PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) DAN DAUN PEPAYA GUNUNG (*Carica pubescens*) TERHADAP KADAR LDL-C DAN HDL-C SERUM MENCIT (*Mus musculus*) SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO*

SKRIPSI

Oleh:
DWI RISKI KURNIAWATI
NIM. 14620006

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) DAN DAUN PEPAYA GUNUNG (*Carica pubescens*) TERHADAP KADAR LDL-C DAN HDL-C SERUM MENCIT (*Mus musculus*) SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO*

SKRIPSI

Oleh:
DWI RISKI KURNIAWATI
NIM. 14620006

diajukan kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) DAN DAUN PEPAYA GUNUNG (*Carica pubescens*) TERHADAP KADAR LDL-C DAN HDL-C SERUM DARAH MENCIT (*Mus musculus*) SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO*

SKRIPSI

Oleh:
DWI RISKI KURNIAWATI
NIM. 14620006

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 2 November 2018

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si	Umaiyatus Syarifah, M.A
NIP. 19671113 199402 2 001	NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) DAN DAUN PEPAYA GUNUNG (*Carica pubescens*) TERHADAP KADAR LDL-C DAN HDL-C SERUM DARAH MENCIT (*Mus musculus*) SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO*

SKRIPSI

Oleh:
DWI RISKI KURNIAWATI
NIM. 14620006

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 16 November 2018

Penguji Utama	**: Dr. Kiptiyah, M.Si** **NIP. 19731005 200212 2 003**	(.....)
Ketua Penguji	**: Kholifah Holil, M.Si** **NIP. 19751106 200912 2 002**	(.....)
Sekretaris Penguji	**: Dr. Retno Susilowati, M.Si** **NIP. 19671113 199402 2 001**	(.....)
Anggota Penguji	**: Umaiyatus Syarifah, M.A** **NIP. 19820925 200901 2 005**	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi

Romaidi, M.Si., D.Sc.
NIP. 19810201 200901 1 019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Dwi Riski Kurniawati
NIM	: 14620006
Jurusan	: Biologi
Fakultas	: Sains dan Teknologi
Judul Penelitian	: Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C dan HDL-C Serum Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 5 November 2018
Yang membuat pernyataan,

METERAI TEMPEL
9D7E1AEF774816677
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Dwi Riski Kurniawati
NIM. 14620006

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

MOTTO

مَا وَدَّعَكَ رَبُّكَ وَمَا قَلَى

Tuhanmu tidak meninggalkanmu dan tidak pula membencimu

(QS. Ad-Duha. 3)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucap rasa syukur yang tak terhingga kepada Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Atas rahmat dan karunia serta pertolongan yang Allah SWT berikan, saya persembahkan skripsi ini untuk:

1. Kedua orang tua penulis Alm. Bapak Bambang Titis Endro Purnomo dan Ibu Iswati yang selalu menyayangi, selalu memberikan dorongan semangat, melantunkan do'a untuk setiap saat, dan dengan penuh kesabaran selalu memotivasi demi kelancaran dan kesuksesan meraih cita-cita.
2. Kakak laki-laki penulis, Danang Arif Agustiyan, Kakak ipar penulis Zuffa Annisa, dan keponakan penulis Maritsa Azzahra yang selalu penulis sayangi dan selalu memberikan perhatian secara tidak langsung. Keluarga besar penulis yang selalu memberi semangat untuk kesuksesan.
3. Sahabat-sahabat tersayang selama menimba ilmu di Biologi UIN Malang (Isna dan Arina). Semoga Allah senantiasa melindungi dan menyayangi kalian berdua.

Terimakasih tak terkira saya ucapkan pada semua pihak yang telah turut membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Semoga Allah SWT membalasnya dengan kebaikan. *Jazakumullah ahsanul jaza'*.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulilah penulis hanturkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M.Ag, selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M. Si., D. Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si dan Umaiyatus Syarifah, M.A, selaku pembimbing skripsi dan pembimbing agama, yang telah banyak memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah selaku dosen wali yang telah memberikan saran, nasehat dan dukungan sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan.
6. Dr. Kiptiyah, M.Si dan Kholifah Holil, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga membantu terselesainya skripsi ini.
7. Ibu Fitriyah selaku konsultan dalam bidang Bioinformatika dan Muhammad Basyaruddin, M.Si selaku Laboran Fisiologi Hewan
8. Kedua orang tua penulis Alm. Bapak Bambang Titis Endro Purnomo dan Ibu Iswati, kakak penulis Mas Danang, Mbak Zuffa, dan Zahra yang selalu memberikan do'a, semangat, serta motivasi kepada penulis sampai saat ini.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

9. Isna Rezqia dan Rahmadania Febri Herlina selaku teman satu tim penelitian yang sama-sama belajar, berjuang, berusaha, membantu untuk menyelesaikan skripsi ini. Teman-teman tim dislipidemia Lailatul munawaroh, zakiyya Aliya, Nila, dan Shofir terimakasih atas pengalaman yang kalian berikan semoga Allah selalu menunjukkan kalian jalan yang terbaik.
10. Arina Khusna, Noor Istianah dan Mbak Meike teman dan kakak tingkat penulis yang selalu memberikan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini. Semoga Allah selalu memberikan ridho di setiap langkah kalian.
11. Teman-teman Biologi angakatan 2014, terimakasih telah menjadi sahabat dan keluarga selama 4 tahun perkuliahan, yang berjuang bersama-sama menyelesaikan studi sampai memperoleh gelar S.Si
12. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin ya Rabbal Alamin*.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 5 November 2018

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PERSETUJUAN ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iv
HALAMAN MOTTO v
HALAMAN PERSEMBAHAN vi
KATA PENGANTAR vii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv
ABSTRAK xv
ABSTRACT xvi
الملخص xvii

BAB I PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 8
1.3 Tujuan Penelitian 9
1.4 Hipotesis Penelitian. 9
1.5 Manfaat Penelitian 9
1.6 Batasan Masalah. 10

BAB II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Dislipidemia 12
2.1.1 Definisi Dislipidemia 12
2.1.2 Profil Lipid 12
2.1.2.1 Lipoprotein. 12
2.1.2.2 Kilomikron. 13
2.1.2.3 VLDL. 14
2.1.2.4 IDL. 14
2.1.2.5 LDL. 14
2.1.2.6 HDL. 15
2.1.2.7 Trigliserida. 18
2.1.2.8 Kolesterol. 19
2.2 Metabolisme Lipoprotein 20
2.2.1 Jalur Eksogen 20
2.2.2 Jalur Endogen 21
2.2.3 Peran CETP dalam *Reverse Cholesterol Transfer* 23
2.3 Klasifikasi Dislipidemia 25
2.3.1 Klasifikasi Fenotipik 25
2.3.1.1 Klasifikasi WHO. 25
2.3.1.2 Klasifikasi EAS. 27
2.3.1.3 Klasifikasi NECP. 28

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.3.2 Klasifikasi Patogenik 29
2.3.2.1 Dislipidemia Primer. 29
2.3.2.2 Dislipidemia Sekunder. 29
2.4 Induksi HFD 30
2.5 Ekstraksi 31
2.5.1 Pengertian Ekstraksi. 31
2.5.2 Macam-macam Ekstraksi 32
2.5.3 Maserasi. 32
2.6 *Cinnamomum burmannii*. 33
2.6.1 Klasifikasi *Cinnamomum burmannii*. 33
2.6.2 Karakteristik dan Morfologi 35
2.6.3 Manfaat Kulit Batang *Cinnamomum burmannii*. 36
2.6.4 Senyawa Aktif *Cinnamomum burmannii*. 37
2.7 *Carica pubescens* 39
2.7.1 Klasifikasi *Carica pubescens*. 39
2.7.2 Morfologi dan Karakteristik *Carica pubescens* 41
2.7.3 Manfaat dan Senyawa Aktif *Carica pubescens* 42
2.8 Atorvastatin 43
2.9 *Molecular Docking* 45
2.9.1 Definisi *Molecular Docking*. 45
2.9.2 Database Perangkat Lunak untuk Docking 47
2.9.2.1 Protein Data Bank. 47
2.9.2.2 PubChem. 48
2.9.2.3 PyMOL. 48
2.9.2.4 *Autodock*. 48
2.9.2.5 Discovery Studio Visualizer. 49
2.9.2.6 Analisis Aktivitas Biologi PASS. 49
2.9.2.7 Pre-ADMET Online 50

BAB III METODOLOGI PENELITIAN
3.1 Rancangan Penelitian 51
3.2 Waktu dan Tempat penelitian. 51
3.3 Variabel Penelitian 52
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian 54
3.5 Alat dan Bahan 54
3.5.1 Alat. 54
3.5.2 Bahan. 55
3.6 Prosedur Penelitian 56
3.6.1 Uji *in silico* 56
3.6.1.1 Penyiapan Struktur Ligan 56
3.6.1.2 Preparasi Protein Target 56
3.6.1.3 Uji HIA 57
3.6.1.4 Uji PASS 57
3.6.1.5 *Molecular Docking* 57
3.6.1.6 Visualisasi Hasil *Docking* 58
3.6.2 Uji *In Vivo* 58
3.6.2.1 Aklimatisasi Hewan Coba 58
3.6.2.2 Pembuatan HFD 58

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.6.2.3 Pembuatan Ekstrak 59
3.6.2.4 Pembuatan Dosis Atorvastatin 59
3.6.2.5 Pembuatan Larutan Na CMC 0,1% 60
3.6.2.6 Pemberian Terapi 60
3.6.2.7 Pengambilan sampel 60
3.6.2.8 Pengukuran Kadar LDL-C Serum 61
3.6.2.9 Pengukuran Kadar HDL-C Serum 62
3.7 Analisis Data..... 63

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Uji Penghambatan Reseptor CETP Terhadap Senyawa Turunan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Peaya Gunung (*Carica pubescens*) Secara *In Silico* 64
4.1.1 Prediksi Absorbsi Senyawa denganParameter HIA. 64
4.1.2 Hasil Prediksi PASS. 66
4.1.3 Hasil Nilai *Binding Affinity* Ligan-Reseptor..... 69
4.2 Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C dan HDL-C Serum 76
4.2.1 Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C. 76
4.2.2 Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar HDL-C..... 84

BAB V PENUTUP
5.1 Kesimpulan 91
5.2 Saran 91

DAFTAR PUSTAKA..... 92
LAMPIRAN..... 101

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
2.1	Klasifikasi Dislipidemia Menurut Fredricson	25
2.2	Klasifikasi Dislipidemia Berdasarkan EAS.....	28
2.3	Klasifikasi Kolesterol Total, Kolesterol LDL, Kolesterol HDL, dan Trigliserida menurut NCEP ATP III 2001	28
2.4	Klasifikasi Dislipidemia Sekunder.	30
3.1	Waktu Pelaksanaan Penelitian.	52
3.2	Pengukuran Kadar LDL-C.....	61
3.3	Pengukuran Kadar HDL-C.	62
4.1	Hasil Rata-rata Kadar LDL-C Serum Mencit Setelah Perlakuan.	76
4.2	Hasil Rata-rata Kadar HDL-C Serum Mencit Setelah Perlakuan.....	84

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

No	Judul Gambar	Halaman
2.1	Metabolisme Lipoprotein Jalur Eksogen.	21
2.2	Metabolisme Lipoprotein Jalur Endogen	22
2.3	Mekanisme *Reverse Cholesterol Transport*	24
2.4	Senyawa Aktif yang Terdapat pada Kulit Batang Kayu Manis	37
2.5	Struktur Kimia Rutin.	38
2.6	Struktur Kimia Catechin	38
2.7	Struktur Kimia Quercetin	39
2.8	Struktur Kimia Cinnamate	39
2.9	Struktur Kimia Pelargonidine, malvidine dan peonidin	43
2.10	Struktur Kimia Atorvastatin	44
4.1	Nilai ΔG (kkal/mol) dari senyawa aktif kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) hasil docking dengan CETP	71
4.2	Grafik Rata-rata Kadar LDL-C Serum Mencit	78
4.3	Grafik Rata-rata Kadar HDL-C Serum Mencit.	85

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian Uji *In silico* 101
Lampiran 2 Struktur Ligan 102
Lampiran 3 Struktur Reseptor..... 105
Lampiran 4 Preparasi Ligan 106
Lampiran 5 Preparasi Protein..... 107
Lampiran 6 Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)..... 108
Lampiran 7 Uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Subtances*)..... 110
Lampiran 8 Penambatan Molekul (*Molecular docking*) 112
Lampiran 9 Visualisasi 2D hasil *Docking* 117
Lampiran 10 Data *Binding Affinity* Ligan-Reseptor 122
Lampiran 11 Residu asam amino interaksi ligan-reseptor 118
Lampiran 12 Data Hasil Visualisasi *Docking* 124
Lampiran 13 Alur Penelitian Uji *In vivo*..... 130
Lampiran 14 Perhitungan Dosis..... 131
Lampiran 15 Perhitungan Kadar LDL-C (SPSS)..... 133
Lampiran 16 Perhitungan Kadar HDL-C (SPSS) 135
Lampiran 17 Dokumentasi Penelitian..... 137

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C dan HDL-C Serum Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico*

Dwi Riski Kurniawati, Retno Susilowati, Umaiyatus Syarifah

ABSTRAK

Dislipidemia merupakan kelainan profil lipid dalam tubuh ditandai dengan kenaikan kolesterol total, trigliseruda dan LDL-C serta penurunan HDL-C. Konsentrasi kadar LDL-C yang tinggi dan HDL-C yang rendah dapat mengakibatkan oksidasi yang nantinya menjadi *foam cell*. *Foam cell* apabila membesar maka akan terjadi defek pada pembuluh darah sehingga terjadi arterosklerosis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar LDL-C dan HDL-C serum mencit (*Mus musculus*) yang diberi perlakuan HFD. Penelitian ini bersifat komputasi dan eksperimental. Uji *in silico* menggunakan metode *molecular docking* dengan *software* Autodock Vina antara reseptor CETP dan senyawa kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung sebagai ligan. Penelitian secara *in vivo* menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok, pada setiap kelompok diinduksi HFD selama 56 hari, kecuali kelompok perlakuan normal. Kelompok K- induksi HFD tanpa pengobatan, kelompok K+ (HFD dan perlakuan obat atorvastatin), P1 (HFD dan perlakuan dosis 300 mg/kgBB ekstrak kayu manis), P2 (HFD dan perlakuan kombinasi dosis 150 mg/kgBB kulit batang kayu manis dan 150 mg/kgBB daun pepaya gunung), P3 HFD dan perlakuan dosis 300 mg/kgBB daun kayu manis). Parameter dalam penelitian ini meliputi kadar LDL-C dan HDL-C serum mencit. Data yang memenuhi asumsi parametrik dianalisis dengan *One Way Anova*, apabila terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan uji lanjut uji Duncan. Hasil uji in silico menunjukkan bahwa senyawa pelargonidin dalam ekstrak etanol daun pepaya gunung memiliki potensi menghambat reseptor CETP (ΔG= -7,3 kkal/mol). Hasil analisis *One Way Anova* ekstrak etanol kulit batang kayu manis dosis 300 mg/kgBB merupakan dosis yang paling optimal dalam menurunkan kadar LDL-C dan pemberian ekstrak etanol daun pepaya gunung dosis 300 mg/kgBB merupakan dosis yang paling optimal dalam menaikan kadar HDL-C.

Kata kunci: Dislipidemia, Ekstrak kayu manis dan pepaya gunung, Kadar LDL-C dan HDL-C, *In vivo* dan *In silico*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Effect of Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Bark and Mountain Papaya (*Carica pubescens*) Leaves Extract on LDL-C and HDL-C Levels in Mice Serum (*Mus musculus*) in *In Vivo* and *In Silico*

Dwi Riski Kurniawati, Retno Susilowati, Umaiyatus Syarifah

ABSTRACT

Dyslipidemia is a abnormality of lipid profile in blood plasma, characterized by incrased total cholesterol, triglycerides, LDL-C, and decrased HDL-C. High concentration of LDL-C and low HDL-C can caused oxidation LDL-C becomes foam cell. Foam cell when enlarged, there will be a defect in the blood vessels coused atherosclerosis. The research was aimed to know the effect of *C. burmannii* and *C. pubescens* extract on LDL-C and HDL-C of mice serum (*Mus musculus*) in *in silico* and *in vivo*. This research is computational and experimental study. *In silico* test using *molecular docking* method with *software* Autodock Vina between CETP as receptor and phytochemical compound in *C. burmannii* and *C. pubescens* as ligands. *In silico* test uses Completely Randomized Design (CRD) with 6 treatments and 5 replications. Mices are separated in 6 treatments are, all treatments inducted with HFD for 56 days, except normal treatment. K- (inducted HFD without therapy), K+ (HFD and atorvastatin therapy), P1 (HFD and therapy at dose 300 mg/kg *C. burmannii* extract), P2 (HFD and therapy at dose 150 mg/kg *C. burmannii* extract and 150 mg/kg *C. pubescens* extract), P3 (HFD and therapy at dose 300 mg/kg *C. pubescens* extract). Parameters in this study are concentration of LDL-C and HDL-C mice blood serum. Data were analyzed by *One Way Anova*, if the treatment has effect then procced with Duncan test. In silico test showed that pelargonidine compound has the best potency to bind with CETP reseptor (ΔG= -7,3 kkal/mol). Based on *One Way Anova* analyzed showed that *C. burmannii* extract with dose 300 mg/kg is the most optimal dosage to decrease LDL-C and *C. pubescens* extract with dose 300 mg/kg is the most optimal dosage to increase HDL-C.

Keywords: Dyslipidemia, *C. burmannii* and *C. pubescens* extract, LDL-C and HDL-C concentration, *In vivo* and *In silico.*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

تأثير إعطاء الاستخرج للحاء (*Cinnamomum burmannii*) وأوراق البابايا كونونج القرفة(*Carica pubescens*) ضد المستويا LDL-C و HDL-C لفئران (*Mus musculus*)خلال الجسم الحي (*In vivo*)والسليكو (*In silico*)

دوى رزقى كورنيواتى، رتنو سوسيلواتى ، أمية الشريفة

ملخص البحث

شحوم الدم هو الشذوذ الملف لدهون في الجسم الذى يتميز بزيادة الكوليسترول الإجمالي والدهون الثلاثية (تريغليسندا) و LDL-C وانخفاض في HDL-C. يمكن أن يؤدي التركيز المستوي LDL-C العال و HDL-C المنخفض إلى أكسدة التى تصبح خلية رغوة (foam cell). خلية رغوية عندما تتضخم ، ستكون خلل في الأوعية الدموية حتى تمكن ان تؤدي إلى تصلب الشرايين. الاهداف البحث هي لتحديد تأثير إعطاء الاستخرج للحاء القرفة (*Cinnamomum burmannii*)و أوراق البابايا كونونج (*Carica Pubescens*) ضد المستويات LDL-C و HDL-C لفئران(*Mus musculus*) بمعالجة HFD هذا البحث هو حسابي وتجريبي. استخدم اختبار السليكو أسلوب الالتحام الجزيئي (*molecular docking*) مع برنامج *Autodock Vina* بين مستقبلات CETP ولحاء القرفة وأوراق البابايا كونونج كمليكول ليجان. استخدم هذا البحث في الجسم الحي بتصميم العشوائية الكاملة (RAL)) مع 6 معالجات و 5 مكررات. قسمت الحيوانات التجريبية إلى 6 مجموعات، في كل مجموعة جمعت HFD لمدة 28 ايام، إلا مجموعة العلاج الطبيعي. مجموعة ك- التحريض HFD بدون علاج ، مجموعة ك+ (HFD و العلاج المخدرات أتورفاستاتين)، P1 (HFD والعلاجية الجرعة 300 مغم / كغم بب لاستخراج القرفة)، P2 (HFD والعلاج الجمع الجرعة 150 ملغم / كلغ بب لقرفة و 150 ملغم / كلغ بب لأوراق البابايا كونونج) P3 (HFD و المعالجة الجرعة 300 ملغم / كلغ بب لأوراق القرفة). تضمنت المعلمات في هذا البحث المستويات LDL-C و HDL-C لمصل الفئران. حللت البيانات التي تفي بالافتراضات البارامترية بواسطة One Way Anova، إذا كان هناك تأثير ، ثم تستمر باختبار دنكان دلت نتائج اختبار السليكو إلى أن مركب فيلاركونيدين في الاستخراج الإيثانول لأوراق البابايا كونونج له القدرة لتثبيط المستقبل CETP (ΔG =-73 ككل/مول). نتائج تحليل One Way Anova لاستخراج الإيثانول للحاء القرفة لجرعة 300 ملغم / كغم بب هي الجرعة المثلى في تقليل مستويات LDL-C وإعطاء استخراج الإيثانول لأوراق البابايا كونونج بجرعة 300 ملغم / كلغم بب، وايضا الجرعة المثلى في رفع مستويات HDL-C

الكلمات الرئيسية: شحوم الدم (دسليبيدميا)، الاستخرج للحاء البابايا كونونج ، المستويات LDL-C و HDL-C ، الجسم الحي والسيليكو

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gaya hidup yang tidak sehat seperti kebiasaan mengkonsumsi makanan tinggi lemak, merokok, dan mengonsumsi minuman beralkohol menyebabkan timbulnya penyakit (Polychronopoulus *et al*., 2005). Dalam beberapa dekade terakhir, gaya hidup sebagai faktor penting kesehatan. WHO menjelaskan bahwa 60% kesehatan dan kualitas hidup seseorang berkorelasi dengan gaya hidup (WHO, 2001). Gaya hidup tidak sehat, selain pola makan yaitu gaya hidup *sedentary* yang menyebabkan berkurangnya aktifitas fisik yang mengakibatkan turunya pengeluaran energi sehingga lemak didalam tubuh tertimbun (Hidayati, 2006). Salah satu penyakit yang timbul dari gaya hidup yang tidak sehat tersebut yaitu dislipidemia (Polychronopoulus *et al*., 2005).

Kitab suci al-Quran merupakan kalam Allah SWT yang digunakan sebagai dasar tuntunan umat muslim untuk melaksanakan kehidupan, salah satunya tatacara berprilaku dan gaya hidup. Ayat yang menjelaskan tentang gaya hidup yang sehat yaitu dalam surat Al-A'raf (7): 31:

يَا بَنِي آدَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا ۚ إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴿٣١﴾

" Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) masjid, Makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan."

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ayat tersebut memiliki kata (وَكُلُوا) "*makan*", (وَاشْرَبُوا) "*minumlah*", dan kata (ولاتسرفوا)"*janganlah berlebih-lebihan*". Menurut Ibnu Abbas, ayat ini menjelaskan bahwa Allah SWT menghalalkan makan dan minum selama tidak melakukannnya secara berlebihan. Makanan dan minuman apabila dikonsumsi dengan takaran yang sesuai kebutuhan maka akan menghilangkan lapar dan dahaga. Hal ini menurut syariat sangat dianjurkan. Karena efek dari mengonsumsi makanan dan minuman dapat menyehatkan badan dan memberi energi. Tetapi syariat melarang mengonsumsi makanan dan minuman secara berlebihan karena dapat membuat tubuh lemas, mematikan jiwa, dan menghambat proses ibadah (Al-qurthubi, 2009).

Makan dan minum yang berlebihan selain tidak dianjurkan dalam agama Islam juga memiliki efek yang tidak baik bagi kesehatan. Makan dan minum yang tidak dikontrol dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit. Salah satu penyakit yang timbul karena proses makan yang berlebih yaitu dislipidemia (Hidayati, 2006). Organisasi kesehatan dunia (WHO) menyatakan bahwa secara keseluruhan, peningkatan kolestrol menyebabkan 2,6 juta kematian (4,5% dari total penduduk dunia) dan 29,7 juta kecacatan (WHO, 2017). Menurut statistik WHO, tingkat peningkatan kolestrol tertinggi di dunia yaitu di Eropa 54%, rata-rata ini diikuti oleh Amerika 48%, dan kemudian Afrika dengan 22,6% sedangkan Asia Tenggara memiliki rata-rata 29,0% pada tahun 2008 (WHO, 2008).

Data Riskesdas tahun 2013 pada penduduk di Indonesia usia ≥ 15 tahun menunjukkan kadar kolestrol total di atas nilai normal sebesar 35,9 %, kadar HDL dibawah nilai normal sebesar 22,9 %, trigliserida borderline tinggi sebesar 13%,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dan secara keseluruhan didapat sebagian besar penduduk Indonesia masuk dalam kategori near optimal dan borderline 60,3% dan lebih dari 15,9 % penduduk kadar LDL tinggi dan sangat tinggi (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2013).

Dislipidemia merupakan ketidak normalan metabolisme lipid. Dislipidemia dapat ditandai dengan peningkatan kadar trigliserid, kolesterol total, LDL-C, dan penurunan HDL-C di dalam darah (Gross, 2009). Lemak yang masuk kedalam tubuh terdiri atas trigliserid dan kolesterol. Trigliserid diserap dalam bentuk asam lemak bebas sedangkan kolesterol akan tetap menjadi kolesterol. Asam lemak bebas disintesis kembali menjadi trigliserida baru yang masuk ke hati dalam bentuk kilomikron (Guyton, 2007). Trigliserid dan kolesterol disintesis di hati dan disekresikan sebagai VLDL. VLDL akan dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase (LPL) berubah menjadi IDL. IDL nantinya akan terhidrolisis menjadi LDL. LDL mengalami oksidasi dan ditangkap oleh reseptor SR-A yang terdapat di makrofag dan akan menjadi sel busa (*foam cell*). Sehingga apabila konsentrasi LDL tinggi maka sel busa yang terbentuk akan banyak. Sel busa apabila membesar maka akan terjadi defek pada pembuluh darah sehingga terjadi arterosklerosis (Fauci *et al*. 2008).

Pengobatan yang umum digunakan dalam mengobati hiperlipidemia adalah mengunakan obat golongan statin. Berdasarkan guideline American Heart Association (AHA) pada tahun 2013 menjelaskan bahwa terapi dislipidemia yang disarankan adalah golongan statin (Lullman, *et al*. 2005). Obat golongan statin yang umum digunakan di masyarakat yaitu cerivastatin, rosuvastatin, atorvastatin, simvastatin, lovastatin, pravastatin, dan fluvastatin (Rabie'ah *et al.*, 2014). Dari

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

obat-obat tersebut, obat yang sering digunakan yaitu atorvastatin. Dijelaskan oleh Genest (2007), bahwa atorvastatin memiliki keunggulan yaitu sudah memiliki sediaan generik di Indonesia dan sudah teruji dimasyarakat lebih dari 20 tahun.

Obat golongan statin dapat bekerja menghambat produksi kolestrol di hati, di usus, menurunkan total kolestrol darah serta menurunkan kadar kolesterol LDL darah (Lewis, 2002). Obat golongan statin menurunkan kadar kolesterol dengan cara menghambat kerja enzim HMG-CoA reduktase pada sintesis kolesterol dihati. Penghambatan kerja HMG-CoA reduktase menyebabkan penurunan sintesis kolesterol dan peningkatan reseptor LDL di membran sel hati yang menyebabkan banyak LDL yang hilang dalam plasma (Lullman, 2005). Selain menghambat kerja enzim HMG CoA reduktase, obat golongan statin juga dapat meningkatkan kadar HDL dengan penghambatan reseptor CETP. Dijelaskan oleh Guerin (2000) bahwa obat golongan statin dapat meningkatkan konsentrasi HDL dengan menghambat aktivitas CETP plasma sebesar 5% - 10% dan transfer kolesterol ester sebesar 37%. Penelitian Guerin (2000), membuktikan bahwa atorvastatin dosis 10 mg/dl dapat menghambat aktivitas CETP sebesar 7% dan meningkatkan kolesterol HDL sebesar 37%.

Pemakaian obat golongan statin secara terus menerus dapat memberikan efek samping bagi penggunanya. Efek samping dari obat statin disebabkan karena penggunaan dosis yang tidak sesuai. Obat golongan statin akan berbahaya bagi pasien dengan penyakit hati kronik. Efek samping dari obat golongan statin yang sering dijumpai pada 5% pasien adalah miopati. Gejala yang muncul pada miopati yaitu nyeri pada otot dan persendian (Cannon, 2005).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Salah satu cara untuk mengurangi resiko dari penggunaan obat golongan statin yaitu dengan mengganti obat golongan statin dengan tumbuhan herbal. WHO merekomendasikan penggunaan obat-obatan herbal dan tumbuh-tumbuhan alam sebagai alternative pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit (WHO, 2003). Banyak tumbuhan yang dapat tumbuh dengan subur di Indonesia dan memiliki manfaat bagi kesehatan. Beberapa tumbuhan tersebut yaitu Kayu manis (*Cinamomum burmannii*) dan pepaya gunung (*Carica pubescene*).

Kayu manis (*Cinamomum burmannii*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia. Jenis kayu manis yang tumbuh di Indonesia yaitu (*Cinamomum burmannii*). Di masyarakat kayu manis umumnya digunakan sebagai rempah masakan (Ferry, 2013). Bagian kayu manis yang digunakan yaitu kulit batangnya. Hasil penelitian di Swedia menyatakan bahwa dengan mengkonsumsi bubuk kayu manis dapat menahan kenaikan kolesterol darah (Coumarin, 2006). Dalam penelitian Firdaus (2015), membuktikan bahwa dosis 300 mg/200 gr BB ekstrak kayu manis dapat menurunkan kadar profil lipid tikus penderita dislipidemia. Senyawa aktif yang terdapat pada *Cinamomum burmannii* mengandung rutin, catechin, quercetin, kaempherol, dan isorhamnetin (Rao dan Slew, 2014). Senyawa aktif lain yang terdapat pada *Cinamomum burmannii* yaitu *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, dan *cinnamate* (Araar, 2009).

Pepaya gunung (*Carica pubescene*) merupakan tumbuhan yang tumbuh di dataran tinggi. Pepaya gunung (*C. pubescens*) masih termasuk kedalam genus yang sama dengan pepaya (*Carica papaya*). Dijelaskan oleh Minarno (2015), bahwa *Carica pubescens* dan *Carica papaya* memiliki persamaan dalam

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

morfologi, tetapi berbeda secara karakter tumbuhannya. Di masyarakat daun pepaya gunung umumnya digunakan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan penyakit malaria, beri-beri, sariawan, dan disentri (Simirgiotis, 2009).

Pengujian senyawa aktif dalam daun pepaya gunung sangat terbatas penelitiannya, sehingga dilakukan pendekatan dengan senyawa turunan yang terdapat pada daun *Carica papaya*. Berdasarkan penelitian Yogiraj *et al.*, (2015), menyatakan bahwa pada daun genus Carica memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tannin, dan fenol. Senyawa turunan alkaloid yang terdapat pada daun pepaya gunung yaitu carpaine, pseudocarpane. Senyawa turunan flavonoid yaitu kaemferol, peonidin, pelargonidine, malvidine dan myricetin. Sedangkan untuk turunan fenol yaitu ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenik acid.

Salah satu mekanisme penurunan LDL-C dan menaikan HDL-C adalah dengan menghambat aktivitas CETP. CETP merupakan protein yang akan mentransfer kolesterol ester pada HDL dengan trigliserid dari VLDL dan IDL (Ikewaki *et al.*, 1993). Penelitian Qin, *et al* (2009), menjelaskan bahwa senyawa aktif tanaman yang dapat menghambat aktivitas protein CETP yaitu senyawa golongan antosianin. Pelargonidin, malvidin dan peonidin merupakan senyawa golongan antosianin yang dapat menurunkan aktivitas CETP hingga 6,3% sampai 10,4%. Senyawa aktif yang terdapat dalam kayu manis (*Cinamomum burmannii*) memiliki efek dalam menurunkan kolesterol dalam plasma yaitu menurut penelitian Pal (2003), menunjukkan bahwa senyawa catechin yang terdapat pada *Cinamomum burmannii* dapat menghambat HMG KoA reduktase dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

meningkatkan reseptor LDL di hati, sehingga pembentukan kolesterol dalam serum darah dapat dihambat.

Kedua tumbuhan tersebut memiliki kekurangan dan kelebihan masing-masing. Kulit batang *Cinamomum burmannii* memiliki senyawa golongan flavonoid yang dapat menghambat aktivitas enzim HMG KoA reduktase. Sedangkan *Carica pubescene* memiliki senyawa peonidin, pelargonidine, dan malvidine yang dapat menghambat CETP. Sedangkan kekurangan dari *Carica pubescene* yaitu tidak mengandung senyawa golongan flavonoid yang tinggi untuk dapat menghambat HMG KoA reduktase seperti rutin, catechin dan quercetin. Berdasarkan penjelasan tersebut maka dilakukan kombinasi dari kulit batang *Cinamomum burmannii* dan daun *Carica pubescene* sehingga dapat maksimal dalam pengobatan dislipidemia.

Pengolahan pemanfaatan *Cinamomum burmannii* dan *Carica pubescene* dalam bentuk ekstrak. Penggunaan etanol 70% sesuai dengan penelitian Bimakra *et al.*, (2010), bahwa pelarut etanol 70% dapat menarik senyawa aktif pada tanaman, umumnya senyawa golongan flavonoid. Senyawa etanol 70% juga memiliki toksisitas yang rendah. Sehingga pada peneliian ini digunakan pelarut etano 70% untuk memaksimalkan penarikan senyawa. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini merujuk pada penelitian Firdaus (2015), bahwa dosis 300 mg/kg BB ekstrak kayu manis dapat menurunkan kadar kolesterol serum darah.

Uji penghambatan CETP secara *in silico* dilakukan dengan menggunakan metode *molecular docking*. Senyawa rutin, catechin, quercetin, kaempherol, isorhamnetin, cinnamaldehyde, cinnamic acid, cinnamate, carpaine, pseudocarpane, myricetin, peonidin, pelargonidin, malvidine, ferulic acid, caffeic

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

acid, dan chlorogenik acid digunakan sebagai ligan sedangkan reseptornya adalah CETP (*Cholesterol ester transfer protein*). Metode *molekuler docking* ini diharapkan dapat mengkonfirmasi potensi senyawa yang terdapat pada kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) dalam menghambat aktivitas reseptor CETP sehingga dapat menaikan HDL dan menurunkan LDL.

Uji kadar HDL dan LDL secara *in vivo* dilakukan untuk mengetahui konsentrasi HDL dan LDL dalam serum darah mencit dislipidemia. Konsentrasi HDL-Kolesterol serum mencit dikategorikan normal yaitu antara 20 mg/dL sampai 36 mg/dL. Konsentrasi LDL-Kolesterol serum mencit dikategorikan normal yaitu 50 mg/dL sampai 85 mg/dL. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai potensi kombinasi *Carica pubescene* dan *Cinamomum burmannii* untuk pengobatan dislipidemia berdasarkan kadar LDL dan HDL secara *in silico* dan *in vivo*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian adalah:

1. Adakah senyawa turunan pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) yang berpotensi dalam penghambatan reseptor CETP secara *in silico*?
2. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) terhadap kadar LDL (*low density lipoprotein*) dan HDL (*high density lipoprotein*) serum mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo*?

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui:

1. Mengetahui ada tidaknya senyawa turunan pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) yang berpotensi menhambat reseptor CETP secara *in silico*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) terhadap kadar LDL (*low density lipoprotein*) dan HDL (*high density lipoprotein*) serum mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Ada senyawa turunan pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) yang berpotensi menhambat reseptor CETP secara *in silico*.
2. Ada pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) terhadap kadar LDL (*low density lipoprotein*) dan HDL (*high density lipoprotein*) serum mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapat dari penilitian ini adalah:

1. Manfaat teoritis

Diharapkan penelitian ini mampu memberikan informasi ilmiah mengenai kadar LDL-C dan HDL-C setelah pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*).

2. Manfaat aplikatif

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat menjadi awal dalam usaha pemanfaatan ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) sebagai terapi antidislipidemia dalam upaya peningkatan kesehatan masyarakat Indonesia.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak yang digunakan berasal dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang didapat dari UPT Materia Medica Batu sedangkan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) diperoleh dari Kawasan Wisata Pemandian Air Panas Cangar.
2. Hewan coba yang digunakan adalah mencit strain *Balb/C* jantan (*Mus musculus*), umur 10-12 minggu dengan berat badan 20-25 gram yang diperoleh dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) Jalan Soekarno Hatta Malang.
3. Pembuatan hewan dislipidemia dilakukan dengan induksi pakan tinggi lemak (HFD) selama 56 hari dengan komposisi kuning telur puyuh, lemak ayam dan PTU
4. Kontrol Positif pada penelitian ini menggunakan obat Atorvastatin yang diproduksi oleh PT. KALBE FARMA tbk (Tiab tablet mengandung Atorvastatin 20 mg).
5. Metode penelitian yang digunakan yaitu secara *in vivo* dan *in silico.*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6. Metode ekstraksi yang digunakan adalah dengan menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%.
7. Waktu yang digunakan dalam pemberian kombinasi seduhan kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) yaitu setiap hari sekali pada jam 10.00 WIB selama 28 hari secara oral dimulai pada hari ke-29.
8. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jumlah kadar LDL dan HDL serum darah mencit.
9. Metode yang digunakan untuk mengukur kadar kolesterol-LDL yaitu CHOD-PAP dan kolesterol-HDL yaitu *Precipitation Enzymatic*. .
10. Uji secara *in silico* dilakukan dengan menggunakan metode *molecular docking* dengan reseptor CETP.
11. Senyawa yang digunakan untuk uji *in siico* (*molecular docking*) diantaranya adalah senyawa rutin, catechin, quercetin, kaempherol, isorhamnetin, cinnamaldehyde, cinnamic acid, cinnamate, carpaine, pseudocarpane, myricetin, peonidin, pelargonidine, malvidine, ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenik acid.
12. Parameter uji in silico adalah nilai uji HIA, nilai uji PASS, nilai energy ikatan (*binding affinity*) dan daerah ikatan (*binding pose)* antara ligan dan reseptor.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dislipidemia

2.1.1 Definisi

Dislipidemia didefinisikan sebagai kelainan metabolism lipid dengan ditandai peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma darah. Kelainan fraksi lipid tersebut meliputi kenaikan kadar kolesterol total > 200 mg/dl, kolesterol LDL > 100 mg/dl, trigliserida > 150 mg/dl, dan penurunan kolesterol HDL < 40mg/dl (Muray, 2006). Kelainan fraksi lipid tersebut merupakan faktor terjadinya arterosklerosis, sehingga fraksi lipid tersebut merupakan target pengobatan dislipidmia plasma (*Oxford textbook of medicine*, 2005).

2.1.2 Profil Lipid

2.1.2.1 Lipoprotein

Lipoprotein adalah kompleks lemak dengan protein yang dapat larut didalam darah. Lipoprotein memiliki fungsi untuk mengangkut komponen lipid yang terdapat di usus sebagai kilomikron dan lipid yang berasal dari hati sebagai lipoprotein berdensitas sangat rendah menuju sebagian besar jaringan untuk dioksidasi dan kejaringan adipose untuk disimpan (Murray *et al.*, 2006). Lipoprotein memiliki komposisi yang terdiri atas lipid hidrofobik yang terdapat di inti (trigliserida dan ester kolesterol) sedangkan pada bagian tepi dikelilingi oleh lipid hidrofilik (fosfolipid, kolesterol tidak teresterifikasi) dan protein yang brinteraksi dengan cairan tubuh. Terdapat asam lemak bebas dalam jumlah yang lebih sedikit, yang dikenal sebagai lipid plasma yang aktif secara metabolik (Rader dan Hobbs, 2005). Terdapat lima jenis lipoprotein di dalam plasma darah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

yang mempunyai peranan penting dalam transportasi dan metabolism lemak. Lipoprotein tersebut yaitu kilomikron, VLDL (Very Low Density lypoproteins), IDL (Intermediate Density Lypoproteins), LDL (Low Density Lypoproteins), dan HDL (High Density Lypoproteins) (Murray *et al*., 2006).

2.1.2.2 Kilomikron

Kilomikron adalah jenis lipoprotein yang memiliki berat molekul terbesar. Kilomikron bermula dari proses penyerapan trigliserol dan lipid yang berada di usus. Asam-asam lemak yang berasal dari trigliserol kilomiron akan disalurkan ke jaringan adiposa, jantung dan otot (80%), sisanya sebanyak 20% menuju ke hati. Proses penghilangan kilomikron dalam darah berlangsung dengan waktu kurang dari 1 jam pada manusia (Murray *et al*., 2006).

Kilomikron memiliki lapisan-lapisan yang terdiri dari fosfolipid, kolesterol bebas, Apo-48, Apo AI, Apo AII, Apo AIV, untuk bagian inti dari kilomikron terdiri dari trigliserida dan kolesterol. Pada plasma Apo C dan Apo E ditransfer menuju kilomikron dari HDL sehingga terbentuk kilomikron. Apo CII memediasi hidrolisis trigliserida melalui LPL, proses ini untuk pembentukan kilomikron rement yang banyak kolestrerol sedikit trigliserida dan asam lemak bebas (Rader dan Hobbs, 2005).

Kilomikron rement yang terbentuk akan diambilkan oleh hepatosit dengan bantuan Apo E. Kolesterol yang terdapat pada kilomikron rement akan diproses oleh hepatosit dalam pembentuk asam empedu, diekskresikan sebagai kolesterol ke dalam empedu atau membentuk lipoprotein. Asam lemak bebas digunakan oleh berbagai jaringan untuk disimpan sebagai trigliserida (Rader dan Hobbs, 2005).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.1.2.3 VLDL (Very Low Density Lypoproteins)

VLDL merupakan lipoprotein dengan berat molekul terbesar kedua. VLDL terdiri atas 60 % trigliserida endogen dan 10-15% kolesterol. Jumlah trigliserida menentukan ukuran VLDL. Apolipoprotein utama yang terdapat pada VLDL yaitu apo B-100, apo Cs (C-I, C-II, dan C-III) dan apo E. Lipoprotein ini terbentuk dari asam lemak bebas di hati (Grundy, 2002).

Trigliserida yang terdapat dalam VLDL terhidrolisis oleh lipoprotein lipase sehingga berubah bentuk menjadi VLDL remant. VLDL remant terdiri dari VLDL yang terdegradasi dan kaya ester kolesterol. VLDL rement dapat ditangkap oleh hepar melalui reseptor LDL yang berinteraksi dengan ApoB-100, kemudian diambil komponen trigliseridanya melalui endositosis yang dimediasi oleh reseptor dan dihidrolisis oleh hepatic lipase menjadi partikel IDL dan LDL (Rader dan Hobbs, 2005).

2.1.2.4 IDL (Intermediate Density Lypoproteins)

IDL merupakan lipoprotein yang digunakan sebagai perantara saat VLDL dikatabolisme menjadi LDL. VLDL yang telah dimetabolisme menjadi IDL dapat diserap oleh hepar secara langsung melalui reseptor LDL yang nantinya akan diubah menjadi LDL (Murray *et al*., 2006).

2.1.2.5 LDL (Low Density Lypoproteins)

LDL kolesterol disebut juga $^{\beta}$-lipoprotein merupakan lipoprotein yang terdiri dari 60-70 % kolesterol dan 10 % trigliserida. Apolipoprotein yang terdapat pada LDL yaitu Apo B-100. LDL memiliki fungsi untuk membawa kolesterol yang terdapat di hepar menuju jaringan perifer termasuk ke sel otot jantung, pembuluh darah, otak dan jaringan lain (untuk sintetik membrane plasma dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

hormone steroid). Kolesterol yang dibawa oleh LDL ke jaringan perifer berfungsi untuk dipecah menjadi energy atau disimpan. Di hati, reseptor LDL mengeluarkan LDL dari sirkulasi sehingga reseptor tersebut memiliki peran penting dalam pengaturan kadar kolesterol yang terdapat di dalam darah. Sehingga dapat dikatakan proses penyediaan koesterol pada jaringan ekstrahepatik dinamakan jalur LDL reseptor sedangkan untuk proses pengembalian kolesterol ke hati dari jaringan perifer disebut reverse cholesterol transport (Murray *et al*., 2009).

Sumber kolesterol LDL dapat berasal dari banyak faktor, antara lain kolesterol dalam makanan, asupan lemak jenuh, kecepatan produksi dan eliminasi LDL. LDL dikatakan sebagai kolesterol jahat karena LDL memililki tugas membawa kolesterol ke sel jaringan tubuh, apabila proses katabolisme LDL yang dilakukan oleh hepar dan jaringan perifer berkurang, mengakibatkan kadar kolesterol plasma menjadi meningkat. Kadar kolesterol yang meningkat pada plasma akan disalurkan ke dalam makrofag sehingga membentuk sel busa (*foam cells*). Apabila jumlah kolesterol dalam makrofag berlebihan menjadikan kolesterol yang terkandung menumpuk serta mengendap pada dinding pembuluh darah, apabila mengeras kolesterol tersebut akan menjadi plak. Plak dibentuk dari unsur lemak, kolesterol, kalsium, produk sisa sel dan materi-materi yang berperan dalam proses pembekuan darah. Proses ini yang natinya dapat berkembang menjadi menebal dan mengeras di pembuluh darah yang dikenal dengan nama aterosklerosis (Murray *et al*., 2006).

2.1.2.6 HDL (High Density Lypoproteins)

HDL merupakan jenis lipoprotein yang terkecil apabila dibandingkan dengan lipoprotein lain. HDL berdensitas yang paling tinggi karena lebih banyak

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

mengandung protein dibanding kolesterol. HDL terdiri dari 13% kolesterol, kurang dari 5% trigliserida dan 50% protein. HDL mengandung apolipoprotein (apo) A, C, dan E. HDL memiliki fungsi sebagai tempat penyimpanan apo C dan apo E yang nantinya dibutuhkan dalam proses metabolism kilomikron dan VLDL. HDL disintesis dari usus dan hati, namun HDL yang baru terbentuk (*nascent*) dari usus tidak mengandung apoprotein C melainkan hanya apoprotein A (Murray *et al*., 2006).

Lipoprotein disintesis di hati dalam bentuk kompleks dari apolipoprotein dan fosfolipid yang membentuk partikel kolesterol bebas. Kompleks yang telah di bentuk memiliki kemampuan untuk mengambil kolesterol yang dibawa dari sel melalui interaksi dengan ATP-*binding cassette transporter* AI (ABCA1). Kolesterol bebas berubah menjadi bentuk kolesterol ester dengan bantuan enzim LCAT (*Lecithin-cholesterol acyltransferase*). Kolesterol ester memili bentuk yang lebih hidrofilik bila dibandingkan dengan kolesterol bebas. Kolesterol ester nantinya tersekuestrasi kedalam inti dari partikel lipoprotein, sehingga menyebabkan HDL yang baru disintesis memiliki berbentuk bulat. Partikel HDL yang telah disintesis memiliki bentuk yang semakin besar dikarenakan HDL tersebut beredar melalui aliran darah. Peredaran HDL tersebut menyebabkan banyak kolesterol dan molekul fosfolipid dari sel dan lipoprotein yang masuk. Salah satu contohnya adalah interaksi antara transporter ABCG1 dan Phospholipid Transport Protein (PLTP) (Murray *et al*., 2006).

Proses pengankutan kolesterol oleh HDL menuju hati atau organ steroidogenik seperti adrenal, ovarium, dan testis melalui dua jalur. Jalur tersebut yaitu jalur langsung dan tidak langsung. Reeseptor *Scavenger Reseptor* BI (SR-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BI) merupakan reseptor HDL yang berfungsi untuk memediasi penyerapan selektif kolesterol dari HDL. Pada metabolism manusia, jalur yang paling efektif digunakan yaitu jalur tidak langsung. Jalur tidak langsung ini dimediasi oleh kolesterol ester transfer protein (CETP). CETP akan mentransfer trigliserida yang terdapat dalam VLDL dengan ester kolesterol yang terdapat di HDL. Hasil dari proses ini VLDL diproses untuk LDL, yang dibuang dari sirkulasi oleh reseptor LDL. Trigliserida tidak stabil dalam HDL akan terdegradasi oleh hepatik lipase sehingga partikel HDL kecil yang tersisa yang akan memulai kembali penyerapan kolesterol dari sel. Kolesterol yang ditranspor ke hati akan disekresikan ke empedu baik secara langsung maupun tidak langsung setelah dikonversi menjadi asam empedu (Murray *et al*., 2006).

Metabolisme HDL diawali denga proses HDL yang dilepaskan dalam bentuk partikel kecil yang memiliki sedikit kolesterol. HDL tersebut memiliki apolipoprotein (apo) A, C, dan E, bentuk HDL tersebut dinamakan HDL *nescent*. HDL *nescent* berasal dari usus halus dan hati, memmiliki bentuk gepeng dan terdapat apolipoprotein A1. HDL *nescent* akan berjalan menuju makrofag untuk bertugas mengambil kolesterol yang terdapat di makrofag. Proses tersebut mengakibatkan HDL *nescent* berubah bentuk menjadi HDL dewasa dengan bentuk bulat. Kolesterol bebas dibagian dalam dari makrofag harus dibawa kepermukaan membrane sel makrofag oleh transporter yang dinamakan *adenosine triphosphate-binding cassett transporter*-1 atau disingkat ABC-1 agar dapat dengan mudah diambil oleh HDL *nescent* (Adam, 2009).

Kolesterol bebas yang diambil dari makrofag akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester oleh enzim LCAT. Kolesterol ester yang terdapat didalam HDL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

akan melalui dua jalur. Jalur pertama yaitu menuju hati yang nantinya ditangkap oleh reseptor SR-B1. Jalur kedua dari VLDL dan LDL dengan bantuan CETP (Adam, 2009).

HDL diaktakan sebagai kolesterol baik karena dapat bertugas membawa kolesterol berlebih yang terdapat di jaringan untuk dibawa kembali ke hati yang nantinya akan diedarkan kembali atau dikeluarkan dari tubuh. HDL berfungsi untuk mencegah terjadinya penumpukan kolesterol di jaringan, terutama di pembuluh darah. Kadar HDL yang tinggi dapat mencegah perkembangan aterosklerosis (Adam, 2009).

2.1.2.7 Trigliserida

Trigliserida merupakan ester dari molekul gliserol dan tiga molekul asam lemak. Apabila satu buah asam lemak berikatan dengan gliserol maka dinamakan monogliserida. Sintesis trigliserida terjadi di dalam hati, serta sejumlah kecil di sintesis di dalam jaringan adipose. Fungsi utama trigliserida adalah sebagai sumber energi, serta sejumlah kecil trigliserida untuk membentuk membrane. Lemak yang didalam tubuh dalam berbentuk trigliserida. Ketika sel membutuhkan energi, secara otomatis enzim lipase yang terdapat di sel lemak akan melakukan proses pemecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak yang natinya akan dilepas ke dalam pembuluh darah. Sel-sel yang membutuhkan komponen-komponen tersebut kemudian dibakar dan menghasilkan energi, karbondioksida (CO_2), dan air (H_2O) (Lichtenstein dan Jones, 2006).

Biosintesis triasilgliserol berawal dari dua molekul asil-KoA yang dibentuk melalui pengaktifan asam lemak oleh asil-KoA sintetase. Dua molekul Asil-KoA ini kemudian berikatan dengan gliserol 3-fosfat asiltransferase

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

membentuk senyawa fosfatidat (1,2-diasilgliserol fosfat). Proses ini berlangsung dalam dua tahap, yaitu mula-mula dikatalisis oleh 1-asilgliserol-3-fosfat asiltransferase membentuk senyawa fosfatida. Fosfatidat dikatalisis oleh fosfatidat fosfohidrolase membentuk senyawa 1,2 diasil gliserol, kemudian oleh diasilgliserol asiltransferase (DGAT) membentuk senyawa triasilgliserol (Murray et al., 2006).

2.1.2.8 Kolesterol

Kolesterol merupakan lipid amfipatik yang terdiri dari komponen structural esensial berada pada membrane dan lapisan luar lipoprotein plasma. Kolesterol disintesis di dalam tubuh dalam bentuk inti steroid. Inti steroid disintesis dari asetil KoA. Inti steroid merupakan perkusor steroid di dalam tubuh. Inti steroid dimodifikasi sehingga terbentuk kortikosteroid, hormone seks, asam empedu dan vitamin D (Guyton dan Hall, 2008).

Proses sintesis kolesterol menggunakan bayak enzim. Enzim-enzim yang digunkan antara lain asetoasetil-KoA sintetase (thiolase), HMG KoA sintease, HMG KoA reduktase, mevalonate kinase, cis-prenil transferase, squalene sintetase, squalene eposkisdase, oksidoskualen lanosterol siklase, isomerase, dan skualen reduktase (Guyton dan Hall, 2008). Biosintesis kolesterol terjadi dalam beberapa tahap, antara lain: mengkonversi asetil-KoA menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG KoA) dan mevalonat. Proses fosforilasi dengan mengubah mevalonate menjadi molekul isoprenoid aktif yaitu isopentenyl difosfat bersama dengan hilangnya CO_2. 6 Isoprenoid yang aktif akan dibentuk menjadi skualen. Skualen yang terbentuk akan dikonversi menjadi lanosterol. Lanosterol akan berubah menjadi kolesterol (Murray *et al*., 2006).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kolesterol disekresikan melalui dua jalur, yaitu kolesterol dikonversi menjadi asam empedu dan eskresi dterol netral dalam feses. Bentuk kolesterol yang beradar di dalam darah yaitu memiliki bentuk partikel yang mengandung lipid dan protein yang dinamakan lipoprotein (Grundy, 2002).

2.2 Metabolisme Lipoprotein

2.2.1 Jalur Eksogen

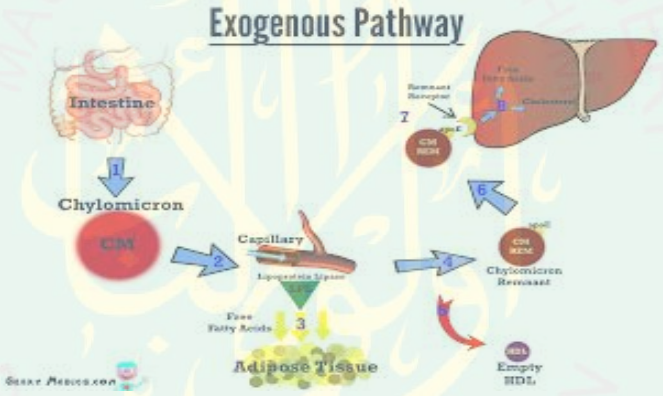
Mekanisme lipoprotein melalui jalur eksogen dimulai dari asupan lemak kedalam tubuh yang berbentuk trigliserida dan kolesterol. Lemak juga didapat dari ekskresi hati bersama empedu yang natinya dibawa ke usus halus. Lemak dari asupan makanan maupun dari sintesis hati keduanya merupakan lemak eksogen. Trigliserida dan kolesterol dari makanan akan diserap di intestinal tepatnya pada enterosit yang terdapat di mukosa usus halus. Pada usus halus trigliserida akan diserap sebagai asam lemak bebas, untuk kolesterol tetap menjadi kolesterol. Selanjutnya asam lemak bebas akan diubah menjadi trigliserida, dan kolesterol diesterifikasi menjadi kolesterol ester. Sehingga terbentuk lipoprotein yang terdiri dari bentukan trigliserida, kolesterol ester, fosfolipid, dan apolipoprotein. Lipoprotein besar disebut kilomikron. Kilomikron yang membawa lipoprotein kedalam aliran darah. Enzim lipoprotein lipase yang terdapat dalam endotel akan menguraikan trigliserida yang terdapat dalam kilomikron sehingga menjadi asam lemak bebas dan kilomikron rement (Adam, 2009).

Asam lemak bebas disimpan di jaringan adiposa dalam bentuk trigliserida. Apabila jumlah asam lemak bebas banyak, maka akan diambil oleh hati yang nantinya diubah menjadi trigliserida hati. Ketika membutuhkan energi yang berasal dari lemak, maka terjadi proses pemecahan trigliserida menjadi bentuk asam lemak dan gliserol yang selanjutnya akan diedarkan menuju sel-sel untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dioksidasi menjadi energi. Proses pemecahan lemak tersebut dinamakan lipolisis. Sedangkan albumin bertugas mengedarkan asam lemak menuju jaringan yang memerlukan. Asam lemak ini dinamakan asam lemak bebas (Adam, 2009).

Di hati, kilomikron rement akan di metabolisme membentuk kolesterol bebas. Kolesterol yang terdapat di hati akan berubah menjadi asam empedu, nantinya asam empedu akan dikeluarkan ke usus. Proses ini berfungsi sebagai pembersihan dan membantu penyerapan lemak yang bersumber dari makanan. Sisa kolesterol lain akan disekresikan melalui saluran empedu tanpa melalui proses metabolisme menjadi asam empedu, selanjutnya hati akan mengedarkan kolestrol menuju jaringan tubuh lain melalui jalur endogen (Adam, 2009).



Gambar 2.1 Metabolisme lipoprotein jalur eksogen (Tall, 2001)

2.2.2 Jalur Endogen

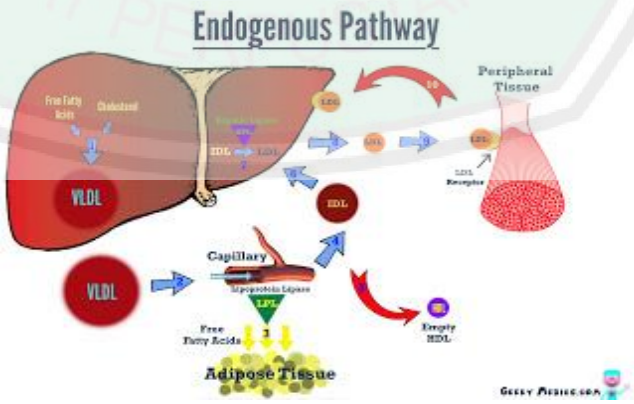
Proses metabolisme lipoprotein melalui jalur endogen diawali dengan pembentukan trigliserida dan kolesterol yang disintesis di hati kemudian disekresikan dalam bentuk VLDL. VLDL memiliki apolipoprotein (apo) B100. Enzim lipoprotein lipase (LPL) akan menghidrolisis trigliserida yang terdapat pada VLDL sehingga berubah menjadi IDL. IDL akan diambil oleh hati yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

nantinya juga akan mengalami hidrolisis sehingga menjadi LDL. IDL dan LDL bertugas untuk mengankut kolesterol ester kebali ke hati (Adam, 2009).

LDL yang termasuk kedalam jenis lipoprotein yang mengandung banyak kolesterol. Kolesterol yang terkandung di dalam LDL akan diedarkan ke hati dan jaringan steroidogenik yang memiliki reseptor kolesterol LDL, jaringan tersebut antara lain kelenjar adrenal, testis, dan ovarium. Sisa dari kolesterol LDL akan ditangkap oleh reseptor scavenger-A (SR-A) yang terdapat di magrofag untuk dioksidasi menjadi sel busa (*foam cell*). Sehingga, semakin banyak kolsterol LDL yang beredar di plasma darah maka semakin banyak kolesterol LDL yang ditangkap oleh reseptor SR-A di magrofag dan dioksidasi sehingga makin besar sel busa yang terbentuk. Sel busa yang terus menerus terbentuk akan menyebakan aterosklerosis (Adam, 2009).

Kilomikron akan terhidrolisis oleh enzim *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) di hati dan usus membentuk HDL. Pada proses ini ester kolesterol akan mengalami perpindahan dari HDL ke VLDL. Proses tersebut menunjukkan proses transport kolesterol terbalik dari jaringan perifer menuju hati (Adam, 2009).



Gambar 2.2 Metabolisme lipoprotein jalur endogen (Tall, 2001)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.2.3 Peran CETP dalam *Reverse Cholesterol Transport*

HDL dilepaskan oleh hati dan usus dalam bentuk partikel kecil yang memiliki sedikit kolesterol. Apolipoprotein yang terdapat pada HDL yaitu apolipoprotein (apo) A, C, E. HDL yang berbentuk gepeng dan memiliki apolipoprotein A1 dinamakan HDL *nescent*. Kolesterol bebas yang terdapat di dalam makrofag dibawa oleh *adenosine triphosphate-binding cassette transporter*-1 (ABC-1) menuju permukaan makrofag. Kolesterol yang terdapat di permukaan makrofag akan diambil oleh HDL *nescent*. Proses ini akan mengubah HDL nescent menjadi HDL dewasa yang memiliki bentuk bulat (Adam, 2009).

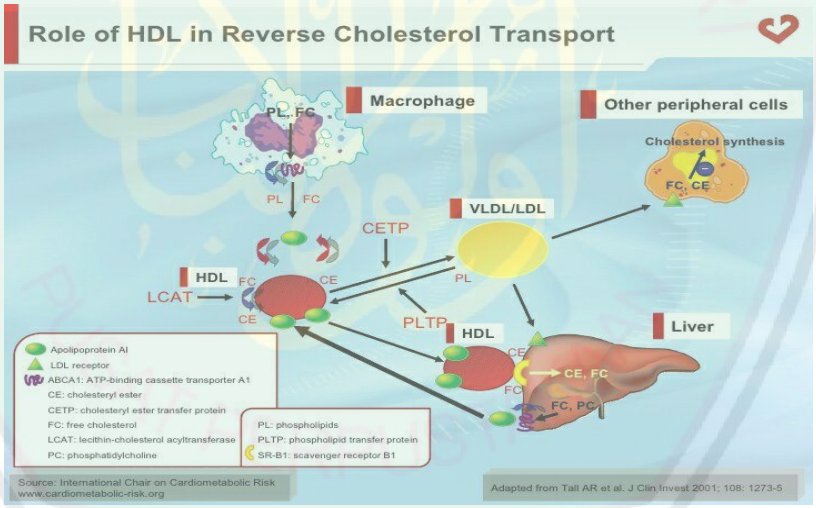
Enzim *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) akan mengesterifikasi kolesterol bebas dari makrofag menjadi kolesterol ester. Kolesterol yang terdapat pada HDL akan menempuh dua jalur. Jalur yang pertama, kolestelor ester pada HDL akan ditangkap oleh *scavenger reseptor class B type* 1 (SR-B1) yang terdapat di hati. Jalur kedua, kolesterol ester pada HDL akan mengalami proses pertukaran dengan trigliserida yang terdapat pada VLDL. Proses pertukaran antara kolesterol ester dan trigliserida ini diperantarai oleh (CETP) *cholesterol ester transfer protein* (Adam, 2009).

CETP merupakan protein penting yang berperan dalam terjadinya transport kolesterol terbalik. CETP merupakan glikoprotein yang memiliki sifat hidrofofik. CETP dihasilkan di hati dan diedarkan pada plasma darah. CETP berperan sebagai pengkatalis transfer antara cholesterol ester yang terdapat dalam HDL dengan trigliserida yang terdapat di dalam VLDL dan LDL. Penghambatan CETP dapat mengurangi aterosklerosis (Tall, 2001).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Penghambatan protein CETP menyebakan terjadinya defisiensi pada protein tersebut. Defisiensi CETP dapat menpengaruhi kadar HDL dan mengakibatkan perubahan partikel HDL. Defisiensi protein CETP menyebabkan ketidakmampuan untuk mentransfer cholesterol ester dari HDL ke lipoprotein lainnya. Sehingga menyebabkan akumulasi cholesterol ester dalam HDL tinnggi, dan kadar apoA-I, apoA-II, dan apoE mengalami peningkatan (Yamashita, 1990).

Penelitian tentang CETP oleh Matsuura (2006), menjelaskan bahwa defisiensi CETP menyebakan kolesterol keluar dari makrofag melalui jalur yang berhubungan dengan ABCG1 sehingga terdapat kandungan *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT) dan apoE. LCAT akan mengesterifikasi kolesterol bebas dari makrofag menjadi kolesterol ester.



Gambar 2.3 Mekanisme *Reverse Cholesterol Transport* (Tall, 2001)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.3 Klasifikasi Dislipidemia

2.3.1 Klasifikasi Fenotipik

Klasifikasi dislipidemia menurut WHO didasarkan pada modifikasi klasifikasi Fredrickson. Klasifikasi dislipidemia atas dasar fenotip plasma (*Oxford textbook of medicine*, 2005).

2.3.1.1 Klasifikasi WHO (*World Health Organization*)

Tabel 2.1 Klasifikasi dislipidemia menurut Fredricson

Fredricson	Klasifikasi generic	Klasifikasi terapeutik	Peningkatan lipoprotein
I	Dislipidemia eksogen	Hipertrigliserida	Kilomikron
IIa	Hiperkolesterolemia	Hiperkolesterolemia	LDL
IIb	Dislipidemia kombinasi	Hiperkolesterolemia Endogen + Dislipidemia Kombinasi	LDL+ VLDL
III	Dislipidemia remant	Hipertrigliserida	Partikel – partikel remant (Beta VLDL)
IV	Dislipidemia Endogen	Endogen	VLDL
V	Dislipidemia campuran	Hipertrigliserida Endogen	VLDL + Kilomikron

a. Dislipidemia tipe I

Dislipidemia tipe I menunjukkan peristiwa hiperkilomikronemia yang disebabkan oleh defisisensi lipoprotein lipase yang dibutuhkan dalam metabolism kilomikron. Penyebab lain dari dislipidemia tipe ini yaitu kekurangan apoprotein CII yang digunakan sebagai kofaktor untuk lipoprotein lipase. Pada dislipidemia

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tipe I kadar trigliserida serum meningkat dengan rasio kolesterol: trigliserida < 0,2 : 1. Kelainan yang muncul yaitu sebelum pasien berusia 10 tahun dengan gejala seperti kolik, nyeri perut, dan xantoma (*Farmakologi dan Terapi*, 1995; Murray *et al*, 2006).

b. Dislipidemia tipe II

Dislipidemia tipe II dibagi menjadi dua yaitu tipe IIa dan tipe IIb. Perbedaan dari dua tipe tersebut yaitu pada tingginya kadar trigliderida terhadap LDL kolesterol. Dislipidemia tipe IIA terjadi peningkatan LDL dan apoprotein B dengan kadar VLDL normal. Dislipidemia ini juga disebut dengan hiperkolesterolemia familial karena adanya mutasi gen reseptor LDL. Pada dislipidemia tipe IIb terjadi peningkatan LDL dan apoprotein B dengan meningkatnya kadar VLDL meliputi peningkatan kadar trigliserida, asetil CoA dan adanya peningkatan sintesis dari B-100. Hal tersebut disebabkan oleh menurunnya konsentrasi dari reseptor LDL dan meningkatnyaApoprotein B (Prince dan Lorraine, 2006).

c. Dislipidemia tipe III

Dislipidemia tipe III disebut pula Familial Dysbetalipoprotein. Dislipidemia tipe III ditandai dengan tingginya kadar kilomikron dan IDL. Penimbunan IDL pada dislipidemia tipe ini disebabkan karena proses blockade parsial yang terdapat pada metabolisme VLDL menjadi LDL, peningkatan apoprotein B atau peningkatan kadar apoprotein E. Pada penderita dislipidemia ini pengambilan sisa kilomikron dan sisa VLDL oleh hati dihambat dan menyebabkan terjadinya akumulasi di darah dan jaringan. Pada dislipidemia tipe ini peningkatan kolesterol serum dan trigliserida menjadi (350-800 mg/dl). Gejala

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

yang muncul yaitu xantoma pada kulit terutama pada siku dan lutut. Penyakit koroner, kardiovaskuler dan pembuluh darah tepi terjadi lebih cepat yaitu usia 40-50 tahun (*Farmakologi dan Terapi*, 1995; Murray *et al*., 2006).

d. Dislipidemia tipe IV

Dislipidemia tipe IV ditandai dengan terjadinya peningkatan VLDL dan trigliserida yang kemudian dikenal dengan hipertrigliserida. Dislipidemia tipe IV memiliki sekunder karena penyakit lain, alkoholisme berat atau diet karbohidrat. Banyak dari penderita menunjukkan intoleransi glukosa dengan reaksi insulin berlebihan terhadap beban karbohidrat dan lebih dari 40% disertai hiperurisemia (*Farmakologi dan Trapi*, 1995).

e. Hiperlipidemia tipe V

Dislipidemia tipe V menunjukkan akumulasi VLDL kilomikron, yang diikuti konsentrasi HDL yang rendah yang disebabkan oleh gangguan katabolisme trigliserida. Dislipidemia tipe ini menggambarkan tidak toleransinya penderita terhadap karbohidrat dan lemak, xantoma serta hiperurisemia (*Farmakologi dan Terapi*, 1995; Murray *et al*., 2006).

2.3.1.2 Klasifikasi EAS (*European Atheroselerosis Society*)

Klasifikasi dislipidemia berdasarkan EAS dibagi menjadi tiga golongan, antara lain pertama hiperkolesterolemia yang terlihat dalam peningkatan kolesterol total, kedua hipertrigliseridemia yang terlihat pada nilai trigliserida plasma yang tinggi dan ketiga terdapat campuran dari keduanya. Klasifikasi dislipidemia tersebut terlihat pada table 2.2.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 2.2 Klasifikasi dislipidemia berdasarkan EAS

Klasifikasi	Peningkatan Lipoprotein	Lipid Plasma
Hiperkolesterolemia	LDL	Kolesterol ≥ 240 mg/dl
Dislipidemia campuran (kombinas)	LDL + VLDL	Trigliserida ≥ 200 mg/dl + Kolesterol ≥ 240 mg/dl
Hipertrigliseridemia	VLDL	Trigliserida ≥ 200 mg/dl

2.3.1.3 Klasifikasi NECP

Klasifikasi dislipidemia menurut *National Cholesterol Education Program Adult Panel* III (NCEP ATP) mengklasifikasikan dislipidemia berdasarkan kondisi profil lipid.

Tabel 2.3 Klasifikasi kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida menurut NCEP ATP III 2001 (mg/dl)

Kolesterol Total	
< 200	Optimal
200-239	Diinginkan
≥ 240	Tinggi
Kolesterol LDL	
< 100	Optimal
100-129	Mendekati optimal
130-159	Diinginkan
160-189	Tinggi
≥ 190	Sangat tinggi
Kolesterol HDL	
< 40	Rendah
≥ 60	Tinggi
Trigliserida	
< 150	Optimal
150-199	Diinginkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

200-499	Tinggi
≥ 500	Sangat tinggi

2.3.2 Klasifikasi Patogenik

Berdasarkan patologinya dislipidemia dapat dibagi menjadi dua klompok yaitu dislipidemia primer (genetic) dan dislipidemia sekunder (gaya hidup dan lainnya).

2.3.2.1 Dislipidemia primer

Dislipidemia primer umumnya berhubungan dengan gen pada enzim dan apoprotein yang berperan dalam proses metabolism lipoprotein dan reseptornya. Kelainan dislipidemia primer disebabkan oleh mutase genetik. Mutasi gen tunggal atau multiple yang menyebabkan overproduksi ataupun defek pada pembersihan trigliserida dan LDL kolesterol. Kelompok dislipidemia primer antara lain hiperkolesterolemia poligenik, hiperkolesterolemia familial, dislipidemia remant, hyperlipidemia kombinasi familial, sindrom kilomikron, hipertrigliserida familial, peningkatan kolesterol HDL, peningkatan apolipoprotein B (Gandha, 2009).

2.3.2.2 Dislipidemia sekunder

Dislipidemia sekuder disebabkan oleh penyakit atau gaya hidup yang tidak sehat. Dislipidemia sekunder memiliki peran besar dalam banyaknya kasus dislipidemia pada orang dewasa. Salah satu penyebab dislipidemia sekunder di negara berkembang adalah gaya hidup sedentary dengan pola hidup mengonsumsi makanan berlebih yang berasal lemak jenuh, kolesterol dan lemak trans. Penyebab lain dari dislipidemia tipe ini yaitu diabetes militus, penggunaan alcohol yang berlebihan, penyakit ginjalkronik, hipotiroidisme, sirosis bilier primer atau penyakit hati lainnya (Adam, 2009).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 2.4 Klasifikasi Dislipidemia Sekunder (Adam, 2009).

Hiperkolesterolemia	**Hipertrigliseridemia**	**Dislipidemia**
Hipotiroid	DM, Alkohol	Hipotiroid
Sindrom nefrotik	Obesitas	Sindrom nefrotik
Penyakit hati	Gagal ginjal kronik	Gagal ginjal kronik

2.4 Induksi HFD (*High Fat Diet*)

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit jantan (*Mus musculus*) strain *Balb*/C. Penggunaan mencit jantan dalam penelitian ini dikarenakan mencit jantan dapat memberikan hasil penelitian yang stabil. Hal ini karena tidak dipengaruhi oleh siklus menstruasi dan kehamilan yang terdapat pada tikus betina. Penggunaan mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan coba 40-80 % dikarenakan mencit memiliki siklus hidup yang relative pendek. Penggunaan mencit dengan usia antara 2-3 bulan dikarenakan pada usia tersebut mencit memiliki memiliki persamaan dengan manusia pada usia dewasa muda sehingga belum menggalami penuaan (Harini, 2009).

Mencit jantan (*Mus musculus*) memiliki kadar kolesterol normal antara 100-130 mg/dl. Sedangkan untuk kadar trigliserida yaitu 100-140 mg/dl. Mencit dikatakan mengalami dislipidemia ketika konsetrasi lipid dalam plasma meningkat 20 % dari kadar lipid normal. Pengingkatan kolesterol dalam plasma darah dipengaruhi oleh jenis lemak yang masuk kedalam tubuh. Kadar kolesterol HDL plasma darah mencit normal yaitu > 45 mg/dl. Sedangkan ambang batas untuk LDL normal mencit yaitu < 110 mg/dl (Ihedioha, 2011).

Pembutan mencit dislipidemia dengan menggunakan diet tinggi lemak (HFD). Diet tinggi lemak yang diinduksikan terdiri dari kuning telur puyuh, lemak ayam, dan *Propylthiouracil* (PTU). Komposisi dari HFD tersebut yaitu

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kuning telur puyuh 1,5 ml, lemak ayam yang sudah dicairkan 0,375 ml,dan PTU (Wicaksono dan Idris, 2013).

Pemberian diet tinggi lemak dan PTU bertujuan untuk menginduksi peningkatan kadar LDL. Menurut penjelasan Gupta dan Khosla (2000), bahwa pemberian lemak ayam dapat meningkatkan kadar LDL 47-63%. Pemberian kuning telur puyuh dapat meningkatkan kadar kolesterol total dan trigliserida.

PTU merupakan zat antitiroid golongan tionamida yang bekerja menghambat enzim peroksidase sehingga oksidasi ion iodida dan gugus iodotirosil terganggu. Pemberian PTU yang berlebihan dapat menekan kadar tiroid dalam darah sehingga terjadi hipotiroidisme. Manifestasi dari hipotiroidisme adalah lambatnya metabolism sehingga lemak tidak terpecah. PTU diharapkan dapat meningkatkan kadar profil lipid dalam darah meningkat (Suharti, 2007).

Pemberian diet tinggi lemak diinduksi selama 4 minggu pertama untuk meningkatkan profil lipid darah. Induksi diet tinggi lemak juga diinduksikan selama 4 minggu terakhir bersama dengan pemberian perlakuan obat. Hal ini bertujuan untuk mempertahankan kadar LDL darah dalam proses perlakuan obat (Wicaksono dan Idris, 2013).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi dapat dikatakan sebagai suatu proses pemisahan satu atau lebih kompenen dari campuran homogen. *Separating agent* yang digunakan dalam metode ini yaitu pelarut cair (*solvent*). Prinsip dari ekstraksi yaitu pemisahan komponen fisik berdasarkan beda konsentrasi dan beda kelarutan. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan aktif yang terdapat di dalam sel ata jaringan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tanaman yang memiliki sifat inaktif menggunakan pelarut yang sesuai dengan polaritasnya (Nugrahaningtyas *et al*, 2005).

Kualitas dari ektraksi yang dilakukan bergantung pada beberapa hal antara lain jenis bahan, jenis pelarut, dan prosedur dalam melakukan ekstraksi. Sedangkan untuk hasil yang didapat dipengaruhi oleh ukuran bahan, tipe ekstraksi, waktu ekstraksi, temperatur, jenis pelarut, pH, konsentrasi pelarut serta polarits. Ekstraksi biasanya menggunakan bahan dengan ukuran kecil, hal tersebut dimaksudkan untuk dapat memperluas bidang permukaan bahan sehingga mempercepat maksuknya pelarut ke dalam bahan dan mempercepat waktu ekstraksi (Tiwari, 2011).

2.5.2 Macam-macam Ekstraksi

Macam-macam estraksi berdasarkan bentuk campuran bahan yang akan diekstraki dibagi menjadi dua macam yaitu (Kristianti, 2008):

a. Ekstraksi padat cair, ekstraksi ini merupakan jenis ekstraksi apabila bahan yang akan diekstraksi terdpat di dalam campuranyang berbentuk padat.Ekstraksi jenis ini merupakan ekstraksi yang sering dilakukan untuk mengisolasi substansi yang terdapat dalam tumbuhan tersebut.

b. Ekstraksi cair-cair, jenis ekstraksi ini terjadi apabila bahan yang diekstraksi terdapat di dalam campuran yang berbentuk cair.

2.5.3 Maserasi

Infusa Maserasi merupakan metode yang paling umum digunakan untuk ekstraksi karena mudah dilakukan dan menggunakan alat yang sederhana. Namun, teknik maserasi kurang efisien karena membutuhkan waktu cukup lama dalam pengerjaannya dan hanya dilakukan perendaman tanpa bantuan gaya lain.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pada maserasi hanya dilakukan perendaman sehingga osmosis pelarut ke dalam padatan berlangsung statis meskipun telah dilakukan pergantian pelarut dengan metode remaserasi (Nugrahaningtyas, 2005).

Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol. Etanol atau alkohol (C2H5OH) merupakan cairan tidak berwarna yang larut dalam air, densitas 0,6 (0ºC) titik leleh -169ºC, titik didih -102ºC. Memiliki gugus hidroksil (OH) pada alkohol yang menyebabkan bersifat polar, sedangkan gugus alkil (R) merupakan gugus non polar. Proporsi dari kedua gugus tersebut merupakan faktor yang menentukan sifat alkohol (Daintith, 1994). Etanol memiliki tetapan dielektrik pada suhu 20ºC sebesar 20,7 (Stahl, 1985).

2.6 *Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees

2.6.1 Klasifikasi *Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees

Tumbuhan merupakan salah satu kebesaran Allah SWT yang ada di bumi. Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan dengan bentuk dan manfaat yang berbeda-beda. Penciptaan tumbuhan yang berbeda-beda diharapkan agar manusia dapat memanfaatkannya sebaik mungkin. Ayat al-Quran yang menjelaskan tentang hal tersebut yaitu pada surat al- Kahf (18): 45.

وَاضْرِبْ لَهُمْ مَثَلَ الْحَيَاةِ الدُّنْيَا كَمَاءٍ أَنْزَلْنَاهُ مِنَ السَّمَاءِ فَاخْتَلَطَ بِهِ نَبَاتُ الْأَرْضِ فَأَصْبَحَ
هَشِيمًا تَذْرُوهُ الرِّيَاحُ ۗ وَكَانَ اللَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ مُقْتَدِرًا ﴿٤٥﴾

"dan berilah perumpamaan kepada mereka (manusia), kehidupan dunia sebagai air hujan yang Kami turunkan dari langit, maka menjadi subur karenanya tumbuh-tumbuhan di muka bumi. Kemudian tumbuh-tumbuhan itu menjadi kering yang diterbangkan oleh angin. Dan adalah Allah, Maha Kuasa atas segala sesuatu". (QS. Al Kahfi (18): 45)

Ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT telah menciptakan macam-macam tumbuhan di bumi. Kalimat نَبَاتُ الْأَرْضِ "*Tumbuh-tumbuhan di muka*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bumi"memiliki makna bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai tumbuhan di muka bumi dengan segala manfaatnya. Tumbuh-tumbuhan yang telah Allah SWT tumbuhkan di muka bumi akan bercampur dengan air hujan. Hal tersebut menjadikan tumbuhan dapat tumbuh menjadi lebat sehingga memberikan manfaat bagi manusia (Muhammad, 2006). Berdasarkan tafsir tersebut terdapat dua diantara tumbuhan yang baik dan memiliki manfaat disisi Allah SWT adalah *Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees dan *Carica pubescens* Lenne & K. Koch.

Cinnamomum burmannii merupakan tumbuhan asli Asia Selatan, Asia Tenggara dan daratan Cina, dan Indonesia termasuk didalamnya. Jenis kayu manis yang umum di pasar Indonesia yaitu *Cinnamomum burmannii*. *Cinnamomum burmannii* di Indonesia tumbuh banyaktumbuh didaratan Sumatera, diantaranya yaitu tumbuh di perkebunan Sumatera Barat, Jambi, dan Sumatera Utara (Heyne, 1987).

Klasifikasi *Cinnamomum burmannii* berdasarkan Cronquist tahun 1981 (Dasuki, 1991) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliidae

Ordo : Laurales

Famili : Lauraceae

Genus : Cinnamomum

Spesies : *Cinnamomum burmannii*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6.2 Karakteristik dan Morfologi *Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees

Cinnamomum burmannii adalah tanaman yang masuk ke dalam famili Lauraceae. *Cinnamomum burmannii* dapat tumbuh dengan baik dengan ketinggian 500 – 1.500 meter di atas permukaan laut. Curah hujan yang baik untuk tumbuh kayu manis sekitar 2.000 – 2.500 mm per tahun. Tempat tumbuh kayu manis yang optimum bersuhu rata-rata 25ºC dengan batas suhu minimum 18º C dan maksimum 27ºC. Kelembapan yang baik untuk tumbuh kayu manis yaitu 70 - 90%, semakin tinggi kelembapannya maka semakin baik pertumbuhannya. Sinar matahari langsung yang dibutuhkan tanaman kayu manis yaitu 40 – 70%. pH tanah yang sesuai untuk tumbuh yaitu 5.0 - 6.5 (Purseglove *et al*., 1981).

Morfologi *Cinnamomum burmannii* umumnya memiliki tinggi tanaman berkisar 5-15 meter. Kulit pohon kayu manis memiliki warna abu-abu tua dan memiliki bau khas. Untuk kayunya berwarna coklat muda. Morfologi daun dari *Cinnamomum burmannii* termasuk kedalam daun tunggal, memiliki tekstur kaku seperti kulit, letak pada batang berseling, panjang tangkai daun 0,5 – 1,5 cm dengan 3 buah tulang daun yang melengkung. Warna daun dari kayu manis yang masih muda berwarna merah pucat. Permukaan atas daun berwarna hijau dan bertekstur licin, sedangkan pada permukaan bawah berwarna keabu-abuan dan dan terdapat tepung yang melingkupi permukaannya. Memiliki bentuk daun elips dengan panjang 4 – 14 cm dan lebar 1,5 – 6 cm, berujung runcig, tepi daun rata (Thomas dan Deuethi, 2001).

Bunga *Cinnamomum burmannii* termasuk kedalam bunga sempurna karena berkelamin dua. Memiliki ukuran bunga yang kecil. Tidak memiliki tajuk bunga. Memiliki kelopak bunga yang berjumlah 6 buah. Benang sari yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terdapat pada bunga kayu manis berjumlah 12 helai. Buah *Cinnamomum burmannii* termasuk kedalam buah buni yang memiliki biji satu dan berdaging. Morfologi buahnya memiliki bentuk bulat memanjang, ketika muda berwarna hijau tua dan ketika tua berwarna ungu tua. Buah *Cinnamomum burmannii* memiliki panjang 1,3 – 1,6 cm, berdiameter 0,35 – 0,75 cm (Thomas, 2001).

2.6.3 Manfaat Kulit Batang *Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees

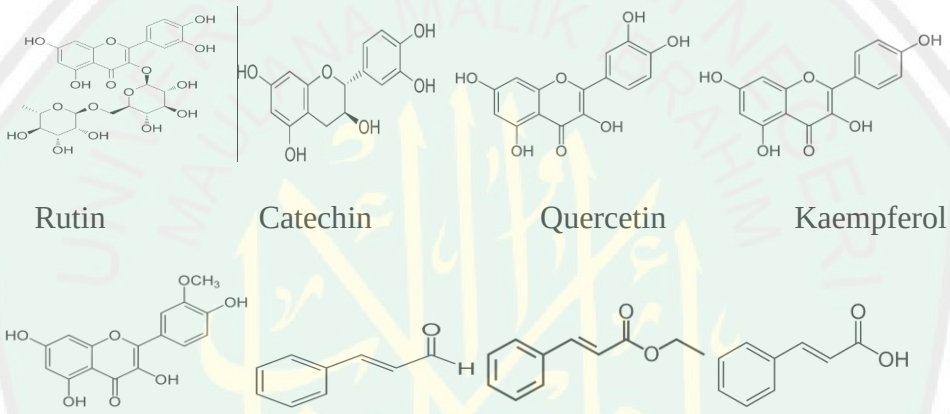
Efek farmakologis dan manfaat klinis kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii)* antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, antibakteria, anticancer, menurunkan kolesterol dan lipid (Rao, 2014). Kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii)* dapat mengobati berbagai penyakit. Manfaat farmakologis kayu manis diantaranya sebagai hipoglikemik, hipokolesterolemia, dan sebagai obat penyakit kardiovaskular (Ravindran, 2004). Kulit batang kayu manis dapat pula digunakan sebagai imunomodulator. Kulit batang kayu manis juga dapat mengobati penyakit diare dan gangguan pencernaan lain (Sanggal, 2011).

Kulit batang kayu manis memiliki efek dalam memperbaiki profil lipid Dalam bidang kesehatan kulit batang kayu manis kering dimanfaatkan dengan cara direndam dalam air teh dan diminum dapat menurunkan kadar kolestrol tubuh. Hasil penelitian di Swedia menyatakan bahwa dengan mengkonsumsi bubuk kayu manis dapat menahan kenaikan kolesterol darah (Coumarin, 2006). Dalam penelitian Firdaus (2015), membuktikan bahwa dosis 300 mg/200 gr BB ekstrak kayu manis dapat menurunkan kadar kolesterol tikus penderita dislipidemia.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6.4 Senyawa Aktif dalam Kulit Batang *Cinnamomum burmannii* Nees & T. Nees

Senyawa aktif yang terdapat pada kayu manis yaitu senyawa polifenol yang terkandung didalam kulit batang kayu manis. Polifenol yang terdapat didalam kulit batang kayu manis mengandung senyawa turunan yaitu rutin, quercetin, kaempferol, isorhamnetin, dan catechin. Komponen bioaktif lain yang terdapat pada kayu manis yaitu *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, dan *cinnamate*, (Baker *et al*., 2008).



Gambar 2.4 Senyawa aktif yang terdapat pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii)* (Sumber: NCBI)

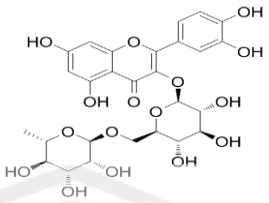
Senyawa-senyawa turunan yang terdapat dalam kulit batang *Cinnamomum burmannii* memiliki fungsi sebagai antidislipidemia, senyawa tersebut yaitu:

a. Rutin

Rutin merupakan golongan flavonoid dari jenis flavonol. Rutin memiliki efek dalam penghambatan oksidasi lipoprotein, yang akan mengakibatkan menurunnya resiko aterosklerosis. Rutin memiliki efek farmakologis dengan meningkatkan efek antihiperkolesterollemia padamodel hewan dislipidemia. Rutin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

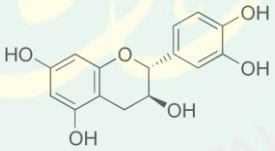
dapat menurunkan konsentrasi LDL-Kolesterol hingga 30,4% - 41,5% (Ziaee *et al*., 2009).



Gambar 2.5 Struktur kimia rutin (Sumber: NCBI)

b. Catechin

Catechin merupakan senyawa yang dapat menghambat oksidasi LDL. Selain itu catechin juga dapat menghambat penyerapan lipid di intestinal. Catechin dapat mengatur ekspresi reseptor LDL. Penelitian Koo dan Noh (2007), menyatakan bahwa catechin memiliki kemampuan penghambatan langsung pada sintesis kolesterol. Penelitian yang dilakukan oleh Babu (2006), menjelaskan bahwa pada ekstrak yang mengandung 80% catechin dapat menyerap sirkulasi LDL-Kolesterol dan dapat meningkatkan HDL –Kolesterol pada tikus penderita diabetes. Catechin dapat menyerap ApoB dan meningkatkan rasio ApoA-1.



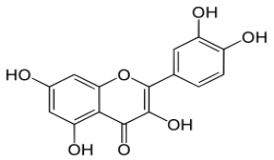
Gambar 2.6 Struktur kimia Catechin (Sumber: NCBI)

c. Quercetin

Quercetin merupakan flavonol utama yang terdapat pada senyawa tumbuhan. Quercetin memiliki efek hipolipidemik yang nyata, hal ini dibuktikan dengan berubahnya profil lipid kearah normal. Quercetin dapat menurunkan serum trigliserida dan serum LDL-Kolesterol (Yamamoto, 2006). Penelitian lain yang dilakukan oleh Kamada (2005), menunjukkan bahwa quercetin dapat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

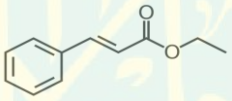
menurunkan konsentrasi serum total trigliserida dan meningkatkan serum HDL-Kolesterol.



Gambar 2.7 Struktur kimia quercetin (Sumber: NCBI)

d. Cinnamate

Cinnamate merupakan senyawa fenolik yang ditemukan pada kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Efek farmakologis cinnamate yaitu dapat menghambat aktivitas HMG CoA reduktase di dalam hati sehingga menghasilkan kadar kolesterol hati yang rendah. Cinnamate juga memiliki efek menekan peroksidasi lipid melalui peningkatan aktivitas enzim antioksidan hepatic (Lee, 2003).



Gambar 2.8 Struktur kimia Cinnamate (Sumber: NCBI).

2.7 *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

2.7.1 Klasifikasi *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

Tanaman pada setiap bagiannya memiliki manfaat masing-masing. Salah satu organ dari tanaman yang sering di manfaatkan yaitu daunnya. Hal tersebut sesuai dengan al-Quran surat Tahha (20): 18 yang berbunyi sebagai berikut:

قَالَ هِيَ عَصَايَ أَتَوَكَّأُ عَلَيْهَا وَأَهُشُّ بِهَا عَلَىٰ غَنَمِي وَلِيَ فِيهَا مَآرِبُ أُخْرَىٰ ﴿١٨﴾

"Dia (Musa) berkata, "Ini adalah tongkatku, aku bertumpu padanya, dan aku merontokkan (daun-daun) dengannya untuk (makanan) kambingku, dan bagiku masih ada lagi manfaat yang lain". (QS. Tahha (20): 18).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ayat tersebut menunjukkan kata وَلِيَ فِيهَا مَآرِبُ أُخْرَىٰ "*Dan bagiku masih ada lagi manfaat yang lain*". Ayat tersebut memperlihatkan bahwa dari daun yang tumbuh dapat memberikan manfaat bagi makhluk hidup. Selain yang dijelaskan oleh ayat tersebut bahwa daun dapat dimanfaatkan sebagai pakan hewan ternak, dijelaskan pula bahwa daun yang tumbuh juga memiliki manfaat yang lain. Daun-daun tersebut memiliki kandungan yang baik sehingga atas kehendak Allah SWT daun tersebut dapat digunakan bagi manusia (Qarni, 2008). Salah satu daun dari tanaman yang bisa dimanfaatkan kandungannya yaitu daun dari *Carica Pubescens.*

Carica Pubescens Lenne & K. Koch atau di Indonesia lebih dikenal dengan Pepaya Gunung memili nama lain *Vasconcellea pubescens*, *Vasconcellea cundinamarcensis*, dan *Carica candamarcensis*. *Carica pubescens* masih termasuk kedalam genus Carica. *Carica pubescens* berasal dari daratan Amerika Selatan dan tersebar hingga wilayah Andas (Moya-Leon *et al*., 2004). Di Indonesia *Carica pubescens* banyak tumbuh di dataran tinggi dieng. *Carica pubescens* tumbuh dengan baik di ketinggian 1400 – 2400 dpl, dengan temperature sedang dan curah hujan yang tinggi (Novalina dan ari, 2013).

Klasifikasi *Carica pubescens* berdasarkan Cronquist tahun 1981 di dalam (Dasuki, 1991), yaitu:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas : Dillenidae

Ordo : Violales

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Famili : Caricaceae

Genus : Carica

Spesies : *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

2.7.2 Morfologi dan Karakteristik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

Carica pubescens walaupun termasuk genus yang sama dengan *Carica papaya*, tetapi kedua tanaman tersebut memiliki perbedaan secara morfologi. Pada *Carica pubescens* terdapat bulu pada beberapa organ tumbuhan tersebut. Hal tersebut sesuai dengan arti kata *pubescens* yang memiliki arti bulu/rambut. Sesuai dengan penelitian Laily *et al*., (2012) yang dilakukan di daerah dieng, tanaman *Carica pubescens* yang tumbuh di daerah tersebut memiliki morfologi seperti terdapat bulu pada bagian permukaan bawah daun, tangkai daun, serta permukaan luar bunga janan dan betinanya. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa spesies *Carica pubescens* memiliki lebih banyak bulu dibandingkan genus *Carica* yang lain.

Morfologi daun *Carica pubescens* semakin tinggi ketinggian tanaman, maka terlihat warna daun lebih hijau pekat, dan bertekstur lebih tebal. Daun *Carica pubescens* juga memiliki ukuran yang lebih besar, sehingga luas penampang daun juga lebih besar, tentunya klorofil yang terdapat pada daun juga semakin banyak (Laily *et al*., 2012).

Morfologi bunga pada *Carica pubescens* memiliki alat perkembangbiakan generative dengan jenis bunga jantan, bentina dan banci. Pada bagian dasar bunga memili bentuk bulat, kelopak memiliki bentuk berbulir, mahkota, benang sari, dan bakal buah berjumlah 5, letak benang sari berada diatas bakal buah. Morfologi batang *Carica pubescens* berwarna coklat muda hingga coklat tua dan coklat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kehijauan. Batang *Carica pubescens* memiliki penampang berdiameter 10-11 cm dan tinggi 153-194 cm dengan bentuk bulat. Permukaannya bertekstur halus sampai kasar, memiliki bintil dan mengelupas (Laily *et al*., 2012).

Morfologi buah *Carica pubescens* memiliki bentuk buah yang agak bulat, berukuran lebih kecil. Apabila dibelah bagian dalamnya memiliki daging buah lebih tipis dan berwarna kuning sedikit jingga, beraroma khas, dan memiliki rasa asam. Morfologi biji pada *Carica pubescens*, biji memiliki selaput lapisan yang berlendir, berserat dan berair. Aromanya lebih menyegat dibandingkan buahnya (Laily *et al*., 2012).

2.7.3 Manfaat Dan Senyawa Aktif *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

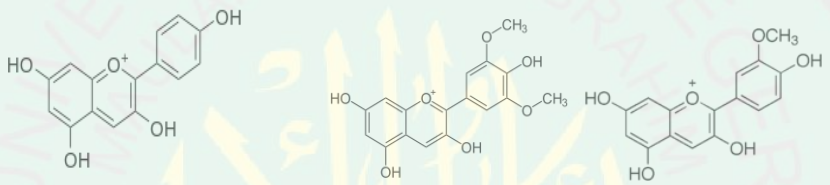
Manfaat farmakologis daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dapat digunakan sebagai obat tradisional dalam penyembuhan penyakit malaria, beri-beri, sariawan, sembelit, dan disentri amuba (Hidayat *et al*., 2000). Penelitian lain yang dilakukan oleh Novalina dan ari (2013), menunjukkan bahwa daun *Carica pubescens* memiliki khasiat sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab diare.

Salah satu tumbuhan yang memiliki manfaat besar yaitu pepaya gunun. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada *Carica pubescens* masih sangat terbatas penelitiannya. Sehingga pada penelitian ini digunakan pendekatan turunan pada senyawa meatabolit yang terdapat pada genus *Carica*. Senyawa metabolit yang umum ditemukan pada genus Carica sesuai dengan penelitian Yogiraj *et al*., (2015). Penelitian tersebut menyatakan bahwa pada daun genus Carica memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tannin, dan fenol. Senyawa turunan alkaloid yang terdapat pada daun pepaya gunung yaitu carpaine, pseudocarpane. Senyawa turunan flavonoid yaitu kaemferol, peonidin,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pelargonidine, malvidine dan myricetin. Sedangkan untuk turunan fenol yaitu ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenik acid.

Penelitian yang dilakukan oleh Qin *et al*., (2009), menunjukkan bahwa bahwa senyawa aktif tanaman yang dapat menghambat aktivitas protein CETP yaitu senyawa golongan antosianin. Pelargonidin, malvidin dan peonidin merupakan senyawa golongan antosianin yang dapat menurunkan aktivitas CETP hingga 6,3% sampai 10,4%. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif malvidin dan peonidin dapat menurunkan kolesterol LDL dan menaikkan kolesterol HDL melaui penghambatan CETP.



Pelargonidine Malvidin Peonidin

Gambar 2.9 Senyawa aktif malvidin dan peonidin yang terdapat pada daun (*C. pubescens)* (Sumber: NCBI)

2.8 Atorvastatin

Obat merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk menyembuhkan suatu penyakit. Pembahasan tentang obat digunakan sebagai penyembuh rasa sakit tertuang dalam HR. Muslim no. 1475 yang berbunyi sebagai berikut:

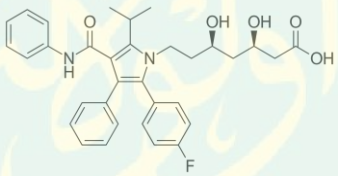
قَالَ رسُوْلِ اللهِ صَلىّ الله عَلَيْهِ وَسَلَمَ اَنهَّ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيْبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللهِ عَزَّ وَجَلَّ

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

" Setiap penyakit ada obatnya, dan bila telah ditemukan dengan tepat obat suatu penyakit, niscaya akan sembuh dengan izin Allah Azza wa Jalla" (HR. Muslim no. 1475).

Allah SWT pemilik semua yang ada di bumi telah menciptakan berbagai jenis penyakit diikuti dengan penciptaan obatnya. Ketika manusia sakit dan diinduksi obat yang sesuai dengan penyakit yang diderita, manusia tersebut akan sembuh karena adanya campur tangan dan izin Allah SWT. Hal tersebut hendaknya menyadarkan manusia untuk bersyukur dengan kenikmatan sehat yang telah Allah SWT berikan.

Obat golongan statin merupakan obat yang paling banyak digunakan untuk mengontrol kadar LDL di dalam plasma darah. Salah satu obat golongan statin yang paling efektif digunakan yaitu atorvastatin. Atorvastatin adalah obat statin golongan baru yang sering digunakan kalangan umum. Obat golongan statin memiliki fungsi menghambat aktivitas enzim HMG KoA reduktase (Kabo, 2008).



Gambar 2.10 Struktur kimia atorvastatin (Sumber: NCBI).

Atorvastatin tidak hanya memberikan efek dalam menurunkan kadar LDL tetapi juga mempengaruhi profil lipid lainnya seperti kadar trigliserida dan komposisi lipoprotein. Artovastatin memberikan efek penurunan yang lebih efektif dari obat golongan statin lain. Artovastatin dapat menurunkan kadar kolesterol LDL sebesar 22-51% (Ray *et al.*, 2005).

Mekanisme penurunan trigliserida oleh atorvastatin di sebabkan karena artovastatin menyebabkan pembatasan sekresi VLDL dari hati. Efek lain dari

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

atorvastatin yaitu meningkatkan pembersihan trigliserida yang kaya lipoprotein dengan induksi LDL reseptor yang berasal dari plasma (Funatsu *et al*., 2001). Selain itu menurut penelitian Guerin (2000) obat golongan statin dapat menhambat aktivitas reseptor CETP sebanyak 5-10% dan meninkatkan konsentrasi HDL sebesar 35%. Atorvastatin dapat menghambat aktivitas reseptor CETP sebesar 7% dan meningkatkan konsentrasi LDL sebesar 37%.

2.9 *Molecular Docking*

2. 9.1 Definisi

Molecular docking adalah salah satu metode *in silico* yang digunakan untuk mencari posisi optimal molekul ligan sehingga cocok secara geometris dan energi dengan sisi aktif pengikatan protein target (reseptor). *Molecular docking* akan memperlihatkan ikatan terbaik antara dari ligan dan protein (reseptor) (Mukesh dan Rakesh, 2011). Ligan merupakan suatu molekul kecil yang akan berinteraksi dengan daerah ikatan (binding site) yang terdapat pada protein. Sedangkan reseptor merupakan protein yang menjadi tempat penempelan ligan (Onkara, 2013). Ligan secara kimiawi akan berikatan dengan asam amino yang terdapat pada reseptor (Syahputra dkk., 2015).

Molecular docking umumnya dimanfaatkan dalam proses penemuan obat. *Molecular docking* digunakan sebagai alat dalam biologi molekuler structural untuk mendesain obat dengan bantuan computer. *Molecular docking* digunakan untuk memprediksi afinitas pengikatan inhibitor yang didesain terhadap suatu enzim yang ingin dihambat aktivitasnya (Puspaningtyas, 2012).

Interaksi yang terjadi antara antara ligan dan reseptor akan menghasilkan nilai energy ikatan (*binding affinity*) serta aktivitas dari molekul tersebut (Onkara, 2013). Hasil proses docking yang menghasilkan energi ikatan dijadikan sebagai

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

parameter utama yang digunakan untuk mengetahui kestabilan ikatan antara ligan dan protein. Interaksi ikatan antara lign dan reseptor nantinya akan berada pada kondisi energy yang paling rendah. Hasil energi yang paling rendah menunjukkan kestabilan posisi molekul, sehingga semakin rendah nilai enrgi ikatan maka interaksi antara ligan dan reseptor menjadi semakin stabil (Arwansyah, 2014). Nilai energi bebas Gibbs yang kecil menunjukkan konformasi yang terbentuk yaitu stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menggambarkan kompleks yang terbentuk tidak stabil (Funkhouser, 2007).

Proses *docking molekuler* memiliki beberapa syarat. Syarat *docking molekuler* yaitu harus adanya struktur protein yang diinginkan. Struktur protein yang akan digunakan ditentukan dengan menggunakan teknik biofisis. Teknik biofisis ini yaitu Kristalogafi sina-x atau spektroskopi NMR. Adanya struktur protein dan basis data ligan ini memiliki fungsi dalam input program *docking*. Keberhasilan suatu proses *docking molekuler* ditentukan oleh dua komponen yaitu pencarian algoritma dan fungsi *scoring* (Mukesh dan Rakesh, 2011). Fungsi *scoring* memiliki fungsi dalam memprediksi afinitas ikatan makromolekul dengan ligan. Sedangkan penggunaan algoritma digunakan dalam menentukan konfirmasi (*docking pose*) yang paling stabil dan dalam pembentukan kompleks (Funkhouser, 2007).

Metode molecular docking yang dilakukan pada penelitian ini yaitu mengunakan metode docking protein-ligan kecil. Protein yang digunakan pada penelitian in silico ini menggunkan reseptor CETP. Sedangkan ligan yang digunakan yaitu berasal dari kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica papaya*). Senyawa yang digunakan sebagai ligan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

yaitu rutin, catechin, quercetin, kaempherol, isorhamnetin, *cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate*, carpaine, pseudocarpane, myricetin, antosianin, ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenik acid

2.9.2 Database Perangkat Lunak untuk Docking

Ligan dan reseptor yang digunakan dalam proses *docking molekuler* diperoleh dari database. Database yang digunakan untuk proses preparasi dalam melakukan docking antara lain Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/) dan PubChem (Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov). Sedangkan perangkat lunak yang digunakan dalam proses docking antara lain Autodock Vina, Pymol, Autodock Vina, Discovery Studio Visualizer, PASS *Online*, dan Pre-ADMET *Online*.

2.9.2.1 Protein Data Bank

Protein Data Bank atau lebih dikenal dengan PDB (https://www.rcsb.org/) merupakan database yang terdiri dari struktur tiga dimensi dari makromolekul biologis seperti protein dam asam nukleat yang berjumlah lebih dari 32.500 molekul. Molekul-molekul yang terdapat pada PDB merupakan molekul yang berasal dari organisme dibumi, antara lain manusia, heman, tumbuhan, maupun bakteri. Dalam PDB terdapat berbagai bentuk struktur mulai dari protein berukuran kecil dan potongan-potongan DNA hingga molekul kompleks seperti ribosom (Funkhouser, 2007). Molekul protein yang didapat dari PDB nantinya akan digunakan sebagai reseptor dalam proses *docking molecular*.

Protein yang diambil pada software PDB yang digunkan yaitu reseptor CETP (*cholesterol ester transfer protein*). CETP merupakan protein penting yang berperan dalam terjadinya transport kolesterol terbalik. CETP merupakan glikoprotein yang memiliki sifat hidrofofik. CETP dihasilkan di hati dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diedarkan pada plasma darah. CETP berperan sebagai pengkatalis transfer antara cholesterol ester yang terdapat dalam HDL dengan trigliserida yang terdapat di dalam VLDL dan LDL. Penghambatan CETP dapat mengurangi aterosklerosis (Tall, 2001).

2.9.2.2 PubChem

PubChem (Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) merupakan salah satu database yang berisi berbagai data molekul-molekul dalam bentuk 3 dimensi (3D). Database tersebut berasal dari peneliti yang yang melakukan penelitian di ranah biologi molekuler di seluruh dunia (DeLano dan Bromberg, 2004). Database PubChem berisi struktur kimia suatu senyawa yang digunakan dalam proses docking berfungsi sebagai ligan.

2.9.2.3 PyMOL

PyMOL merupakan salah satu software yang digunakan untuk visualisasi suatu struktur biologi serta dapat menampilkan gambar dalam struktur 3 dimensi yang baik. Selain itu PyMOL juga dapat menyajikan tampilan struktur dan warna dari suatu molekul, dari molekul terkecil hingga makromolekul eperti protein (DeLano dan Bromberg, 2004).

2.9.2.4 *Autodock*

Autodock adalah software tang digunakan untuk *docking molecular* yang efektif, cepat, dan akurat. Sehingga autodock dapat memprediksi konformasi dan energi dari interaksi ikatan antara ligan dan target molekul. *Autodock* terdiri dari dua program yaitu *Autodock* dan *Autogrid*. *Autodock* memiliki fungsi untuk melakukan docking molecular ligan dan protein target dengan *set grid* yang sudah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terdeskripsi. Software yang melakukan pendeskripsian tersebut yaitu *Autogrid* (Morris *et al*., 2009).

Autogrid berfungsi untuk melakukan perhitungan grid tersebut. Perhitungan grid ini dapat digunakan sebagai pedoman untuk perancangan struktur kimia sehingga diperoleh ikatan terbaik. Database yang telah siap di preparasi dengan *Autogrid* akan langsung dilakukan validasi menggunakan kontrol agonis dan antagonis. Setelah proses tersebutproses docking akan berlangsung. Hasil proses docking akan divisualisasikan dengan software PyMol dan Discovery studio (Syahputra dkk., 2014).

2.9.2.5 Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer merupakan software yng dioprasikan bertujuan untuk visualisasi struktur molekul sehingga dapat mendapatkan gambaran yang jelas dari struktur molekul yang telah di dockingkan. Software ini dapat mengambarkan visualisasi dengan kualitas tinggi dari struktur senyawa (Accelrys Enterprise Platform, 2005).

2.9.2.6 Analisis Aktivitas Biologi PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)

Umumnya lagkah awal sebelum dilakukannya proses *docking molecular* dilakukan prediksi terlebih dahulu menggunakan *software online* PASS. PASS merupakan software yang digunakan untuk memprediksi berbagai aktivitas biologi yang terdapat pada suatu senyawa (Jamkhande dkk., 2014). PASS digunakan sebagai software yang potensial untuk memprediksi spectrum aktivitas biologi dari suatu senyawa sintetis dalam pencarian obat baru. Analisis software PASS berdasarkan pada SAR (Structure Activity Relationship) atau dapat dikatan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sebagai hubungan antara struktur aktivitas dari sekumpulan percobaan yang berjumlah lebih dari 205.000 senyawa yang menunjukkan lebih dari 3.750 macam aktivitas biologi (Pramely dan Leon, 2012).

Hasil yang didapat dari proses prediksi software PASS yaitu menunjukkan aktifitas biologi dengan kemungkinan aktif (Pa= probable activity) dan kemungkinan tidak aktif (Pi= probable inactivity). Nilai Pa dan Pi yang didapat bermacam-macam, nilai Pa dan Pi berawal dari 0,000 hingga 1,000 sehingga secara umum nilai Pa+Pi≠1. Penjelasan dari hasil prediksi PASS yaitu sebagai berikut, (i) Senyawa dengan nilai Pa >Pi memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik, (ii) jika nilai Pa>0,7 memiliki kemungkinan untuk menemukan aktivitas eksperimental yang tinggi, (iii) jika nilai 0,5<Pa<0,7 maka kemungkinan aktivitas secara eksperimental rendah, tetapi senyawa tersebut mungkin tidak sama dengan obat farmasi yang sudah ada, dan (iv) jika Pa<0,5 maka menunjukkan aktivitas secara eksperimental rendah (Pramely dan Leon, 2012).

2.9.2.7 Pre-ADMET Online

Pre-ADMET adalah salah satu software online yang berfungsi untuk memprediksi macam-macam sifat yang terdapat dalam struktur kimia yang dimiliki oleh suatu senyawa. Pada software Pre-ADMET salah satu uji yang dilakukan yaitu uji HIA. Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*) merupakan uji yang digunakan untuk melakuakn prediksi potensi terabsorpsinya suatu senyawa obat di dinding usus. Uji HIA ini merupakan uji yang sering digunakan untuk kepentingan yang berhubungan dalam mendesain kandidat obat (Wessel *et al*., 1998).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian secara *in silico* menggunakan metode deskriptif eksploratif. Penelitian deskriptif eksploratif bertujuan untuk menemukan sebuah data yang dapat memberikan definisi ataupun penjelasan terkait konsep atau pola yang digunakan dalam penelitian. Penelitian *in silico* menggunakan reseptor CETP dan ligan yang berasal dari senyawa kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*).

Penelitian secara *in vivo* merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan lima ulangan. Hewan coba pada penelitian ini yaitu mencit (*Mus musculus* strain *Balb/c*) untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) terhadap kadar LDL-C dan HDL-C serum mencit (*Mus musculus)* yang diinduksi HFD.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2018 di Laboratorium Hewan Coba Jurusan Biologi, Laboratorium Fisiologi Hewan, Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang; Laboratorium Biomedik, Universitas Muhamadiyah Malang. Berikut uraian singkat waktu pelaksanaan penelitian:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 3.1 Waktu pelaksanaan penelitian

Kegiatan	Juli				Agustus				September			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pembuatan ekstrak												
Aklimatisasi												
Pemberian HFD												
Pemberian HFD + ekstrak etanol kayu manis dan pepaya gunung												
Pembedahan dan pengambilan data												

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini ada tiga macam yaitu variabel bebas, variabel terikat, variabel kontrol/terkendali. Variabel dalam penelitian ini meliputi:

a) Variabel bebas

1. Uji *In silico*: senyawa aktif yang digunakan sebagai ligan (Senyawa aktif yang berasal dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*).
2. Uji *In vivo*: dosis kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

b) Variabel terikat

1. Uji *In silico*: presentase nilai HIA (*Human Intestinal Absorption*), nilai uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substance*) dan besar nilai energi bebas (*binding affinity*) dan *binding pose* dari hasil docking molekuler antara ligan aktif yang berasal dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) dengan reseptor CETP.
2. Uji *In vivo*: kadar LDL-C dan HDL-C serum darah mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/c* dislipidemia.

c) Variabel kontrol

1. Uji *In silico*: metode *molecular docking*
2. Uji *In vivo*:
   a) Hewan coba: mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/c* jantan umur 12 minggu dengan berat badan 20-25 gram, gerak aktif serta bulu mengkilap tidak rontok.
   b) Cara pemeliharaan: mencit diaklimatisasi selama ± 7 hari di Laboratorium Kandang Hewan Coba sebelum perlakuan hingga berat badan mencit mencapai 20-25 gram. Selama aklimatisasi mencit diinduksi makan BR-1 dan minum air mineral.

- Induksi HFD (kuning telur puyuh, lemak ayam, dan ptu) secara oral.
- Perlakuan: teknik pemberian kombinasi ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) secara oral.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/c* jenis kelamin jantan umur 12 minggu dengan berat badan 20-25 gram yang diperoleh dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) Jl. Soekarno Hatta, Malang. Sampel dikelompokkan secara acak kedalam 6 perlakuan 5 ulangan, yaitu:

1. N (Normal): mencit jantan normal, tanpa perlakuan HFD dan tanpa pengobatan.
2. K- (Kontrol negatif): mencit jantan normal, diinduksi High Fat Diet (HFD) selama 56 hari
3. K+ (Kontrol positif): mencit jantan normal yang diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diinduksikan atorvastatin dengan dosis 0,065 mg/kg BB
4. P1 (Perlakuan 1): mencit jantan normal yang diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diinduksikan 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)
5. P2 (Perlakuan 2): mencit jantan normal yang diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diinduksikan 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*)
6. P3 (Perlakuan 3): mencit jantan normal yang diinduksi HFD selama 56 hari, dan pada hari ke-29 hingga ke-56 diinduksikan 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*).

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam uji *in silico* meliputi komputer Asus X450C (Intel Pentium Inside, Windows 32 bit, RAM 4 GB) dan software untuk uji *in silico* di antaranya Autodoc Vina di Pyrx 0.8, BIOVIA Discovery studio 2016, PyMOL, Software online PreADMET dan PASS Prediction. Alat untuk uji

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

in vivo meliputi *safety tool*, kandang plastik, tempat makan dan minum mencit, tube 2 ml, sonde lambung, spektrofotometer, gelas ukur 100 cc, *beaker glass* 100 cc, pengaduk, timbangan analitik, sentrifuge, neraca analitik, spuit ukuran 1 ml, jerigen (1000 ml), *microppipet*, tip, kertas saring, *vortex*, pinset, seperangkat alat bedah, penumbuk, saringan 100 mesh.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam uji *in silico* antara lain: struktur 3D ligan (Caffeic Acid CID: 689043, Carpaine CID: 442630, Catechin CID: 73160, Chlorogenic Acid CID: 1794427, Cinnamaldehyde CID: 637511, Cinnamate CID: 637520, Cinnamic Acid CID: 444539, Ferulic Acid CID: 445858, Isorhamnetin CID: 5281654, Kaempferol CID: 5280863, Malvidine CID: 443652, Myricetin CID: 5281675, Pelargonidin CID: 443648, Peonidin CID: 441773, Pseudocarpaine CID: 12305270, Quercetin CID: 5280343, dan Rutin CID: 5280805) yang diunduh dari (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) dengan format .sdf, struktur 3D reseptor *Cholesterol ester transfer protein* CID: 4EWS yang diunduh dari PDB (http://www.rcsb.org/pdb/home).

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji *in vivo* antara lain mencit (*Mus musculus* strain *Balb/c*) , pakan mencit BR-1, minum air mineral mencit, plastik, kertas label, alumunium foil, *Propylthiouracil* (PTU), lemak ayam, kuning telur puyuh, kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), daun pepaya gunung (*Carica pubescene*), atorvastatin, etanol 70%, Na-CMC (*Natrium carboxymethylcellulose*), Cholesterol standar (Glory Diagnostics), Cholsterol MR Monoreagent (Glory Diagnostics), HDL cholesterol precipitant (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Holzeim Germany), dan LDL precipitant (Glory

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Diagnostics).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Uji *In Silico*

3.6.1.1 Penyiapan Struktur Ligan

Penelitian ini menggunakan ligan-ligan yang berasal dari senyawa-senyawa aktif yang terkandung didalam kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) yaitu struktur 3D ligan (Caffeic Acid CID: 689043, Carpaine CID: 442630, Catechin CID: 73160, Chlorogenic Acid CID: 1794427, Cinnamaldehyde CID: 637511, Cinnamate CID: 637520, Cinnamic Acid CID: 444539, Ferulic Acid CID: 445858, Isorhamnetin CID: 5281654, Kaempferol CID: 5280863, Malvidine CID: 443652, Myricetin CID: 5281675, Pelargonidin CID: 443648, Peonidin CID: 441773, Pseudocarpaine CID: 12305270, Quercetin CID: 5280343, dan Rutin CID: 5280805) yang diunduh dari (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) dengan format .sdf (Lihat Lampiran 4).

3.6.1.2 Preparasi Protein Target

Penelitian ini menggunakan protein target yaitu reseptor CETP. CETP merupakan reseptor peningkatan konsentrasi HDL. Identitas protein CETP yang digunakan sebagai protein acuan (*protein reference*) memiliki kode 4EWS, protein ini diperoleh dari Protein Data Bank (http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do). File protein target yang didapat diunduh dalam bentuk PDB format. Pembersihan protein target dari molekul yang tidak diperlukan dilakukan dengan software PyMOL. Hasil pembersihan akan disimpan dalam format PDB (*.pdb). Protein ini akan digunakan sebagai reseptor yang digunakan untuk penambatan (*docking*) (Lihat lampiran 5).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.6.1.3 Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)

Uji HIA dilakukan dengan menggunakan software PreADMET online dengan mengakses (http://preadmet.bmdrc.org/). Langkah awal dalam uji ini yaitu dengan membuka software PreADMET. Selanjutnya diupload struktur ligan dalam format Molfile (*mol). Langkah selanjutnya dilakukan prediksi absorpsi senyawa ligan (Lee *et al*, 2003) (Lihat lampiran 6).

3.6.1.4 Uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)

Senyawa-senyawa aktif kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) yang digunakan sebagai ligan dianalisis aktivitas penghambatan sintesis kolesterol terlebih dahulu dengan software PASS. Analisis aktivitas penghambatan sintesis kolesterol diawali dengan mengunduh SMILE (atom penyusun senyawa) dari (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) dan disimpan dalam notepad. Selanjutnya dibuka software PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*) alamat (http://www.pharmaexpert.ru/passonline) kemudian dilakukan prediksi dengan cara memasukkan SMILE senyawa ligan kemudian dilakukan analisis (*Get prediction*) (Lihat lampiran 7).

3.6.1.5 *Molecular Docking*

Proses *molecular docking* CETP dengan ligan (senyawa-senyawa dari kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*)) dilakukan dengan memasukkan reseptor kedalam software Pyrx dan kemudian formatnya diubah menjadi pdbqt. Setelah itu dimasukkan ligan untuk diminimasi melalui Open Babel dan diubah formatnya menjadi pdbqt. Langkah selanjutnya yaitu memulai proses docking melalui Autodock Vina

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dengan mengatur *grid box* pada bagian sisi aktif reseptor dan kemudian di *running*. Hasil docking disimpan dalam format PDB dan data nilai binding affinity disimpan dalam format Ms. Excel (Dallakyan dan Arthur, 2015). (Lihat lampiran 8).

3.6.1.6 Visualisasi Hasil *Docking*

Hasil proses *docking* yang telah dilakukan maka dipilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan paling rendah (paling negatif). Hasil interaksi berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik serta asam-asam amino yang terikat pada ligan divisualisasikan dengan software Discovery Studio dan PyMOL (Lihat lampiran 9).

3.6.2 Uji *In Vivo*

3.6.2.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Persiapan yang dilakukan sebelum dilakukan penelitian maka disiapkan terlebih dahulu tempat pemeliharaan hewan coba yang diantaranya kandang, sekam, tempat makan dan minun mencit, pakan mencit. Hewan coba yang selanjutnya diaklimatisasi kandang selama 7 hari dengan diberi makan BR-1 dan diberi air mineral.

3.6.2.2 Pembuatan HFD

Pembuatan hewan dislipidemia dilakukan dengan mengacu pada penelitian Wicaksono dan Idris (2013) bahwa induksi dislipidemia menggunakan kuning telur puyuh, lemak ayam, dan PTU. Komposisi bahan induksi dislipidemia untuk mencit berat 25 gram adalah lemak ayam yang dicairkan 0,09 ml, kuning telur puyuh 0,26 ml, dan PTU 1,095 mg. Pemberian induksi dislipidemia dilakukan secara oral sebanyak 0,35 ml selama 56 hari pukul 08.00 pagi pada semua

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kelompok perlakuan keculai perlakuan normal.

3.6.2.3 Pembuatan Ekstrak

Kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) di dapat dari UPT Materia Medica, Batu, Jawa Timur. Pepaya Gunung (*Carica pubescene*) diperoleh dari Pemandian Air Panas Cangar, Batu, Jawa Timur. Kulit batang kayu manis sebanyak 1 kg yang didapat telah melalui proses pengeringan dengan oven suhu 50ºC, diblender, dan diayak dengan ayakan berukuran 100 mesh. Daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) yang sebanyak 1 kg dicuci dengan air mengalir kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang berat basahnya. Tahap selanjutnya daging buah papaya gunung (*Carica pubescene*) dikeringkan dengan oven suhu 50ºC, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan berukuran 100 mesh.

Simplisia dari kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) kemudian diekstraksi. Langkah awal pembuatan ekstrak yaitu dengan melakukan maserasi yaitu merendam 500 gram simplisia masing-masing tanaman herbal dengan 1.500 ml etanol 70% perbandingan 1:3. Setiap 24 jam pelarut etanol 70% hasil maserasi (filtrate) disaring dan ditampung, laludiganti dengan etanol 70% yang baru. Filtrat yang telah didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60ºC (Kusuma, 2016).

3.6.2.4 Pembuatan Dosis Atorvastatin

Obat golongan statin yang digunakan untuk pembanding yaitu atorvastatin 20 mg/kg BB. Sehingga konversi dosis yang digunakan untuk mencit yaitu 0,065 mg/25 gram BB (Yosmar, dkk, 2014). Pemberian atorvastatin dilakukan secara oral sebanyak 0,35 ml sehingga 0,065 mg atorvastatin dilarutkan pada 0,35 ml aquades. Pemberian atorvastatin pada hari ke 29 sampai hari ke 56 pada pukul

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

10.00 pagi.

3.6.2.5 Pembuatan Larutan Na CMC 0,1%

Sediaan larutan Na-CMC 0,1% dibuat dengan melarutkan 5 gram Na-CMC kedalam 1 liter aquades, kemudian diaduk dengan menggunakan sepatula hingga terlarut semua pada aquades.

3.6.2.6 Pemberian Terapi

Pemberian ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescene*) diinduksikan secara oral pada hari ke 29 setelah pemberian induksi tinggi lemak selama 28 hari, pemberian terapi dilakukan hingga hari ke 56. Ekstrak diinduksikan sebanyak 0,35 ml tiap mencit. Dosis ekstrak yang diinduksikan yaitu P1 dosis 300 mg/kgBB kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), P2 dosis 150 mg/kgBB kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kgBB pepaya gunung (*Carica pubescene*), P3 dosis 300 mg/kgBB pepaya gunung (*Carica pubescene*) dosis tersebut selanjutnya dikonversi sesuai dengan dosis mencit. Pelarutan ekstrak dengan menggunakan CMC-Na 0,1%. Dosis tersebut diinduksikan selama 4 minggu mengacu pada penelitian Firdaus (2015) (Lampiran 13).

3.6.2.7 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan setelah 56 hari perlakuan. Sebelum dilakukan pembedahan mencit dipuasakan selama 8 jam. Mencit didislokasi pada bagian leher, kemudian dilakukan pembedahan. Diambil darah dari jantung dan dimasukkan kedalam tube. Sampel darah yang diambil disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm untuk diambil serumnya. Serum yang yang didapat digunakan untuk pengukuran kadar Kolesterol HDL dan Kolesterol LDL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

serum darah tikus.

3.6.2.8 Pengukuran Kadar LDL-C Serum

Pengukuran kadar kolesterol-LDL pada penelitian menggunakan metode CHOD-PAP pada system photometric. Pada metode ini LDL diendapkan dengan penambahan heparin. Setelah di setrifugasi HDL dan VLDL berada pada supernatant dan pengukuran enzimatik dengan metode CHOD-PAP. Konsentrasi LDL akan dihitung sebagai selisih total kolesterol dan kolesterol pada supernatant.

Prosedur uji kadar LDL langkah pertama dilakukan presipitasi. Presipitasi menggunakan sampel sebanyak 100 µl dan reagen presipitat 1000 µl. Dicampur dan di inkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Disetrifuse selama 20 menit dengan kecepatan 2500 g. Dipindahkan 100 µl supernatant larutan pereaksi untuk mengetahui kadar LDL-C. Langkah selanjutnya yaitu uji LDL-C sebagai berikut:

Tabel 3.2 Pengukuran kadar LDL-C

	Standart	Sampel
Supernatant	-	100 µl
Standart	100 µl	-
Cholesterol reagent	1000 µl	1000 µl

Dicampur dan di inkubasi selama 5 menit pada suhu 37ºC. Dibaca nilai absorbansi dengan standart 45 menit. Perhitungan LDL yaitu sebagai berikut:

$$\text{Cholesterol in supernatan} = \frac{\Delta\ \text{Sampel}}{\Delta\ \text{Standart}} \times \text{Conc. standart}$$

Kolesterol standart adalah konsentrasi total kolesterol pada larutan standart.

LDL-Cholesterol (mg/dl) = Total cholesterol (mg/dl) – Cholesterol pada supernatant

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Faktor konversinya yaitu: LDL-Cholesterol (mg/dl) x 0,02586 = LDL-Cholesterol (mmol/L).

3.6.2.9 Pengukuran Kadar HDL-C Serum

Pengukur kadar kolesterol-HDL pada penelitian menggunakan metode *Differential Precipitation Enzymatic Colorimetric Test*. Prosedur pengukuran kadar HDL yaitu sampel darah yang didapat disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dari darah. Pengujian kadar HDL-C dilakukan dengan dipipet 50 µl serum dan 100 µl reagent presipitat. Selanjutnya di vortex dan didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang. Kemudian disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Langkah selanjutnya yaitu uji LDL-C sebagai berikut:

Tabel 3.1 Pengukuran kadar HDL-C

Tubes	Blank	Sample supernatant	Standart supernatan
Monoreagent	1.0 Ml	1.0 mL	1.0 mL
Serum	-	50 µl	-
Chol. Standart	-	-	50 µl

Dicampur reagent pada tube dan di diamkan selama 5 menit pada suhu 37ºC. Dibaca nilai absorbansi (A) dari serum dan kolesterol standar dengan panjang gelombang 500 nm sedangkan untuk monoreagent di read blank. Hasil yang didapat akan dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\frac{\text{A supernatan}}{\text{A standart}} \text{ x C standart} = \text{HDL} - \text{Cholesterol}$$

Jika hasil dinyatakan sebagai satuan SI maka berlaku: mg/dl x 0,0259 = mmol / L

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.7 Analisis Data

Analisis data *in silico* yang diperoleh disajikan secara descriptif kualitatif meliputi data hasil uji *Human Intestinal Absorption* (HIA%) dianalisis dengan menggelompokkan nilai % yang memiliki kategori tinggi (70-100%), sedang (20-70%) dan rendah (0-20%). Hasil uji PASS dianalisis dengan cara mengelompokkan nilai Pa (Probable activity) dari hasil prediksi aktivitas senyawa kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan pepaya gunung (*Carica pubescens*) sebagai penghambat sintesis kolesterol. Hasil docking dianalisis dengan cara mengelompokkan model ligan yang memiliki energy ikatan paling rendah dan jenis ikatan yang terbentuk (Lihat lampiran 11 dan 12).

Analisis data kadar Kolesterol-HDL dan LDL diawali dengan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dengan program SPSS 16.0. Jika hasil yang didapat normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic* Apabila semua data terdistribusi normal dan homogen maka dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*. *One Way Anova* adalah uji untuk menentukan apakah *mean* kelompok perlakuan dalam penelitian ini berbeda secara nyata. Uji yang dilakukan yaitu uji duncan, uji ini dilakukan jika data yang dihasilkan terjadi perbedaan yang signifikan. Jika terdapat data yang tidak normal, data ditransformasi terlebih dahulu sesuai langkah sebelumnya. Apabila hasil transformasi tidak terdistribusi normal maka dapat menggunakan uji non parametrik menggunakan uji Kruskall-Walls dan dapat dilanjutkan uji Mann-Whitney apabila hasilnya signifikan menunjukkan (Sig > 0,05).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Penghambatan Reseptor CETP Terhadap Senyawa Turunan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica Pubescens*) Secara *In silico*

4.1.1 Prediksi Absorpsi Senyawa dengan Parameter HIA (*Human Intestinal Absorption*)

Penelitian secara *in silico* ini diawali dengan melakukan prediksi absorpsi senyawa turunan yang terdapat pada kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* dan daun Pepaya gunung *(Carica pubescens)* dengan prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*). Prediksi ini dilakukan karena penelitian pada *in vivo* menggunakan senyawa yang diinduksikan secara oral sehingga obat tersebut harus terabsorpsi dengan baik pada dinding usus. Apabila tingkat absorpsi senyawa tersebut rendah, maka senyawa tersebut tidak dapat mencapai reseptor target. Langkah awal dalam uji absorpsi pada dinding usus ini penting dilakukan (Wilson, 2011).

Berdasarkan hasil Prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*) terlihat bahwa atorvastatin dan senyawa turunan kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* memiliki potensi terabsorpsi baik di usus dengan nilai yaitu atorvastatin 94, 65%, cinamaldehid 100, 00%, cinnamate 97, 84%, cinnamic acid 97, 84%, catechin 66, 70%, isorhamnetin 78, 34%, kaempherol 79, 43%, potensi terabsorpsi sedang yaitu quercetin 63, 48%, dan terabsorpsi rendah yaitu rutin 2, 86%, sedangkan senyawa turunan daun Pepaya gunung *(Carica pubescens)* memiliki potensi terabsorpsi baik di usus dengan nilai yaitu cafeic acid 82, 30%, ferulic acid 90, 60%, carpaine 94, 62%, malvidine 80, 91%, pelargonidine 81, 6%,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

peonidine 81, 24%, pseudocarpaine 94, 62%, dan terabsorpsi sedang yaitu myricetin 40, 96%, dan chlorogenic acid 20, 42%.

Nilai yang didapat menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang memiliki nilai prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*) lebih dari 70% maka senyawa tersebut dapat menyerap di usus dengan baik. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Nerkar *et al* (2012) bahwa jika suatu senyawa memiliki prediksi terabsorpsi di usus lebih dari 70% maka dapat dinyatakan bahwa senyawa tersebut memiliki kemampuan terabsopsi tinggi.

Senyawa turunan kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* dan daun Pepaya gunung *(Carica pubescens)* dengan nilai absopsi tinggi dan sedang akan lebih mudah mencapai target reseptor CETP yang terdapat di plasma darah sehingga efek yang timbul akan lebih besar. Senyawa tersebut diharapkan seperti halnya atorvastatin yang mampu terabsopsi dengan baik di usus sehingga mudah mencapai reseptor CETP di plasma darah. Ketika atorvastatin dapat mencapai reseptor CETP maka obat tersebut akan menghambat CETP untuk melakukan pertukaran antara trigliserida dengan HDL dan LDL (Guerin, 2000).

Senyawa-senyawa turunan kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* dan daun Pepaya gunung *(Carica pubescens)* umumnya memiliki daya absorbsi yang baik kecuali rutin yang memiliki nilai absorbsi rendah yaitu 2, 861%. Sedangkan untuk senyawa chlorogenic acid, myrecetin, malvidine, pelargonidine, catchin dan quercetin memiliki daya absorpsi sedang. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Nekar *et al* (2012), bahwa suatu senyawa dikatakan memiliki nilai absorsi sedang apabila nilai absorpsi pada usus antara 20-70%.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Senyawa yang memiliki nilai absorpsi sedang dan rendah menurut penjelasan Ziberna *et al* (2014), menjelaskan bahwa apabila senyawa terabsopsi rendah maka dibutuhkan protein transport yang mampu membawa senyawa tersebut masuk kedalam usus, Senyawa yang terabsorpsi rendah tidak mampu hanya menggunakan jalur difusi pasif saja, sehingga membutuhkan perantara yaitu protein trasnsport. Senyawa rutin menurut penjelasan Zhang *et al* (2013), merupakan salah satu senyawa yang sulit terabsorpsi pada usus sehingga membutuhkan protein transport. Protein transport yang digunakan rutin untuk dapat mudah terabsorpsi yaitu *P-glycoprotein* (P-gp) dan *multidrug-resistent proteins* (MRPs). P-gp dapat menembus membran, termasuk kedalam superfamili transport *ATP-binding site* (ABC) dan memiliki 2 nukleotida yang dapat mengikat domain dan memiliki dua bagian yang sangat mirip dengan protein lain, salah satu bagiannya memiliki domain transmembran. Rutin akan membentuk proporsi substrat P-gp yang kuat sehingga dapat diserap di usus. Senyawa yang terabsorbsi tinggi akan langsung dapat menyerap usus sehingga mudah mencapai reseptor target, dalam penelitian ini yaitu reseptor CETP yang terdapat di plasma darah.

Senyawa yang terabsorpsi tinggi dan sedang tanpa bantuan protein transport akan langsung terserap pada usus, ketiga sudah terabsorbsi baik pada usus maka akan lansung menuju reseptor CETP yang terdapatdi plasma darah. Senyawa yang sudah mencapai CETP yang terdapat di plasma, nantinya akan bekrja menghambat CETP sehingga tidak ada pertukaran kolesterol ester dan trigliserida.

4.1.2 Hasil Prediksi PASS (*Prediction of Activity Spectra for Subtances*)

Proses selanjutnya dilakukan prediksi senyawa inhibitor sintesis kolesterol pada kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* dan daun Pepaya gunung

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(Carica pubescens) menggunakanan software PASS (*Prediction of Activity Spectra for Subtances*). Software PASS bekerja berdasarkan SAR (*Structure Activity Relationship*) yaitu merupakan hubungan struktur aktifitas berbagai percobaan yang telah menunjukkan berbagai macam aktivitas biologi. PASS Online terdiri dari 1000 lebih pengguna dan memiliki 200 lebih penelitian yang sudah diaplikasikan dan sudah dikonfirmasi hasilnya (Filimonov *et al*, 2014).

Konsep dari uji PASS yaitu berdasar pada spectrum aktifitas biologi dari senyawa tersebut. Pada data base PASS terdiri dari banyak aktivitas biologi interaksi antara asam amino dan ligan. Didalam software PASS terdapat ligan yang mampu mengikat pada protein homolog (atau serupa). Kemiripan target dapat digunakan untuk menemukan ligan baru, terdapat beberapa ligan baru yang ditemukan berdasarkan hubungan struktur aktivitas (Lagunin *et al*, 2000). Hal pertama yang dilakukan untuk melakukan uji PASS yaitu dengan memasukan data dalam bentuk SMILE molekul dari senyawa, sehingga nantinya SMILE molekul yang dimasukkan akan mencocokan kemiripan dengan molekul yang telah memiliki aktifitas biologi.

Hasil prediksi PASS dilihat berdasarkan nilai Pa (*Probable to be active*) dan Pi (*Probable to be inactive*). Jika senyawa memiliki nilai Pa > Pi, maka dapat dikatakan senyawa tersebut aktif. Semakin jauh jarak antara Pa-Pi, maka senyawa tersebut aktif digunakan pada eksperiment laboratorium (Ivanov *et al*, 2018). Hasil prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terdapat pada pada kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* dan daun Pepaya gunung *(Carica pubescens)* memiliki nilai Pa>Pi yang artinya senyawa tersebut berpotensi aktif secara eksperimen. Hasil uji PASS menunjukkan bahwa senyawa

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

atorvastatin yang memiliki kemungkinan aktivitas inhibitor sintesis kolesterol paling tinggi (Pa = 0,47 dan Pi = 0,005) di antara ligan-ligan yang lain. Sedangkan senyawa dari kulit batang kayu manis yang memiliki nilai Pa dan Pi tertinggi hingga terendah yaitu catechin Pa = 0,44 dan Pi = 0,006; Cinnamic acid Pa = 0,4 dan Pi = 0,010; Cinnamate Pa = 0,4 dan Pi = 0,021; Kaempferol Pa = 0,33 dan Pi = 0,037; Quercetin Pa = 0,25 dan Pi = 0,033; Cinnamaldehyde Pa = 0,25 dan Pi = 0,034; Isohamnetin Pa = 0,25 dan Pi = 0,035; Rutin Pa = 0,13 dan Pi = 0,081. Senyawa pada daun pepaya gunung yang memiliki nilai pa dan pi tertinggi hingga terendah yaitu Caffeic acid Pa = 0,44 dan Pi = 0,006; Chlorogenic acid Pa = 0,44 dan Pi = 0,007; Ferulic acid Pa = 0,44 dan Pi = 0,007; Peonidin Pa = 0,33 dan Pi = 0,017; Pelargonidin Pa = 0,32 dan Pi = 0,018; Malvidine Pa = 0,29 dan Pi = 0,024; dan Myricetin Pa = 0,23 dan Pi = 0,039.

Hasil prediksi PASS menunjukkan bahwa senyawa- senyawa yang terdapat pada kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung memiliki nilai Pa>Pi dan jarak nilai Pa-Pi memiliki nilai cukup tinggi. Hasil tersebut menurut penjelasan Ivanov *et al*., (2018), bahwa Semakin jauh jarak antara Pa-Pi, maka senyawa tersebut aktif digunakan pada eksperiment laboratorium. Penjelasan Ivanov tersebut menunjukkan bahwa senyawa-senywa yang terdapat dalam kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung yang memiliki nilai Pa > Pi dan jarak antara Pa-Pi jauh maka senyawa tersebut dapat digunakan untuk penilitian secara ekperimental di dalam laboratorium, yaitu dapat digunakan untuk penelitian secara in vivo dan in vitro. Merujuk pada penelitian ini yaitu Senyawa hasil uji PASS dengan nilai Pa > Pi dan jarak keduanya semakin jauh maka senyawa dari kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung dapat digunakan sebagai

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

inhibitor sintesis kolesterol untuk menormalkan kadar LDL-C dan HDL-C dalam serum darah.

4.1.3 Hasil Nilai *Binding Affinity* Ligan-Reseptor

Proses selanjutnya adalah *molecular docking*. Dijelaskan oleh Monika et al. (2010), bahwa *molecular docking* digunakan untuk memprediksi energi ikatan antara dua buah molekul atau lebih. Saat proses docking struktur molekul yang digunakan yaitu CETP (*Cholesterol ester transfer protein*) dengan kode CID 4EWS yang didapat dari PDB. Struktur makromolekul yang telah diperoleh dipisahkan dari ligan dan molekul air. Menurut penjelasan Cole, *et al* (2005), bahwa pada dasarnya molekul air memediasi interaksi ligan dengan reseptor, sehingga hasil docking yang didapat akan baik. Adanya molekul air menjadikan proses docking semakin kompleks karena variabel semakin banyak sehingga proses docking membutuhkan waktu yang lama. Molekul air dapat mengganggu ikatan pada proses docking yang memungkinkan terikatnya ligan dengan molekul air. Molekul air dan ligan lain perlu dibersihkan menggunakan software PyMol dan disimpan dengan format .pdb.

Proses docking menggunakan *Autodoc vina* perlu dilakukan pengaturan *grid box* untuk menentukan ruang penambatan ligan yang akan didocking. *Grid box* digunakan untuk menandai sisi yang akan ditautkan docking antara ligand an reseptor. *Grid box* merujuk pada asam amino kunci yang terdapat pada reseptor CETP. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Liu, *et al* (2012), menjelaskan bahwa asam amino Gln-199, Ser-230, dan His-232 merupakan asam amino kunci agar interaksi ligan dan reseptor CETP lebih stabil. Proses docking reseptor dan ligan dilakukan pada *grid box* center x = 8.8121, y = 2.2384, z = 35.4211,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dimension x = 13.3044, y = 13.2453, z = 16.9917. Posisi ini merupakan posisi menambatnya reseptor dan ligan.

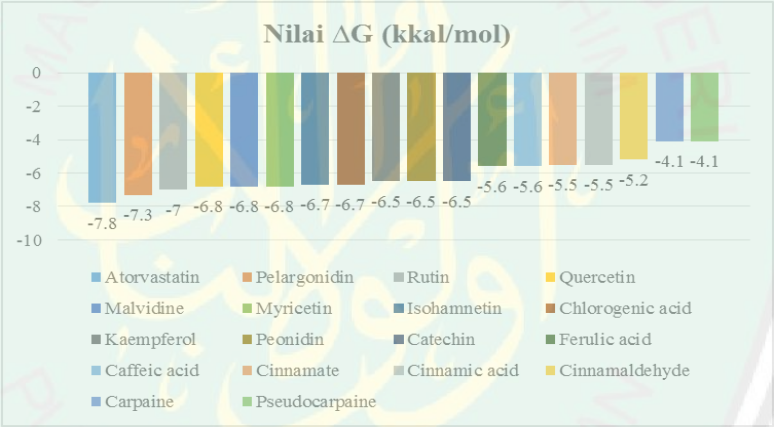
Hasil docking ditunjukkan oleh nilai *binding affinity* (energi bebas ΔG) dan interaksi ligan dengan residu pada reseptor. *Binding affinity* merupakan energi yang dibutuhkan ligan untuk berinteraksi dengan reseptor pada *binding site*. Nilai energi *binding affinity* yang kecil menunjukkan konformasi yang terbentuk yaitu stabil, sedangkan nilai *binding affinity* yang besar menggambarkan kompleks yang terbentuk tidak stabil (Funkhouser, 2007).

Perhitungan *binding affinity* (ΔG) didapat dari menghitung energi bebas dari sistem protein-ligan berdasarkan prinsip-prinsip termodinamika statistik. *Binding affinity* (ΔG) merupakan potensi termodinamika yang mengukur kapasitas sistem termodinamika untuk melakukan kerja maksimum atau reversibel pada suhu dan tekanan konstan. Ikatan protein-ligan hanya terjadi ketika perubahan dalam energi bebas (ΔG) dari sistem negatif ketika sistem mencapai keadaan kesetimbangan pada tekanan dan suhu konstan. Karena tingkat asosiasi protein-ligan ditentukan oleh besarnya (ΔG) negatif, dapat dianggap bahwa (ΔG) menentukan stabilitas dari setiap kompleks protein-ligan, atau, alternatifnya, afinitas pengikatan ligan terhadap reseptor tertentu (Gilson dan Zhou, 2007).

Proses docking reseptor CETP selain dengan ligan senyawa dari kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung juga dilakukan docking dengan ligan pembanding yaitu torcetrapib dan ligan kontrol yaitu atorvastatin. Torcetrapib merupakan obat sintetis yang digunakan untuk penyembuhan dislipidemia dengan penghambatan CETP. Hasil docking yang telah dilakukan menunjukkan *docking* torcetrapib sebagai ligan pembanding memiliki nilai *binding affinity* paling rendah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

-10,2 kkal/mol. Sedangkan senyawa kontrol yang digunakan yaitu atorvastatin dengan nilai *binding affinity* -7,8 kkal/mol. Hasil *docking* nilai *binding affinity* senyawa kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dari rendah sampai tinggi yaitu rutin -7,0 kkal/mol, quercetin 6,8 kkal/mol, isorhamnetin -6,7 kkal/mol, kaempferol -6,5 kkal/mol, catechin -6,5 kkal/mol, cinnamic acid -5,5 kkal/mol, dan cinnamaldehyde -5,2 kkal/mol. Sedangkan nilai *binding affinity* daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dari rendah ketinggi yaitu pelargonidin sebesar -7,3 kkal/mol, malvidin, myricetin dengan nilai -6,8 kkal/mol, chlorogenic acid -6,7 kkal/mol, peonidin -6,5 kkal/mol, caffeic acid dan ferulic acid -5,6 kkal/mol, carpaine dan pseudocarpaine -4,1 kkal/mol (Lihat gambar 4.1).



Gambar 4.1 Nilai ΔG (kkal/mol) dari senyawa aktif kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* dan daun pepaya gunung *(Carica pubescens)* hasil docking dengan CETP

Hasil *docking* ligan dari senyawa aktif kulit batang kayu manis *(Cinnamomum burmannii)* dan daun pepaya gunung *(Carica pubescens)* terhadap reseptor CETP (Gambar 4.2) menunjukkan bahwa senyawa pelargonodin memiliki energi ikatan paling rendah (-7,3 kkal/mol) dibandingkan dengan senyawa lain dan torcetabib (-10,2 kkal/mol) sebagai ligan pembanding maupun kontrol atorvastatin (-7,8 kkal/mol). Berdarkan hasil tersebut ikatan yang paling

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

baik yaitu ikatan antara CETP dengan senyawa pelargonidin. Efek dari rendahnya nilai *binding affinity* pada pelargonidin yang hampir menyamai nilai binding affinity pada atorvastatin yaitu diharapkan pelargonidin dapat menjadi obat untuk menggantikan obat sintetis yang sering digunakan yaitu atorvastatin.

Reseptor CETP memiliki struktur yang berbentuk dari 1-476 sekuens asam amino. Struktur reseptor CETP terbentuk dari N-terminal dan C-terminal, dari kedua terminal tersebut memiliki cholesterol ester dan fosfolipid (Lampiran 3). Penghambat CETP menempati kantong N-terminal dari terowongan pengikat lipid CETP, inhibitor hanya menempati kantong N-terminal CETP, terdapat pada 3 asam amino yaiu Gln 199, Ser 230, His 232. Akibat dari penghambatan ini yaitu akan secara fisik mengganggu pengikatan fosfolipid dan menjadikan cholesterol ester ke posisi yang tidak menguntungkan untuk transfer lipid dengan memblokir jalur pertukaran cholesterol ester dan fosfolipid. Inhibitor menempatkan pada posisi yang dekat leher sempit terowongan hidrofobik CETP dan dapat membatasi aliran lipid, sehingga transfer fosfolipid dengan cholesterol ester yang diperantarai oleh CETP tidak terjadi (Liu, 2012). Hal tersebut terlihat pada Lampiran 3 yang memperlihatkan struktur Kristal dari reseptor CETP dan prubahan konformasi dari reseptor CETP setelah dihambat oleh torcetrapib.

Proses docking selain menghasilkan nilai *binding affinity* juga menghasilkan ikatan antara ligan dengan residu asam amino yang terdapat pada reseptor. Hasil ikatan antara reseptor CETP dengan ligan menghasilkan beberapa ikatan yang dapat dilihat pada lampiran 11.

Hasil ikatan residu asam amino antara ligan dan reseptor terlihat pada lampiran 11 menunjukkan terdapat ikatan hidrogen yang terjadi pada ligan dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

residu reseptor. Ikatan hidrogen pada torcetabib, atorvastatin, caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, cinnamaldehyde, cinnamate, ferulic acid, isorhamnetin, kaempherol, malvidine, pelargonidine, quercetin, dan rutin memiliki ikatan hidrogen degan Ser-230. Ser-230 merupakan golongan residu asam amino kunci yang terdapat pada reseptor CETP selain Gln-199 dan His-232. Terdapat ligan yang memiliki ikatan hidrogen lebih dari satu, seperti torcetrapib, atorvastatin, caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, ferulic acid, malvidine, pelargonidin, dan quercetin. Hasil visualisasi intraksi reseptor CETP dengan ligan torctrapib, atorvastatin, senyawa kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung terdapat pada lampiran 12.

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa torcetrapib sebagai pembanding dengan nilai *binding affinity* -10,2 kkal/mol memiliki 3 ikatan hidrogen yaitu pada residu asam amino Gln-199, Ser-230, His-232. Sedangkan ikatan atorvastatin yang digunakan sebagai ligan kontrol memiliki nilai *binding affinity* dengan 3 ikatan hidrogen yaitu Ser-230, Glu-229, Cys-13 tetapi hanya 1 ikatan hidrogen yang terdapat pada asam amino kunci yaitu Ser-230.

Senyawa daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang memiliki nilai *binding affinity* terbaik yaitu pelargonidin. Ikatan yang terbentuk dari ligan pelargonidin memiliki 2 ikatan hidrogen yaitu pada asam amino Ser-230 dan His-232. Hal tersebut menunjukkan bahwa pelargonidin memiliki 2 ikatan yang terdapat dalam asam amino kunci dan memilki kemiripan dengan ligan pembanding maupun ligan kontrol karena memiliki ikatan dan nilai *binding affinity* yang mendekati ikatan pada torcetrapib dan atorvastatin.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ikatan yang terjadi antara reseptor CETP dengan ligan juga dipengaruhi oleh sisi aktif atau asam amino kunci dari reseptor CETP. Penelitian Liu (2012), menjelaskan bahwa asam amino Gln-199, Ser-230, dan His-232 merupakan residu asam amino kunci dari reseptor CETP. Asam amino kunci ini yang menjadikan proses docking yang dilakukan yaitu spesifik docking karena berada pada sisi aktif dari reseptor. Sesuai dengan penjelasan Shamsara (2018), bahwa molecular docking adalah metode untuk menemukan pose antara ligan pada sisi aktif reseptor dan menghitung energy ikatan yang dihasilkan.

Berdasarkan uji yang telah dilakukan dari semua senyawa yang telah dilakukan uji HIA, PASS, dan docking molecular maka senyawa terbaik yang dapat menghambat reseptor CETP yaitu pelagonidin dengan nilai HIA 81,599, nilai uji PASS Pa 0, 32 dan Pi 0,018, nilai *banding affinity* -7,3, selain itu *biding pose* dari pelargonidin terletak pada sisi aktif yaitu pada asam amino Ser-230 dan His-232. Selain pengujian secara *in silico* kemampuan pelargonidin untuk menghambat reseptor CETP secara *in vivo* juga telah dilakukan. Penelitian Qin *et al* (2009) menjelaskan bahwa senyawa golongan antosianin salah satunya pelargonidin dapat menurunkan aktivitas CETP hingga 6,3% sampai 10,4%.

Hasil docking pelargonidin dengan reseptor CETP merupakan ikatan yang paling baik untuk menghambat reseptor CETP, sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al-Hijr (15):21,

وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنَزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَعْلُومٍ ﴿٢١﴾

Artinta: *"Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisis kami-lah khazanahnya; dan kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu*." (Q.S. Al-Hijr (15): 21).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan firman Allah SWT dalam al-Quran surat al-Hijr (15):21, terdapat kata وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ "*Dan tidak ada sesuatupun"* menurut tafsir al-misbah merupakan kata yang bersifat umum, yang mencangkup segala sesuatu. Allah SWT telah menyediakan segala faktor yang merupakan unsur-unsur bagi kehidupan manusia. Kata خَزَائِنُهُ "*khazanahnya*" menurut Sayyid Qurthub menjelakan bahwa semakin jelas setelah manusia mengetahui ciri unsur-unsur kehidupan manusia dan pembentukan komponennya. Misalnya, adalah bagian kecil dari protein bagian *khazana rezeki* pada tubuh manusia. Hal yang serupa banyak sekali yang menjelaskan makna *khazana Allah SWT*. Beberapa hal tersebut adalah yang diketahui manusia, hal tersebut sebenarnya sedikit apabila dibandingkan dengan apa yang telah Allah SWT berikan kepada manusia. Kata بِقَدَرٍ مَعْلُومٍ "*dengan ukuran yang tertentu"* menjelaskan bahwa semua yang telah Allah SWT ciptakan dan dalam wewenang Allah. Komponen-komponen tersebut tersedia melimpah, tetapi karena rahmat Allah SWT kepada manusia sehingga, Allah SWT tidak menurunkannya kecuali dalam kadar tertentu (Shihab, 2002). Kadar dan ukuran yang telah ditetapkan dapat diartikan seperti halnya protein yaitu reseptor CETP yang memiliki sisi aktif yang apabila terdapat ligan yang berikatan disisi tersebut maka akan menghasilkan ikatan terbaik. Hal ini ditunjukkan oleh senyawa pelargonidin yang berikatan pada residu asam amino kunci Ser-230, His-232 dan memiliki nilai *binding affinity* terbaik -7,3 kkal/mol.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.2 Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica Pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C dan HDL-C Serum Mencit (*Mus musculus*)

4.2.1 Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica Pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C

Pengujian *in vivo* dilakukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar LDL-C. Pengukuran kadar LDL-C digunakan sebagai indikator untuk mengukur kadar kolesterol jenuh didalam darah. Tingginya kadar LDL-C di dalam tubuh, menujukkan salah satu ketidak seimbangan profil lipid tubuh sehingga memicu terjadi dislipidemia (Adam, 2009). Analisis kadar LDL-C serum mencit dalam penelitian ini menggunakan metode CHOD-PAP pada system photometric. Pada metode ini LDL diendapkan dengan penambahan heparin. Hasil setrifugasi HDL dan VLDL berada pada supernatan dan pengukuran enzimatik dengan metode CHOD-PAP. Konsentrasi LDL akan dihitung sebagai selisih total kolesterol dan kolesterol pada supernatant.

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) terhadap kadar LDL-C yang diinduksi HFD menunjukkan hasil yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan. Adapun presentase dan rata-rata ± standar deviasi disajikan dalam table 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rata-rata kadar LDL-C serum mencit setelah perlakuan

Perlakuan	N	Rata-rata ± SD
P1 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*))	5	80,38 ± 10,25[a]
K+ (HFD + Perlakuan atorvastatin)	5	89,01 ± 16,48[ab]
N (Normal)	5	90,52 ± 12,47[ab]

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

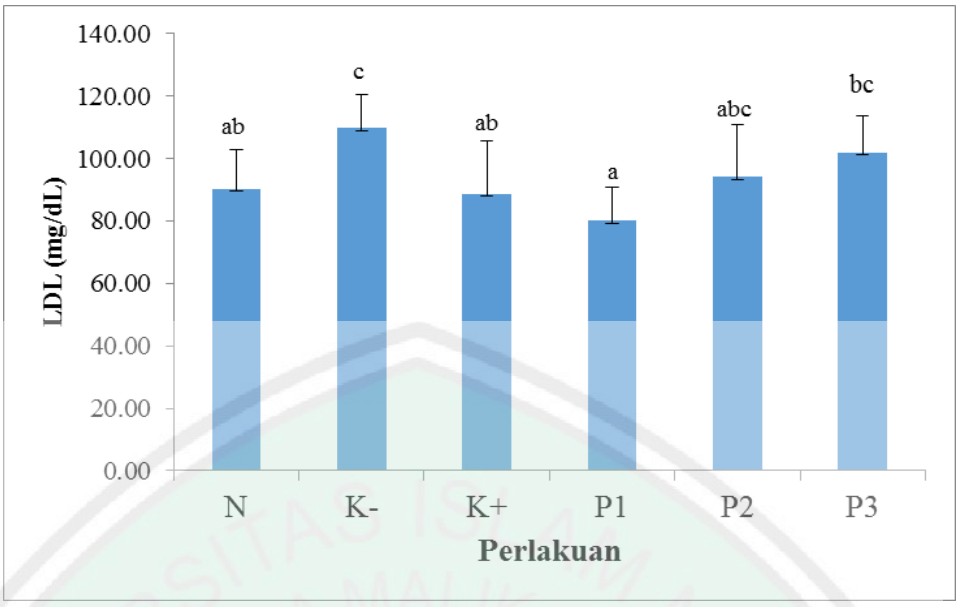
P2 (HFD + Perlakuan dosis 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*))	5	94,27 ± 16,65[abc]
P3 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*))	5	102,16 ± 11,33[bc]
K- (Perlakuan HFD)	5	110,05 ± 10,61c

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan uji Duncan α 5%

Data yang telah diperoleh kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS 16.0 *for Windows*. Berdasarkan data rata-rata kadar LDL-C dilakukan uji normalitas menggunkan *Kolmogorov-Sminov Test*. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal karena memiliki nilai signifikansi sebesar 0,604 ($p>0,05$). Hasil uji homogenitas pada Lavene test memiliki nilai signifikansi sebesar 0,846 ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh telah homogen. Oleh karena data yang diperoleh normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji *ANOVA One-Way* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,026 ($p<0,01$) sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa (H_1) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) secara signifikan dapat mempengaruhi kadar LDL-C serum mencit yang diinduksi HFD. Setelah dilakukan uji *ANOVA One-Way* dilanjutkan uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar LDL-C serum.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.2 Grafik rata-rata kadar LDL-C serum mencit

Keterangan: N (Normal), K- (Perlakuan HFD), K+ (HFD + Perlakuan atorvastatin), P1 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)), P2 (HFD + Perlakuan dosis 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*)), P3 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*).

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa terjadi perbedaan nyata dengan α 5% yaitu antara perlakuan K- (Pemberian HFD) dengan perlakuan normal, perlakuan K+ (HFD + perlakuan atorvastatin) dan P1 ((HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)), hal ini terlihat dari notasi pada perlakuan K- berbeda nyata dengan perlakuan K+, N, dan P1. Tetapi hasil perlakuan K- tidak berbeda nyata dengan P2 (HFD + Perlakuan dosis 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*)) dan P3 (HFD + 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*).

Kelompok kontrol negatif, yaitu hewan coba yang diinduksi perlakuan HFD tanpa perlakuan obat menunjukkan adanya peningkatan kadar LDL-C. Hal tersebut disebabkan pemberian HFD yang diinduksikan terdiri dari kuning telur

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

puyuh, lemak ayam, dan PTU. Dijelaskan oleh Gupta (2000), bahwa pemberian lemak ayam dapat meningkatkan kadar LDL 47-63%. Sedangkan pemberian PTU menurut Suharti (2007), menjelaskan bahwa PTU merupakan zat antitiroid yang bekerja menghambat enzim peroksidase sehingga oksidasi ion iodida dan gugus iodotirosil terganggu. Pemberian PTU berlebih dapat menekan kadar tiroid dalam darah sehingga terjadi hipotiroidisme. Hipotiroidisme mengakibatkan lambatnya metabolism sehingga lemak tidak terpecah. Pemberian PTU dapat meningkatkan profil lipid dalam serum darah. Dari penjelasan tersebut menunjukkan bahwa permberian HFD dapat meningkatkan LDL-C dan ditunjukkan pula pada kadar LDL-C kontrol negatif dimana perlakuan pemberian HFD memiliki rata-rata nilai kadar LDL-C paling tinggi yaitu 110,05 mg/dl.

Pemberian HFD apabila tidak dilakukan pengobatan lebih lanjut dengan obat atidislipidemia maka akan memberikan efek lanjut bagi organ lain. LDL yang termasuk kedalam jenis lipoprotein yang mengandung banyak kolesterol. Kolesterol yang terkandung di dalam LDL akan diedarkan ke hati dan jaringan steroidogenik yang memiliki reseptor kolesterol LDL, jaringan tersebut antara lain kelenjar adrenal, testis, dan ovarium. Sisa dari kolesterol LDL akan ditangkap oleh reseptor scavenger-A (SR-A) yang terdapat di magrofag untuk dioksidasi menjadi sel busa (*foam cell*). Sehingga, semakin banyak kolsterol LDL yang beredar di plasma darah maka semakin banyak kolesterol LDL yang ditangkap oleh reseptor SR-A di magrofag dan dioksidasi sehingga makin besar sel busa yang terbentuk. Sel busa yang terus menerus terbentuk akan menyebakan aterosklerosis (Adam, 2009). Sehingga apabila serum LDL-C tidak diturunkan konsentrasinya di plasma maka akan menyebabkan terjadinya plug di pembuluh

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

darah yang nantinya memberikan efek lebih lanjut pada arterosklerosis dan penyakit jantung.

Kadar LDL-C serum normal ditunjukkan pada gambar 4.2 memiliki persamaan notasi dengan perlakuan kontrol positif (pemberian atorvastatin). Menurut penjelasan Ihedioha (2011), bahwa ambang batas untuk LDL normal mencit yaitu < 110 mg/dl. Berdsarkan referensi tersebut kadar LDL-C dalam kelompok normal dan kontrol positif masih tergolong dalam ambang normal karena masing-masing memiliki kadar LDL-C 90,52 mg/dl dan 89,01 mg/dl. Hasil tersebut menunukkan bahwa pemberian atorvastatin dapat menurunkan kadar LDL-C hingga mendekati kadar normal. Atorvastatin adalah obat statin yang digunakan menurunkan kadar LDL. Artovastatin memberikan efek penurunan yang lebih efektif dari obat golongan statin lain. Artovastatin dapat menurunkan kadar LDL-C sebesar 22-51% (Ray, 2005). Apabila LDL-C berada pada keadaan normal maka konsentrasi profil lipid dalam plasma akan terdistribusi dengan baik dimana kadar profil lipid yaitu LDL-C, HDL-C, kolesterol total dan trigliserida seimbang.

Penurunan kadar LDL-C dapat dilakukan dengan pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*). Hal ini terbukti dalam penelitian ini, dimana kadar LDL-C serum mencit (*Mus musculus*) pada semua kelompok perlakuan yang diinduksi perlakuan HFD dan kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens)* mengalami penurunan. Terjadi penurunan kadar LDL-C pada P1 sehingga diperoleh kadar 80,38 mg/dl, sedangkan pada P2 sebanyak 94,27 mg/dl,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dan P3 yaitu 102,16 mg/dl. Apabila dilihat pada hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dosis 300 mg/ kg BB merupkan dosis terbaik untuk menurunkan LDL-C serum mencit. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Ummah (2015), bahwa pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dosis 300 mg/ kg BB dapat menurunkan kadar LDL-C serum.

Penurunan LDL- C tidak terlepas dari konsentrasi kolesterol total pada plasma. LDL dikatakan sebagai kolesterol jahat karena memiliki tugas membawa kolesterol ke sel jaringan tubuh, apabila proses katabolisme LDL yang dilakukan oleh hepar dan jaringan perifer berkurang, mengakibatkan kadar kolesterol plasma menjadi meningkat. Kadar kolesterol yang meningkat pada plasma akan disalurkan ke dalam makrofag sehingga membentuk sel busa (*foam cells*). Apabila jumlah kolesterol dalam makrofag berlebihan menjadikan kolesterol yang terkandung menumpuk serta mengendap pada dinding pembuluh darah, nantinya dapat berkembang menjadi menebal dan mengeras di pembuluh darah yang dikenal dengan nama aterosklerosis (Murray, 2006).

Terdapat beberapa mekanisme yang digunakan untuk menurunkan LDL plasma yaitu dengan penghambatan HMG CoA reduktase yang berkorelasi dengan kolesterol total dan penghambatan CETP yang berkorelasi dengan kenaikan HDL. Penjelasan Goldstein dan Michael (2009), menjelaskan bahwa peningkatan kolestrol biasanya dicegah dengan penggunaan obat golongan statin, obat ini akan ditargetkan ke hati untuk mengikat dan menghambat HMG CoA reduktase untuk menurunkan produksi kolesterol. Penurunan kolesterol hati

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

mengaktifkan pemrosesan SREBP, sehingga meningkatkan jumlah reseptor LDL yang terdapat pada membrane sel hati. Reseptor LDL yang baru diproduksi akan menyerap LDL berlebih yang terdapat di plasma dan mengirimnya ke bagian sel dimana LDL akan disintesis menjadi kolesterol untuk proses metabolit. Sehingga efek dari penghambatan HMG CoA reduktase bukan hannya menurunkan produksi kolesterol tetapi juga meningkatkan reseptor LDL yang mengakibatkan jumlah kolestrol di hati dipertahankan pada tingkat normal sementara pada saat yang sama tingkat LDL–C dalam plasma dijaga tetap rendah.

Korelasi penghambatan CETP terhadap penurunan LDL-C yaitu melalui mekanisme *reverse cholesterol transfer*. RCT memiliki dua jalur untuk mentranfer kolesterol kembali ke hati yaitu melalui jalur langsung yang melibatkan interaksi HDL dengan SR-B1 dan jalur tidak langsung yaitu transfer kolesterol menggunkan CETP yang mengakibatkan reseptor di hati meningkat. Penghambatan CETP akan mengurangi jalur tidak langsung sehingga apabila CETP tidak dihambat maka akan menyebabkan proatherogenic (Barter dan Kerry, 2012).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki efek yang paling baik dalam penurunan kadar LDL-C. Hal tersebut dikarenakan kandungan senyawa golongan flavonoid yang terdapat pada kulit batang kayu manis seperti catechin, rutin dan quercetin. Catechin bekerja untuk mempengaruhi metabolism lipid dengan berbagai mekanisme dan mencegah munculnya plak aterosklerosis pada penderita dislipidemia. Catachin juga bekerja meregulasi ekspresi reseptor LDL di hati. Catechin terbukti mengurangi kadar kolesterol darah dan mencegah pengendapan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dan akumulasi kolesterol di berbagai jaringan, termasuk hati dan jantung pada tikus dengan hiperkolesterolemia. Catechin mengurangi sirkulasi LDL-C tetapi meningkatkan HDL-C pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak dan kolesterol tinggi. Apolipoprotein B (ApoB) adalah komponen apolipoprotein utama dalam LDL dan tingkat ApoB yang tinggi dan penurunan rasio Apolipoprotein A-1 (ApoA-1) / ApoB dikaitkan dengan risiko CVD yang lebih tinggi (Kukita, 1984). Catechin terbukti mengurangi ApoB dan meningkatkan rasio ApoA-1(Chan, 1999).

Pemberian rutin dengan dosis 100 mg/kgBB menurut penjelsan Ziaee et al., (2009) dapat menghambatan oksidasi lipoprotein, yang akan mengakibatkan menurunnya resiko aterosklerosis. Rutin dapat menurunkan konsentrasi LDL-Kolesterol hingga 30,4% - 41,5%. Sedangkan senyawa quercetin menurut penelitian Yamamoto (2006), bahwa quercetin juga dapat menurunkan serum trigliserida dan serum LDL-Kolesterl pada hewan dislipidemia.

Pemberian perlakuan kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens)* pada perlakuan P2 dan P3 kurang memberikan efek penurunan kadar LDL-C serum darah mencit. Hal ini disebabkan kurangnya senyawa pada daun pepaya (*Carica pubescens)* gunung yang dapat menurunkan kadar LDL-C. Penelitian tentang kadar LDL-C serum darah mencit menggunakan ekstrak daun pepaya gunung (*Carica pubescens)* belum ada yang melakukan sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.2.2 Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica Pubescens*) terhadap Kadar HDL-C

Hasil uji kadar HDL-C serum mencit yang telah diuji menggunakan metode *Differential Precipitation Enzymatic Colorimetric Test* didapat hasil sebagai berikut (Tabel 4.2)

Tabel 4.2 Hasil Rata-rata kadar HDL-C Serum Mencit Setelah Perlakuan

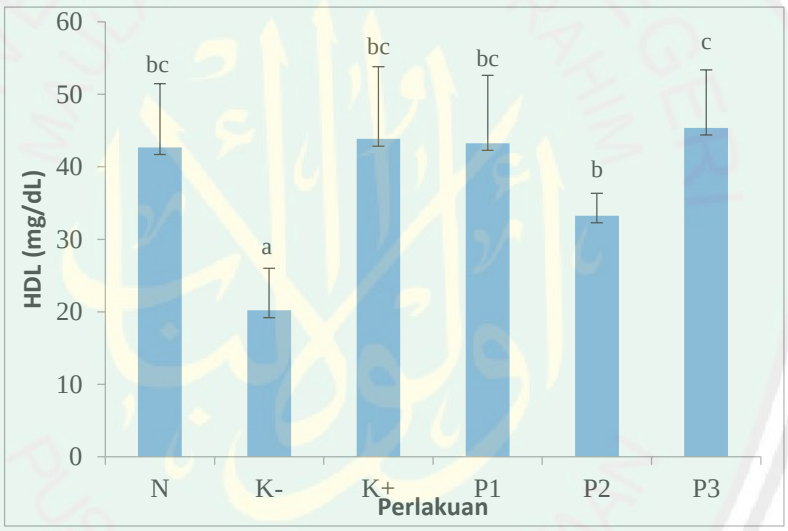
Perlakuan	N	Rata-rata ± SD
K- (Perlakuan HFD)	5	20,19 ± 5,81[a]
P2 (HFD + Perlakuan dosis 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*))	5	33,27 ± 3,08[b]
N (Normal)	5	42,69 ± 8,77[bc]
P1 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*))	5	43,27 ± 9,35[bc]
K+ (HFD + Perlakuan atorvastatin)	5	43,85 ± 9,96[bc]
P3 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*)	5	45,38 ± 7,97[c]

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan uji Duncan α 5%

Berdasarkan data yang telah diperoleh di atas kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS 16.0 for Windows. Data rata-rata kadar HDL-C dilakukan uji normalitas menggunkan *Kolmogorov-Sminov Test*. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal karena memiliki nilai signifikansi sebesar 0,604 (p>0,05). Hasil uji homogenitas pada Lavene test memiliki nilai signifikansi sebesar 0,194 (p>0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh telah homogeny. Oleh karena data yang diperoleh normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 5%.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil uji *ANOVA One-Way* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p<0,01$) sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa (H_1) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) secara signifikan dapat mempengaruhi kadar HDL-C serum mencit yang diinduksi HFD. Setelah dilakukan uji *ANOVA One-Way* dilanjutkan uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar HDL-C serum. Hsil rata-ratadan standar deviasi dapat dilihat berupa grafik pada Gambar 4.4



Gambar 4.3 Grafik rata-rata kadar HDL-C serum mencit

Keterangan: N (Normal), K- (Perlakuan HFD), K+ (HFD + Perlakuan atorvastatin), P1 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)), P2 (HFD + Perlakuan dosis 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*)), P3 (HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*).

Hasil Duncan menunjukkan bahwa terjadi pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang diinduksi HFD menunjukkan bahwa kelompok perlakuan K- (Pemberian HFD) berbeda nyata dengan semua kelompok

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

perlakuan. Kelompok perlakuan N (Normal), K+ (HFD + perlakuan atorvastatin) dan PI memiliki hasil yang tidak berbeda secara signifikan. Kelompok perlakuan P1 ((HFD + Perlakuan dosis 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)) hasilnya memiliki pegaruh yang tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P2 dan P3. Kelompok perlakuan P2 (HFD + Perlakuan dosis 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*)) berbeda nyata dengan dengan kelompok perlakuan P3 (HFD + Perlakuan dosis dan 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*).

Kenaikan kadar HDL-C serum mencit (*Mus musculus*) dapat ditingkatkan dengan pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*). Hal ini terbukti pada penelitian ini, dimana kadar HDL-C serum mencit (*Mus musculus*) pada semua kelompok perlakuan yang diinduksi perlakuan HFD dan pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok perlakuan K- yang hanya diinduksi perlakuan HFD yaitu 20,19 ± 5,81. Terjadi kenaikan kadar HDL-C serum mencit pada P1 sebanyak 43,27 ± 9,35. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian dosis 300 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Hal tersebut, sesuai dengan penelitian Shofiati (2015), bahwa pemberian ekstrak etanol 70% kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dosis 300 mg/ kg BB dapat menurunkan kadar HDL-C serum.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Dosis pada P2 dapat dikatakan tidak begitu berpengaruh karena berdasarkan hasil kadar HDL-C menunjukkan bahwa pemberian dosis 150 mg/kg BB ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan 150 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*) dapat menaikan kadar HDL-C serum mencit tetapi belum mendekati kadar HDL-C dalam keadaan perlakuan normal. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi antara kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun papaya gunung (*Carica pubescene*) kurang memberikan efek penurunan HDL-C pada serum mencit. Sehingga apabila kedua senyawa pada tumbuhan tersebut dikombinasi kurang memberikan efek.

Dosis yang paling efektif adalah 300 mg/kg BB ekstrak daun papaya gunung (*Carica pubescene*) yaitu 45,38 ± 7,97 karena nilai tersebut melebihi kadar HDL-C dalam perlakuan normal. Dosis P3 merupakan dosis yang paling efektif untuk meningkatkan kadar HDL-C serum akibat pemberian HDF, sebagaimana dalam firman Allah SWT surat asy-Syuara' (26):80,

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

Artinya: *"Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku."*

Relevansi sakit yang terdapat pada surat asy-Syuara' ayat 80 terfokus pada frasa وَإِذَا مَرِضْتُ yang terpusat pada nila-nilai rasional, empiris, oprasional dan aplikatif, baik yang terkait dengan penyakit psikis maupun psikologis. Menurut tafsir Fahrudin Ar- razi menjelaskan bahwa keluhan fisik disebabkan adanya gangguan fungsional organ tubuh. Sedangkan gangguan fungsi organ tubuh dapat disebakan oleh ganguan gaya hidup, psikologis maupu depresi (Aswadi, 2007). Berdasarkan tafsir tersebut maka salah satu penyebab datangnya suatu penyakit

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

yaitu berasal dari diri manusia itu sendiri, yang dalam penelitian ini sebab penyakit dislipidemia yaitu berasal dari gaya hidup yang tidak sehat.

Menurut penjelasan Qarni (2007) apabila sakit, maka tidak ada yang mampu menyembuhkan dari penyakit tersebut kecuali Allah SWT. Allah yang menurunkan penyakit dan menurunkan obat. Dari kedua tafsir tersebut jelas bahwa Allah SWT telah memberi petunjuk bahwa tidak ada yang mapu menyembuhkan penyakit di dunia ini selain dari Allah SWT. Segala yang berasal dari ciptaan Allah SWT atas kehendaknya dapat dimanfaatkan sebagai obat. Manusia memiliki kewajiban untuk berusaha semaksimal mungkin, ketika usaha yang diinduksikan telah maksimal maka Allah SWT yang menentukan baik buruknya. Salah satu obat yang dapat digunakan yaitu kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) untuk menaikkan kadar HDL-C yang digunakan dalam penelitian ini.

Kenaikan kadar HDL-C terbaik yaitu pada pemberian ekstrak 70% daun pepaya gunung (*Carica pubescens*). Hal tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa aktif dari tanaman tersebut. Senyawa aktif yang umum ditemukan pada genus Carica sesuai dengan penelitian Yogiraj *et al*., (2015), menyatakan bahwa pada daun genus Carica memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tannin, dan fenol. Senyawa turunan alkaloid yang terdapat pada daun pepaya gunung yaitu carpaine, pseudocarpane. Senyawa turunan flavonoid yaitu kaemferol, peonidin, pelargonidine, malvidine dan myricetin. Sedangkan untuk turunan fenol yaitu ferulic acid, caffeic acid, dan chlorogenik acid. Penelitian yang dilakukan oleh Qin (2009), menunjukkan bahwa bahwa senyawa aktif tanaman yang dapat menghambat aktivitas reseptor CETP yaitu senyawa golongan antosianin.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

CETP merupakan protein penting yang berperan dalam terjadinya transport kolesterol terbalik. CETP merupakan glikoprotein yang memiliki sifat hidrofofik. CETP dihasilkan di hati dan diedarkan pada plasma darah. CETP berperan sebagai pengkatalis transfer antara cholesterol ester yang terdapat dalam HDL dengan trigliserida yang terdapat di dalam VLDL dan LDL. Penghambatan CETP dapat mengurangi transfer antara HDL dengan trigliserida sehingga konsentrasi HDL tetap tinggi (Tall, 2001).

Kandungan antosianin yaitu pelargonidin, malvidin dan peonidin dapat menghambat CETP sesuai dengan penjelasan Qin (2009), bahwa pelargonidin, malvidin dan peonidin merupakan senyawa golongan antosianin yang dapat menurunkan aktivitas CETP hingga 6,3% sampai 10,4%. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif pelargonidin, malvidin dan peonidin dapat menurunkan kolesterol LDL dan menaikkan kolesterol HDL melaui penghambatan CETP.

Hal tersebut sesuai dengan penelitian *in vivo* yang dilakukan dimana pemberian ekstra daun pepaya gunung dapat menurunkan kadar HDL-C secara siknifikan dibandingkan perlakuan yang lain. Dikuatkan pula oleh penelitian *in silico*, dimana penghambatan reseptor CETP paling baik dilakukan oleh senyawa pelargonidin yang terkandung didalam daun pepaya gunung. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai *binding affinity* senyawa pada daun pepaya gunung yaitu pelargonidine yang memiliki nilai binding affinity terbaik yaitu -7,3 kkal/mol dan memiliki posisi ikatan terbaik yaitu mengikat pada asam amino Ser- 230 dan His-232. Hasil binding affinity dan pengikatan tersebut menurut Liu (2012) akan mengubah konformasi protein dari reseptor CETP sehingga memberikan efek

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

untuk menghambat pertukaran cholesterol ester dengan trigliserida yang diperantarai oleh CETP. Penghambatan ini yang menyebabkan hasil secara in vivo kadar HDL-C pada penelitian ini menjadi meningkat.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa aktif dalam kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dan daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) yang dapat menghambat CETP berdasarkan hasil uji *in silico* adalah senyawa pelargonidin yang berasal dari daun pepaya gunung (*Carica pubescens*).
2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang kayu manis (*Cinamomum burmanii*) dapat menurunkan kadar LDL-C, pemberian ekstrak etanol daun pepaya gunung (*Carica pubescens*) dapat meningkatkan kadar HDL-C, sedangkan kombinasi antara kulit batang kayu manis dan daun pepaya gunung kurang memberikan pengaruh terhadap kadar LDL-C dan HDL-C serum mencit dislipidemia.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukanan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan reseptor-reseptor protein lain yang berkaitan dengan dislipidemia untuk penelitian secara *in silico*.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang struktur histologi organ seperti pembuluh darah, hepar, ginjal, dan pankreas mencit penderita dislipidemia.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Accerlys, Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, California, U.S.A: Accelys Software Inc.

Adam JMF. 2009. *Dislipidemia (Buku Ajar Penyakit Dalam, Edisi 4)*. Jakarta: Interna Publishing

Araar, H. 2009. *Cinnamon Plant Extracts: A Comprehensive Physico-Chemical and Biological Study for Its Potential Use as A Biopesticide*. Master Thesis. Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari, Algeria

Arwansyah. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana IPB Bogor.

Aswadi. 2007. *Konsep Syifa' Dalam al-Qur'an Kajian Mafatih al-Ghaib Karya Fakhrudin al-Razi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah

Babu, PVA. 2006. Clin Exp Pharmacol Physiol. *PubMed*, 33: 1184

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. *Pokok-pokok hasil Riskesdas Indonesia tahun 2013. Buku I*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI

Baker, W.L. Gutierrez-William, G. White, C.M. Kluger, J, Coleman, C.I. 2008. *Effect of cinnamon og glucose control and lipid parameters*. Diabetes Care. 31 (1): 41-43

Barter, Philip J. dan Kerry-Anne Rye. 2012. Cholesterol Ester Transfer Protein Inhibition as a Strategy to reduce Cardiovascular risk. *Journal of Lipid Research*. Vol 53

Bimakra, M. Rahman, R.A., Taip, F. S., Ganjloo, A., Salleh, L. M., Selamat, J., Hamid, A., Zaidul, I. S. M., 2010. Comparisson of Different Extraction Methods for the Extraction of Major Bioactive Flavonoid Compound from Spearmint (Mentha spicata L.) Leaves. *Journal Food and Bioproducts Procesing*. Malaysia

Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al. 2005. *Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. New England Journal of Medicine*. 350:1495-504.

Chan P. T., Fong W. P., Cheung Y. L., Huang Y., Ho W. K., Chen Z. Y. 1999. Green Tea Catechins and Cardiovacular Health: An Update. *J Nutr*. 129: 1094

Chellilah, D. A. 2008. Biological Activity Prediction of an Ethno Medicinal Plant *Cinnamomum camphora* Through Bioinformatics. *Ethnobotanical Leaflets*. 12: 181-190

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Cole, J. C., J. W. Nissink, dan O. Taylor. 2005. *Protein-Ligand Docking and Virtual Sreeaning with Gold. In J Alvarez, & B. Shoichet, Virtual Screening in Drug Discovery*. Boca Ration: CRC Press

Coumarin. 2006. Opinion on Coumarin (sensitization only). Scientific Committee on Consumer Products (SCCP). *Adopted by the SCCP during the 8th Plenary meeting of 20 June 2006*. European Commission.

Dallakyan, S., Olson, Arthur. J. 2015. *Small Library Screening by Docking With Pyrx*. Departement of Integrative Structure and Computation Biology

Dasuki, Undang Ahmad. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati Institut Teknologi Bnadung

DeLano, W. L., dan Bromberg, S. 2004. *PyMol User's Guide*. USE: DeLano Scientific LLC.

Dunitz, J. D. 1995. Win Some, Lose Some: Enthalpy-entropy Compensation in weak intermolecular Interactions. *Chem. Biol*. 2; 709-712

Farmakologi dan Terapi (edisi 4). 1995. Jakarta: Penerbit Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 364-379

Fauci, A. S., Kasper, D. L., Longo, D. L., Braunwald, E., Hauser, S. L., Jameson, J. L. 2008. *Horrison's Principles of Internal Medicine*, edn 17, McGraw-Hill Companies, Inc., USA

Ferry, Yulius. 2013. Prospek Pengembangan Kayu Manis (*Cinamomum burmannii*) di Indonesia. *Jurnal SIRINOV, Vol 1, No 1, April 2013 (Hal: 11-20).*

Filimonov, D. A., A. A. Lagunin, T. A. Gloriozova, A. V. Rudik, D. S. Druzhilovskii, P. V. Pogodin, and V. V. Poroikov. 2014. Prediction of The Biological Activity Spectra of Organic Compound Using The Pass Online Web Resource. *Russian Original*. Vol. 50. No. 3.

Firdaus, Elza Amalia. 2015. *Efek Ekstrak Kayu Manis (Cinamomum cassia) Terhadap Kadara Glukosa Darah, Berat Badan, dan Kolesterol Total Pada Tikus Yang Diinduksi Streptozotosin*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah

Fitriasari, Aditya, Natasya Kana Wijayanti, Nur Ismiyanti, Dyaningtyas Dewi, Wisnu Kundarto, BS Ari Sudarmanto dan Edy Meiyanto. 2008. Studi Potensi Kurkumin dan Analognya Sebagai *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERMS): *Docking* pada Estrogen β. *Pharmacon*. Vol. 9.No. 1.

Francis, A. A., and G. N Pierce. 2011. An Integrated Approach for the Mechanisms Responsible for Atherosclerotic Plaque Regression. *Experimental and Clinical Cardiology*. Vol. 16. No. 3.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Funatsu T., Kakuta H., Tanaka H., Arai Y., Suzuki K., Miyata K., 2001. Atorvastatin (Lipitor): A Review of its Pharmacological and Clinical Profile. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 117 (1): 65-76

Funkhouser, T. 2007. *Protein –Ligand Docking Methods*. Princeton, New Jersey, U.S.A: Princeton University.

Gandha N. 2009. *Hubungan Perilaku Dengan Prevalensi Dislipidemia Pada Masyarakat Kota Ternate Tahun 2008*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI

Genest J, Libby P. 2007. Clinical Trials of Drugs Affesting Lipid Metabolism. In: Libby, Bonow, Mann, Zipes. *Braunwald's heart disease*. Saunders Elsevier.

Gilson, M. K., dan Zhou, H. X., 2007. Calculation of Protein –ligand binding affinities. *Annu. Rev Biophys. Biomol. Struct*. 36; 21-42

Goldstein, Joseph L., dan Michael S. Brown. 2009. Hostory of Discovery: The LDL Reseptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 29 (4); 431-438

Gross, D.R. 2009. *Animal Models in Cardiovascular Research*. New York: Springer Science & Business Media

Grundy, S. M. 2002. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, nad Treatment of High Blood Cholesterpl in Adults (Adult Tratment Panel III). *Aha Journals*

Guerin, M Lassel TS. 2000. Action of Atorvastatin in Combined Hyperlipidemia: Preferential Reduction of Cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL Particles. *Arteriosclear Thromb Vasc Biol*; 20: 189-197

Gupta SV, Khosla P. 2000. Pork Fat and Chicken Fat Similarity Affect Plasma Lipoprotein Metabolism in Cynomolgus Monkeys Fed Diets with Adequate Levels of Linoleic Acid. *J Nutr*; 130: 1217-24

Guyton and Hall. 2008. *Lipid Metabolism*. Textbook of Medical Physiology. Eleventh Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders

Harini, M., DA Okid. 2009. Blood Cholesterol Level of Hypercholesterolemia Rat (*Rattus norvegicus*) After VCO Treatment. *Journal Bioscience.* Vol 1 No 2: 53-58

Heyne, K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II, edisi 2*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya. Hal 795-800

Hidayat S. 2000. Potensi dan prospek pepaya gunung (Carica pubescens Lanne & K. Koch) dari Sikunang, Pegunungan Dieng, Wonosobo. Di dalam *Seminar Sehari Menggali Potensi dan Meningkatkan Prospek Tanaman Hortikultura Menjadi Ketahanan Pangan dalam rangka Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional*. Prosiding seminar; Bogor, 5 November

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2000. Bogor: UPT Balai Pengembangan Kebun Raya LIPI Bogor. hlm 89-95

Hidayati, Siti Nurul., Hadi, Hamam., Lestariana, W. 2006. *Hubungan Asupan Zat Gizi dan Indeks Masa Tubuh dengan Hiperlipidemia pada Murid SLTP yang Obesitas di Yogyakarta*. Jurnal Sari Pediatri vol. 8 no.1 pp 25-31.

Ihehioha, John Ikechukwu. 2011. Refrence Values for the Serum Lipid Profile of Albino Rats (Rattus novergicus) of Varied Ages and Sexes. *Comparative Clinical Patology*

Ikewaki K, Rader DJ, Sakamoto T, Nishiwaki M, Wakimoto N, Schaefer JR, Ishikawa T, Fairwell T, Zech LA, Nakamura H, Nagano M, Brewer HB Jr. 1993. Delayed catabolism of high density lipoprotein apolipoproteins A-I and A-II in human cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Clin Invest*; 92:1650–1658.

Ivanov, Sergey M., Alexey A. L., Anastasia V. R. Dmitry A. F. dan Vladimir V. P. 2018. ADVERPred- Web Service for Prediction of Adverse Effects of Drugs. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 58: 8-11

Jamkhande, Prasad G. 2014. Antioxidant, Antimicrobial Activity and In silico PASS Prediction of Annona reticulate Linn. Root Extract. *Journal of Basic and Applied Sciences*. Vol 3.

Kamada C. 2005. Attenuation of lipid Peroxidation and Hyperlipidemia by Quercetin glucoside in the aorta of high Cholesterol fed rabbit. *Free Radic Res*. 39. 185-194

Koo, SI, dan Noh SK. 2007. *J Nutr Biochem*. PubMed, 18: 179

Kristanti, Alfinda Novi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press

Kukita H., Hiwada K., Kokubu T. 1984. *Atherosclerosis*. 51: 261

Lagunin, Alexey, Alla Stepanchikova, Dimitri Filminov dan Vladimir Poroikov. 2000. PASS: Prediction of Activity Spectra fof Biologically Active Substances. *Bioinformatics Applications Note*. Vol 16 no 8

Laily, Ainun Nikmati, Suranto, dan Sugiyarto. 2012. Characterization of *Carica Pubescens* in Dieng Plateau, Central Java based on Morphological Characters, Antioxidant Capacity, and Protein Banding Pattern. *Bioscience*, 4 (1): 16-21

Laurence, R.R. dan A.L. Bacharach. *1964. Evaluation of Drug Activities,. Pharmacometrics, Vol. I.* London : Academic Press.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lee J.S. 2003. Cinnamate Supplementation Enhances Hepatic Lipid Metabolism and Antioxidant Defense System in High Cholesterol-fed Rats. *Journal Medical Food*. Vol 6 No. 3

Lee, S. K., Lee, I. H., Kim, H. J., Chang, G. S., Chunf, J. E. 2003.The PreADME Approach: Web- based Program for Rapid Prediction of Physicochemical, Drug Absorption and Drug-Like Properties. *Blackweel Publishing Massachusetts*. Pp. 418-40

Levine, Ruth R. 1970. Factors affecting gastrointestinal absorption of drugs. *The American Journal of Digestive Diseases*. Vol 15 Issue2, page 171-188

Lewis, 2002. Heart Protection Study Collaborative Group. Heart protection study of choleasterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2002: 360:7-22.

Lichtenstein, A. H., Jones, P. J. h. 2006. *Lipids Absorption and Transport. Present Knowledge in Nutrition*. 8th Ed. Washington DC: ILSI Press

Liu, Shenping,, Anil M., Jennifer M. r., David B. L., Matthew C. G., David A. P., Roger B. R., Ronald W. C., DAN Xiayang Qiu. 2012. Crystal Structure of Cholesterol Ester Trasnfer Protein in Complex with Inhibitors. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol 287, No. 44

Lullman, H., Mohr, K., Hein, L. 2005. *Color Atlas of Pharmacology, 3 edn*, Thieme, NewYork.

Matsuura F., Wang N., Chen W., Jiang XC, Tall AR. 2006. HDL From CETP Deficient Subjects Shows Enhanced Ability to Promote Cholesterol Efflux From Macrophages in apoE and ABCG1-dependent payh way. *J Clin Invest*. 116; 1435-1442

Minarno, Eko Budi. 2015. *Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavanoid Pada Buah Carica pubescene Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cngar, Dan Dataran Tinggi Dieng*. El-Hayah Vol. 5, No 2

Morris, G.M., Huey, R. Lindsyrom, W., Sanner, M. F. Belew, R. K. Goodsell, D. S. Olson. A. J. 2009. AutoDock 4 and AutoDock Tools 4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computation Chemistry*. Vol. 30

Moya-Leon, Maria Alejandra, dan Raul Hererra. 2004. Ripening of Montain Papaya (Vasconcellea pubescens) and Ethylene Dependence of Some Ripening Events. *Postharvest Biology and Technology*, 34: 211-218

Muhammad, Bin Abdullah. 2006. *Tafsir Al-Qurtubi*. Jakarta: Pustaka Imam Asy-syafi'i

Mukesh, B., dan K. Rakesh. 2011. Molecular Docking: A Review. *International Journal Res Ayurv Pharm*. Vol. 2. No.2

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Murray K.R., Granner D.R., & Rodwell V. W. 2006. *Biokimia Harper* (Edisi 27). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 217-241

Nerkar, A. G., Kudale, S. A., Joshi, P. P., Chikhale, H. U. 2012. In silico Screening, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel Quinazolinones as NMDA Receptor Inhibitors for Anticonvulstant Activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceuntical Science.* Vol. 4 Issue 3.

Novalina, Dhiah, Sugiyarto, dan Ari Susilowati. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Carica pubescens dari Dataran Tinggi Dieng terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Diare. *El-Vivo*, 1 (1): 1-12

Nugrahaningtyas, Khoirina Dwi, Sabrina Matsjeh, Tutik Dwi Wahyunni. 2005. Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Biofarmasi*. Vol 3 No. 1

Onkara. 2013. Molecular Docking Studies, Aynthesis and Antibacterial Properties of New Mannich Bases. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol. 4. No. 2

Oxford Textbook of Medicine (4th ed.). 2005. New York: Oxford University Prss

Pal, S. 2003. Red Wine Polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *Nutr*. Vol. 133 No.4

Polychronopoulos, Evangelos, Demosthenes B Panagiotakos dan Anna Polystipioti. 2005. Diet, Lifestyle factors and hypercholesterolemia in elderly men and woman from Cyprus. *Lipids in Health and Diseases*. 4: 17

Pramely, R. T., Leon, S, R. 2012. Prediction of Biological Activity Spectra of a Few Phytoconstituens of Azadirachta India. *Journal Biochem Tech* 3(4): 375-379

Prince, Sylvia A., dan Lorraine M. Wilson. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit (edisi 6)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 585-588

Purseglove, J.w., Brown, E.G., Green, C.L and Robbins, S.R.J., 1981. *Cinnamon and Cassia in Spices*. Volume 1 (439), pp. 100-173

Puspaningtyas, Ayik Rosita. 2012. Molekular *Docking* dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon Sebagai Antimikroba. *Stomatognatic* (J.K.G UNEJ). Vol. 9 No. 1

Qarni, ‘Aidh. 2008. *At-Tafsuru Al-Muyasar Juz 1-8*. Jakarta: Qishi Press.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Qin, Yu, Min Xia, Jing Ma, YuanTao Hao, Jing Liu, HaiYing Maou, Li Cao, dan WenHua Ling. 2009. Anthocyanin Supplementation Improves Serum LDL-and HDL-Cholesterol Concentration Associated with The Inhibition of Cholesterol Ester Transfer Protein in Dyslipidemic Subjects. *Am J. Clin Nutr*. 90; 485-92

Qurthubi, Imam. 2009. *Tafsir al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.

Rabie'ah, Fariedi Kristian Carlos, Johanna Griselda, et all. 2014. Tatalaksana Terkini Dislipidemia. *J. Kedokt Meditek Vo. 20 No 54*

Rader, D J., dan Hobbs, H. H. 2005. *Disorder of Lipoprotein Metabolism*. New York: McGraw-Hill

Rao, Pasupuleti Visweswara dan Slew Hua Gan. 2014. Cinnamon: A Multifaced Medicinal Plant. *Journal Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. Kelantan, Malaysia

Rasouli, Mehdi, dkk. 2016. The Long Term Kinetic of Plasma Lipids and Lipoproteins in Tyloxapol Injected Rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. Vol -10 (6)

Ravindran, P.N. Babu, K.N. Shylaja, M. (editor). 2004. *Cinnamon and cassia The Genus Cinnamomum.* USA: CRC Press. Pp. 185-198

Ray KK., Cannon CP., McCabe CH., Cairns R., Tonkin AM., Sacks FM. 2005. Early and Late Benefits of High-dose Atorvastatin in Patients with acute Coronary Syndromes: Result from the PROVE IT-TIMI 22 Trial. *J Am Coll Cardiol*. 46 (8): 1405-10

Sanggal, A. 2011. Role of Cinnamom as Beneficial Food Adjunct: *a Review Pelagia Research Library*. 2(4)

Shamsara, Jamal. 2018. Correlation Between Virtual Screening Performance and Binding Site Descriptors of Protein Targets. *International Journal of Medicinal Chemistry*, ID 3829307

Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah. Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 5*. Jakarta: Lentera Hati

Simirgiotis, Mario J. 2009. Identification of Phenolic Compounds From The Fruits of The Mountain Papaya (*Vasconcellea pubescens*) A, DC. Grown In Chile by Chromatography-UV Detection-mass Spectrometry. *Journal Food Chemistry* 115 (2009) 775-784

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: ITB

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Suharti KS, Elysabeth. 2007. *Farmakologi dan Terapi: Hormon tiroid dan antitiroid 5th ed.* Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI; 4411-2

Syahputra, G., L. Ambarsari, T. Sumaryada. 2014. Simulasi *Docking* Kurkumin Etanol, Bisdemetoksikurkumin dan Analoginya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. Vol. 10. No. 1

Tall AR. 2001. Plasma Cholesteryl Ester Transfer Protein. *J Lipid Res*. 34: 1255-1274.

Thomas, J. and Deuethi, P.p., 2001. *Cinnamon Handbook of Herbs and Spices*. New York: CRC Press. Pp. 143-153

Tiwari, Prashant Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Sciencia*. Vol. 1. No. 1

Ummah, Miftahul Jannah Salwah. 2015. *Efek Ekstrak Kayu Manis (Cinamomum cassia) Terhadap Kadara Glukosa Darah, Berat Badan, dan Low Density Lipoprotein (LDL) Pada Tikus Yang Diinduksi Streptozotosin*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah

Vangalapati, N. Sree Satya, D. Surya Prakash, and S. Avanigadda. 2012. A review on pharmacological activities and clinical effect of cinnamon species. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Vol 3, no1.

Wessel, M. D., Jurs, P. C., Geranyl Flavonoids From the Leaves of Artorcarpus atilis. *Phytochemistry*. 68: 1300-1306

WHO. 2001. *Services for prevention and man-agement of genetic disorders and birth defect in developing countries* (Farhud DD. As com-mittee member) (WHO/HGN/WAOPB-D/99.1).

WHO. 2003. Traditional medicine. http://www.eho.int/mediacentre/factsheets /fs134/en/

WHO. 2008. http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol_text/en/

WHO. 2017. Raised Cholesterol. http:// www. who. int/gho/ncd/risk _ factors/ cholesterol _ text/en/

Wicaksono, Dwi dan Rosila Idris. 2013. Pengaruh Ekstrak Buah *Garcinia atroviridis* Terhadap Kadar LDL Pada Darah Tikus Strain Wistar Yang Diberi Asupan Lemak Berlebih. *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. Salemba, Jakarta Pusat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Wilson, C. 2011. The Organization of the Gut and the Oral Absorption of Drugs: Anatominal, Biological and Physiological Consideration in Oral Formulation Development. *Controlled Release in Oral Drug Delivery*

YamamotoY. 2006. Antihyperlipidemia effect of Quercetin in rats fed with a high fat high sucrose diet. *Biosci Biotechnol Biochem*.70

Yamashita S., Sprecher DL, Sakai N., Matsuzawa Y., Hui DY. 1990. Accumulation of Apolipoprotein E-rich High Density Lipoproteins in Hyperakphalipoproteinemic Human Subject with Plasma Cholesterol Ester Transfer Protein Deficiency. *J. Clin Invest* ; 86: 688-695

Yogiraj, Vijay, Pradeep Kumar Goyal, Chetan Singh Chauhan, ANJU Goyal, dan Bhupendar Vyas. 2015. Carica papaya Linn: An Overview. *International Journal of Herbal Medicine*, 2 (5): 01-08

Yosmar, Rahmi, Helmi Arifin, dan Risha Mustika. 2014. Pengaruh Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays* L.) terhadap Kadar Kolesterol Mencit Putih Jantan Hiperkolesterol. *Prosiding Seminar Nasional dan Workshop "Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV"*. Hal. 96-104.

Zhang, Xiaofang, Jinhui S., Xiaopeng S., Shan M., Yan L., dan Aidong W. 2013. Absorption Metabolism Characteristics of Rutin in Caco-2 Cells. *Scientific World Journal*

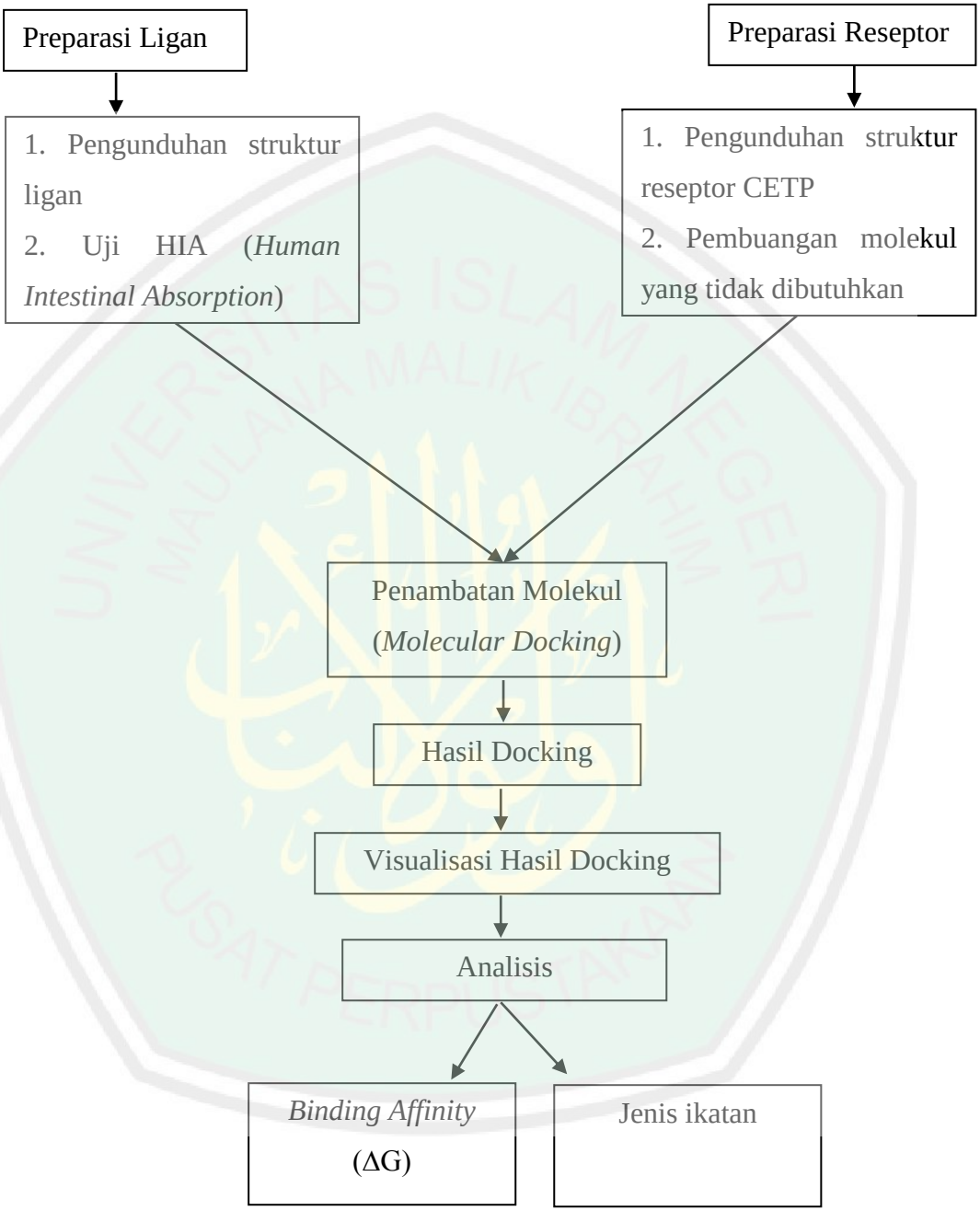
Ziaee, A., Farzaneh Z., Marjan N., dan Esmail A. 2009.Effects of Rutin on Lipid Profile in Hypercholesterolaemic Rats. *Nordic Pharmacological Society Basic & Clinical Pharmacology & Toxiclogy*. 104

Ziberna, L., Formasaro, S., Cvorovic, J., Tramer, F., Passamonti, S. 2014. Chapter 37- Bioavailability of Flavonoid: The Role of Cell Membran Transporter. *Polyphenols in Human Health and Disease*. Vol 1

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

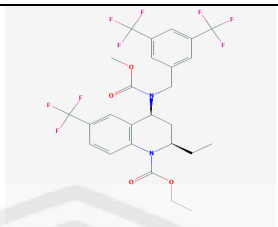
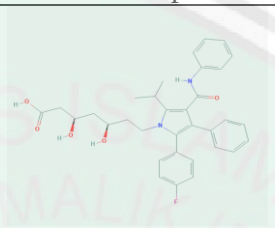
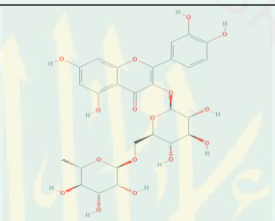
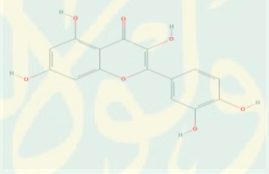
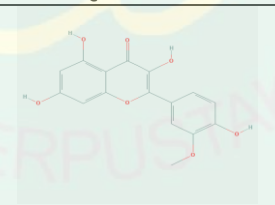
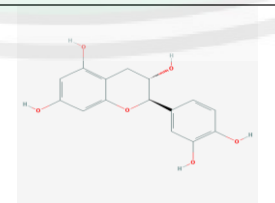
LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Alur Penelitian Uji *In silico*

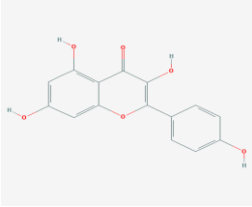
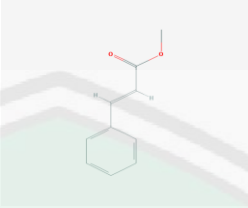
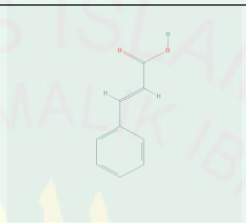
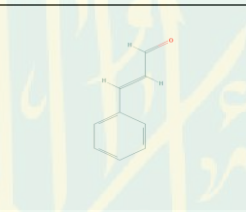
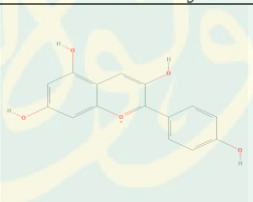
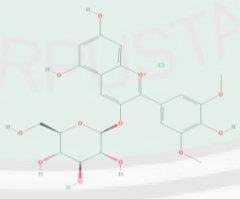
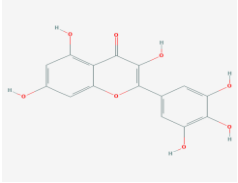


CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

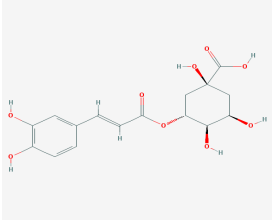
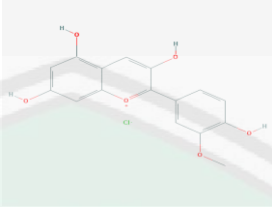
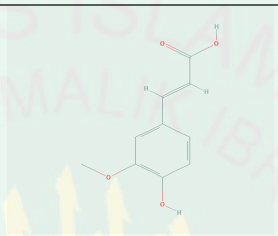
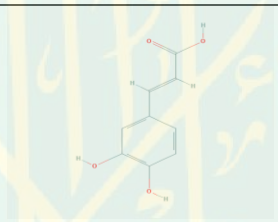
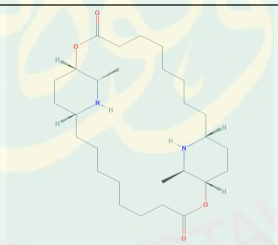
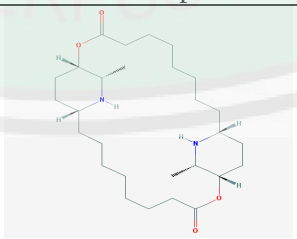
LAMPIRAN 2. Struktur Ligan

Senyawa Tanaman	CID Senyawa	Struktur	Smiles
Torcetrapib	159325	 Torcetrapib	CCC1CC(C2=C(N1C(=O)OCC)C=CC(=C2)C(F)(F)F)N(CC3=CC(=CC(=C3)C(F)(F)F)C(F)(F)F)C(=O)OC
Atorvastatin	60823	 Atorvastatin	CC(C)C1=C(C(=C(N1CCC(CC(CC(=O)O)O)O)C2=CC=C(C=C2)F)C3=CC=CC=C3)C(=O)NC4=CC=CC=C4
Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*)	5280805	 Rutin	CC1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O)O)O)O)O
	5280343	 Quercetin	C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O
	5281654	 Isorhamnetin	COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
	6419835	 Catechin	C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)OC(=O)C4=CC(=C(C(=C4)O)O)O

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

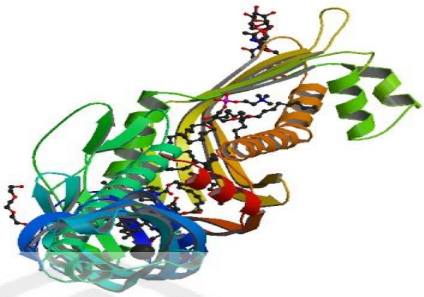
	5280863	 Kaempferol	C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
	5957728	 Cinnamate	C1=CC=C(C=C1)C=CC(=O)[O-]
	444539	 Cinnamic Acid	C1=CC=C(C=C1)C=CC(=O)O
	637511	 Cinnamaldehyde	C1=CC=C(C=C1)C=CC=O
	440832	 Pelargonidin	C1=CC(=CC=C1C2=C(C=C3C(=CC(=CC3=[O+]2)O)O)O)O
	11249250	 Malvidine	COC1=CC(=CC(=C1O)OC)C2=C(C=C3C(=CC(=CC3=[O+]2)O)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O.[Cl-]
	5281672	 Myricetin	C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

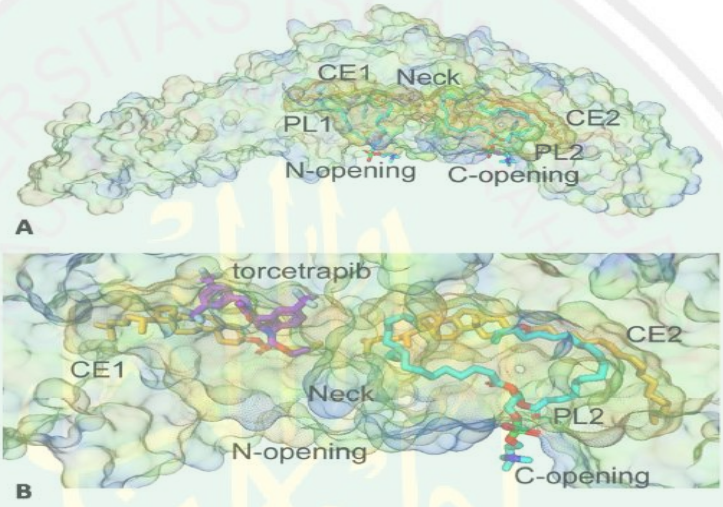
Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)	1794427	 Chlorogenic Acid	C1C(C(C(CC1(C(=O)O)O)OC(=O)C=CC2=CC(=C(C=C2)O)O)O)O
	164544	 Peonidin	COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C=C3C(=CC(=CC3=[O+]2)O)O)O)O.[Cl-]
	445858	 Ferulic Acid	COC1=C(C=CC(=C1)C=CC(=O)O)O
	689043	 Caffeic Acid	C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)O)O
	12305270	 Pseudocarpaine	CC1C2CCC(N1)CCCCCCCC(=O)OC3CCC(CCCCCCCC(=O)O2)NC3C
	442630	 Carpaine	CC1C2CCC(N1)CCCCCCCC(=O)OC3CCC(CCCCCCCC(=O)O2)NC3C

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

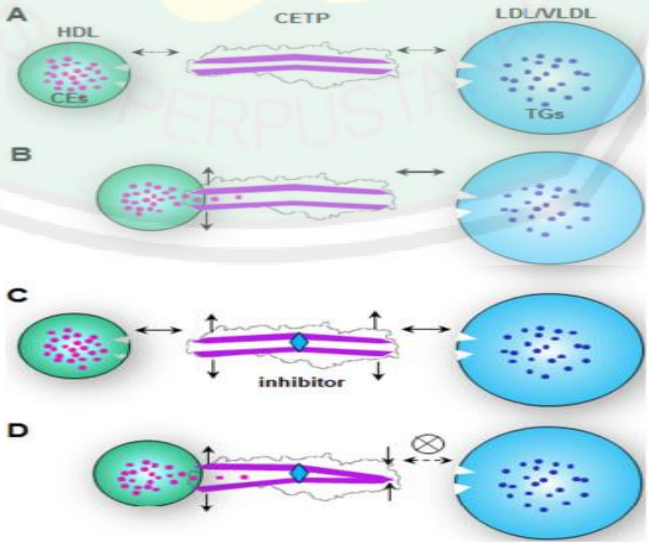
LAMPIRAN 3. Struktur Reseptor



Struktur 3D Reseptor CETP yang berikatan dengan Torcetrapib



Struktur Kristal Reseptor CETP yang berikatan dengan Torcetrapib



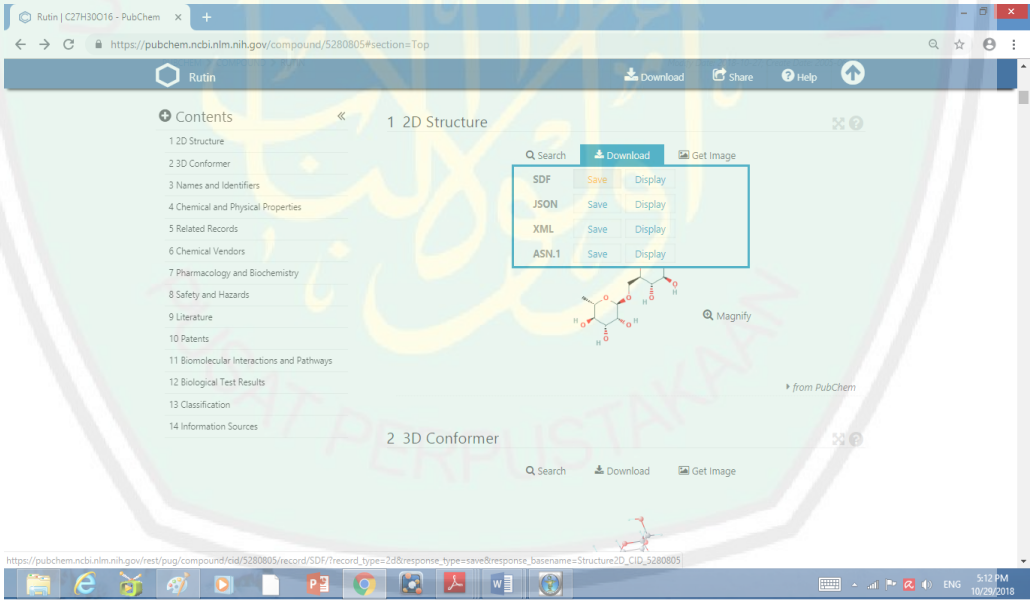
Konformasi struktur reseptor CETP ketika berikatan dengan Torcetrapib

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 4. Preparasi Ligan

1. Ligan yang akan digunakan diunduk dari (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

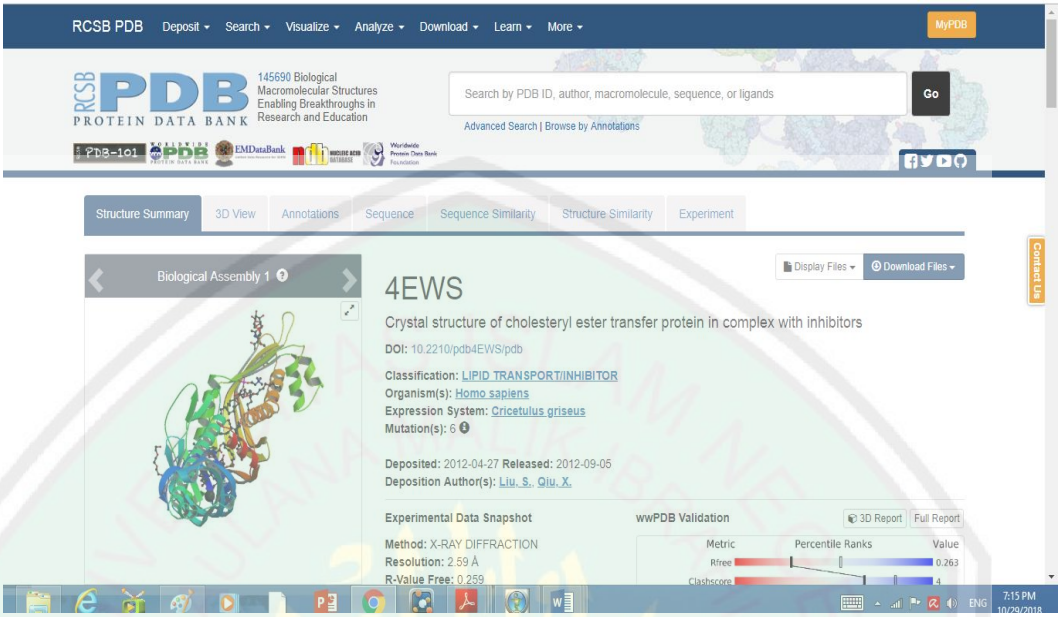
2. Ligan dalam bentuk 3D disimpan dalam format SDF



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

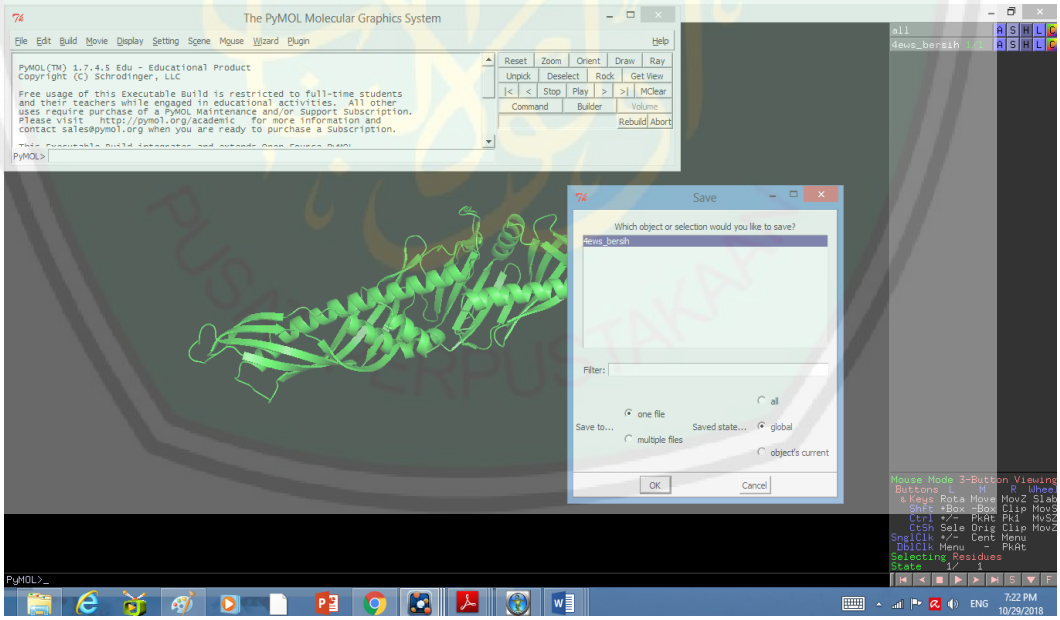
LAMPIRAN 5. Preparasi Protein

1. Diunduh struktur 3D reseptor CETP dari Protein Data Bank (PDB) melalui http://www.rscb.org dengan kode 4EWS



Searching 4EWS- Klik Download File- Klik PDB Format

2. Pembersihan molekul-molekul yang tidak diperlukan

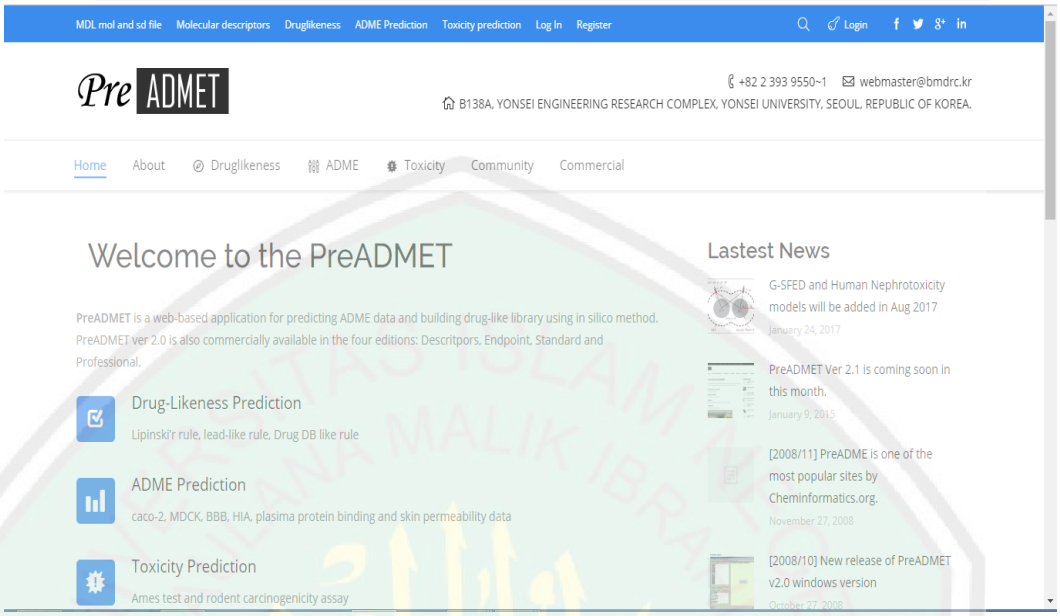


Klik "S" - Select Sekuen- Remove- Pilih file - Save molekul

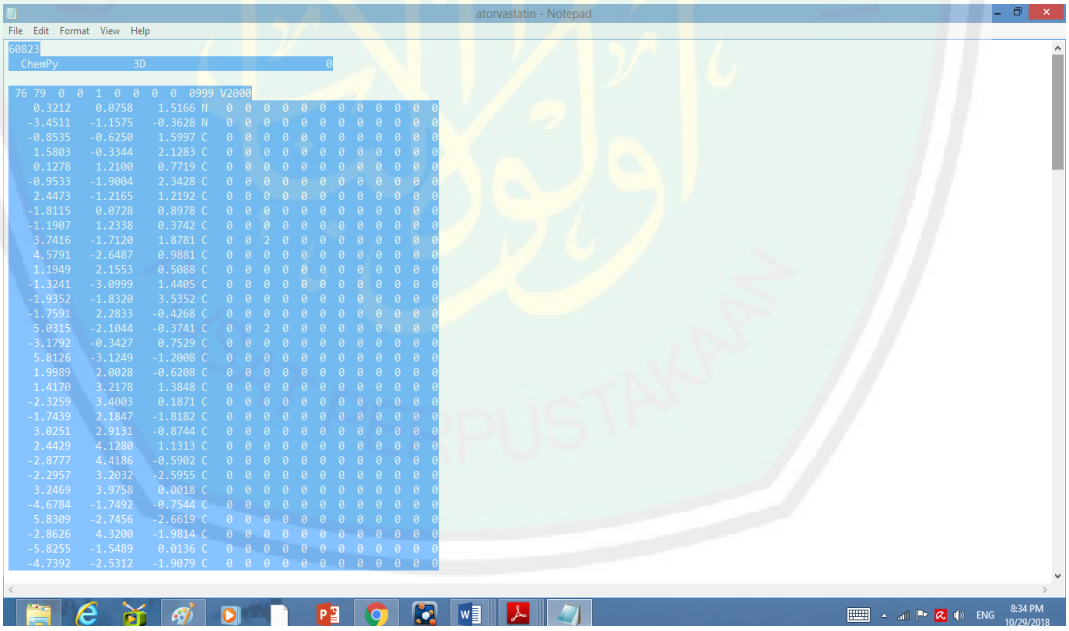
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 6. Uji HIA (*Human Intestinal Absorption*)

1. Dibuka Software Pre ADMET online melalui http://preadmet.bmdrc.org/ dan kemudian diklik ADMED Prediction

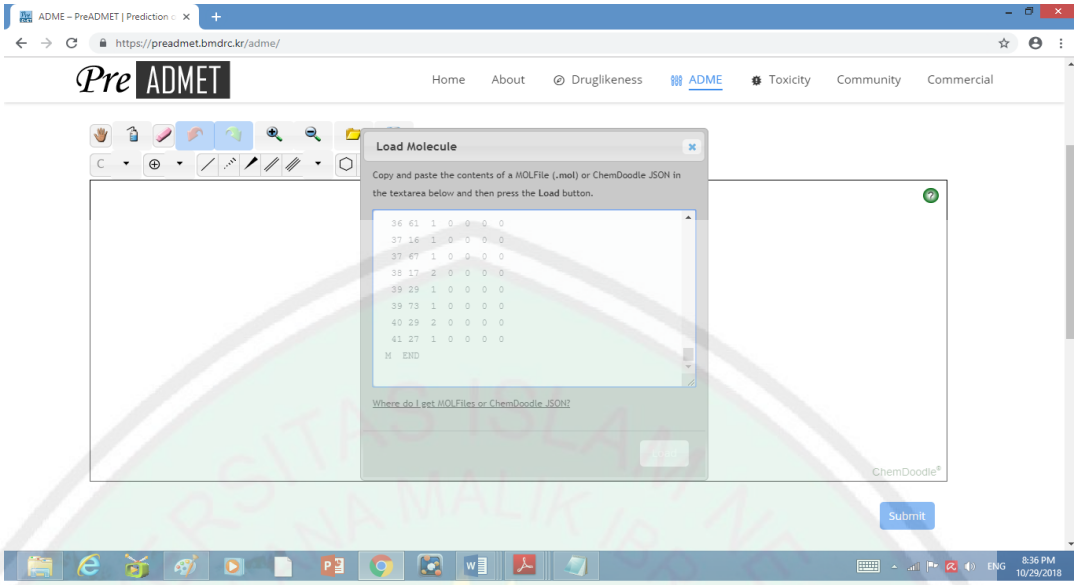


2. Dicopy MOLfile ligan dari notepad



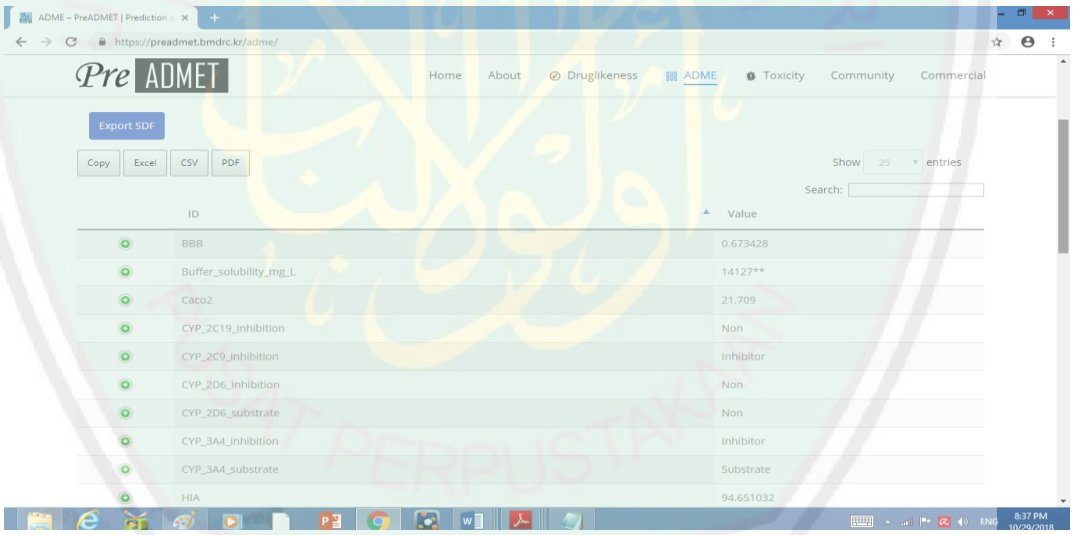
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Dimasukkan MOLfile yang telah dicopy ke Load Molecule pada software dan di running



Klik Folder file- PASTE Mol file pada Load Molecule- Ok- Submite

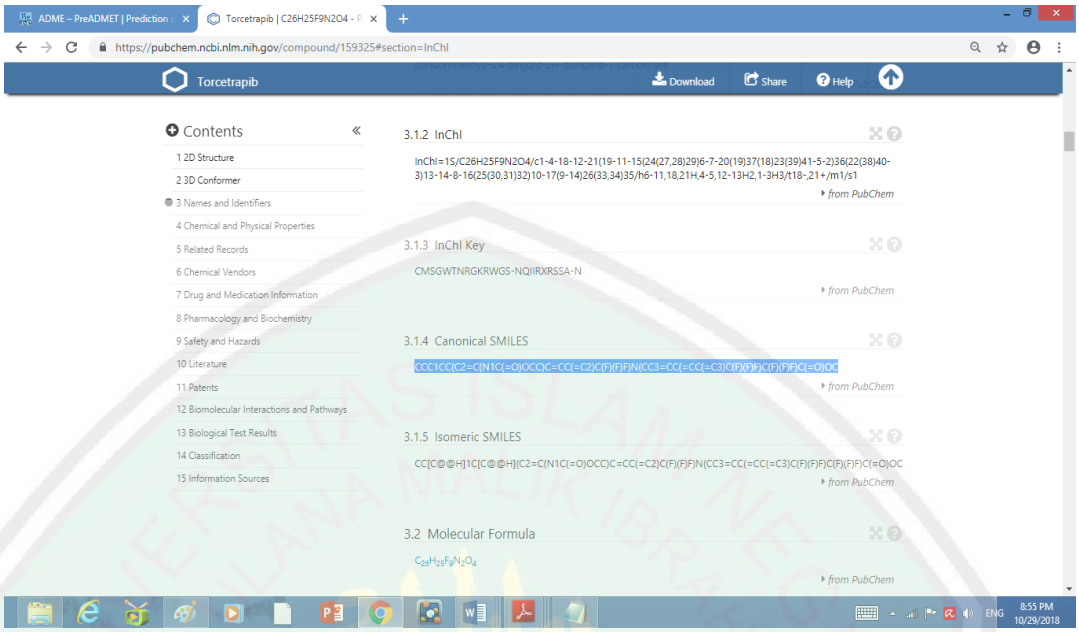
4. Hasil Prediksi HIA menggunakan software PreADMET



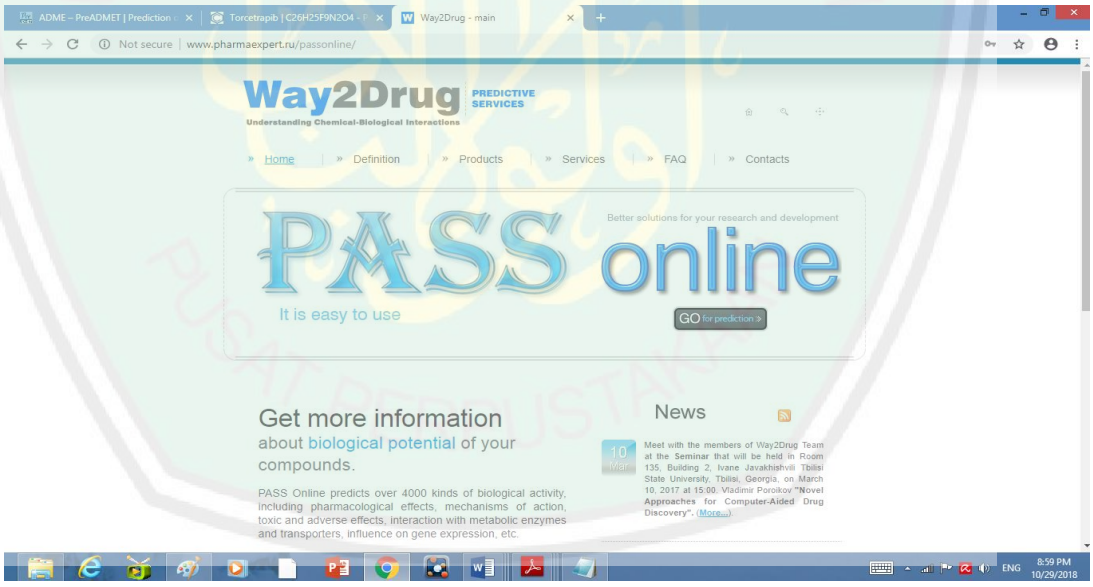
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 7. Uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Subtances*)

1. Copy SMILE Ligan dari Puchem

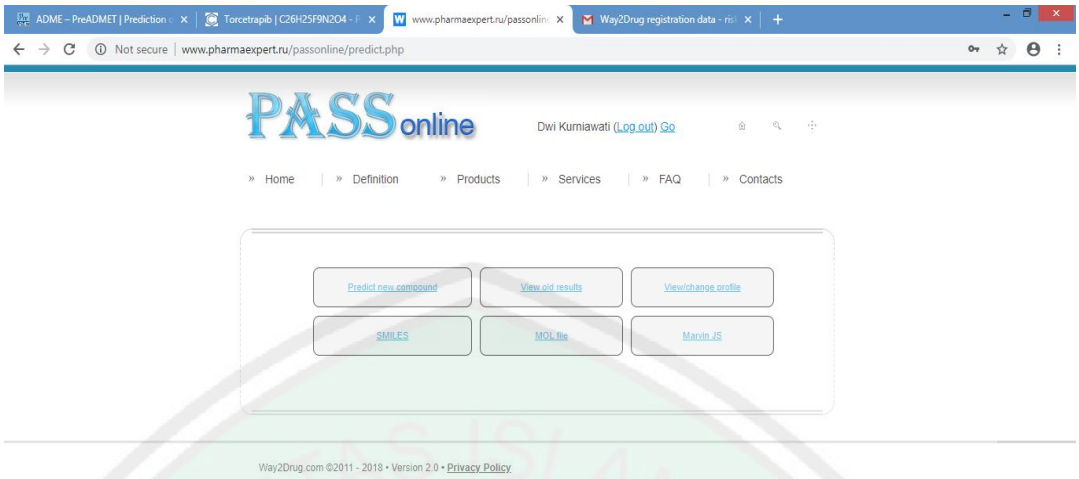


2. Membuka website http://www.pharmaexpert.ru/passonline dan kemudian klik 'Go for prediction'

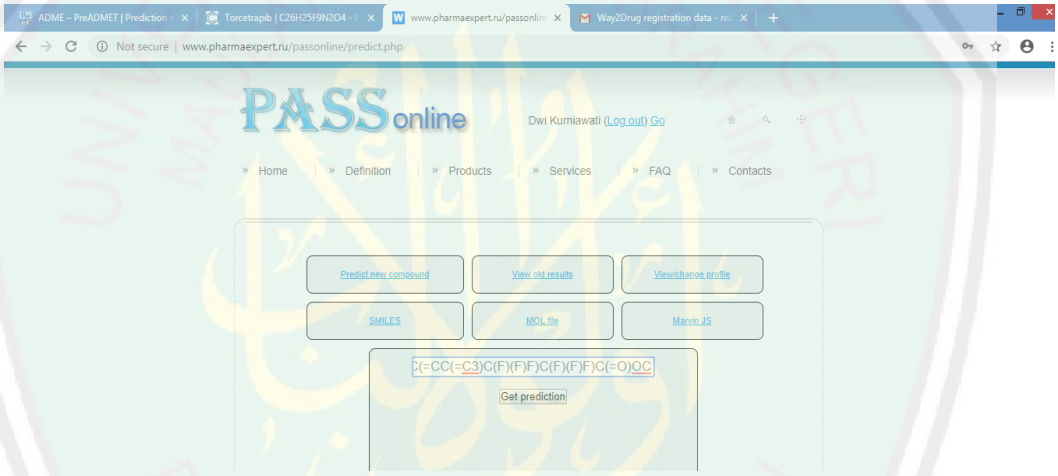


CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

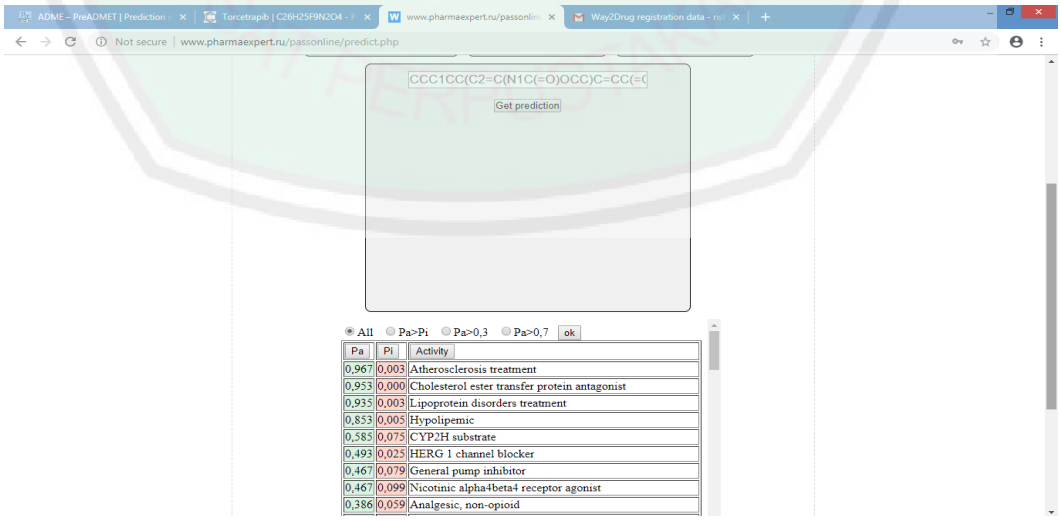
3. Pilih “ Predict new compound” dan klik “SMIES”



4. Masukkan file SMILES yang sudah diunduh dari pubchem



5. Hasil Prediksi aktivitas pendhambatan sistesis kolesterol

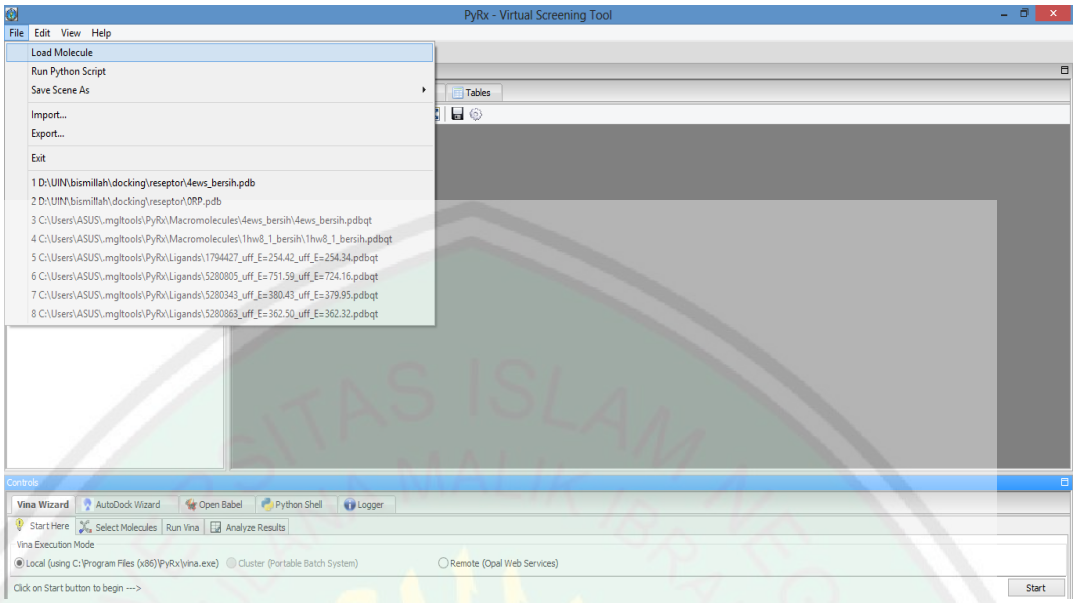


Pa	Pi	Activity
0,967	0,003	Atherosclerosis treatment
0,953	0,000	Cholesterol ester transfer protein antagonist
0,935	0,003	Lipoprotein disorders treatment
0,853	0,005	Hypolipemic
0,585	0,075	CYP2H substrate
0,493	0,025	HERG 1 channel blocker
0,467	0,079	General pump inhibitor
0,467	0,099	Nicotinic alpha4beta4 receptor agonist
0,386	0,059	Analgesic, non-opioid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

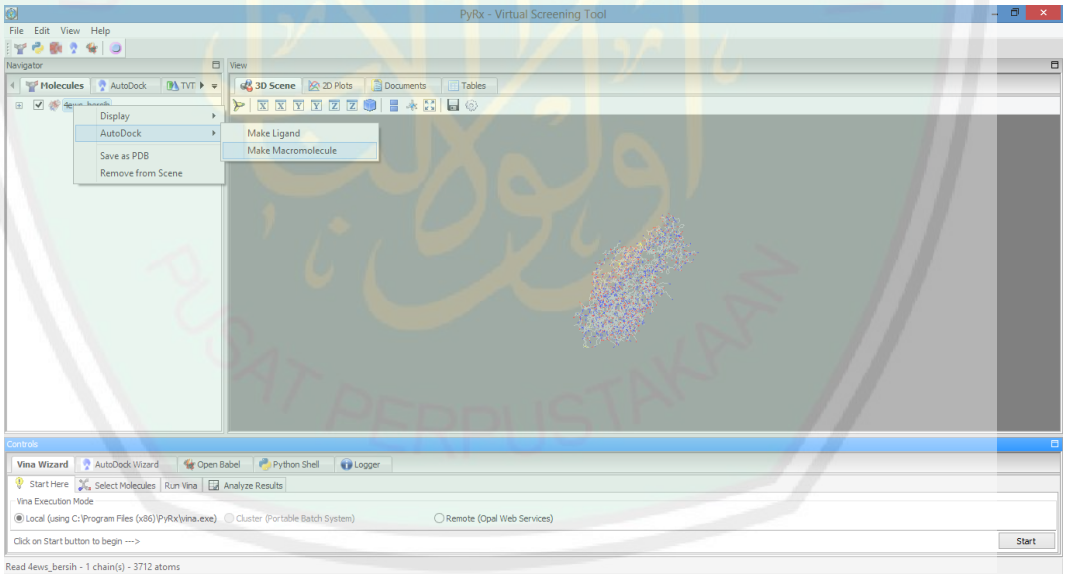
LAMPIRAN 8. Penambatan Molekul (*Molecular docking*)

1. Memasukkan reseptor yang telah dipreparasi sebelumnya ke software Pyrx



Buka software Pyrx - File - Load Molecule

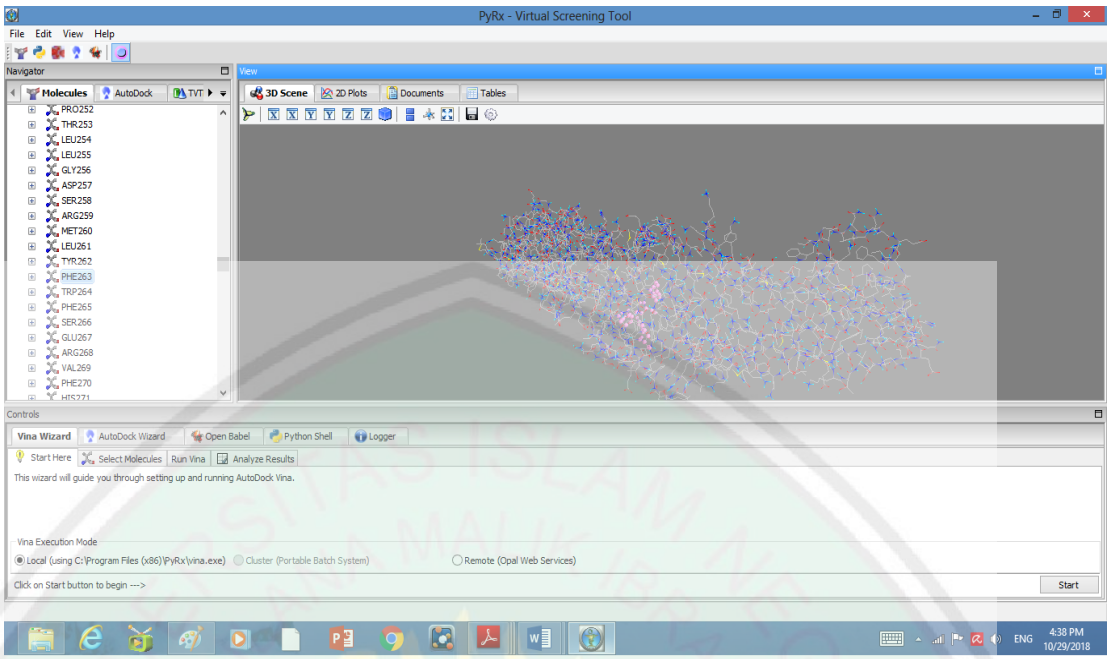
2. Preparasi molekul menjadi format .pdbqt



File- Autodock –Make macromolecule

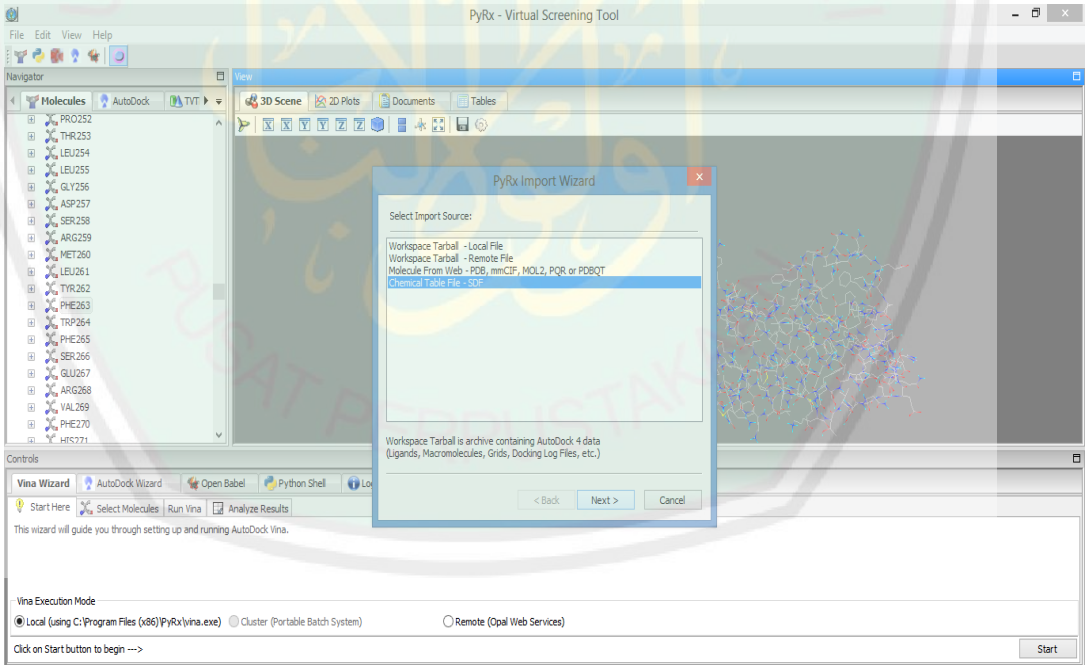
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Menandai asam amino kunci



Klik bagian protein- klik asam amino kunci

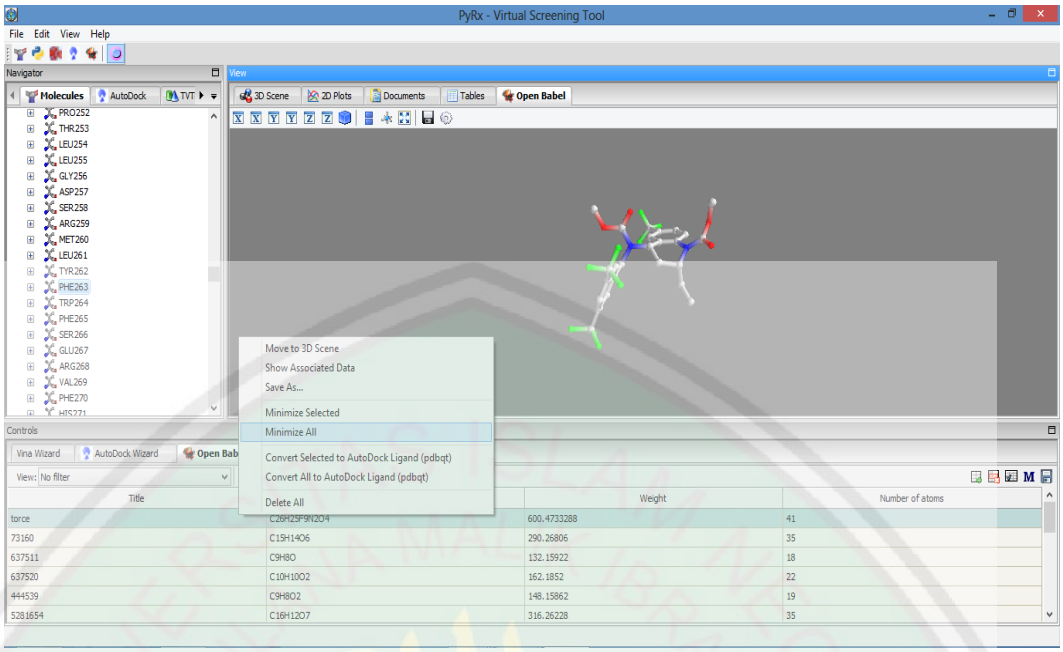
4. Memasukkan ligan



File- Import- Chemical table SDF – Open

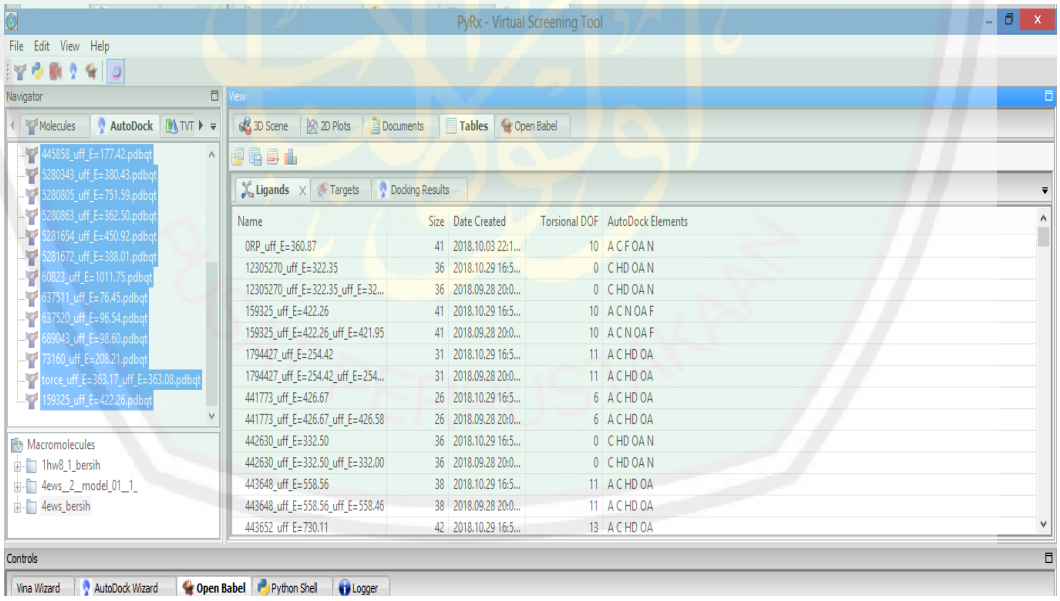
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5. Preparasi ligan menjadi format .pdbqt



Klik kanan nama ligan pada open bable – Minimize all – Klik kanan nama ligan – convert all to pdbqt

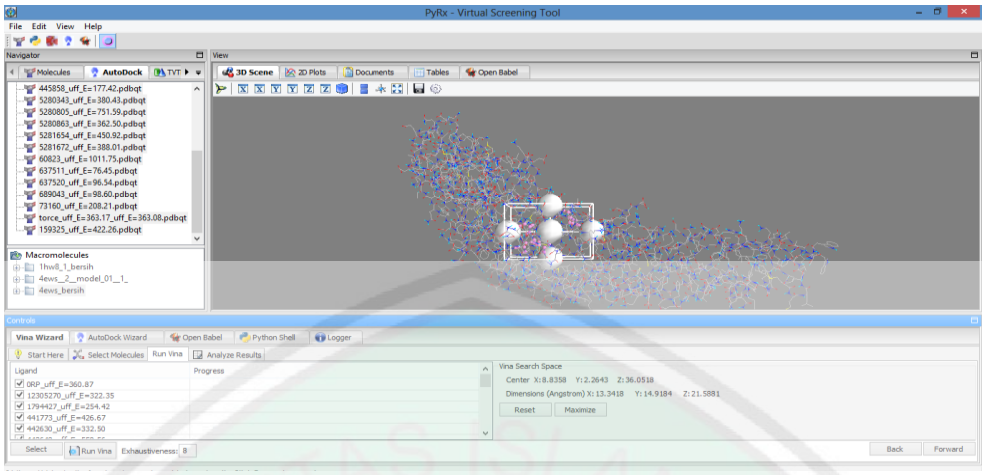
6. Docking menggunakan autodock vina



Vina wizard – start – pilih molekul dan ligan yang akan didocking – forward

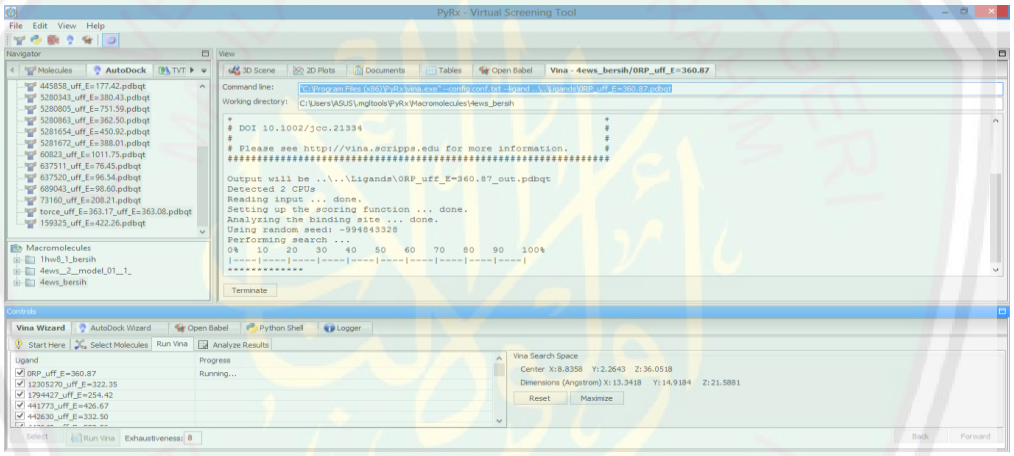
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

7. Mengatur grid box pada sisi aktif reseptor

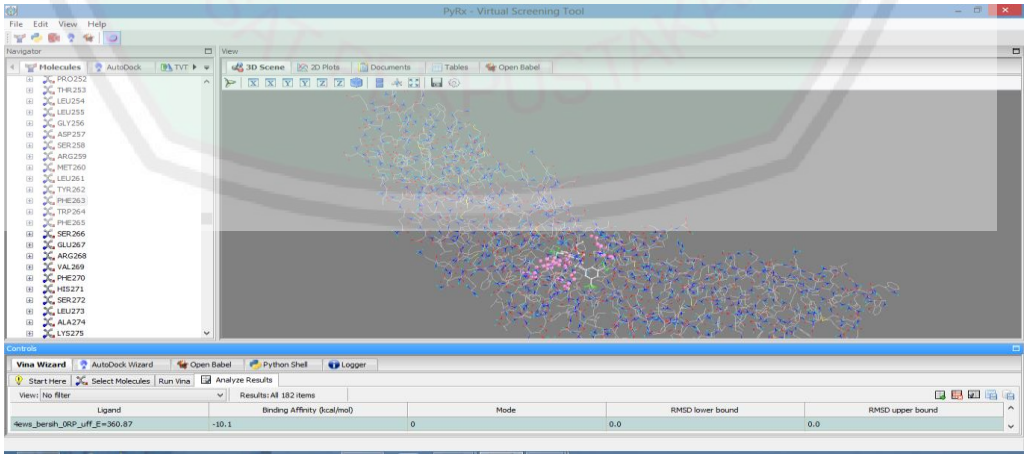


Diletakkan grid box pada sisi aktif reseptor

8. Running autodock Vina



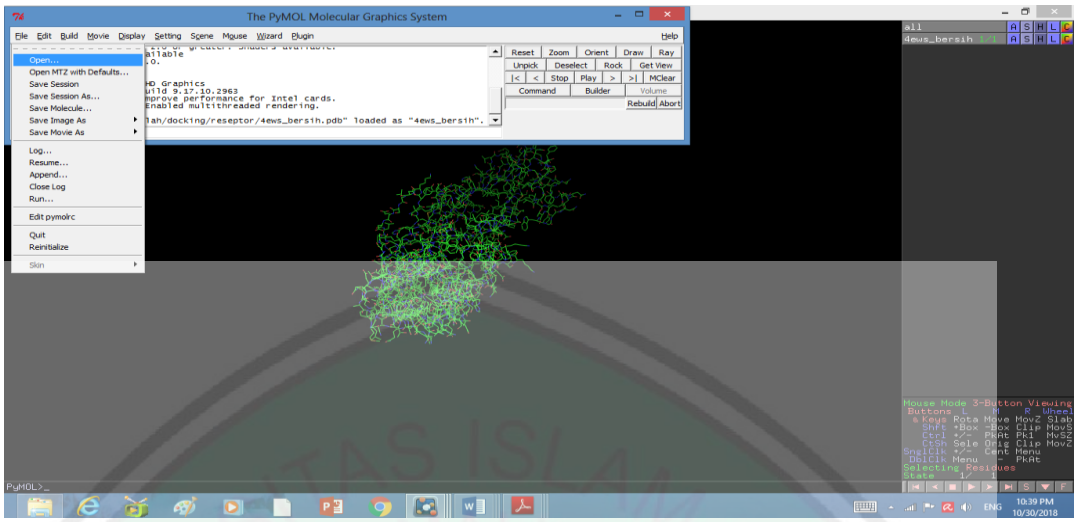
9. Hasil docking disimpan dalam format .pdbqt



Klik salah satu ligan (pilih paling rendah) – save as PDB

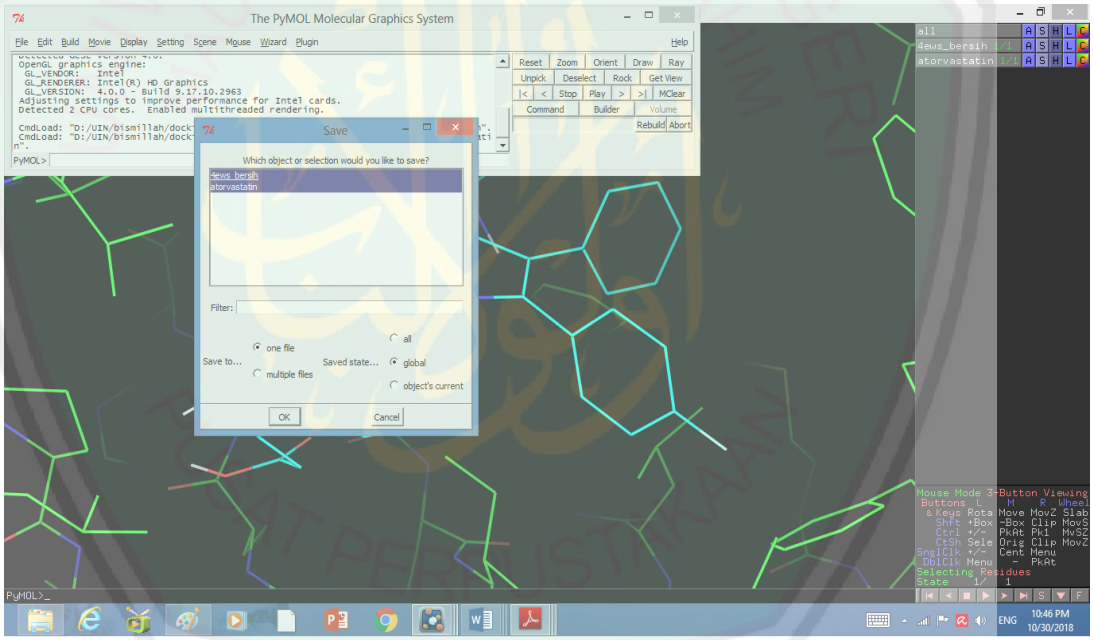
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

10. Membuat komplek ligan-reseptor dengan aplikasi pymol



Buka file reseptor – buka file ligan hasil docking

10. Simpan molekul dalam satu file .pdb

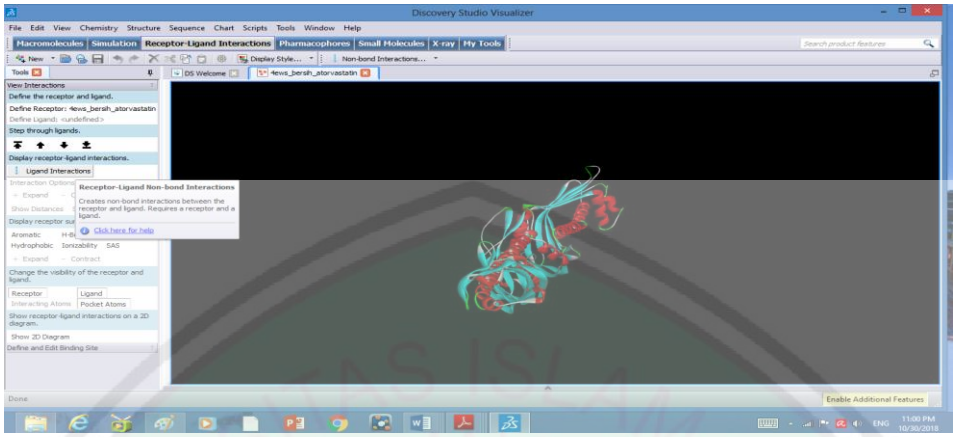


File – Save molecule – pilih nama reseptor dan ligan – pilih save to on file – ok

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

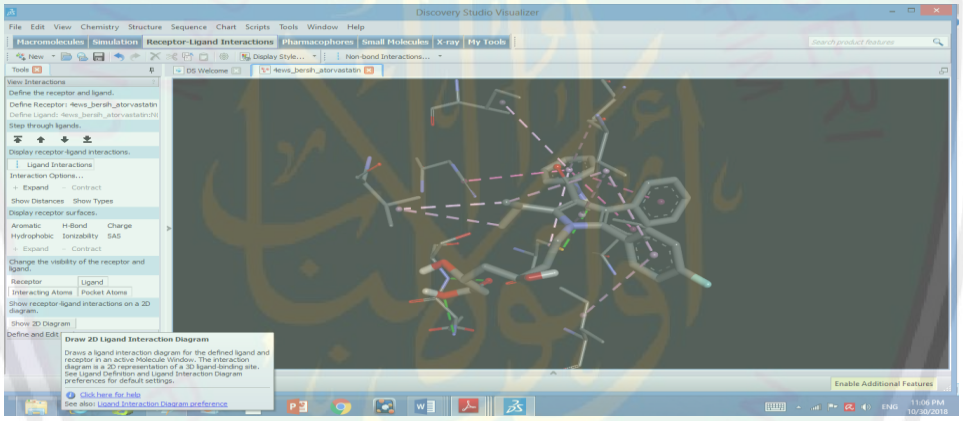
LAMPIRAN 9. Visualisasi 2D hasil *docking*

1. Dibuka aplikasi Discovery studio dan dimasukkan molekul yang akan divisualisasikan



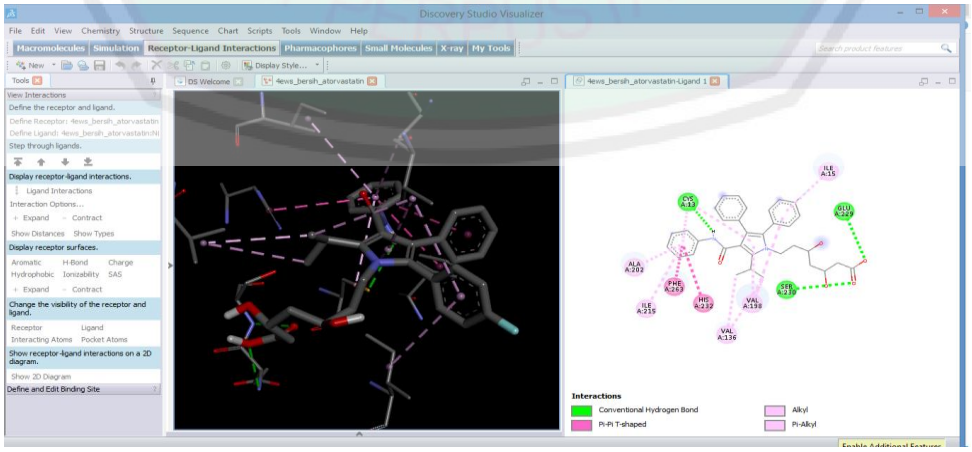
Buka Discovery studio – Klik 'File' – Masukkan file kompleks hasil docking yang telah dibuka dalam PyMol – Klik 'Open' – Klik 'Ligand Iteractions'

2. Analisis interaksi ligan 2D



Klik 'Show 2D diagram'

3. Hasil Visualisasi dengan Discovery Studio



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 10. Data Nilai *Binding Affinity* Ligan – Reseptor

No	Sumber Senyawa	Senyawa	Model	rsmd/ub	rsmd/Ib	*Binding affinity* (kkal/mol)
1.	Torcetrapib	Torcetrapib	Model 1	0	0	-10,2
			Model 2	2,766	0,614	-9,3
			Model 3	7,749	3,226	-8,8
			Model 4	7,998	3,226	-8,8
			Model 5	8,064	3,519	-8,7
			Model 6	8,212	3,552	-8,7
			Model 7	7,933	2,851	-8,2
			Model 8	2,292	1,788	-8,1
			Model 9	6,239	3,721	-8,1
2.	Atorvastatin	Atorvastatin	Model 1	0	0	-7,8
			Model 2	7,945	3,28	-7,7
			Model 3	9,532	3,814	-7,6
			Model 4	5,489	3,304	-7,5
			Model 5	8,423	3,043	-7,3
			Model 6	8,23	4	-7,2
			Model 7	6,371	3,76	-7,1
			Model 8	8,401	3,106	-7,1
3.	Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*)	Rutin	Model 1	0	0	-7,0
			Model 2	4,426	1,702	-7,0
			Model 3	5,121	2,013	-6,9
			Model 4	2,957	1,741	-6,9
			Model 5	2,186	1,566	-6,9
			Model 6	4,655	1,63	-6,8
			Model 7	4,627	1,844	-6,6
			Model 8	2,444	1,437	-6,5
			Model 9	4,837	1,865	-6,5
4.		Quercetin	Model 1	0	0	-6,8
			Model 2	7,287	1,88	-6,6
			Model 3	5,369	3,666	-6,5
			Model 4	1,529	1,529	-6,4
			Model 5	3,493	1,764	-6,4
			Model 6	1,982	1,472	-6,3
			Model 7	4,368	2,934	-6,1
			Model 8	7,258	2,25	-6,1
			Model 9	6,389	4,997	-6,1
5.		Isorhamnetin	Model 1	0	0	-6,7
			Model 2	7,328	1,528	-6,6
			Model 3	7,097	2,263	-6,5
			Model 4	2,812	1,456	-6,5
			Model 5	3,519	1,619	-6,5
			Model 6	1,87	0,799	-6,4
			Model 7	2,143	1,731	-6,4

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

			Model 8	7,092	1,982	-6,4
			Model 9	4,373	2,568	-6,3
6.		Catechin	Model 1	0	0	-6,5
			Model 2	1,561	0,852	-6,4
			Model 3	7,054	1,801	-6,4
			Model 4	3,624	1,895	-6,3
			Model 5	6,386	5,224	-6,1
			Model 6	8,05	2,79	-6
			Model 7	7,121	2,107	-6
			Model 8	7,054	2,241	-6
			Model 9	6,893	2,051	-5,9
7.		Kaempferol	Model 1	0	0	-6,5
			Model 2	5,262	3,498	-6,4
			Model 3	7,437	2,462	-6,4
			Model 4	3,285	1,673	-6,3
			Model 5	7,018	1,88	-6,3
			Model 6	7,009	2,472	-6,1
			Model 7	4,083	2,35	-6,1
			Model 8	2,884	1,48	-6,1
			Model 9	3,736	2,214	-6,1
8.		Cinnamate	Model 1	0	0	-5,5
			Model 2	1,403	0,155	-5,5
			Model 3	2,952	1,711	-5,3
			Model 4	10	7,87	-5
			Model 5	8,622	4,578	-4,9
			Model 6	10,406	9,456	-4,8
			Model 7	9,883	5,896	-4,8
			Model 8	8,736	4,806	-4,7
			Model 9	3,992	2,568	-4,7
9.		Cinamic acid	Model 1	0	0	-5,5
			Model 2	1,543	0,552	-5,4
			Model 3	9,847	8,65	-5,3
			Model 4	11,305	10,18	-5,2
			Model 5	10,011	8,743	-4,7
			Model 6	11,082	9,968	-4,7
			Model 7	3,913	2,949	-4,7
			Model 8	11,447	10,373	-4,7
			Model 9	8,005	6,814	-4,7
10.		Cinnamaldehyde	Model 1	0	0	-5,2
			Model 2	3,533	2,416	-5
			Model 3	5,503	3,753	-5
			Model 4	10,354	9,176	-4,9
			Model 5	2,076	1,413	-4,9
			Model 6	2,491	1,787	-4,9
			Model 7	3,992	3,026	-4,7
			Model 8	3,544	2,461	-4,6

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

			Model 9	4,494	3,523	-4,6
11.	Pepaya Gunung *(Carica pubescens)*	Pelargonidine	Model 1	0	0	-7,3
			Model 2	7,515	2,833	-7,1
			Model 3	6,012	3,919	-6,7
			Model 4	6,583	3,12	-6,7
			Model 5	5,88	2,757	-6,6
			Model 6	7,267	3,401	-6,5
			Model 7	6,602	2,584	-6,4
			Model 8	7,45	3,912	-6,4
			Model 9	8,439	3,643	-6,4
12.		Malvidine	Model 1	0	0	-6,6
			Model 2	2,135	0,225	-6,6
			Model 3	5,751	1,996	-6,5
			Model 4	6,031	1,991	-6,5
			Model 5	1,934	1,374	-6,3
			Model 6	5,925	2,267	-6,3
			Model 7	5,794	1,853	-6,2
			Model 8	7,009	2,547	-6,2
			Model 9	6,379	2,453	-6,2
13.		Myricetin	Model 1	0	0	-6,8
			Model 2	1,753	0,116	-6,8
			Model 3	7,331	1,678	-6,6
			Model 4	3,515	1,605	-6,4
			Model 5	3,113	1,63	-6,4
			Model 6	7,022	2,244	-6,3
			Model 7	7,139	2,208	-6,3
			Model 8	4,256	3,062	-6,1
			Model 9	7,105	4,517	-6
14.		Chlorogenic acid	Model 1	0	0	-6,7
			Model 2	5,742	4,328	-6,5
			Model 3	7,938	3,847	-6,4
			Model 4	8,786	4,532	-6,3
			Model 5	7,297	3,062	-6,3
			Model 6	5,485	3,604	-6,2
			Model 7	4,85	3,281	-6,2
			Model 8	8,347	3,887	-6,1
			Model 9	10,514	5,701	-6
15.		Peonidine	Model 1	0	0	-6,5
			Model 2	7,353	1,764	-6,5
			Model 3	2,869	1,583	-6,4
			Model 4	3,578	1,715	-6,3
			Model 5	6,975	2,08	-6,2
			Model 6	6,925	1,76	-6,1
			Model 7	5,944	4,536	-6,1
			Model 8	3,674	1,999	-6
			Model 9	5,276	3,044	-6

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

16.		Ferulic acid	Model 1	0	0	-5,6
			Model 2	2,401	1,14	-5,5
			Model 3	8,771	6,174	-5,5
			Model 4	8,661	7,092	-5,3
			Model 5	7,165	4,927	-5,2
			Model 6	8,446	5,914	-4,9
			Model 7	7,878	5,103	-4,9
			Model 8	8,069	5,039	-4,7
			Model 9	5,603	3,597	-4,7
17.		Caffeic acid	Model 1	0	0	-5,5
			Model 2	1,939	1,064	-5,3
			Model 3	8,778	7,37	-5,3
			Model 4	8,71	6,744	-5,3
			Model 5	7,113	5,025	-5
			Model 6	8,773	6,471	-4,8
			Model 7	8,446	5,99	-4,8
			Model 8	7,846	5,563	-4,7
			Model 9	7,17	4,645	-4,7
18.		Pseudocarpaine	Model 1	0	0	-4,1
			Model 2	2,349	1,731	-4,1
			Model 3	5,65	2,424	-4,1
			Model 4	8,96	1,511	-4,1
			Model 5	8,197	2,25	-4,0
19.		Carpaine	Model 1	0	0	-4,1
			Model 2	0,0118	0,118	-4,1
			Model 3	6,728	2,723	-4,1
			Model 4	0,996	0,91	-4
			Model 5	7,307	1,985	-4

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 11. Residu asam amino interaksi ligan-reseptor

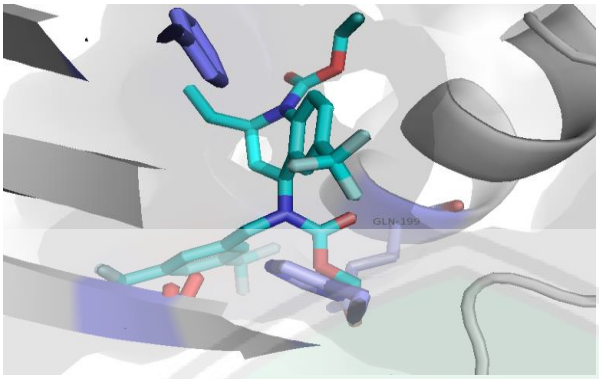
No.	Sumber	Senyawa	Ikatan Hidrogen	Ikatan Hidrofobik	Kkal/ mol
1.	Torcetrapib	Torcetapib	Gln-199, Ser-230, His-232	Ile-11, Cys-13, Ile-15, Leu-129, Val-136, Ala-195, Val-198, Ala-202, Ile-205, Ile-215, Leu-217, Leu-228, Leu-261, Phe-263	-10,2
2.	Atorvastatin	Atorvastatin	Ser-230, Glu-229, Cys-13	His-232, Phe-263, Ile-15, Val-136, Val-198, Ala-202, Ile-215	-7,8
3.	Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)	Rutin	Ser-230	Cys-13, Ile-15, Leu-129, Val-198, Ala-202, Leu-206, Leu-228	-7,0
4.		Quercetin	Gln-199, Ser-230	Cys-13, Val-136, Val-198, Ala-202	-6,8
5.		Isorhamnetin	Ser-230	Cys-13, Val-136, Ala-202	-6,7
6.		Catechin	Gln-199, Ser-230	Cys-13, Val-136, Val-198, Ala-202	-6,5
7.		Kaempferol	Ser-230	Cys-13,Val-136, Val-198, Ala-202	-6,5
8.		Cinnamate	Ser-230	Val-198, Ala-202, Leu-206	-5,5
9.		Cinnamic Acid	Glu-229	Val-136, Ala-195	-5,5
10.		Cinnamaldehyde	Ser-230	Ala-202, Leu-	-5,2

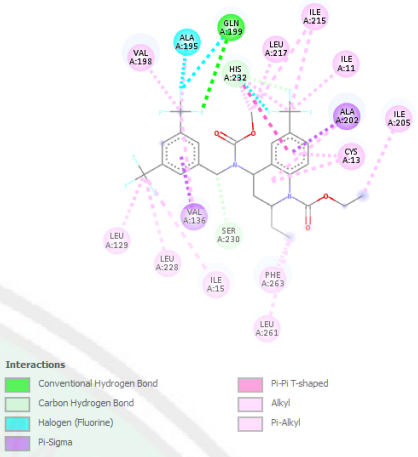
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

				206	
11.	Pepaya Gunung (*Carica pubescens*)	Pelargonidin	Ser-230, His-232	Val-198, Ala-202, Arg-201, Ile-205, Leu-206, Phe-441	-7,3
12.		Malvidine	Ser-230, His-232, Cys-13, Val-198	Ala-202, Leu-206	-6,8
13.		Myricetin	Ala-198	Cys-13, Val-136, Val-198, Ala-202	-6,8
14.		Chlorogenic Acid	Gln-199, Ser-230	Arg-135, Ala-195, Ile-215	-6,7
15.		Peonidin	-	Cys-13, Val-136, Val-198, Ala-195, Ala-202	-6,5
16.		Ferulic Acid	Ser-230, Cys-13 ,Arg-135	His-232, Gln-199, Ala-202	-5,6
17.		Caffeic Acid	Ser-230, Arg-135	Gln-199, His-232, Gly-134, Ala-202	-5,6
18.		Pseudocarpaine	His-232	Ala-202, Ile-215	-4,1
19.		Carpaine	-	Cys-13, Ile-15, Ile-205	-4,1

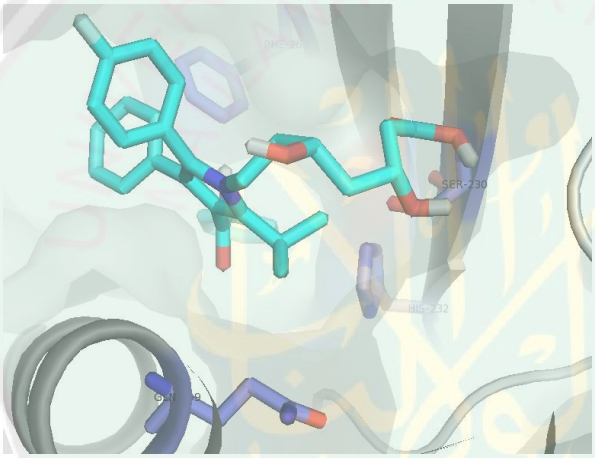
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

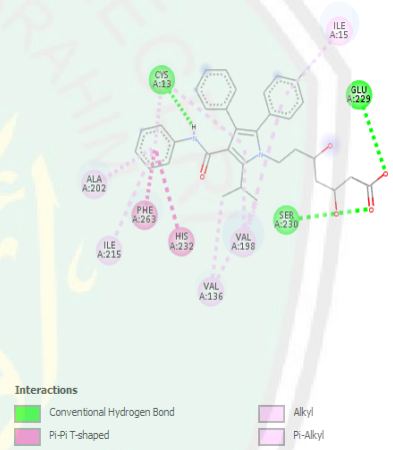
LAMPIRAN 12. Data Hasil Visualisasi *Docking*



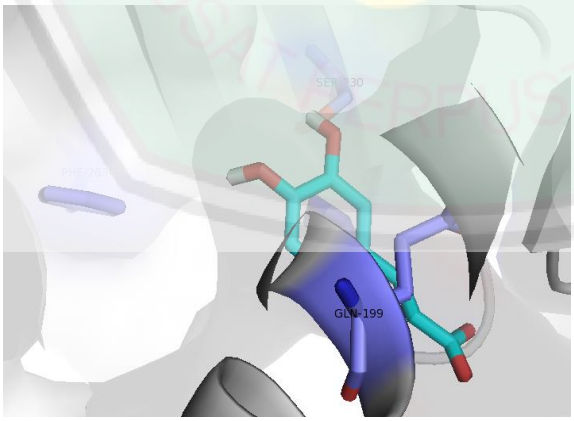


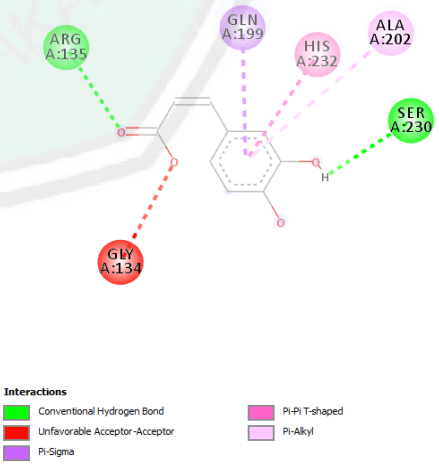
Interaksi Torcetrapib dengan CETP





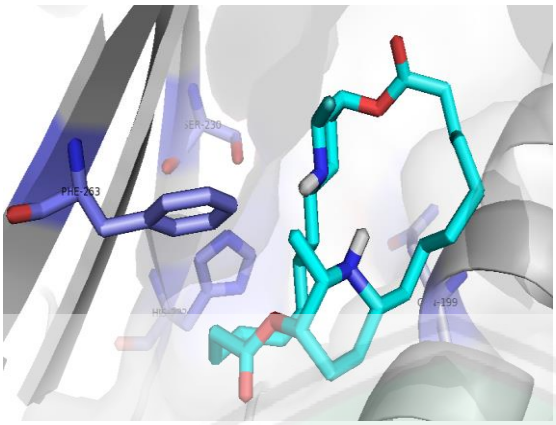
Interaksi Atorvastatin dengan CETP

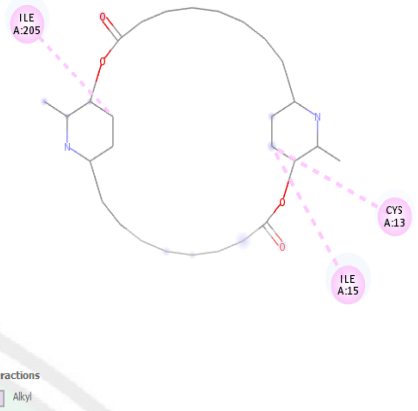




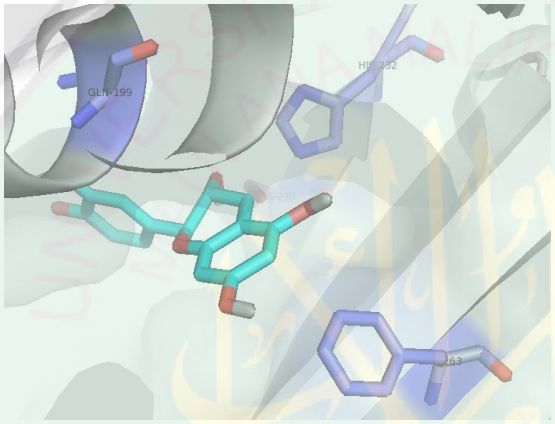
Interaksi Caffeic acid dengan CETP

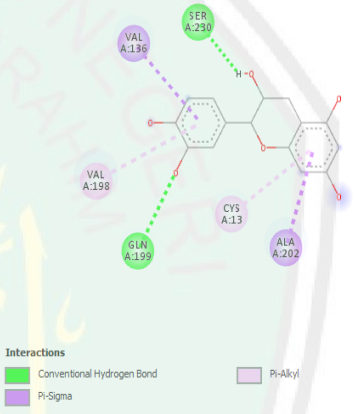
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



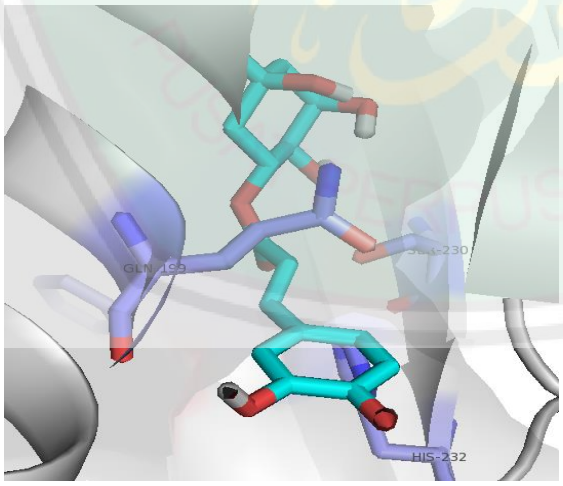


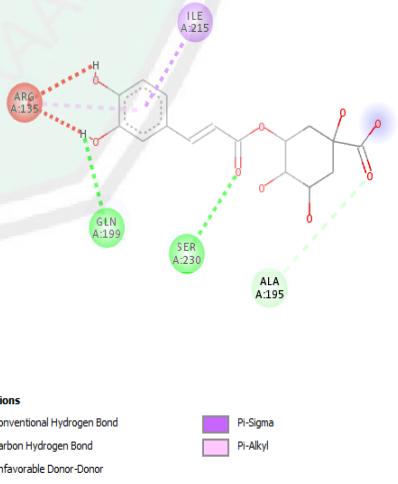
Interaksi Carpaine dengan CETP





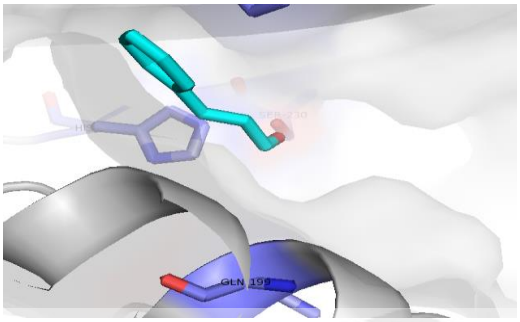
Interaksi Catechin dengan CETP

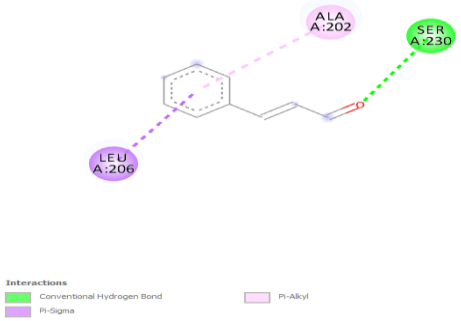




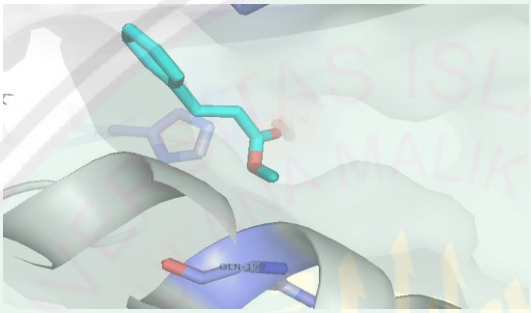
Interaksi Chlorogenic acid dengan CETP

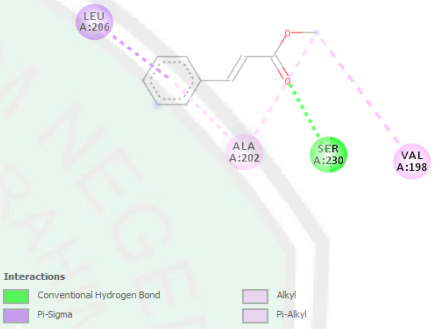
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



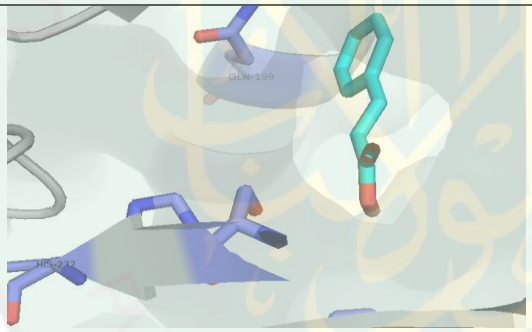


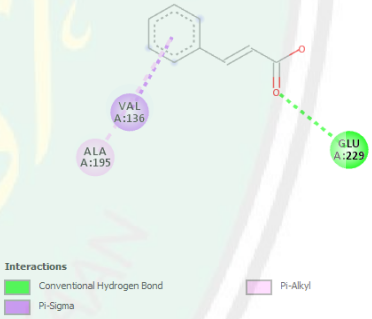
Interaksi Cinnamaldehyde dengan CETP



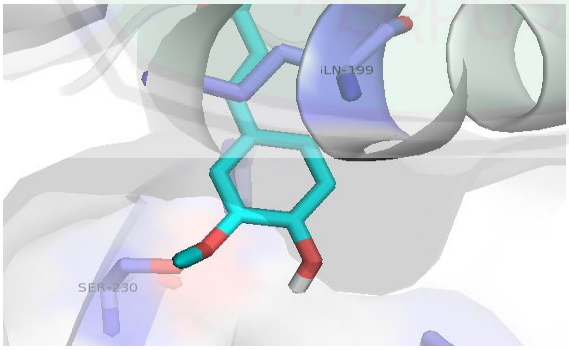


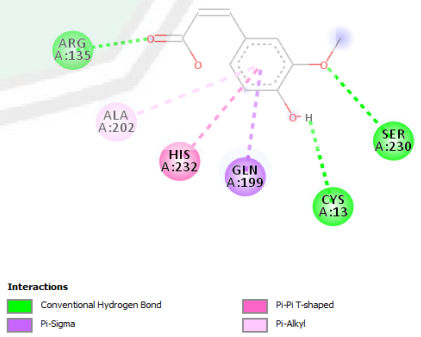
Interaksi Cinnamate dengan CETP





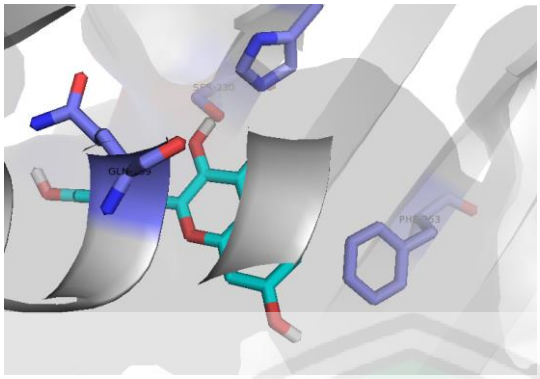
Interaksi Cinnamic acid dengan CETP

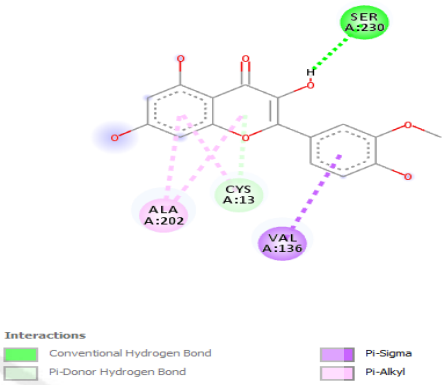




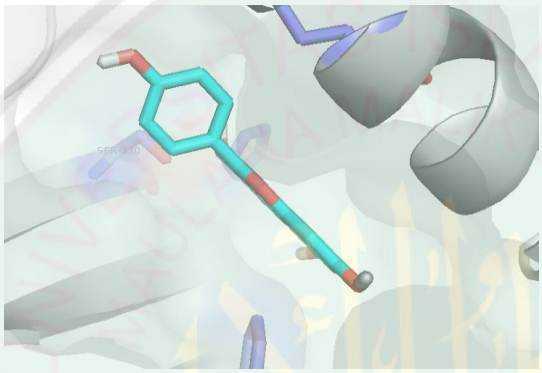
Interaksi Ferulic acid dengan CETP

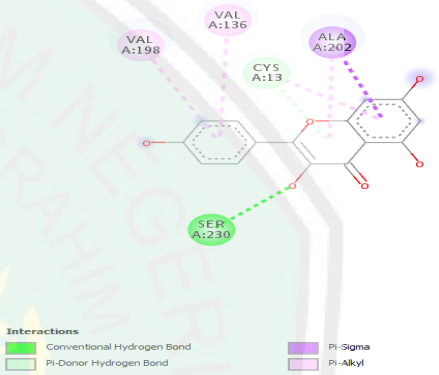
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



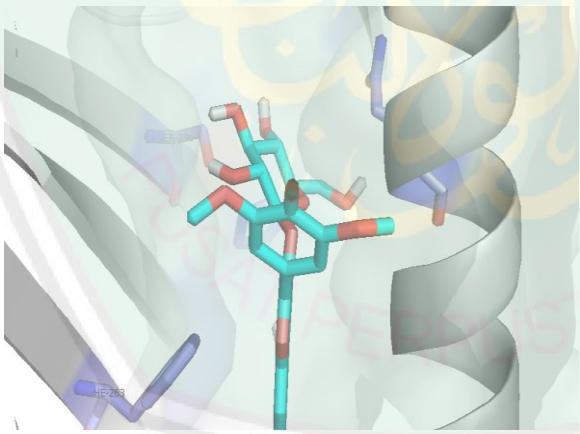


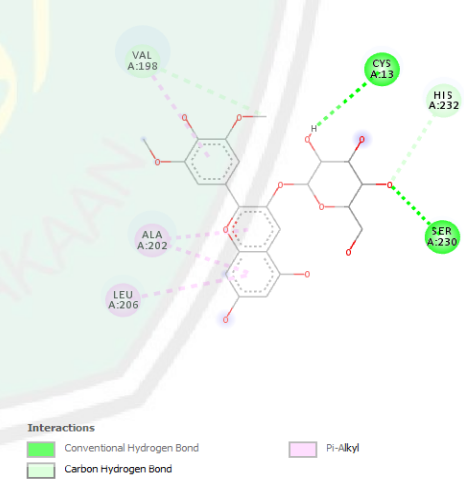
Interaksi Isorhamnetin dengan CETP





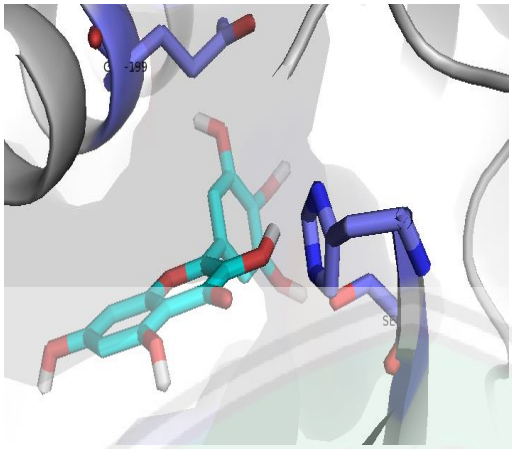
Interaksi Kaempherol dengan CETP

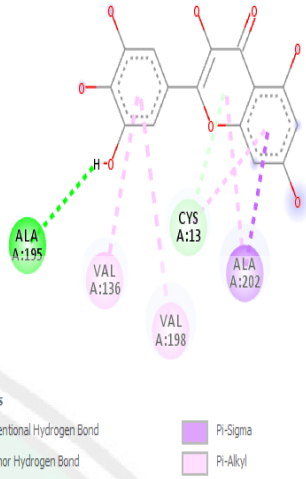




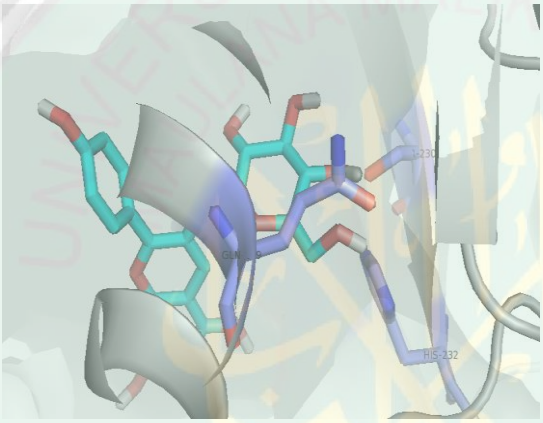
Interaksi Malvidine dengan CETP

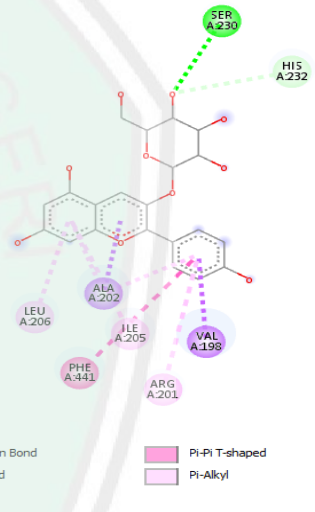
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



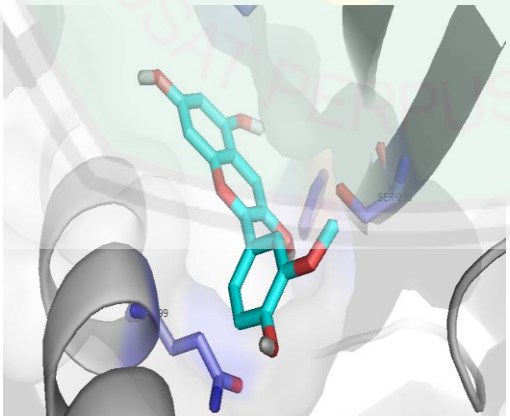


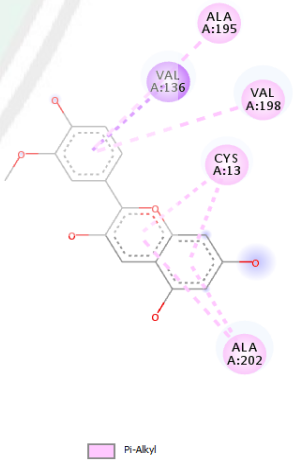
Interaksi Myricetin dengan CETP





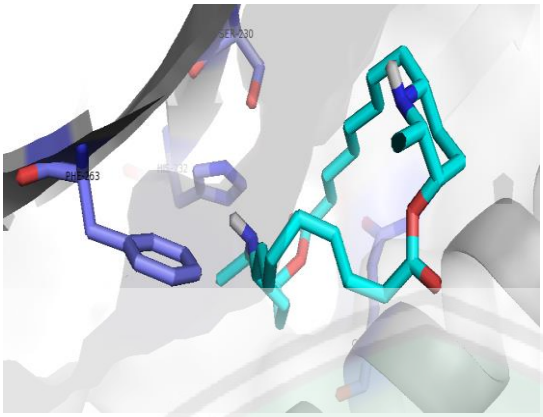
Interaksi Pelargonidin dengan CETP

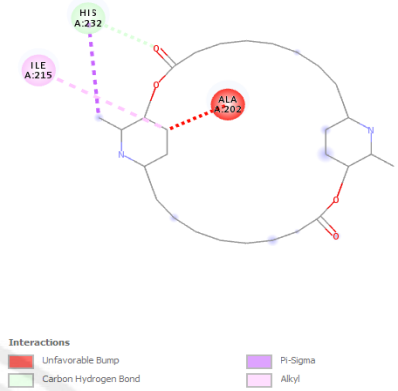




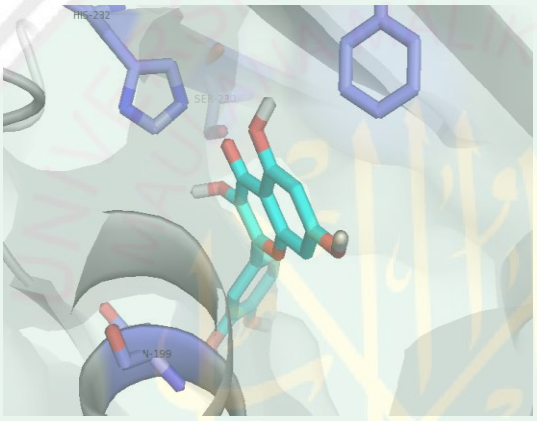
Interaksi Peonidin dengan CETP

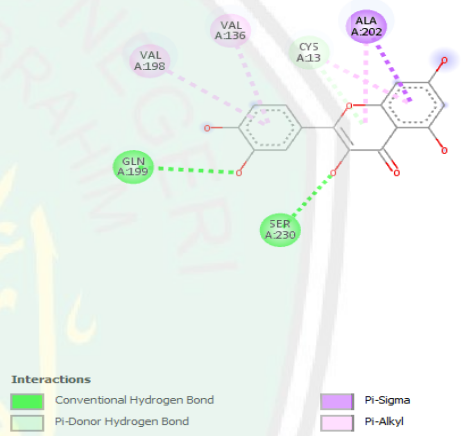
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



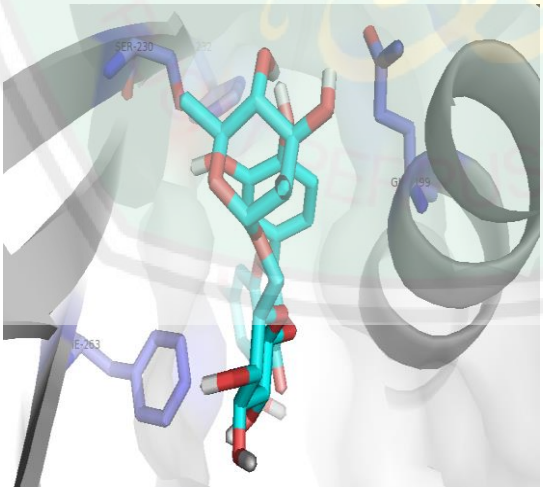


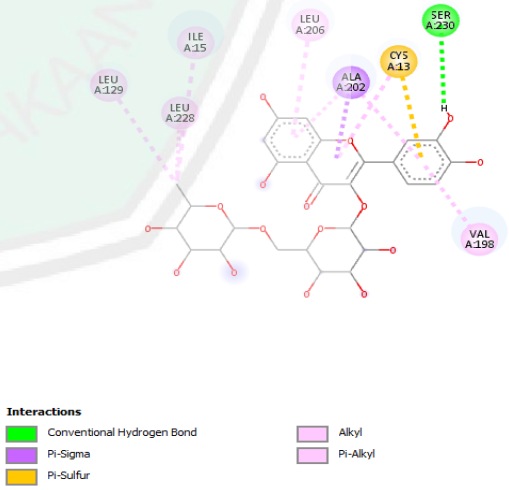
Interaksi Pseudocarpaine dengan CETP





Interaksi Quercetin dengan CETP

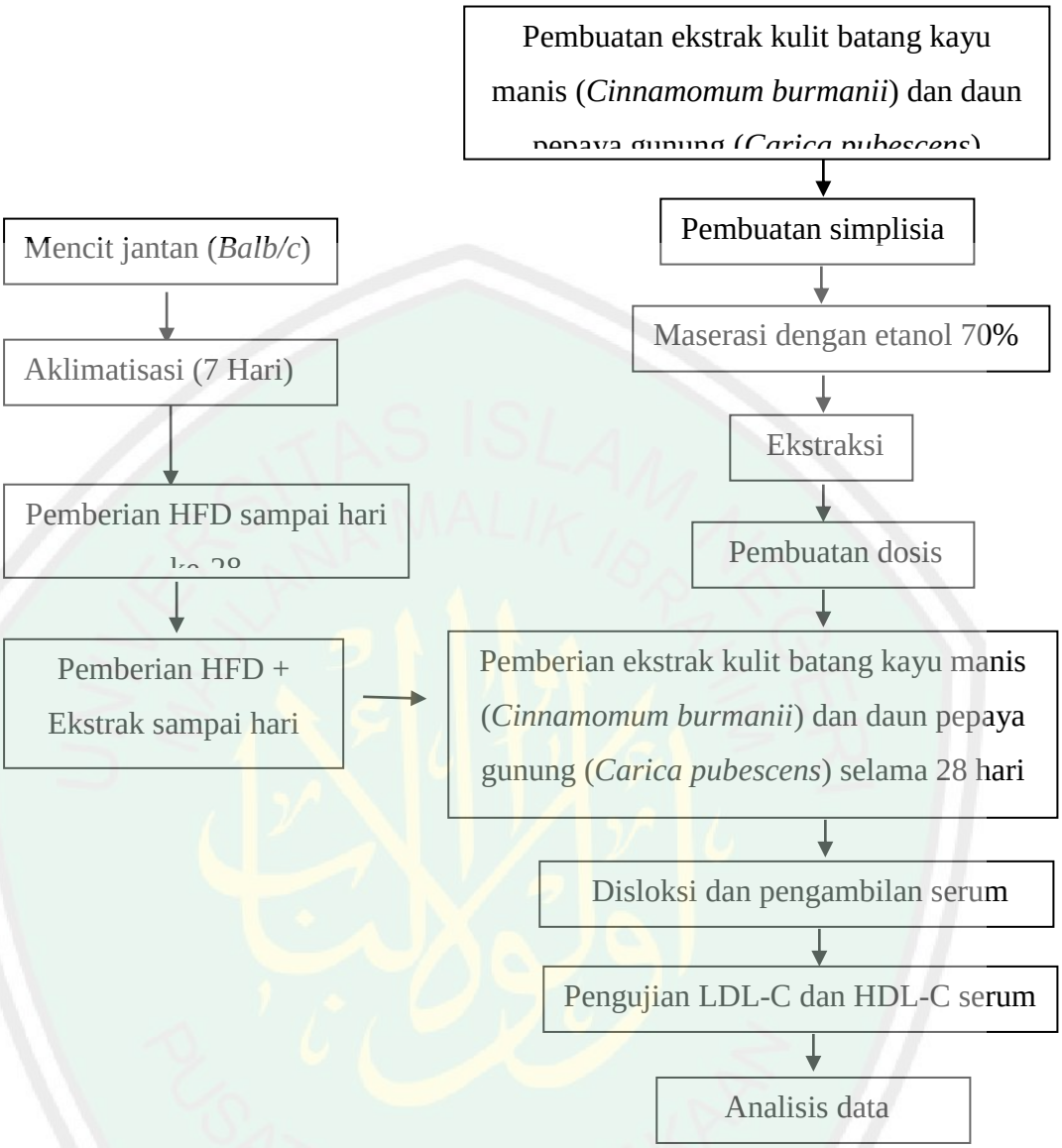




Interaksi Rutin dengan CETP

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 13. Alur Penelitian Uji *In Vivo*



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 14. Perhitungan Dosis

1) Dosis Pembuatan HFD

Komposisi HFD untuk per ekor tikus yaitu 1,5 ml kuning telur, 0,375 ml lemak ayam, PTU 12,5 mg/ekor, sehingga konversi dosis untuk mencit sebagai yaitu:

a) Kuning telur

1,5 x 0,14 = 0,21 ml / 20 gram BB mencit

$= \frac{25}{20} x\ 0,21$

= 0,26 ml / 25 ekor mencit

b) Lemak ayam

0,375 x 0,14 = 0,05 ml / 20 gram BB mencit

$= \frac{25}{20} x\ 0,05$

= 0, 06 ml

= 0,09 ml / 25 ekor mencit

c) PTU

12,5 x 0,14 = 1,75 ml / 20 gram BB mencit

$= \frac{25}{20} x\ 1,75$

= 2,19 ml / 25 gram mencit (dosis terlalu besar)

= 1, 095 ml / 25 ekor mencit

Dalam setiap tablet 300 mg mengandung 100 mg PTU, maka dosis dikali 3 tiap mg nya.

Sehingga diperoleh dosis HFD yaitu 0,26 ml kuning telur, 0,09 ml lemak ayam dan 1, 095 mg PTU untuk satu ekor mencit. Volume ekstrak yang disondekan sebanyak 0, 35 ml per mencit. Pemberian HFD dilakukan selama 56 hari setelah aklimatisasi

2) Dosis Treatment kombinasi ekstrak kulit batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) dan daun Pepaya Gunung (*Carica pubesenc*)

a) Dosis 300 mg/kgBB (200 gram tikus) ekstrak kulit batang Kayu Manis

$\frac{200}{1000} x\ 300 = 60\ mg\ untuk\ 200\ gr\ tikus$

Dosis untuk mencit (20 g) = 60 mg x faktor konversi

= 60 mg x 0,14

= 8,4 mg

Dosis untuk mencit (25 g) $= \frac{Berat\ rata - rata}{berat\ normal} x\ dosis\ normal$

$= \frac{25}{20} x\ 8,4\ mg$

= 10,5 mg / 25 ekor mencit

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Sehingga diperoleh dosis 10,5 mg untuk satu ekor mencit. Volume ekstrak yang disondekan sebanyak 0,35 ml per mencit yang sebelumnya telah dilarutkan dengan NaCMC.

b) Dosis 150 mg/kgBB ekstrak kulit batang Kayu Manis dan 150 mg/kgBB ekstrak daun pepaya gunung (200 gram mencit)

$$\frac{200}{1000} x\ 300 = 60\ mg\ untuk\ 200\ gr\ tikus$$

Dosis untuk mencit (20 g) = 60 mg x faktor konversi
= 60 mg x 0,14
= 8,4 mg

Dosis untuk mencit (25 g) = $\frac{Berat\ rata - rata}{berat\ normal} x\ dosis\ normal$

$= \frac{25}{20} x\ 8,4\ mg$

= 10,5 mg / 25 ekor mencit

Sehingga diperoleh dosis 10,5 mg untuk satu ekor mencit. Karena kombinasi maka berat ekstrak kayu manis yaitu 5,25 mg dan berat ekstrak pepaya gunung yaitu 5, 25 mg. Volume ekstrak yang disondekan sebanyak 0,35 ml per mencit yang sebelumnya telah dilarutkan dengan NaCMC.

c) Dosis 300 mg/kgBB (200 gram tikus) ekstrak daun pepaya gunung

$$\frac{200}{1000} x\ 300 = 60\ mg\ untuk\ 200\ gr\ tikus$$

Dosis untuk mencit (20 g) = 60 mg x faktor konversi
= 60 mg x 0,14
= 8,4 mg

Dosis untuk mencit (25 g) = $\frac{Berat\ rata - rata}{berat\ normal} x\ dosis\ normal$

$= \frac{25}{20} x\ 8,4\ mg$

= 10,5 mg / 25 ekor mencit

Sehingga diperoleh dosis 10,5 mg untuk satu ekor mencit. Volume ekstrak yang disondekan sebanyak 0,35 ml per mencit yang sebelumnya telah dilarutkan dengan NaCMC. Pemberian tritmen dilaksanakan selama 4 minggu setelah pemberian HFD selama 4 minggu berturut-turut.

3) Dosis obat kontrol Atorvastatin (PT KALBE FARMA Tbk.)
Dosis untuk mencit berat 25 gram = 0,065 mg/ 25 g BB
Sehingga diperoleh dosis 0,065 mg untuk satu ekor mencit. Volume atorvastatin yang disondekan sebanyak 0,35 ml per mencit yang sebelumnya telah dilarutkan dengan Aquades.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 15. Perhitungan Kadar LDL-C (SPSS)

LDL (mg/dL)	U1	U2	U3	U4	U5	Rata-rata
N	77,00	91,08	109,86	82,63	92,52	90,52
K-	105,16	113,62	99,53	126,76	105,16	110,05
K+	92,02	81,69	113,62	89,20	68,54	89,01
P1	71,36	97,65	79,81	74,18	78,87	80,38
P2	86,38	121,13	99,53	80,75	83,57	94,27
P3	86,38	100,47	113,62	97,65	112,68	102,16

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PERLAKUAN
N		30
Normal Parameters[a]	Mean	3.5000
	Std. Deviation	1.73702
Most Extreme Differences	Absolute	.139
	Positive	.139
	Negative	-.139
Kolmogorov-Smirnov Z		.764
Asymp. Sig. (2-tailed)		.604

a. Test distribution is Normal.

Test of Homogeneity of Variances

LDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.396	5	24	.846

Descriptives

LDL								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
N	5	90.5180	12.46637	5.57513	75.0390	105.9970	77.00	109.86

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

K-	5	1.1005E2	10.61206	4.74586	96.8694	123.2226	99.53	126.76
K+	5	89.0140	16.48751	7.37344	68.5421	109.4859	68.54	113.62
P1	5	80.3740	10.25498	4.58616	67.6408	93.1072	71.36	97.65
P2	5	94.2720	16.64827	7.44533	73.6004	114.9436	80.75	121.13
P3	5	1.0216E2	11.33806	5.07054	88.0819	116.2381	86.38	113.62
Total	30	94.3973	15.46094	2.82277	88.6241	100.1705	68.54	126.76

ANOVA

LDL

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2729.194	5	545.839	3.117	.026
Within Groups	4202.981	24	175.124		
Total	6932.175	29			

LDL

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P1	5	80.3740		
K+	5	89.0140	89.0140	
N	5	90.5180	90.5180	
P2	5	94.2720	94.2720	94.2720
P3	5		1.0216E2	1.0216E2
K-	5			1.1005E2
Sig.		.141	.163	.086

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 16. Perhitungan Kadar LDL-C (SPSS)

HDL (mg/dL)	U1	U2	U3	U4	U5	Rata-rata
N	34,62	48,08	41,35	34,62	54,81	42,69
K-	20,19	15,38	22,12	14,42	28,85	20,19
K+	56,73	32,69	50,00	44,23	35,58	43,85
P1	48,08	30,77	54,81	45,19	37,50	43,27
P2	33,65	35,58	34,62	34,62	27,88	33,27
P3	51,92	54,81	44,23	35,58	40,38	45,38

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PERLAKUAN
N		30
Normal Parameters[a]	Mean	3.5000
	Std. Deviation	1.73702
Most Extreme Differences	Absolute	.139
	Positive	.139
	Negative	-.139
Kolmogorov-Smirnov Z		.764
Asymp. Sig. (2-tailed)		.604

a. Test distribution is Normal.

Test of Homogeneity of Variances

HDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.617	5	24	.194

Descriptives

HDL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
N	5	42.6960	8.77485	3.92423	31.8006	53.5914	34.62	54.81

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

K-	5	20.1920	5.81269	2.59951	12.9746	27.4094	14.42	28.85
K+	5	43.8460	9.95992	4.45421	31.4791	56.2129	32.69	56.73
P1	5	43.2700	9.34795	4.18053	31.6630	54.8770	30.77	54.81
P2	5	33.2700	3.08940	1.38162	29.4340	37.1060	27.88	35.58
P3	5	45.3840	7.96961	3.56412	35.4884	55.2796	35.58	54.81
Total	30	38.1097	11.55417	2.10949	33.7953	42.4241	14.42	56.73

ANOVA

HDL

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2389.750	5	477.950	7.742	.000
Within Groups	1481.714	24	61.738		
Total	3871.465	29			

HDL

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K-	5	20.1920		
P2	5		33.2700	
N	5		42.6960	42.6960
P1	5		43.2700	43.2700
K+	5		43.8460	43.8460
P3	5			45.3840
Sig.		1.000	.061	.627

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN 17. Dokumentasi Penelitian

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: http://biologi.uin-malang.ac.id Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Dwi Riski Kurniawati
NIM : 14620006
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018/2019
Pembimbing : Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C dan HDL-C Serum Darah Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	7 November 2017	Konsultasi Judul	1.
2.	27 November 2017	Konsultasi Kerangka Konsep	2.
3.	6 Oktober 2017	Konsultasi Bab I	3.
4.	20 Oktober 2017	Konsultasi Bab II	4.
5.	5 Februari 2018	Konsultasi Bab I & II	5.
6.	8 Februari 2018	Konsultasi Bab III	6.
7.	11 April 2018	Konsultasi Bab I, II & III	7.
8.	10 September 2018	Konsultasi Data	8.
9.	27 September 2018	Konsultasi Bab IV	9.
10.	10 Oktober 2018	Konsultasi Bab IV	10.
11.	26 Oktober 2018	Konsultasi Bab IV	11.
12.	30 Oktober 2018	ACC skripsi	12.

Malang, 2 November 2018

Pembimbing Skripsi,

Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Ketua Jurusan,

Romaidi, M. Si., D. Sc
NIP. 19810201 200901 019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: http://biologi.uin-malang.ac.id Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : Dwi Riski Kurniawati
NIM : 14620006
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018/2019
Pembimbing : Umaiyatus Syarifah, M.A
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Daun Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Terhadap Kadar LDL-C dan HDL-C Serum Darah Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	13 Maret 2018	Konsultasi Bab I	1.
2.	6 April 2018	Konsultasi Bab II	2.
3.	12 April 2018	Konsultasi Bab I dan II	3.
4.	12 Oktober 2018	Konsultasi Bab I, II & IV	4.
5.	1 November 2018	Konsultasi Bab I, II & IV + ACC	5.

Malang, 2 November 2018

Pembimbing Skripsi,

Umaiyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Ketua Jurusan,

Romaidi, M. Si., D. Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG