

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN METHOTREXATE, EKSTRAK DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*), DAN DAUN SAMBILOTO (*Andrographis
paniculata*) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP JARINGAN
MIOKARDIUM DAN AORTA PADA *Rattus norvegicus* JANTAN MODEL
HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI DENGAN STREPTOZOTOCIN-
NICOTINAMIDE**



Dimas Bathoro Bagus Pamungkas

012014153007

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2022

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN METHOTREXATE, EKSTRAK DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*), DAN DAUN SAMBILOTO (*Andrographis
paniculata*) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP JARINGAN
MIOKARDIUM DAN AORTA PADA *Rattus norvegicus* JANTAN MODEL
HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI DENGAN STREPTOZOTOCIN-
NICOTINAMIDE**

**Dimas Bathoro Bagus Pamungkas
012014153007**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENGARUH PEMBERIAN METHOTREXATE, EKSTRAK DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*), DAN DAUN SAMBILOTO (*Andrographis
paniculata*) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP JARINGAN
MIOKARDIUM DAN AORTA PADA *Rattus norvegicus* JANTAN MODEL
HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI DENGAN STREPTOZOTOCIN-
NICOTINAMIDE**

TESIS

Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

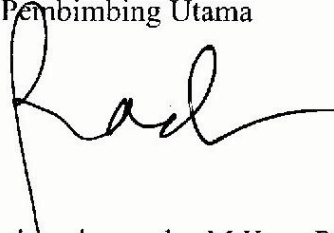
Oleh
DIMAS BATHORO BAGUS PAMUNGKAS
NIM. 012014153007

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS YANG TELAH DIUJI
PADA TANGGAL 25 Januari 2023

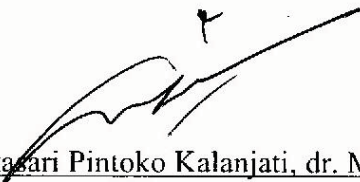
Oleh
Pembimbing Utama



Prof. Dr. Abdurachman dr., M.Kes., PA(K)

NIP: 196609111996011001

Pembimbing Kedua



Prof. Viskasari Pintoko Kalanjati, dr. M.Kes., PA(K)., Ph.D

NIP. 197603202005012003

Mengetahui
Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si

NIP. 197009151998022001

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Penelitian tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada
Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal 25 Januari 2023

Panitia Penguji

Ketua: Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes.

Anggota:

1. Prof. Viskasari P. Kalanjati, dr., M.Kes., PA(K)., Ph.D.
2. Prof. Dr. Abdurachman dr., M.Kes., PA(K).
3. Dr. Tri Hartini Yuliawati, dr., M.Ked.
4. Dr. Annisa Chusida, drg., M.Kes., PA.

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Dimas Bathoro Bagus Pamungkas

NIM : 012014153007

Program Studi : Magister Ilmu Kedokteran Dasar, Minatan Anatomi-Histologi

Judul Tesis : Pengaruh Pemberian Methotrexate, Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*), dan Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Serta Kombinasinya Terhadap Jaringan Miokardium dan Aorta Pada *Rattus Norvegicus* Jantan Model Hiperglikemia yang Diinduksi dengan Streptozotocin-Nicotinamide.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (*plagiarism*) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapat gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar Pustaka. Demikian pernyataan ini dibuat tanpa paksaan dari pihak manapun. Apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 25 Januari 2023



Dimas Bathoro Bagus Pamungkas

NIM: 012014153007

LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui karya ilmiah saya dengan judul:

Pengaruh Pemberian Methotrexate, Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*), dan Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Serta Kombinasinya Terhadap Jaringan Miokardium dan Aorta Pada *Rattus Norvegicus* Jantan Model Hiperglikemia yang Diinduksi dengan Streptozotocin-Nicotinamide

Untuk dipublikasikan atau disampaikan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian Pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 25 Januari 2023



Dimas Bathoro Bagus Pamungkas
NIM: 012014153007

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan hidayahnya, hingga saat ini penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan makalah tesis ini, yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN METHOTREXATE, EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*), DAN DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP JARINGAN MIOKARDIUM DAN AORTA PADA *Rattus norvegicus* JANTAN MODEL HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI DENGAN STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMIDE**

Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih saya kepada Yth:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, MT., SE., Ak., CA., Asean CPA, selaku Rektor Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., SpOG(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
3. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes, selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, sekaligus ketua penguji yang telah memberikan saran perbaikan dalam penyempurnaan tesis ini.
4. Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si, selaku koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga.
5. Prof. Dr. Abdurachman, dr., M.Kes., PA(K), selaku Ketua Departemen Anatomi, Histologi, dan Farmakologi Universitas Airlangga, sekaligus pembimbing utama yang telah memberikan saran perbaikan dalam penyempurnaan tesis ini.
6. Prof. Viskasari P. Kalanjati, dr., M.Kes., PA(K)., Ph.D, selaku Ketua Minat Studi Anatomi dan Histologi Universitas Airlangga, sekaligus pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, motivasi, dan saran perbaikan dalam penyusunan tesis ini.
7. Dr. Tri Hartini Yuliawati, dr., M.Ked., PA, selaku penguji yang telah memberikan saran perbaikan dalam penyusunan tesis ini.
8. Dr. Annisa Chusida, drg., M.Kes, selaku penguji yang telah memberikan saran perbaikan dalam penyempurnaan tesis ini.

9. Tim penelitian: Dwi Martha Nur Aditya, S.Si, dr. Maya Rahmayanti Syamhadi, dr. Jesslyn Angelina Soegiharto Wibowo, dan dr. Muhammad Husni Fansyuri Nasution, yang telah memberikan tenaga, waktu dan pikiran dalam penyusunan tesis ini.
10. Keluarga, istri dan anak: Isnaini Fajariah dan Alpha Verzenio Bathoroputra, yang selalu memberikan motivasi, semangat, dan doa selama masa studi.

Harapan besar bahwa penelitian ini akan dapat memberikan manfaat bagi banyak pihak dan dapat bernilai ibadah di hadapan Tuhan Yang Maha Esa.

Surabaya, Januari 2023
Penulis

Dimas Bathoro Bagus Pamungkas
NIM: 012014153007

RINGKASAN

**PENGARUH PEMBERIAN METHOTREXATE, EKSTRAK DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*), DAN DAUN SAMBILOTO (*Andrographis
paniculata*) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP JARINGAN
MIOKARDIUM DAN AORTA PADA *Rattus norvegicus* JANTAN MODEL
HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI DENGAN STREPTOZOTOCIN-
NICOTINAMIDE**

DIMAS BATHORO BAGUS PAMUNGKAS

Diabetes mellitus (DM) menjadi penyebab utama kematian pada 1,5 juta kasus dan diperkirakan sebanyak 15 juta populasi global menderita diabetes tipe-2. Sedangkan data Kementerian Kesehatan Indonesia menunjukkan prevalensi diabetes melitus di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 1,2% dari rentang waktu 2007 hingga 2013 dan menduduki peringkat ke-6 dunia. *Diabetic cardiomyopathy* menyerang setidaknya 26 juta orang di seluruh dunia dan prevalensi nya terus meningkat. Pada pasien dengan diabetes mellitus type 2 (DMT2) prevalensi gagal jantung bekisar antara 9% - 22%, menunjukkan prevalensi 4 kali lebih tinggi daripada populasi umum dan prevalensinya lebih tinggi pada pasien diabetes mellitus DM berusia 60 tahun atau lebih. Insulin masih menjadi pilihan terapi utama pada kasus DM dengan komplikasi, namun obat-obat lain seperti methotrexate (MTX) dilaporkan juga memiliki efek hipoglikemi yang mungkin bermanfaat untuk kondisi *diabetic cardiomyopathy*. Selain itu, terapi adjuvant menggunakan ekstrak daun *Moringa oleifera* (MO) dan *Andrographis paniculata* (AP) juga dilaporkan dapat memperbaiki kondisi histopatologis jaringan miokardium dan aorta akibat hiperglikemi. Efek penggunaan ekstrak daun *Moringa oleifera*, *Andrographis paniculata*, dan methotrexate beserta kombinasinya terhadap patologi jaringan miokardium dan aorta belum banyak dilaporkan. Informasi mengenai hal tersebut dapat berguna untuk menentukan terapi yang lebih optimal.

Pada penelitian ini dianalisis perbedaan berat badan, kadar gula darah acak, skor nekrosis dan ekspresi interleukin-6 jaringan miokardium serta ukuran tebal tunika intima-media pembuluh darah aorta pada tikus jantan *Rattus norvegicus* (n=49) berusia 2 – 3 bulan yang terbagi menjadi 7 kelompok (K1= kontrol negatif; K2= kontrol positif STZ+NA; K3= MO; K4= AP; K5= MTX; K6= MTX+MO; K7= MTX+AP). Penelitian ini telah menerima sertifikat uji kelayakan etik dari KEPK FKUA dengan No.1/EC/KEPK/FKUA/2022 pada tanggal 10 Januari 2022. Penelitian ini merupakan studi eksperimental menggunakan *post-test only control group design*. Pemeliharaan, intervensi, pengambilan data berat badan dan gula darah acak, terminasi hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga; pembuatan preparat slide, pengambilan data histopatologi jaringan miokardium dan aorta dilakukan di Laboratorium Histoteknik, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga; sedangkan pengambilan data ekspresi interleukin-6 jaringan miokardium dilakukan di

Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Teknobio Universitas Surabaya. Pengambilan data berat badan menggunakan neraca Ohaus tiga lengan; kadar gula darah acak menggunakan glicometer merk *EasyTouch* Model ET-301 buatan Cina; histopatologi jaringan miokardium dan aorta dianalisis menggunakan mikroskop Olympus CX-41 dengan software *CellSens*; ekspresi IL-6 menggunakan teknik *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Data dianalisis dengan SPSS v.25 dengan nilai taraf kepercayaan 95%. Data berat badan, kadar gula darah acak, ekspresi IL-6, serta tebal tunika intima-media diuji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene's test*, uji komparasi antar variabel menggunakan uji *One-way ANOVA* jika data parametrik atau uji *Kruskall-Wallis* jika data non-parametrik. Data skor nekrosis jaringan miokardium dengan skala data ordinal dianalisis menggunakan uji *Kruskall-Wallis*. *Paired t-test* atau *wilcoxon signed rank test* digunakan untuk uji komparasi dalam 1 variabel untuk rentang waktu yang berbeda.

Pada data berat badan, antara 7 kelompok yang diukur didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang diberi MO ($p=0,001$); AP ($p=0,026$); MTX ($p=0,011$); MTX+MO ($p=0,038$); dan MTX+AP ($p=0,038$). Sedangkan pada kadar gula darah didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang diberi MO ($p=0,007$); AP ($p=0,001$); MTX ($p=0,001$); MTX+MO ($p=0,035$); dan MTX+AP ($p=0,001$). Untuk data kadar IL-6 didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang diberi MO ($p=0,015$); sedangkan kelompok-kelompok lain tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Perbandingan data skor nekrosis jaringan miokardium pada kelompok kontrol positif hanya menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kelompok MTX+AP ($p=0,005$). Sedangkan pada analisis data tebal tunika intima-media pembuluh darah aorta tampak perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok AP ($p=0,014$); MTX ($p=0,010$); dan MTX+AP ($p=0,001$).

Berdasarkan analisis data, didapatkan bahwa pemberian MO, AP, serta MTX dapat mencegah penurunan berat badan. Sedangkan pada kadar gula darah acak, pemberian MO, AP, dan MTX serta kombinasinya dapat menurunkan kadar gula darah. Pada hasil analisis ekspresi IL-6, pemberian terapi MO memberikan pengaruh signifikan terhadap inhibisi sitokin pro-inflamasi IL-6 pada jaringan miokardium. Analisis skor nekrosis jaringan miokardium menunjukkan pemberian kombinasi AP dengan MTX dapat mengurangi terjadinya nekrosis. Pemberian ekstrak AP dan MTX sebagai terapi tunggal maupun kombinasi dapat mencegah peningkatan tebal tunika-intima pembuluh darah aorta.

SUMMARY

THE EFFECT OF MEHTOTREXATE, MORINGA (*Moringa oleifera*) AND SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) LEAF EXTRACT AND THEIR COMBINATIONS ON MYOCARDIAL AND AORTIC TISSUE OF HYPERGLYCEMIC-MODEL MALE *Rattus norvegicus* INDUCED WITH STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMIDE

DIMAS BATHORO BAGUS PAMUNGKAS

Diabetes mellitus (DM) is still becoming the major cause of death in 1.5 million cases and it is estimated that around 15 million people are suffering from it globally. The data from The Indonesian Ministry of Health show the prevalence of diabetes mellitus in Indonesia was increasing by 1.2% from 2007 to 2013 period and put Indonesia as the sixth country with the highest prevalence of diabetes mellitus. Diabetic cardiomyopathy affects at least 26 million people globally and its prevalence is constantly increasing. In patients with type 2 diabetes mellitus, the prevalence of heart failure ranges from 9%-22%, showing 4 times higher prevalence compared to the general population and this number is even higher in diabetic patients in their 60s or older. Insulin remains the main drug of choice for complicated DM, but other drugs such as methotrexate (MTX) are also reported to possess a hypoglycemic effect which may be beneficial for diabetic cardiomyopathy. Moreover, adjuvant therapies using *Moringa oleifera* (MO) and *Andrographis paniculata* (AP) leaf extract are also reported to be able to improve tissue histopathology due to hyperglycemia. The effect of *Moringa oleifera* and *Andrographis paniculata* leaf extract and also methotrexate as well as the combination of those 3 has not been extensively reported. Information regarding those effects may be helpful for planning a more optimum therapy.

In this study, 49 male *Rattus norvegicus* rats, aged 2-3 months, were separated into 7 groups, and differences in body weight, random blood sugar levels, and myocardial tissue interleukin-6 concentration were examined. (K1=negative control, K2=positive control STZ+NA, K3=MO, K4=AP, K5=MTX, K6=MTX+MO, and K7=MTX+AP). On January 10, 2022, KEPK FKUA issued this study an ethical due diligence certificate with number No.1/EC/KEPK/FKUA/2022. This study used an experimental design with a control group that was only present for the post-test. Experimental animal care, intervention, random data collection of body weight and blood sugar, and termination were carried out at The Pharmacology Laboratory of the Faculty of Medicine, Airlangga University; histopathological slide preparations were done in the Histotechnical Laboratory of the Faculty of Medicine, Airlangga University; the assessment of the concentration of interleukin-6 in myocardial tissue was carried out at the Biotechnology Faculty, Universitas Surabaya. A three-arm Ohaus balance was used to measure body weight; a Chinese-made EasyTouch Model ET-301 glucometer was used to measure random blood sugar levels; an Olympus CX-41

microscope was used to examine myocardial and aortic tissue histopathology; and an Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test was used to measure IL-6 expression. A 95% confidence level was used for the SPSS v.25 analysis of the data. Shapiro-Wilk and Levene's test for homogeneity was used to determine whether the data on body weight, random blood sugar levels, myocardial IL-6 concentration, and aortic intimal-to-medial thickness. If the data were parametric, the One-way ANOVA test was employed for comparison testing, and if the data were not, the Kruskal-Wallis test was used. Myocardial necrotic score data which is ordinal scaled were analyzed using the Kruskal-Wallis test. Comparisons in a single variable over a range of timeframes are tested using the paired t-test or the Wilcoxon signed rank test.

The body weight of the experimental animals from 7 groups showed a significant difference between the positive control group compared to the MO group ($p=0,001$); AP ($p=0,026$); MTX ($p=0,011$); MTX+MO ($p=0,038$); and MTX+AP ($p=0,038$). Blood glucose concentration showed a significant difference between the positive control group compared to MO ($p=0,007$); AP ($p=0,001$); MTX ($p=0,001$); MTX+MO ($p=0,035$); dan MTX+AP ($p=0,001$). Myocardial IL-6 showed a significant difference between the positive control group compared to MO group ($p=0.015$), while other groups showed no significant difference. Myocardial tissue necrosis score in the positive control group showed a significant difference only when compared to the MTX+AP group ($p=0.005$). Intimal-to-medial thickness data showed a significant difference between the positive control group compared to AP ($p=0.014$); MTX ($p=0.010$); and MTX+AP groups ($p=0.001$).

Based on the data analysis, MO, AP, and MTX administrations were found to prevent the body weight decrease. Administration of MO, AP, and MTX, as well as the combination of those three, were able to reduce the blood glucose concentration. In the IL-6 concentration, administration of MO showed a significant effect in inhibiting proinflammatory IL-6 in the myocardial tissue. Myocardial tissue necrosis score showed that a combination of AP and MTX could reduce the extent of necrosis. The administration of AP leaf extract and MTX either as a single therapy or in combination could reduce the thickening of the aortic intimal-to-medial thickness.

ABSTRAK

**PENGARUH PEMBERIAN METHOTREXATE, EKSTRAK DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*), DAN DAUN SAMBILOTO (*Andrographis
paniculata*) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP JARINGAN
MIOKARDIUM DAN AORTA PADA *Rattus norvegicus* JANTAN MODEL
HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI DENGAN STREPTOZOTOCIN-
NICOTINAMIDE**

Latar belakang: Kardiomiopati diabetik menyerang setidaknya 26 juta orang di seluruh dunia dan prevalensi nya terus meningkat. Pada pasien dengan DM2 prevalensi gagal jantung bekisar antara 9% - 22%. Insulin masih menjadi pilihan terapi utama pada kasus DM dengan komplikasi, namun obat-obat lain seperti methotrexate dilaporkan juga memiliki efek hipoglikemi yang mungkin bermanfaat untuk kondisi *diabetic cardiomyopathy*. Selain itu, terapi adjuvant menggunakan ekstrak daun *Moringa oleifera* dan *Andrographis paniculata* juga dilaporkan dapat memperbaiki kondisi histopatologis jaringan miokardium dan aorta akibat hiperglikemi. **Tujuan:** menganalisis efek pemberian methotrexate, ekstrak daun *Moringa oleifera* dan *Andrographis paniculata* terhadap patologi jaringan miokardium dan aorta *Rattus norvegicus*. **Metode:** penelitian ini merupakan eksperimental dengan *post-test only control group design*, dengan n=49 yang terbagi menjadi 7 kelompok. Variabel bebas dalam penelitian ini antara lain pemberian MO, AP, dan MTX beserta kombinasinya terhadap berat badan, kadar gula darah acak, kadar interleukin-6 jaringan miokardium, skor nekrosis miokardium, dan tebal tunika intima-media pembuluh darah aorta. **Hasil:** Data berat badan menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang diberi MO ($p=0,001$); AP ($p=0,026$); MTX ($p=0,011$); MTX+MO ($p=0,038$); dan MTX+AP ($p=0,038$). Sedangkan pada kadar gula darah didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang diberi MO ($p=0,007$); AP ($p=0,001$); MTX ($p=0,001$); MTX+MO ($p=0,035$); dan MTX+AP ($p=0,001$). Untuk data kadar IL-6 didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang diberi MO ($p=0,015$); Perbandingan data skor nekrosis jaringan miokardium pada kelompok kontrol positif hanya menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kelompok MTX+AP ($p=0,005$). Sedangkan pada analisis data tebal tunika intima-media pembuluh darah aorta tampak perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok AP ($p=0,014$); MTX ($p=0,010$); dan MTX+AP ($p=0,001$). **Kesimpulan:** Pemberian MO, AP, serta MTX dapat mencegah penurunan berat badan. Pemberian MO, AP, dan MTX serta kombinasinya dapat menurunkan kadar gula darah. Pemberian terapi MO secara signifikan menurunkan kadar IL-6 pada jaringan miokardium. Pemberian kombinasi AP dengan MTX dapat menurunkan menghambat terjadinya nekrosis. Pemberian ekstrak AP dan MTX sebagai terapi tunggal maupun kombinasi dapat mencegah peningkatan tebal tunika-intima pembuluh darah aorta.

Kata kunci: Kardiomiopati, diabetes, aorta, tebal tunika intima-media, *Andrographis paniculata*, *Moringa olifeira*, methotrexate

ABSTRACT

THE EFFECT OF MEHTOTREXATE, MORINGA (*Moringa oleifera*) AND SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) LEAF EXTRACT ON MYOCARDIAL AND AORTIC TISSUE OF HYPERGLYCEMIC-MODEL MALE *Rattus norvegicus* INDUCED WITH STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMIDE

Background: Diabetic cardiomyopathy affects at least 26 million people globally and its prevalence is constantly increasing. In patients with type 2 diabetes mellitus, the prevalence of heart failure ranges from 9%-22%. Insulin remains the main drug of choice for complicated DM, but other drugs such as methotrexate are also reported to possess a hypoglycemic effect which may be beneficial for diabetic cardiomyopathy. Moreover, adjuvant therapies using *Moringa oleifera* and *Andrographis paniculate* leaf extract are also reported to be able to improve tissue histopathology due to hyperglycemia. **Aim:** to analyze the effects of the administration of methotrexate, as well as *Moringa oleifera* and *Andrographis paniculate* leaf extract on the pathology of cardiac and aortic tissues in *Rattus norvegicus*. **Methods:** This experiment used a post-test-only control group design, with a number of experimental animals of 49, divided into 7 groups. The independent variables include the administration of MO, AP, and MTX as well as the combination of those three. The dependent variables were the random blood glucose level, myocardial tissue IL-6 concentration, myocardial tissue necrosis score, and aortic intimal-to-medial thickness. **Results:** The body weight of the experimental animals from 7 groups showed a significant difference between the positive control group compared to the MO group ($p=0,001$); AP ($p=0,026$); MTX ($p=0,011$); MTX+MO ($p=0,038$); and MTX+AP ($p=0,038$). Blood glucose concentration showed a significant difference between the positive control group compared to MO ($p=0,007$); AP ($p=0,001$); MTX ($p=0,001$); MTX+MO ($p=0,035$); dan MTX+AP ($p=0,001$). Myocardial IL-6 showed a significant difference between the positive control group compared to the MO group ($p=0.015$), Myocardial tissue necrosis score in the positive control group showed a significant difference only when compared to the MTX+AP group ($p=0.005$). Intimal-to-medial thickness data showed a significant difference between the positive control group compared to AP AP ($p=0.014$); MTX ($p=0.010$); and MTX+AP groups ($p=0.001$). **Conclusion:** Administrations of MO, AP, and MTX was found to be able to prevent the body weight decrease. Administration of MO, AP, and MTX, as well as the combination of those three, were able to reduce the blood glucose concentration. Administration of MO significantly reduces IL-6 concentration in the myocardial tissue. A combination of AP and MTX could reduce the extent of necrosis. The administration of AP leaf extract and MTX either as a single therapy or in combination reduces the thickening of the aortic intimal-to-medial thickness.

Keywords: Cardiomyopathy, diabetes, aorta, intimal-to-medial thickness, *Andrographis paniculata*, *Moringa olifeira*, methotrexate

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	vi
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
DAFTAR ISI.....	xvi
DAFTAR TABEL	xx
DAFTAR GAMBAR	xxii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxiii
DAFTAR SINGKATAN	xxiv
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7

1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB II.....	10
TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Diabetes Melitus.....	10
2.2 Histologi Miokardium dan Aorta	12
2.3 Kardiomiopati Diabetik dan Penebalan IMT	16
2.4 Induksi diabetes menggunakan streptozotocin (STZ).....	19
2.5 Methotrexate	19
2.6 Moringa oleifera (MO).....	22
2.7 Andrographis paniculate (AP).....	25
2.8 Penelitian Pendahuluan	27
2.8.1 Dosis Streptozotocin	28
2.8.2 Dosis streptozotocin dan nicotinamide	29
2.8.3 Dosis methotrexate.....	31
BAB III.....	35
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	35
BAB IV	44
METODE PENELITIAN.....	44
4.1. Jenis Penelitian	44
4.2. Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	47
4.3. Variabel Penelitian	50

4.4.	Bahan Penelitian.....	54
4.5.	Instrumen Penelitian.....	56
4.6.	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	57
4.7.	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.....	58
4.8.	Analisis Data	65
4.9.	Pertimbangan Etika Penelitian	66
4.10.	Alur Penelitian	67
BAB V.....		68
HASIL PENELITIAN.....		68
5.1	Deskripsi Umum	68
5.2	Berat Badan.....	69
5.2.1	Analisis Deskriptif Berat Badan.....	69
5.2.2	Uji Statistik Berat Badan Hewan Coba.....	69
5.3	Kadar Gula Darah Acak	75
5.3.1	Analisis Deskriptif Kadar Gula Darah Acak.....	75
5.3.2	Uji Statistik Kadar Gula Darah Acak.....	76
5.4	Kadar IL-6 Jaringan Miokardium dengan Metode ELISA	81
5.4.2	Uji Statistik Kadar IL-6 Jaringan Miokardium	82
5.5	Nekrosis Jaringan Miokardium.....	84
5.5.2	Uji Statistik Skor Nekrosis Jaringan Miokardium.....	85

5.6 Tebal Tunika Intima-Media Aorta (<i>Aortic Intimal-to-Medial Thickness /</i> IMT)	90
BAB VI	95
BAB VII	104
DAFTAR PUSTAKA	106

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Kriteria inklusi dan eksklusi sampel penelitian	48
Tabel 4.2 Klasifikasi Variabel Penelitian.....	50
Tabel 4.3 Klasifikasi Variabel Penelitian.....	51
Tabel 4.4 Bahan Penelitian	54
Tabel 4.5 Lokasi Penelitian.....	57
Tabel 4.6 Waktu Penelitian.....	58
Tabel 5.1 Berat badan hewan coba menggunakan uji <i>Kruskal-Wallis</i> dan uji <i>Wilcoxon Signed Rank Test</i>	70
Tabel 5.2 Uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> data berat badan hewan coba	71
Tabel 5.3 Hasil uji homogenitas data dengan <i>Levene test</i> terhadap data berat badan.....	72
Tabel 5.4 Hasil uji ANOVA berat badan hewan coba	72
Tabel 5.5 Uji perbandingan <i>Kruskal-Wallis</i> berat badan hewan coba	73
Tabel 5.6 Hasil uji <i>Post-hoc Mann-Whitney</i> data berat badan hewan coba.....	73
Tabel 5.7 Rerata kadar GDA hewan coba menggunakan uji <i>Kruskal-Wallis</i> dan uji <i>Wilcoxon</i>	75
Tabel 5.8 Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap data kadar GDA hewan coba.....	76
Tabel 5.9 Hasil uji homogenitas <i>Levene</i> terhadap data kadar GDA	77
Tabel 5.10 Hasil uji ANOVA rerata kadar GDA	78
Tabel 5.11 Hasil uji perbandingan <i>Kruskal-Wallis</i> terhadap data kadar GDA hewan coba	78
Tabel 5.12 Hasil uji <i>post-hoc Mann-Whitney</i> terhadap kadar gula darah.....	79
Tabel 5.13 Kadar IL-6 jaringan miokardium pada 7 kelompok hewan coba.....	81
Tabel 5.14 Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap data kadar IL-6 jaringan miokardium.....	81
Tabel 5.15 Hasil uji non-parametrik <i>Kruskal-Wallis</i> kadar IL-6	82
Tabel 5.16 Hasil uji <i>post-hoc</i> menggunakan uji <i>Mann-Whitney</i> pada data kadar IL-6 jaringan miokardium.....	82
Tabel 5.17 Skor nekrosis jaringan miokardium pada 7 kelompok hewan coba	84
Tabel 5.18 Hasil uji <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap data skor nekrosis jaringan miokardium hewan coba.....	84
Tabel 5.19 Hasil uji non-parametrik <i>Kruskal-Wallis</i> skor nekrosis hewan coba	85
Tabel 5.20 Hasil uji <i>post-hoc</i> menggunakan uji <i>Mann-Whitney</i> pada skor nekrosis jaringan miokardium	85
Tabel 5.21 Tebal tunika intima-media pembuluh darah aorta pada 7 kelompok hewan coba yang dianalisis menggunakan uji <i>Kruskal-Wallis</i>	89
Tabel 5.22 Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap data tebal tunika intima-media aorta.....	90
Tabel 5.23 Hasil uji homogenitas <i>Levene</i> data tebal tunika intima-media aorta	90

Tabel 5.24 Hasil uji non-parametrik <i>Kruskal-Wallis</i> data tebal tunika intima-media aorta	90
Tabel 5.25 Hasil uji <i>post-hoc</i> menggunakan uji <i>Mann-Whitney</i> pada data tebal tunika intima-media aorta.....	91

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Gambaran mikroskopik myocardium.....	14
Gambar 2.2 Gambaran mikroskopik aorta.....	15
Gambar 2.3 Mekanisme Hypoglycemic Methotexrate.....	20
Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual.....	35
Gambar 4.1 Skema kelompok penelitian	30
Gambar 5.1 Jaringan miokardium ventrikel kiri hewan coba.....	88
Gambar 5.2 Gambaran histologis pembuluh darah aorta hewan coba.....	94

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat etik penelitian	115
Lampiran 2. Spesifikasi glucometer.....	116
Lampiran 3. Prosedur kit interleukin-6 jaringan.....	117
Lampiran 4. Dokumentasi penelitian	123
Lampiran 5. Data penelitian.....	125
Lampiran 6. Analisis data	128

DAFTAR SINGKATAN

ADA	American diabetes association
AGE	Advanced glycation endproducts
AICAR	5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide
ALL	Acute Lymphoblastic Leukemia
AMPK	Adenosine monophosphate activated protein kinase
AP	Andrographis paniculata
ATIC	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/inosine monophosphate cyclohydrolase
ATP	Adenosin triphosphate
CAT	<i>Catalase</i> / katalase
DM	Diabetes mellitus
DMT1	Diabetes mellitus type 1
DMT2	Diabetes mellitus type 2
DNA	Deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
GAD	Glutamic acid decarboxylase
GDA	Gula darah acak
GLUT	Glucose transporter
GPx	Glutathione peroxidase
HE	Hematoxylin-Eosin
HLA	Human leukocyte antigen
IAA	Autoantibodies to insulin
IL-6	Interleukin-6
MO	Moringa oleifera
MODY	Mature Onset Diabetes of the Young
MTX	Methotrexate
NA	Nicotinamide
NADPH	Nicotinamide adenin dinucleotide phosphate
NF- κ B	Nuclear factor κ B
NO	Nitric oxide
NRF2	Nuclear Factor Erythroid 2–Related Factor 2
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PARP	Poli ADP ribose
PI3K	Phosphoinositide 3-kinases
PKC	Protein kinase C
RNA	Ribonucleic acid
ROS	Reactive oxygen species
RNS	Reactive nitrogen species
SOD	Superoxide dismutase
STZ	Streptozotocin
TEAC	Trolox equivalence antioxidant capacity
TG	Triglyceride / triacylglycerol
TNF- α	Tumor necrosis factor α

WHO	World Health Organization
ZMP	5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranosyl-5'-monophosphate
ZnT8A	zinc transporter protein 8A