkapkan bahwa ekstrak rimpang kunyit positif mengandung alkaloid,

flavonoid, tanin, serta triterpenoid, yang mendukung profil bioaktifnya sebagaimana dilaporkan oleh (31). Sementara itu, herba pegagan terbukti mengandung flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid, temuan yang konsisten dengan hasil penelitian (32). Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menegaskan potensi kunyit dan pegagan sebagai sumber fitonutrien penting yang berperan dalam aktivitas farmakologis, termasuk efek anti-inflamasi, antioksidan, serta proteksi terhadap disfungsi metabolik.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Rimpang Kunyit dan Herba Pegagan

Golongan senyawa	Rimpang kunyit (31)		Herba pegagan (32)	
	Hasil		Hasil	
Alkaloid	+	+	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Saponin	-	-	+	+
Steroid/ Triterpenoid	+	+	+	+

Keterangan: (+) : Teridentifikasi (-) :Tidak Teridentifikasi

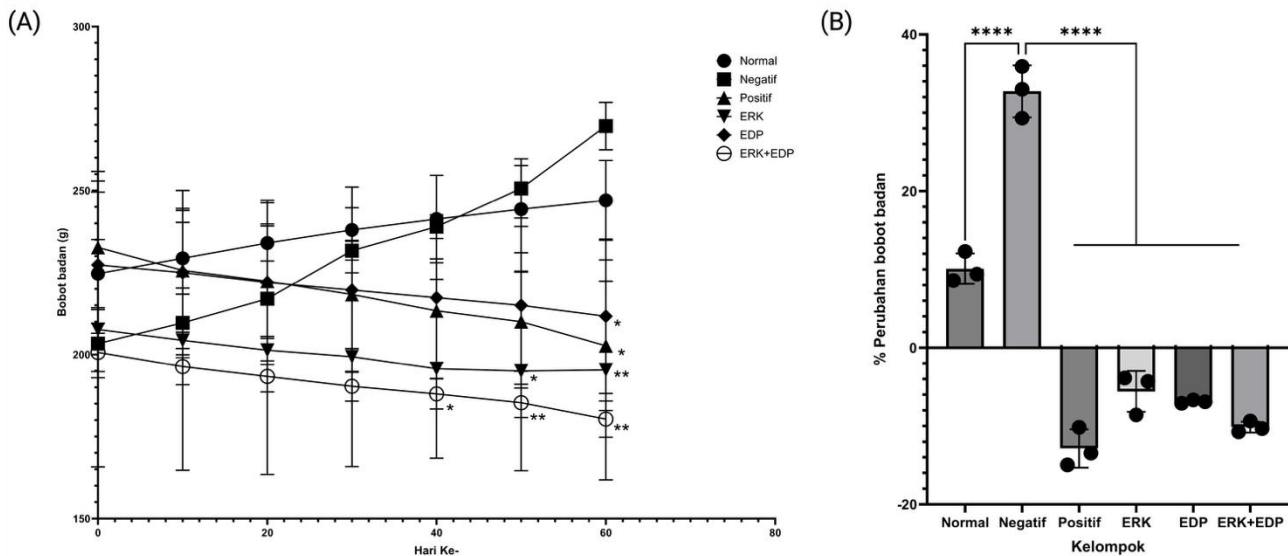
Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit dan Pegagan Terhadap Bobot Badan

Pada Gambar 1A, terlihat bahwa kelompok normal dan kontrol negatif menunjukkan peningkatan bobot badan secara progresif hingga hari ke-60, dengan peningkatan tertinggi terjadi pada kelompok kontrol negatif. Sebaliknya, kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kunyit (ERK), ekstrak pegagan (EDP), maupun kombinasi keduanya (ERK+EDP) menunjukkan tren penurunan bobot badan sejak awal perlakuan. Efek penurunan paling kuat tampak pada kelompok kombinasi ERK+EDP, yang konsisten menurun hingga hari ke-60.

Gambar 1B memperlihatkan persentase perubahan bobot badan pada hari ke-60 dibandingkan hari ke-0. Kelompok kontrol negatif mengalami peningkatan bobot badan yang signifikan ($30,70 \pm 4,86$) gram, sedangkan

kelompok normal hanya mengalami peningkatan moderat ($11,73 \pm 2,34$) gram. Kelompok ERK, EDP, dan terutama kombinasi ERK+EDP menunjukkan penurunan bobot badan relatif terhadap kondisi awal (hingga $-10,14 \pm 0,57$) gram. Uji statistik one-way ANOVA yang diikuti dengan uji post hoc Tukey menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($****p < 0,0001$), khususnya antara kelompok ERK, EDP, dan kombinasi ERK+EDP dengan kelompok kontrol negatif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kunyit, pegagan, maupun kombinasinya mampu menghambat kenaikan bobot badan tikus obesitas yang diinduksi pakan tinggi lemak, dengan efek paling nyata ditunjukkan oleh kombinasi ERK+EDP. Temuan ini mendukung hipotesis bahwa kedua tanaman tersebut memiliki efek sinergis dalam mengatasi obesitas.



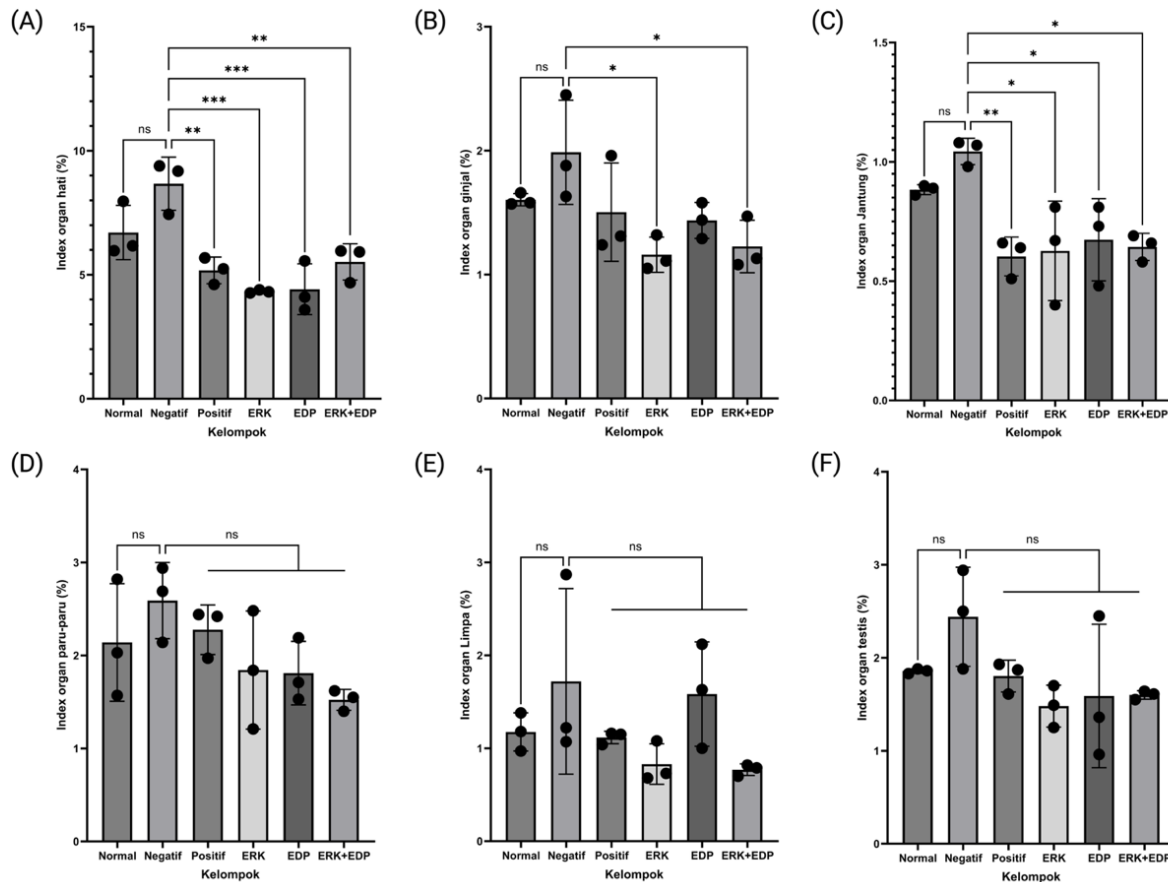
Gambar 1. Perubahan bobot badan tikus selama perlakuan. (A) Perkembangan bobot badan tikus dari hari ke-0 hingga hari ke-60 pada masing-masing kelompok perlakuan. (B) Persentase perubahan bobot badan pada hari ke-60 dibandingkan hari ke-0. Normal = Kontrol normal; Negatif = Induksi pakan tinggi lemak; 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 \pm 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.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kunyit dan Pegagan Terhadap Indeks Organ

Pengamatan terhadap index organ menunjukkan adanya perbedaan respon antar kelompok perlakuan. Pada organ hati (Gambar 2A), kelompok kontrol negatif dan positif mengalami peningkatan index hati yang signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Pemberian ERK, EDP, maupun kombinasi ERK+EDP secara nyata menurunkan index hati dengan tingkat signifikansi p < 0,01 hingga p < 0,001 dibandingkan kelompok kontrol negatif. Pada organ ginjal (Gambar 2B), terjadi penurunan bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol negatif dengan efek paling kuat ditunjukkan oleh kombinasi ERK+EDP (p < 0,05). Hal serupa juga terlihat pada

organ jantung (Gambar 2C), di mana kelompok perlakuan mengalami penurunan index organ yang signifikan dibandingkan kelompok obesitas (p < 0,05–0,01).

Sementara itu, pada organ paru-paru, limpa, dan testis (Gambar 2D-2F) tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antar kelompok (*not significant*), meskipun terdapat tren penurunan nilai index organ pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kunyit, pegagan, maupun kombinasinya mampu memperbaiki perubahan morfometrik organ akibat obesitas, terutama pada hati, ginjal, dan jantung, sedangkan pada organ lain perubahannya relatif tidak bermakna.



Gambar 2. Index organ tikus setelah perlakuan selama 60 hari. Index organ diukur pada beberapa organ utama tikus setelah 60 hari perlakuan, ditampilkan sebagai persentase berat organ terhadap berat badan total. (A) Hati, (B) Ginjal, (C) Jantung, (D) Paru-paru, (E) Limpa, dan (F) Testis. 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 \pm 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.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kunyit dan Pegagan Terhadap Indeks Lemak

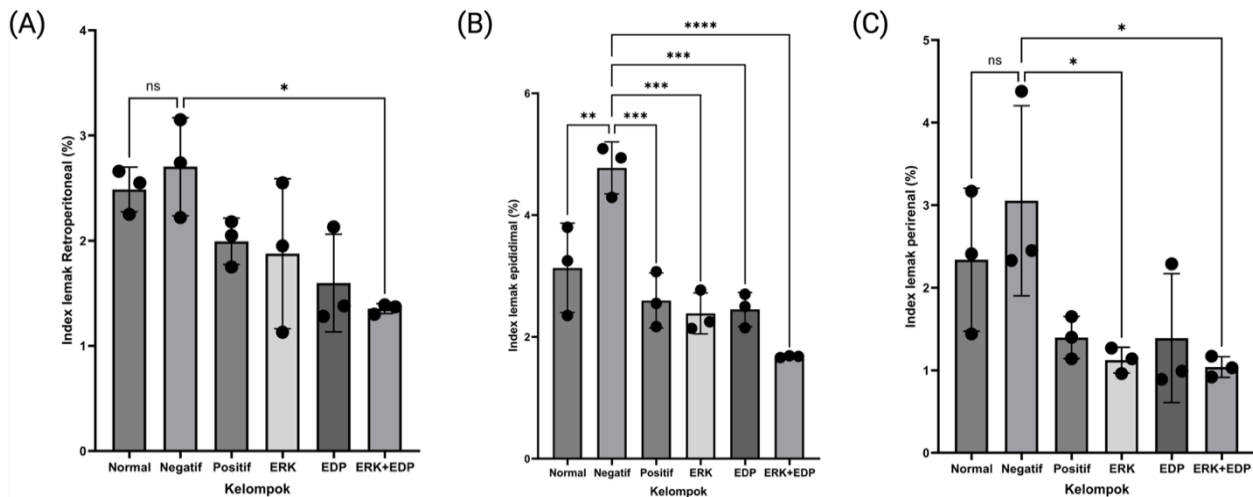
Pengukuran index lemak pada berbagai jaringan adiposa menunjukkan bahwa obesitas menyebabkan peningkatan signifikan pada beberapa depot lemak, sedangkan pemberian ekstrak kunyit, pegagan, maupun kombinasinya mampu menurunkan nilai tersebut. Pada lemak retroperitoneal (Gambar 3A), kelompok kontrol negatif memperlihatkan nilai tertinggi dibandingkan kelompok perlakuan. Pemberian kombinasi ERK+EDP menghasilkan penurunan

index lemak retroperitoneal yang signifikan (p < 0,05) dibandingkan kelompok negatif

Hasil pada lemak epididimal (Gambar 3B) menunjukkan pola yang serupa, di mana kelompok kontrol negatif mengalami peningkatan yang sangat signifikan dibandingkan kelompok perlakuan. Pemberian ekstrak kunyit, pegagan, dan terutama kombinasinya mampu menurunkan index lemak epididimal secara bermakna (*p < 0,01 hingga p < 0,0001), dengan efek terbesar pada kelompok kombinasi.

Sementara itu, pada lemak perirenal (Gambar 3C), kelompok kontrol negatif kembali menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan kelompok normal dan perlakuan. Pemberian ekstrak, khususnya kombinasi ERK+EDP, secara signifikan menurunkan index lemak perirenal ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok obesitas.

Secara keseluruhan, data ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kunyit dan pegagan memberikan efek protektif yang lebih kuat dibandingkan pemberian tunggal, dengan menurunkan akumulasi lemak pada berbagai jaringan adiposa visceral.



Gambar 3. Index jaringan lemak tikus setelah perlakuan selama 60 hari. Index jaringan lemak diukur sebagai persentase berat jaringan adiposa terhadap berat badan total. (A) Lemak retroperitoneal, (B) Lemak epididimal, dan (C) Lemak perirenal. 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 \pm 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.

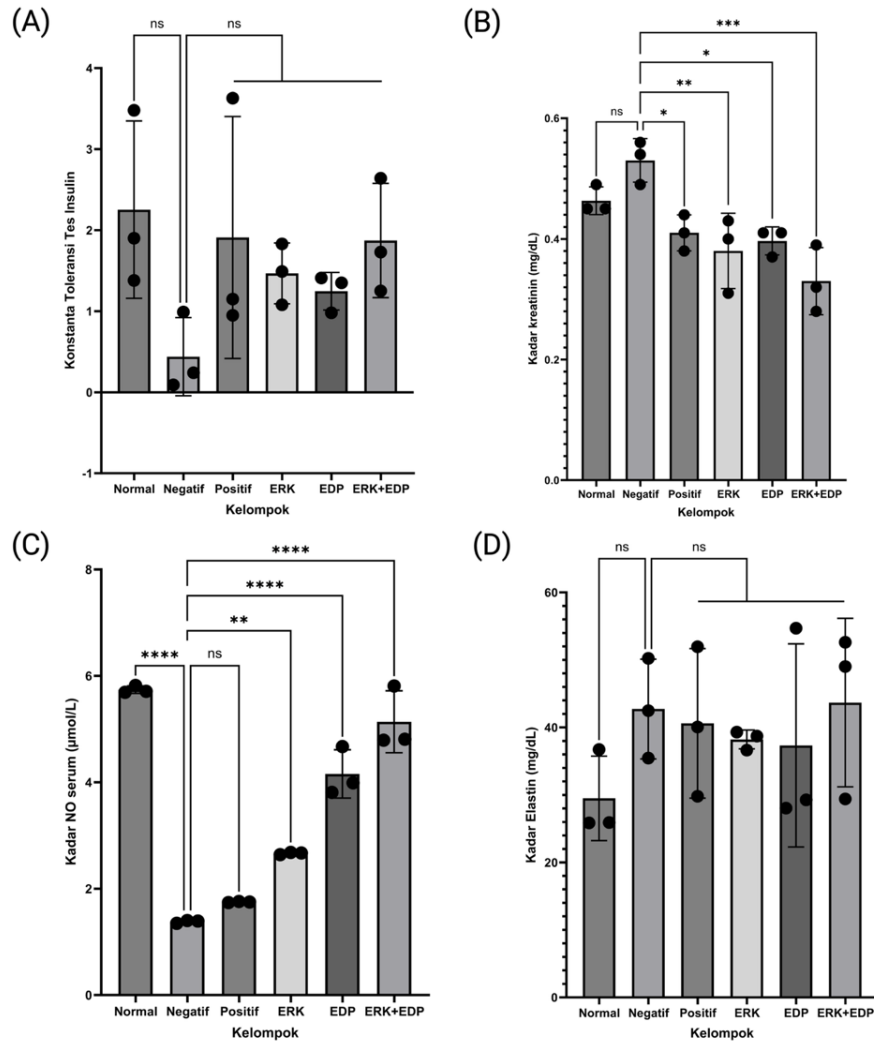
Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kunyit dan Pegagan Terhadap Biokimia Darah

Pemeriksaan biokimia darah memperlihatkan adanya perbedaan yang jelas antar kelompok perlakuan. Pada parameter toleransi tes insulin (Gambar 4A), tidak ditemukan perbedaan signifikan antar kelompok (ns), meskipun terlihat tren perbaikan pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol negatif.

Kadar kreatinin serum (Gambar 4B) juga mengalami peningkatan pada kelompok kontrol negatif, yang mencerminkan gangguan fungsi ginjal. Pemberian ekstrak kunyit, pegagan, dan kombinasinya menurunkan kadar kreatinin secara signifikan dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05-0,001$), dengan penurunan terbesar pada kombinasi ERK+EDP.

Pada parameter NO serum (Gambar 4C), terjadi penurunan signifikan pada kelompok obesitas dibandingkan normal ($p < 0,0001$). Pemberian ekstrak, khususnya ERK+EDP, meningkatkan kadar NO serum secara signifikan ($p < 0,01-0,0001$), bahkan mendekati kelompok normal. Hasil ini konsisten dengan dugaan bahwa kombinasi kunyit dan pegagan dapat memperbaiki disfungsi endotel melalui peningkatan ekspresi eNOS.

Sementara itu, kadar elastin serum (Gambar 4D) tidak menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok (ns), meskipun terdapat kecenderungan perbaikan pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol negatif.



Gambar 4. Biomarker darah tikus setelah perlakuan selama 60 hari. Pemeriksaan biomarker darah tikus dilakukan untuk menilai fungsi metabolik, hati, ginjal, dan endotel. (A) Tes toleransi insulin, (B) Kreatinin serum, (C) Nitric oxide (NO) serum, dan (D) Elastin serum. 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.

Secara keseluruhan, hasil biokimia darah ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kunyit dan pegagan lebih efektif dibandingkan pemberian tunggal dalam memperbaiki fungsi hati, ginjal, serta endotel pada tikus obesitas, dengan peningkatan signifikan pada kadar NO sebagai indikator perbaikan disfungsi endotel.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kunyit dan Pegagan Terhadap Ekspresi gen eNOS

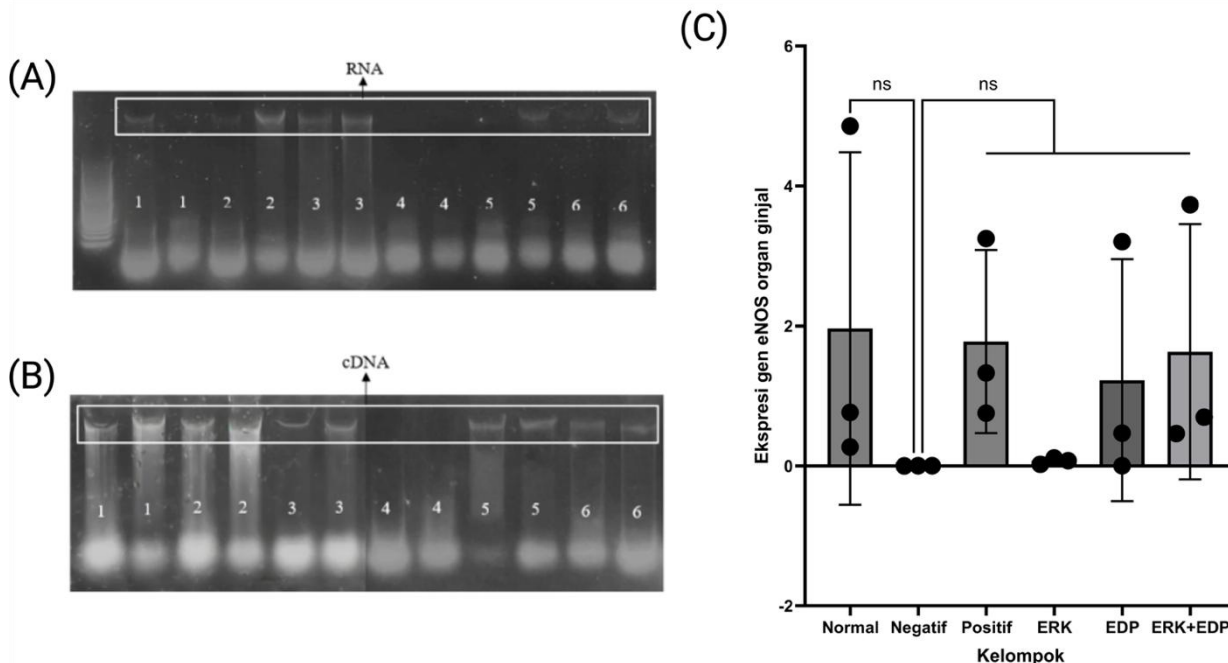
Hasil isolasi RNA total dari organ ginjal tikus (Gambar 5A dan Tabel 4) menunjukkan pita RNA yang jelas dan utuh pada semua kelompok perlakuan, menandakan bahwa kualitas RNA masih baik untuk dianalisis lebih lanjut. Proses transkripsi balik berhasil mengubah RNA menjadi cDNA (Gambar 5B dan Tabel 5), yang ditunjukkan oleh adanya pita cDNA pada semua sampel. Hal ini mengonfirmasi bahwa RNA yang diekstraksi layak digunakan untuk analisis PCR.

Tabel 4. Konsentrasi dan Kemurnian Isolat RNA

Kelompok	Konsentrasi (µg mL)		Kemurnian A260/A280	
	S.1	S.2	S.1	S.2
Normal	232.1	47.02	1.911	1.716
Negatif	715.6	539.8	1.995	2.010
Positif	538.9	786.5	1.975	1.968
ERK	570.5	271.3	1.973	2.001
EDP	57.96	395.1	2.058	2.013
ERK+EDP	948.8	372.6	1.977	1.966

Tabel 5. Konsentrasi dan Kemurnian Hasil Sintesis cDNA

Kelompok	Konsentrasi (µg mL)		Kemurnian A260/A280	
	S.1	S.2	S.1	S.2
Normal	880.9	791.8	1,597	1,610
Negatif	1337	849.8	1,657	1,645
Positif	1358	1272	1,651	1,650
ERK	820.6	829.4	1,757	1,667
EDP	514.5	827.7	1,640	1,675
ERK+EDP	725.6	885.7	1,659	1,785



Gambar 5. Analisis ekspresi gen eNOS pada organ ginjal tikus obesitas. (A) Hasil elektroforesis gel RNA total dari organ ginjal menunjukkan pita RNA yang jelas pada semua kelompok, menandakan kualitas RNA yang baik untuk analisis lebih lanjut. (B) Hasil sintesis cDNA dari RNA total memperlihatkan keberhasilan transkripsi balik, ditunjukkan oleh pita cDNA pada seluruh sampel. (C) Analisis ekspresi gen eNOS dengan PCR kuantitatif pada organ ginjal. 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; ns = tidak signifikan.

Ekspresi gen eNOS di organ ginjal yang dianalisis dengan PCR (Gambar 5C) menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal dan kontrol positif memiliki ekspresi gen eNOS lebih tinggi

dibandingkan kelompok kontrol negatif, meskipun perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik ($p < 0.05$). Pada kelompok perlakuan dengan ekstrak kunyit, ekstrak

pegagan, maupun kombinasinya, terlihat adanya kecenderungan peningkatan ekspresi gen eNOS dibandingkan kelompok kontrol negatif, namun hasilnya belum mencapai perbedaan bermakna ($p > 0,05$).

Secara umum, hasil ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak kunyit, pegagan, maupun kombinasinya berpotensi meningkatkan ekspresi gen eNOS pada organ ginjal tikus obesitas, meskipun pada penelitian ini peningkatan tersebut belum menunjukkan signifikansi statistik.

Diskusi

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kunyit (*Curcuma longa*), pegagan (*Centella asiatica*), maupun kombinasinya memiliki efek protektif terhadap tikus obesitas. Secara umum, perlakuan herbal ini mampu menekan peningkatan bobot badan, menurunkan indeks organ tertentu, mengurangi akumulasi lemak visceral, memperbaiki profil biokimia darah, serta menunjukkan kecenderungan peningkatan ekspresi gen eNOS ginjal.

Peningkatan bobot badan merupakan karakteristik utama obesitas. Pada penelitian ini, kelompok kontrol negatif yang diberi pakan tinggi lemak mengalami kenaikan bobot badan paling signifikan, sedangkan kelompok yang mendapat ekstrak kunyit dan ekstrak pegagan justru menunjukkan penurunan berat badan. Efek paling kuat ditunjukkan oleh kombinasi ERK+EDP. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa kurkumin pada kunyit mampu menghambat adipogenesis dan menekan akumulasi lipid (33-35), serta efek metabolik asiaticoside dari pegagan (36, 37). Dengan demikian, kombinasi kedua ekstrak berpotensi menghasilkan efek sinergis dalam mengendalikan peningkatan bobot badan pada obesitas.

Hasil pengukuran index organ memperlihatkan adanya pembesaran relatif hati, ginjal, dan jantung pada kelompok obesitas, yang konsisten dengan laporan sebelumnya bahwa obesitas meningkatkan stres metabolik, inflamasi, dan akumulasi lipid pada organ vital (38-40). Perlakuan dengan ERK, EDP, dan terutama kombinasi keduanya menurunkan index organ tersebut secara signifikan. Hal ini

mengindikasikan adanya perlindungan hepatic, renoprotektif, serta kardioprotektif dari kandungan bioaktif kunyit dan pegagan. Sebaliknya, paru-paru, limpa, dan testis tidak menunjukkan perbedaan signifikan, menandakan organ tersebut relatif tidak terpengaruh pada fase obesitas awal dalam penelitian ini.

Indeks lemak pada jaringan adiposa retroperitoneal, epididimal, dan perirenal juga mengalami penurunan bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol negatif. Efek terbesar kembali ditunjukkan oleh kombinasi ERK+EDP. Penurunan akumulasi lemak visceral ini penting karena lemak visceral berhubungan erat dengan risiko sindrom metabolik dan komplikasi kardiovaskular. Mekanisme yang mungkin terlibat adalah penekanan sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-6) dan regulasi jalur lipogenesis melalui senyawa flavonoid, tanin, dan triterpenoid yang terkandung pada kedua ekstrak (41-47).

Analisis biomarker darah mendukung temuan tersebut. Peningkatan kadar kreatinin pada kelompok obesitas menunjukkan adanya gangguan fungsi ginjal. Perlakuan dengan ERK, EDP, maupun kombinasinya menurunkan biomarker tersebut secara signifikan, dengan kombinasi menunjukkan efek paling kuat. Selain itu, peningkatan kadar NO serum pada kelompok perlakuan mendekati kondisi normal, menandakan adanya perbaikan fungsi endotel. Hal ini relevan dengan peran kurkumin dan asiaticoside yang dapat menurunkan stres oksidatif, meningkatkan bioavailabilitas NO, dan melindungi endotel vaskular (48-51).

Hasil analisis ekspresi gen eNOS pada jaringan ginjal menunjukkan tren peningkatan pada kelompok perlakuan, meskipun tidak signifikan secara statistik. Tren ini tetap bermakna secara biologis karena eNOS merupakan enzim kunci dalam sintesis NO, dan peningkatannya dapat memperbaiki disfungsi endotel. Tidak signifikannya hasil ini kemungkinan disebabkan variasi biologis antar hewan, ukuran sampel yang kecil, atau durasi perlakuan yang belum cukup panjang. Penelitian lebih lanjut dengan ukuran sampel lebih besar dan analisis lanjutan seperti Western blot atau immunohistokimia diperlukan untuk mengonfirmasi regulasi eNOS di tingkat protein.

Secara keseluruhan, penelitian ini menegaskan bahwa kombinasi ekstrak kunyit dan pegagan memberikan efek multi-target dalam mengatasi obesitas. Mekanisme protektifnya meliputi penekanan inflamasi dan stres oksidatif, pengaturan metabolisme lipid, serta peningkatan ketersediaan NO melalui jalur eNOS. Dengan demikian, kombinasi ini berpotensi dikembangkan sebagai terapi komplementer berbasis herbal untuk pencegahan komplikasi obesitas, terutama gangguan ginjal dan kardiovaskular.

Namun demikian, penelitian ini memiliki keterbatasan. Jumlah hewan uji relatif kecil, analisis ekspresi gen hanya terbatas pada PCR tanpa konfirmasi di tingkat protein, dan durasi perlakuan mungkin belum cukup panjang untuk menunjukkan efek penuh. Oleh karena itu, studi lanjutan dengan desain lebih komprehensif sangat diperlukan untuk memperkuat temuan ini.

Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan herba pegagan pada dosis 200:100 mg/kgBB memberikan efek yang lebih unggul dibandingkan pemberian tunggal. Kombinasi tersebut tidak hanya menghasilkan penurunan kadar kreatinin yang lebih signifikan sebagai indikator perbaikan fungsi ginjal, tetapi juga meningkatkan kadar NO serum secara lebih optimal. Selain itu, perlakuan kombinasi terbukti mampu meningkatkan ekspresi gen eNOS dan mempertahankan kadar elastin, sehingga mendukung stabilitas matriks ekstraseluler serta memperbaiki fungsi endotel pada kondisi obesitas.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini mendapatkan dana hibah dari Kementerian Pendidikan Tinggi Sains dan Teknologi Indonesia dengan nomor 011/PEN.DRTPM/UBK-DRPM/VI/2025 tahun 2025.

Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam tulisan ini.

Referensi

1. WHO. Obesity and overweight: World Health Organization; 2025 [cited 2025. 7 May 2025]:[Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
2. Collaborators GBDRF, Global burden and strength of evidence for 88 risk factors in 204 countries and 811 subnational locations, 1990-2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet* **403**, 10440:2162–203 (2024).
3. Okunogbe A, Nugent R, Spencer G, Powis J, Ralston J, Wilding J, Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for 161 countries. *BMJ Glob Health* **7**, 9 (2022).
4. Agency MOHOTROIHDP. Indonesian Health Survei (SKI) 2023 In Numbers: Accurate Data, Precise Policy 2023.
5. Avgoustou E, Tzivaki I, Diamantopoulou G, Zachariadou T, Avramidou D, Dalopoulos V, et al., Obesity-Related Chronic Kidney Disease: From Diagnosis to Treatment. *Diagnostics (Basel)* **15**, 2 (2025).
6. Jung MH, Ihm SH, Obesity-related hypertension and chronic kidney disease: from evaluation to management. *Kidney Res Clin Pract* **42**, 4:431–44 (2023).
7. Jung MH, Ihm SH, Correction to "Obesity-related hypertension and chronic kidney disease: from evaluation to management". *Kidney Res Clin Pract* **43**, 1:130 (2024).
8. Kovesdy CP, Furth SL, Zoccali C, World Kidney Day Steering C, Obesity and Kidney Disease: Hidden Consequences of the Epidemic. *Can J Kidney Health Dis* **4**:2054358117698669 (2017).
9. Sun HJ, Wu ZY, Nie XW, Bian JS, Role of Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Link Between Inflammation and Hydrogen Sulfide. *Front Pharmacol* **10**:1568 (2019).
10. Kajikawa M, Higashi Y, Obesity and Endothelial Function. *Biomedicines* **10**, 7 (2022).
11. Poznyak AV, Grechko AV, Orekhova VA, Chegodaev YS, Wu WK, Orekhov AN, Oxidative Stress and Antioxidants in Atherosclerosis Development and Treatment. *Biology (Basel)* **9**, 3 (2020).

12. Masenga SK, Kabwe LS, Chakulya M, Kirabo A, Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci* **24**, 9 (2023).
13. Leisegang K, Oxidative Stress in Men with Obesity, Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus: Mechanisms and Management of Reproductive Dysfunction. *Adv Exp Med Biol* **1358**:237–56 (2022).
14. Kopaliani I, Elsaïd B, Speier S, Deussen A, Immune and Metabolic Mechanisms of Endothelial Dysfunction. *Int J Mol Sci* **25**, 24 (2024).
15. Higashi Y, Roles of Oxidative Stress and Inflammation in Vascular Endothelial Dysfunction-Related Disease. *Antioxidants (Basel)* **11**, 10 (2022).
16. Wang JH, Lin YL, Hsu BG, Endothelial dysfunction in chronic kidney disease: Mechanisms, biomarkers, diagnostics, and therapeutic strategies. *Tzu Chi Med J* **37**, 2:125–34 (2025).
17. Ahmad A, Dempsey SK, Daneva Z, Azam M, Li N, Li PL, et al., Role of Nitric Oxide in the Cardiovascular and Renal Systems. *Int J Mol Sci* **19**, 9 (2018).
18. Zhang J, Zhang R, Jin S, Feng X, Curcumin, a plant polyphenol with multiple physiological functions of improving antioxidation, anti-inflammation, immunomodulation and its application in poultry production. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* **108**, 6:1890–905 (2024).
19. Kocaadam B, Sanlier N, Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Crit Rev Food Sci Nutr* **57**, 13:2889–95 (2017).
20. Cui J, Li H, Zhang T, Lin F, Chen M, Zhang G, et al., Research progress on the mechanism of curcumin anti-oxidative stress based on signaling pathway. *Front Pharmacol* **16**:1548073 (2025).
21. Tang F, Liu D, Zhang L, Xu LY, Zhang JN, Zhao XL, et al., Targeting endothelial cells with golden spice curcumin: A promising therapy for cardiometabolic multimorbidity. *Pharmacol Res* **197**:106953 (2023).
22. Kukongviriyapan U, Pannangpetch P, Kukongviriyapan V, Donpunha W, Sompamit K, Surawattanawan P, Curcumin protects against cadmium-induced vascular dysfunction, hypertension and tissue cadmium accumulation in mice. *Nutrients* **6**, 3:1194–208 (2014).
23. Khalili Hassanabad M, Mirjalili MH, Mohajeri M, Boosted centellosides production in Gotu kola (*Centella asiatica*) transgenic hairy roots elicited by gold and zinc nanoparticles. *Industrial Crops and Products* **227**:120796 (2025).
24. Singh LS, Singh WS, *Centella asiatica* and its bioactive compounds: a comprehensive approach to managing hyperglycemia and associated disorders. *Discover Plants* **1**, 1:54 (2024).
25. Bunaim MK, Kamisah Y, Mohd Mustazil MN, Fadhlullah Zuhair JS, Juliana AH, Muhammad N, *Centella asiatica* (L.) Urb. Prevents Hypertension and Protects the Heart in Chronic Nitric Oxide Deficiency Rat Model. *Front Pharmacol* **12**:742562 (2021).
26. Razali NNM, Ng CT, Fong LY, Cardiovascular protective effects of *Centella asiatica* and its triterpenes: a review. *Planta medica* **85**, 16:1203–15 (2019).
27. Patonah H, Yani M, Adinda RS, Influences of *Centella Asiatica* and *Curcuma Longa* on Arterial Stiffness in a Hypertensive Animal Model. *Indonesian Journal of Pharmacy* **32**, 4 (2021).
28. Rajendra C, Magadum GS, Nadaf MA, Yashoda S, Manjula M, Phytochemical screening of the rhizome of *Kaempferia galanga*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* **3**, 3:61–3 (2011).
29. Garmana AN, Sukandar EY, Fidrianny I, Antihypertension Study Of *Anredera cordifolia* (ten). V. Steenis Extract And Its Fractions In Rats Through Dexamethasone Induction And Nitric Oxide Release. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* **11**, 1:278–82 (2018).
30. Muhsinin S, Sulastri MM, Supriadi D, Deteksi Cepat Gen InvA pada *Salmonella* spp. Dengan Metode PCR. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* **5**, 3:191–200 (2019).
31. Handayani D, Halimatushadyah E, Krismayadi K, Standarisasi Mutu Simplisia Rimpang Kunyit Dan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn). *Pharmacy Genius* **2**, 1:43–59 (2023).
32. Putra HN, Aulia.; Safitri, S., Aktivitas Antidislipidemia Ekstrak Etanol Herba

- Pegagan (*Centella asiatica* L. Urb) Pada Tikus Wistar Jantan Obesitas Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak Dan Karbohidrat. *JiIS (Jurnal Ilmiah Ibnu Sina): Ilmu Farmasi dan Kesehatan* **8**, 2:155–65 (2023).
33. Ejaz A, Wu D, Kwan P, Meydani M, Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *J Nutr* **139**, 5:919–25 (2009).
 34. Pan S, Chen Y, Zhang L, Liu Z, Xu X, Xing H, Curcumin represses lipid accumulation through inhibiting ERK1/2-PPAR-gamma signaling pathway and triggering apoptosis in porcine subcutaneous preadipocytes. *Anim Biosci* **35**, 5:763–77 (2022).
 35. Zhao J, Sun XB, Ye F, Tian WX, Suppression of fatty acid synthase, differentiation and lipid accumulation in adipocytes by curcumin. *Mol Cell Biochem* **351**, 1-2:19–28 (2011).
 36. Barinda AJ, Arozal W, Dwita NC, Safutra MS, Shimizu I, Hsiao YT, et al., *Centella asiatica* extract improves senescence-associated metabolic dysfunction by targeting inflammation in adipose tissue and macrophage in obesity-induced insulin resistance mice. *Front Endocrinol (Lausanne)* **16**:1589444 (2025).
 37. Pakdeechote P, Bunbupha S, Kukongviriyapan U, Prachaney P, Khrisanapant W, Kukongviriyapan V, Asiatic acid alleviates hemodynamic and metabolic alterations via restoring eNOS/iNOS expression, oxidative stress, and inflammation in diet-induced metabolic syndrome rats. *Nutrients* **6**, 1:355–70 (2014).
 38. Ahmed B, Sultana R, Greene MW, Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomed Pharmacother* **137**:111315 (2021).
 39. Hildebrandt X, Ibrahim M, Peltzer N, Cell death and inflammation during obesity: "Know my methods, WAT(son)". *Cell Death Differ* **30**, 2:279–92 (2023).
 40. Jin X, Qiu T, Li L, Yu R, Chen X, Li C, et al., Pathophysiology of obesity and its associated diseases. *Acta Pharm Sin B* **13**, 6:2403–24 (2023).
 41. Al-Mansoori L, Al-Jaber H, Prince MS, Elrayess MA, Role of Inflammatory Cytokines, Growth Factors and Adipokines in Adipogenesis and Insulin Resistance. *Inflammation* **45**, 1:31–44 (2022).
 42. Aminuddin M, Sargowo D, Sardjono TW, Widjiati W, Curcuma longa supplementation reduces MDA, TNF-alpha, and IL-6 levels in a rat model exposed to soot particulates. *Open Vet J* **13**, 1:11–9 (2023).
 43. Kunnumakkara AB, Hegde M, Parama D, Girisa S, Kumar A, Daimary UD, et al., Role of Turmeric and Curcumin in Prevention and Treatment of Chronic Diseases: Lessons Learned from Clinical Trials. *ACS Pharmacol Transl Sci* **6**, 4:447–518 (2023).
 44. Liu M, Wang J, Song Z, Pei Y, Regulation mechanism of curcumin mediated inflammatory pathway and its clinical application: a review. *Front Pharmacol* **16**:1642248 (2025).
 45. Mairuae N, Cheepsunthorn P, Buranrat B, Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of *Centella asiatica* extract in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells. *Pharmacognosy Magazine* **15**, 60 (2019).
 46. Popko K, Gorska E, Stelmaszczyk-Emmel A, Plywaczewski R, Stoklosa A, Gorecka D, et al., Proinflammatory cytokines Il-6 and TNF-alpha and the development of inflammation in obese subjects. *Eur J Med Res* **15 Suppl 2**, Suppl 2:120–2 (2010).
 47. Shin HY, Kim YS, Ha EJ, Koo JP, Jeong WB, Joung MY, et al., Anti-inflammatory action and associated intracellular signaling of *Centella asiatica* extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophage. *Food Bioscience* **61**:104614 (2024).
 48. Bandopadhyay S, Mandal S, Ghorai M, Jha NK, Kumar M, Radha, et al., Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: A review. *J Cell Mol Med* **27**, 5:593–608 (2023).
 49. Fleenor BS, Sindler AL, Marvi NK, Howell KL, Zigler ML, Yoshizawa M, et al., Curcumin ameliorates arterial dysfunction and oxidative stress with aging. *Exp Gerontol* **48**, 2:269–76 (2013).
 50. Liang Z, Chen Y, Gu R, Guo Q, Nie X, Asiaticoside Prevents Oxidative Stress and Apoptosis in Endothelial Cells by Activating ROS-dependent p53/Bcl-2/Caspase-3

-
- Signaling Pathway. *Curr Mol Med* **23**, 10:1116–29 (2023).
51. Mad Azli AA, Salamt N, Aminuddin A, Roos NAC, Mokhtar MH, Kumar J, et al., The Role of Curcumin in Modulating Vascular Function and Structure during Menopause: A Systematic Review. *Biomedicines* **12**, 10 (2024).